بررسی اثر ضد میکروبی نانوسیال بر پایه عصاره سریش و نانو ذره اکسید روی

مرجان توکل[۱]، علی محمدی ثانی[۲*]، ایمان فرحبخش[۱]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران
۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۲٦ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰٤/۲۰)

چکیده

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر ضدمیکروبی نانوسیال بر پایه عصاره اتانولی‌سریش‌درشرایط‌آزمایشگاهی در برابرسه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا آنتریکا* انجام شد. عصاره‌گیاه سریش به روش خیساندن به دست آمد و برای تعیین اثر ضدباکتریایی آن از روش انتشار دیسک درسه غلظت mg/ml ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ برای عصاره اتانولی‌گیاه و غلظت ppm۱۰۰۰ برای نانوذره‌اکسید روی استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گیاه سریش بدون نانوذره دارای هاله عدم رشد نبود اما با افزودن نانو ذره اکسید روی به عصاره گیاه هاله عدم رشد مشاهده گردید که بزرگترین آن ۲۳ میلی‌متر بود. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) با استفاده از روش رقیق سازی میکروبراث تعیین گردید. در این آزمون عصاره گیاه بر پایه نانوذره اکسید روی بالاترین اثرات بازدارندگی(۱۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) و کشندگی (۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از خود نشان داد. از نتایج چنین برمی آید که عصاره اتانولی‌هرچند دارای خاصیت مهارکنندگی و کشندگی‌نبود لیکن با افزودن نانوذره‌اکسیدروی امکان بکارگیری آن جهت کنترل پاتوژن ها و به عنوان نگهدارنده طبیعی درصنایع داروسازی و غذایی قابل استفاده است.

کلیدواژگان: خواص ضدمیکروبی، عصاره سریش، نانوذره، اکسید روی

*مسئول مکاتبات: mohamadisani@yahoo.com

۱- مقدمه

در طول تاریخ بشری بسیاری از بیماری‌های عفونی به طورستنی با داروهای گیاهی‌درمان شده‌اند به طوری که امروزه در بسیاری از کشورهای در حال توسعه داروهای گیاهی نقش اصلی را جهت درمان اولیه ایفا می‌کنند [۱]. بیماری‌های ناشی‌از مصرف مواد غذایی آلوده از موارد مهم مرتبط با سلامت عمومی می‌باشد و جهت کاهش زیان‌های اقتصادی و خطرات جانی ناشی از این بیماری‌ها، استفاده ازمواد طبیعی به عنوان ترکیبات ضدمیکروب، روشی مؤثر به نظر می‌رسد که علاوه بر این، می‌تواند منجر به افزایش ماندگاری محصول گردد. در این میان عصاره‌های گیاهی دارای خواص ضدمیکروبی بوده و از آنجا که مصرف‌کنندگان به ایمنی مواد غذایی حاوی نگهدارنده سنتزی اطمینان کافی ندارند، لذا کاربرد آن ها مورد استقبال قرار گرفته است [۲]. عصاره ها و اسانس‌های‌گیاهی به دلیل وجود گروه های فعال فنولیک در ترکیب خود، خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی از خود نشان می دهند [۳].

سریش با نام‌علمی *Eremurus spectabiils* گیاهی لعاب‌دارو موثر در درمان ناراحتی های کبد و معده است در زمینه خواص ضدمیکروبی سریش تحقیقات زیادی انجام نشده است. کنعانی و همکاران (۲۰۱۵) خواص آنتی‌باکتریال عصاره متانولی‌گیاه سریش را روی پاتوژن های مختلف بررسی نمودند [٤].

توسعه و ارتقاء مواد با خواص ضدمیکروبی ازدیرباز جزو اهداف در علوم پزشکی و صنعت غذا بوده است. عوامل ضدمیکروبی براساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضدمیکروبی آلی وغیرآلی تقسیم می‌شوند بسیاری از نواقص عوامل ضدمیکروبی آلی منجر به محدودیت استفاده آنها شده است که می‌توان به مقاومت پایین آنها در مقابل حرارت، قابلیت تجزیه و در نتیجه نیمه‌عمر پایین درحرارت وفشار نسبتاً بالا اشاره نمود [٥]. از بین عوامل ضدمیکروبی غیرآلی اکسید نانو ذرات بسیار مورد توجه بوه ودرمطالعات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند [٦]. ذرات غیرآلی با اندازه نانو به دلیل‌طبیعت وترکیب ساده، خواص فیزیکی وشیمیایی یکسانی بروز می‌دهند [۷].

