

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: ۹۵/۰۳/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۲۰)

چکیده

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر ضد میکروبی نانوسیال بر پایه عصاره اتانولی سریش در شرایط آزمایشگاهی در برابر سه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا آنتریکا انجام شد. عصاره گیاه سریش به روش خیساندن به دست آمد و برای تعیین اثر ضدباکتریایی آن از روش انتشار دیسک در سه غلظت ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/ml برای عصاره اتانولی گیاه و غلظت ۱۰۰۰ ppm برای نانوذره اکسید 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 میلی متر 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 میلی گرم بر میلی لیتر) و کشندگی (۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان داد. از نتایج چنین برمی آید که عصاره اتانولی هر چند دارای خاصیت مهارکنندگی و کشندگی نبود لیکن با افزودن نانوذره اکسید روی امکان بکارگیری آن جهت کنترل پاتوژن ها و به عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع داروسازی و غذایی قابل استفاده است.

کلیدواژگان: خواص ضد میکروبی، عصاره سریش، نانوذره، اکسید روی

* مسئول مکاتبات: mohamadisani@yahoo.com

۱- مقدمه

در طول تاریخ بشری بسیاری از بیماری‌های عفونی به طور سنتی با داروهای گیاهی درمان شده‌اند به طوری که امروزه در بسیاری از کشورهای در حال توسعه داروهای گیاهی نقش اصلی را جهت درمان اولیه ایفا می‌کنند [۱]. بیماری‌های ناشی از 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 از مواد طبیعی به عنوان ترکیبات ضد میکروب، روشی مؤثر به نظر می‌رسد که علاوه بر این، می‌تواند منجر به افزایش ماندگاری محصول گردد. در این میان عصاره‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی بوده و از آنجا که مصرف‌کنندگان به ایمنی مواد غذایی حاوی نگهدارنده سنتزی اطمینان کافی ندارند، لذا کاربرد آن‌ها مورد استقبال قرار گرفته است [۲]. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دلیل وجود گروه‌های فعال فنولیک در ترکیب خود، خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند [۳].

سریش با نام علمی *Eremurus spectabiils* گیاهی لعاب‌دار و مؤثر در درمان ناراحتی‌های کبد و معده است در زمینه خواص ضد میکروبی سریش تحقیقات زیادی انجام نشده است. کنعانی و همکاران (۲۰۱۵) خواص آنتی‌باکتریال عصاره متانولی گیاه سریش را روی پاتوژن‌های مختلف بررسی نمودند [۴].

توسعه و ارتقاء مواد با خواص ضد میکروبی از دیرباز جزو اهداف در علوم پزشکی و صنعت غذا بوده است. عوامل ضد میکروبی بر اساس ترکیب شیمیایی به دو دسته عوامل ضد میکروبی آلی و غیر آلی تقسیم می‌شوند بسیاری از نواقص عوامل ضد میکروبی آلی منجر به محدودیت استفاده آنها شده است که می‌توان به مقاومت پایین آنها در مقابل حرارت، قابلیت تجزیه و در نتیجه نیمه عمر پایین در حرارت و فشار نسبتاً بالا اشاره نمود [۵]. از بین عوامل ضد میکروبی غیر آلی اکسید نانو ذرات بسیار مورد توجه بوده و در مطالعات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۶]. ذرات غیر آلی با اندازه نانو به دلیل طبیعت و ترکیب ساده، خواص فیزیکی و شیمیایی 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 بر روی باکتری‌ها از طریق آسیب به DNA، پروتئین و تخریب دیواره سلولی می‌باشد. فلزاتی نظیر مس، روی، کبالت از جمله عوامل مواد ضد میکروبی مؤثر برای تکمیل خاصیت ضد باکتریایی منسوجات به شمار می‌روند [۷].

در مطالعه خانی و همکاران نشان داده شد که با استفاده از نانوذرات می‌توان رشد باکتری‌های بیماری‌زایی چون شیگلا، اشریشیا و استافیلوکوکوس رامهارکرد [۱]. سایز کوچک نانوذرات سنتز شده نقش به‌سزایی در میزان اثر ضد میکروبی این نانوذرات ایفا می‌کند [۸]. در زمینه اثر ضد میکروبی نانوذرات مطالعات گوناگونی صورت گرفته است. همچنین همانگونه که اشاره شد در خصوص اثر ضد میکروبی گیاه سریش و عصاره آن مطالعاتی صورت گرفته است لیکن اثر همزمان این دو عامل ضد میکروب بررسی نشده است و لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر متقابل این دو عامل بر روی برخی باکتری‌های حائز اهمیت در صنعت غذا بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع‌آوری گیاه و خشک کردن

گیاه سریش در اردیبهشت ۱۳۹۴ از منطقه کوه بهار شهر بجنورد جمع‌آوری و بر روی پارچه تمیز و خشک 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 و حلال توسط روتاری تحت خلا (V-855Buchi) حذف گردید و سپس در دمای ۳۸ درجه

37 درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. از دیسک آنتی بیوتیک پنی‌سیلین به عنوان کنترل مثبت و از دی متیل سولفوکساید به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از گرمخانه گذاری، قطر هاله عدم رشد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت [۱۱].