یکی از مهم‌ترین نانوذرات اکسیدروی است که در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی تولید و استفاده می‌شود. با توجه به این ویژگی نانوذره اکسید روی به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با باکتری‌های گرم منفی و مثبت مورد استفاده قرار گرفته است. مکانیسم اصلی تأثیر نانوذرات برروی باکتری‌ها از طریق آسیب به DNA، پروتئین و تخریب دیواره سلولی می‌باشد. فلزاتی نظیرمس، روی، کبالت از جمله عوامل مواد ضد میکروبی مؤثر برای تکمیل خاصیت ضد باکتریایی منسوجات به شمار می‌روند [۷].

درمطالعه خانی‌وهمکاران نشان داده شد که با استفاده از نانوذرات می‌توان رشد باکتری‌های بیماری‌زایی چون *شیگلا*، *اشریشیا* *واستافیلوکوکوس* رامهارکرد [۱]. سایز کوچک نانوذرات سنتز شده نقش به سزایی در میزان اثر ضدمیکروبی این نانوذرات ایفا می‌کند [۸].در زمینه اثر ضدمیکروبی نانوذرات مطالعات گوناگونی صورت گرفته است. همچنین همانگونه که اشاره شد در خصوص اثر ضدمیکروبی گیاه سریش و عصاره آن مطالعاتی صورت گرفته است لیکن اثر همزمان این دو عامل ضدمیکروب بررسی نشده است و لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر متقابل این دو عامل بر روی برخی باکتری های حائز اهمیت در صنعت غذا بود.

۲- مواد وروش‌ها

۲-۱- جمع آوری گیاه وخشک کردن

گیاه سریش در اردیبهشت ۱۳۹٤ ازمنطقه کوه بهارشهربجنورد جمع‌آوری و بر روی پارچه تمیز وخشک ریخته و در سایه مناسبی پهن گردید (فاقد باد شدید و رطوبت). گیاه خشک شده را توسط دستگاه آسیاب برقی پودر نموده و در ظرف تیره در بسته تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شد.

۲-۲- عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیساندن صورت گرفت، به این منظور ۵۰ گرم گیاه خشک خرد شده را در یک بالن ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و روی آن ۵۰۰ میلی لیتر حلال اتانول به مدت ۷۲ ساعت اضافه و هر دو ساعت همزده شد. سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی کاغذی جداسازی وحلال توسط روتاری تحت خلا (V-855Buchi) حذف‌گردید و سپس در دمای ۳۸ درجه

سانتیگراد در آون تحت خلاء (Memmert-Germany) کاملاً خشک و جهت آزمون‌های بعدی در ظرف شیشه‌ای تیره نگهداری گردید [۹].

۲-۳- آماده سازی کشت باکتریایی

سویه‌های میکروبی مورد استفاده شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*(PTCC1431)، *سالمونلا آنتریکا* (PTCC1709) و *اشرشیاکلی* (PTCC1399) بود. جهت تهیه کشت ۲٤ ساعته، توسط لوپ استریل از کشت مادر مقداری برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) به حالت خطی‌کشت داده شد و سپس به حالت وارونه در انکوباتور ۳۷درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار و مورد استفاده در آزمون های میکروبی گردید. از سویه های فوق سوسپانسیون میکروبی با شمارش $۱/۵\times۱۰^{۸}$ به روش کدورت سنجی و توسط استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. [۱۰].

سوسپانسیون استاندارد نیم مک فارلند با فرمول زیر:

۰/۵ ml BaCl2 ۰/۰٤۸ M (1/ 175 w/v BaCl2. H2O)

+99/ 5 ml H2SO4 ۰/۱۸

۲-٤- آماده سازی محلول عصاره با نانوذره

به محلول مادر با غلظت ٤۰۰ mg/ml از عصاره اتانولی، ppm ۱۰۰۰ نانو ذره اکسیدروی اضافه شد. به این ترتیب هرغلظت ازغلظت بالاترخودتهیه می‌شود.رقت های مختلف عصاره شامل ٤۰۰mg/ml-۲۰۰-۱۰۰-۵۰-۲۵-۱۲/۵-٦/۲۵-۳/۱۲۵-۱/۵٦۲۵-۰/۷۸۱۲۵ آماده سازی گردید [۱۰].

۲-۵- روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه، سپس با استفاده از سوآپ استریل روی سطح پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار(مرک آلمان) عمل کشت انجام شد. دیسک کاغذی با قطر ٦ میلی متر(ساخت شرکت پاتن طب) حاوی ۱۵میکرولیتر عصاره اتانولی در غلظت‌های mg/ml ۲۰۰-۲۵۰-۳۰۰ همچنین نمونه های حاوی 1000ppm نانوذره آغشته و به روی پلیت منتقل و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری‌گردید. از دیسک آنتی بیوتیک پنی‌سیلین به عنوان کنترل مثبت واز دی متیل سولفوکساید به عنوان کنترل منفی‌استفاده شد. پس از گرمخانه گذاری، قطر هاله عدم رشد مورد اندازه‌گیری قرارگرفت [۱۱].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)[1] به روش میکرودایلوشن براث

مقدار ۲۰۰µL از غلظت های مختلف نانوسیال عصاره اتانولی (تهیه شده در محیط کشت مولر هینتون براث) ابتدا جهت تهیه محلول مادر (با غلظت ٤۰۰ mg/ml) از عصاره اتانولی تهیه و سپس‌غلظت‌های سریالی (200-100-۵۰-۲۵-۱۲/۵-٦/۲۵-۳/۱۲۵-۱/۵٦۲۵-۰/۷۸۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه و به چاهک های میکروپلیت ۹٦ خانه ای منتقل شد. در آخر به همه چاهک ها ۲۰ µl سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل محلول نیم مک فارلند اضافه گردید [۱۰]. به عنوان کنترل مثبت، درتعدادی ازخانه‌های پلیت ۲۰۰ مایکرولیتر ازمحیط کشت مولرهینتون براث، ۲۰میکرولیترسوسپانسیون باکتری و۵۰ میکرولیترآنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین اضافه شد. برای اطمینان از اینکه حلال مورد استفاده (DMSO) اثر کشندگی بر روی میکروارگانیسم‌ها نداشته باشد، از خانه‌های حاوی ۲۰۰ مایکرولیتر از محیط کشت مولرهینتون براث و حلال و باکتری به عنوان (کنترل منفی) استفاده گردید.

پلیت ۹٦ خانه به مدت ۲٤ ساعت در گرمخانه۳۷ درجه سانتیگراد قرارداده شد. پس از این مدت به تمام خانه‌های هر پلیت ۵۰ مایکرولیتر از معرف تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (معرف‌رنگی رشد میکروب) اضافه و مجدداً به مدت ۳ ساعت درگرمخانه قرارداده شد. پس از خروج از گرمخانه، در هرردیف مربوط به غلظت‌های مختلف یک عصاره، اولین غلظتی که در آن رنگ قرمز تشکیل نشده باشد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۲].

1. Minimum inhibitory concentration

Table 1 Inhibition zones (mm) of different bacteria affected by *Eremurus spectabiils* extract

Treatment	Extract 200 mg/ml	extract 250 mg/ml	extract 300mg/ml	penicillin positive control	DMSO negative control
Staphylococcus aureus	0	0	0	31	0
Salmonella enterica	0	0	0	20	0
Escherichia coli	0	0	0	10	0

۲-٦- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)[2]

مقدار ۱۰µl از هر یک از میکروپلیت هایی که درآن باکتری رشد نکرده و تغییر رنگ صورت نگرفته بود را به محیط مولر هینتون آگار (مرک آلمان) منتقل وپس از ٢٤ ساعت آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت ها از نظر رشد باکتری بررسی گردید. غلظتی از عصاره که سلول های میکروبی را کاهش دهد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد[۱۲].

۳- نتایج و بحث

نانوذره اکسید روی دارای اثر ضد باکتریایی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بوده و باکتری های گرم مثبت حساسیت بالاتری نسبت به نانوذره اکسیدروی داشته اند [۱۳]. تاسکین و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌وآنتی‌میکروبی‌عصاره‌های مختلف برگ های سریش تماشایی را ارزیابی کردند. نتایج حاکی از این بود که عصاره آبی اثر ضد باکتریایی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است [١٤]. طبق تحقیقات کنعانی و همکارانش برروی خواص‌آنتی باکتریال عصاره متانولی‌گیاه سریش برعوامل میکروبی شاخص غذایی ونتایج این پژوهش تاثیرترکیب عصاره سریش با نانوذره بیشتر از تاثیر هریک از آنها بود [٤].

۳-۱- نتایج انتشار دیسک نانو ذره عصاره اتانولی سریش

یکی از ساده‌ترین و قابل اعتمادترین تست‌های تعیین خاصیت ضد میکروبی روش انتشار دیسک یا روش کربی بوئر می باشد. این روش در طی سال های متمادی به طور گسترده مورد مطالعه قرارگرفته است. دراین تست برای تعیین خاصیت ضد میکروبی از هاله عدم رشد اطراف دیسک استفاده می‌شود. با توجه به اندازه هاله اطراف دیسک قدرت بازدارندگی میکروارگانیسم مورد آزمون بررسی می‌گردد. تحقیق جاری برروی سه‌باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431) (گرم مثبت) و دو باکتری گرم منفی *سالمونلا انتریکا* (PTCC 1709) و *اشرشیا کلی* (PTCC 1399) انجام شد وهاله عدم رشد برای این سه باکتری بررسی‌گردید. نتایج نشان داد که در غلظت‌های ۲۰۰-۲۵۰-۳۰۰ (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) با سه تکرار، هیچ گونه هاله عدم رشد برای عصاره مشاهده نگردید لیکن پس از استفاده از نانوذره اکسیدروی با غلظت ۱۰۰۰ppm درعصاره اتانولی، هاله عدم رشد مشاهده شد (جدول۲). بیشترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۳ میلی متر) و کمترین هاله عدم رشد مربوط به *اشرشیاکلی* (۷ میلی متر) بود که نشان دهنده قدرت بازدارندگی بیشتر نانوذره در باکتری گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی بود. همچنین آنتی بیوتیک پنی سیلین که به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شده است، بزرگترین هاله عدم رشد را درهرسه باکتری ازخود نشان داد. این تفاوت به این دلیل است که ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی باکتری *اشرشیاکلای* بیشتر از ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است [۱۵].

2. Minimum bactericidal concentration

Table 2 Inhibition zones (mm) of different bacteria affected by nanofluid including *Eremurus spectabiils* extract and 1000 ppm ZnO nanoparticles

Treatment	Nanofluid	nanofluid	nanofluid	penicillin positive control	DMSO Negative control
Staphylococcus aureus	23	22	23	33	0
Salmonella enterica	10	10	10	21	0
Escherichia coli	7	7	7	11	0

۳-۲- تعیین MIC و MBC

بررسی اثر نانوسیال عصاره اتانولی سریش روی سه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سالمونلا آنتریکا* نشان می دهد که بین غلظت مهارکنندگی رشد سه باکتری تفاوت معناداری وجود دارد (جدول ۳).

Table 3 MIC and MBC of nanofluid including *Eremurus spectabiils* extract and 1000 ppm ZnO nanoparticles on different bacteria

Bacterial strains	nanofluid including Eremurus spectabiils extract ZnO		Ethanol exract of eremurus	
	MIC	MBC	MIC	MBC
Staphylococcus aureus	12.5 [c]	25 [b]	50	100
Salmonella enterica	100 [a]	100 [a]	200	400
Escherichia coli	25 [b]	100 [a]	50	400

*Data are the average of three plicate. Date with different letters differ significantly ($p<0.05$).

حداقل غلظت مهارکنندگی نانوسیال روی باکتری های مذکور به ترتیب ۱۲/۵، ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تعیین شد. کنعانی و همکاران (۲۰۱۵) حداقل غلظت بازدارندگی را برای باکتری های *اشرشیاکلی، سالمونلاانتریکا و استافیلوکوکوس اورئوس* 50 mg/mlوبرای باکتری *باسیلوس سرئوس* 12/5mg/mlگزارش نمودند. همچنین حداقل غلظت کشندگی برای باکتری های *اشرشیاکلی و سالمونلاآنتریکا، ٤۰۰ میلیگرم بر میلی لیتر و برای باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس وباسیلوس سرئوس* ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد.

گزارش‌هایی از اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی نانو مواد وجود دارد چرا که تمایل بالایی به واکنش با مولکول های زیستی دارند وسبب غیرفعال شدن آنها می گردند ودرنهایت ویروس یا باکتری را از بین می‌برند[۱٦]. مکانیسم احتمالی اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی می تواند موارد ذیل باشد:

۱) القای استرس اکسیداتیوبه دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، واکنش این رادیکال‌های اکسیژن فعال با DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها ودر نتیجه مرگ سلول.

۲) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات درغشای باکتری وهمچنین تجمع آنها در درون سلول

۳) آزادشدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند

با این حال سمیت نانو ذرات اکسید روی مستقیما به وارد شدن آنها به درون سلول نسبت داده نمی‌شود بلکه تماس نزدیک آنها با سلول موجب تغییر در محیط باکتری شده و با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشا می‌شوند. پژوهش‌های متعدد مکانیسم‌های احتمالی واکنش و فعل وانفعال‌های نانومواد با ماکرومولکول های بیولوژیکی را این طور پیشنهاد می‌کنند که نانو مواد یون هایی آزاد می‌کنند که با گروه تیول(SH-) پروتین های موجود برسطح سلول باکتری ها

واکنش می دهند. این قبیل پروتین‌ها از غشاء سلولی باکتری به سمت بیرون برآمدگی داشته و موجب انتقال مواد غذایی از دیواره سلول می‌شوند. نانومواد این پروتئین‌ها را غیرفعال کرده، نفوذپذیری غشاء را کاهش داده وسرانجام باعث مرگ سلولی می شوند [۱۶].

در مورد نانوذره اکسید روی می‌توان گفت که دارای اثر ضدباکتریایی برروی باکتری‌های گرم مثبت وگرم منفی بوده و در این میان انواع گرم مثبت حساسیت بالاتری نسبت به باکتری های گرم منفی داشته که بدلیل وجود دیواره خارجی در باکتری های گرم منفی است. بنابر برخی مطالعات سوراخ شدن دیواره باکتری به وسیله نانو ذرات اکسید فلزی و ورود نانوذرات به درون سلول می تواند در اعمال اثر ضدمیکروبی نقش داشته باشد [۱۷].

نتایج حاصل از پژوهش انجام شده نشان داد باکتری گرم مثبت *(استافیلوکوکوس اورئوس)* نسبت به باکتری های گرم منفی *(سالمونلا انتریکا و اشرشیاکلی)* حساسیت بیشتری نسبت به نانوسیال حاوی عصاره‌گیاه سریش نشان داد (جدول ۳). تمام سویه های میکروبی مورد آزمون مقاومت کمتری در برابر نانو سیال در مقایسه با عصاره داشتند، بنابراین استفاده همزمان از نانو ذره ZnO با یکی از محافظ های غذایی مانند اسانس‌های گیاهی می تواند به عنوان یک رویکرد مؤثر درافزایش خاصیت آنتی باکتریایی عصاره و اسانس‌های گیاهی به شمارآید.

۵- منابع

[1] Safahani et al., (2011). Comparison of antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of different medicinal herbs in Golestan province on *Staphylococcus aurous*. Journal of Herbal Drugs, 4(1): 41- 51.

[2] Bani-Tahmasb, Gh. (2013). The use of essential oils as preservatives in food. 3th International Congress on Food Safety.

[3] Nychas, G.J.E. (1995). Natural antimicrobial from plants. In: Gould, G.W. (Ed.). New Methods of Food Preservations. Blakie Academic and Professional, Glasgow. 58–89.

[4] Kanani, S., Mohamadi Sani, A. (2015). Chemical composition of essential oils and in vitro antibacterial activity of methanolic extract of *Sonchus arvensis* and *Eremurus spectabilis* against food-borne pathogenic bacteria. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 18(5): 1093- 1099

[5] Dura, N.N. et al. (2007). Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. Journal of Biomedicine and Nanotechnology. 3: 203- 208.

[6] Han, G.H. (2000). Antimicrobial food packaging. Food Technology, 54(3): 56- 65.

[7] Zhang, L., Jiang Y., Ding Y., Daskalakis, N., Jeuken L., Povey M. (2010). Mechanistic, Investigation into antibacterial behaviour of suspensions of zno nanoparticles against *E. Coli*. Journal of Nanoparticle Research. 12(5):1625-1636.

[8] Ismailpour, H., Sangpoor, P., Khaksar, R. and Shahraz, F. (2014). The Effect of ZnO Nanoparticles on the Growth of Bacillus subtilis and Escherichia coli O157:H7. Food Technology and Nutrition, 11(3): 21-29

[9] Bogunia-Kubik, K., Sugisaka, M. (2002). From molecular biology to nanotechnology and nano-medicine. Bio-systems. 65: 123- 138.

[10] Barnon, E., Old, S.M. (1990). Method for testing antimicrobial effectiveness. in: Diagnostic microbiology. 8th Edition, the Mosby Company. 172- 184

[11] Daneshmandi, S., Soleimani, N., Sattari, M., Pourfathollah, AA. (2010). Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *Cuminum cyminum* essential oil. Arak Medical University Journal. 13(2): 78- 82.

[12] Duffy, C.F., Power, R.F. (2001). Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. International Journal of Antimicrobial agents. 17: 527- 529.

[13] Farahadi, M., Rezaei Zarech, S., Haji Hosseini, R. (2011). Antibacterial activity of ZnO and Fe_2O_3 nanoparticles on *E. coli* and *S. aureus*. MSc thesis. Payame-E-Noor university, Tehran, Iran.

[14] Taskin, T., Bitis, L. and Birteksöz, S. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts from *Eremurus spectabilis* leaves. Spatula DD- Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery. 2(4): 213.

[15] Farre M., Gajda-Schrantz K., Kantiani L., Barcelo D. (2112). Eco toxicity and analysis of

nanomaterial in the aquatic environment. Analytical and Bio analytical Chemistry. 393: 40- 20.

[16] Furno, F.K.S. et al. (2006). Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 54(6): 1019- 1024

[17] Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R. and Gedanken, A. (2005). Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline mgo and its use as a bacteriocide. Advanced Functional Materials. 15: 1708- 1715.

Antimicrobial Effects of Nano-fluids Based on *Eremurus spectabiils* Extract and Zinc Oxide Nanoparticles

Tavakkol, M. [1], Mohamadi Sani, A.[2*], Farahbakhsh, I.[1]

1. Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
2. Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
(Received: 2016/06/15 Accepted: 2017/07/11)

This study aimed to evaluate the antimicrobial effect of nano-fluids based on *Eremurus spectabiils* extracts against *Staphilococcus aureus, Escherichia coli* and *Salmonella enterica* in in-vitro condition. The extract was obtained by maceration. Disc diffusion method was used for determining the antibacterial activity of the extract at three concentrations: 200, 250, 300 mg/ml and zinc oxide nanoparticles at 1000 ppm. Results showed no inhibition zones for the alone extract while ZnO nanoparticles led to clear zone up to 23mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was determined using micro broth dilution method. The highest MIC and MBC was gained for the extract containing ZnO nanoparticles respectively at 12.5 and 25 mg/ml for *Staphilococcus aureus*. According to the findings, although the ethanolic extract had no inhibitory activity, yet addition of nanoparticles improved the antimicrobial activity which enables the extract to be used as a natural preservative in food and pharmaceutical industries.

Keywords: Antimicrobial activity, *Eremurus spectabiils*, Zinc oxide

[*] Corresponding Author E-Mail Address: mohamadisani@yahoo.com