۲-۵- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

به روش میکروداپلوشن براث

مقدار ۲۰۰ μL از غلظت های مختلف نانوسیال عصاره اتانولی (تهیه شده در محیط کشت مولر هیتتون براث) ابتدا جهت تهیه محلول مادر (با غلظت ۴۰۰ mg/ml) از عصاره اتانولی تهیه و سپس غلظت‌های سریالی (100-200-۵۰-۲۵-۱۲/۵-۶/۲۵-۳/۱۲۵-۱/۵۶۲۵-۰/۷۸۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه و به چاهک های میکروپلیت ۹۶ 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، در تعدادی از خانه‌های پلیت ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتتون براث، ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری و ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین اضافه شد. برای اطمینان از اینکه حلال مورد استفاده (DMSO) اثر کشندگی بر روی میکروارگانیسم‌ها نداشته باشد، از خانه‌های حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتتون براث و حلال و باکتری به عنوان (کنترل منفی) استفاده گردید.

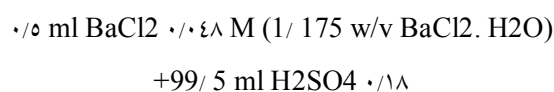
پلیت ۹۶ خانه به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارداد شد. پس از این مدت به تمام خانه‌های هر پلیت ۵۰ میکرولیتر از معرف تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (معرف‌رنگی رشد میکروب) اضافه و مجدداً به مدت ۳ ساعت در گرمخانه قرارداد شد. پس از خروج از گرمخانه، در هر ردیف مربوط به غلظت‌های مختلف یک عصاره، اولین غلظتی که در آن رنگ قرمز تشکیل نشده باشد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۱۲].

سانتی‌گراد در آن 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 ۲۴ ساعته، توسط لوپ استریل از کشت مادر مقداری برداشته و روی محیط کشت مولر هیتتون آگار (مرک آلمان) به حالت خطی کشت داده شد و سپس به حالت وارونه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار و مورد استفاده در آزمون های میکروبی گردید. از سویه های فوق سوسپانسیون میکروبی با شمارش 1×10^8 به روش کدورت سنجی و توسط استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. [۱۰].

سوسپانسیون استاندارد نیم مک فارلند با فرمول زیر:



۲-۴- آماده سازی محلول عصاره با نانوذره

به محلول مادر با غلظت ۴۰۰ mg/ml از عصاره اتانولی، ppm ۱۰۰۰ نانو ذره اکسیدروی اضافه شد. به این ترتیب هر غلظت از غلظت بالاتر خود تهیه می‌شود. رقت های مختلف عصاره شامل ۴۰۰-۲۰۰-۱۰۰-۵۰-۲۵-۱۲/۵-۶/۲۵-۳/۱۲۵-۱/۵۶۲۵-۰/۷۸۱۲۵ آماده سازی گردید [۱۰].

۲-۵- روش انتشار دیسک

ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه، سپس با استفاده از سوآپ استریل روی سطح پلیت های حاوی محیط کشت مولر هیتتون آگار (مرک آلمان) عمل کشت انجام شد. دیسک کاغذی با قطر ۶ میلی متر (ساخت شرکت پاتن طب) حاوی ۱۵ میکرولیتر عصاره اتانولی در غلظت‌های ۲۰۰ mg/ml-۳۰۰-۲۵۰ همچنین نمونه های حاوی 1000ppm نانوذره آغشته و به روی پلیت منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور

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

یکی از ساده‌ترین و قابل اعتمادترین تست‌های تعیین خاصیت ضد میکروبی روش انتشار دیسک یا روش کربی بوئر می باشد. این روش در طی سال‌های متمادی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. در این تست برای تعیین خاصیت ضد میکروبی از هاله عدم رشد اطراف دیسک استفاده می‌شود. با توجه به اندازه هاله اطراف دیسک قدرت بازدارندگی میکروارگانیزم مورد آزمون بررسی می‌گردد. تحقیق جاری بر روی سه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431) (گرم مثبت) و دو باکتری گرم منفی *سالمونلا انتریکا* (PTCC 1709) و *اشرشیا کلی* (PTCC 1399) انجام شد و هاله عدم رشد برای این سه باکتری بررسی گردید. نتایج نشان داد که در غلظت‌های ۲۰۰-۳۰۰-۲۵۰ (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) با سه تکرار، هیچ گونه هاله عدم رشد برای عصاره مشاهده نگردید لیکن پس از استفاده از نانوذره اکسیدروی با غلظت ۱۰۰۰ppm در عصاره اتانولی، هاله عدم رشد مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین هاله عدم رشد مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۳ میلی‌متر) و کمترین هاله عدم رشد مربوط به *اشرشیا کلی* (۷ میلی‌متر) 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 در هر سه باکتری از خود نشان داد. این تفاوت به این دلیل است که ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی باکتری *اشرشیا کلی* بیشتر از ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است [۱۵].

۲-۶- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

مقدار ۱۰µl از هر یک از میکروپلیت‌هایی که در آن باکتری رشد نکرده و تغییر رنگ صورت نگرفته بود را به محیط مولر هیتون آگار (مرک آلمان) منتقل و پس از ۲۴ ساعت آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی گردید. غلظتی از عصاره که سلول‌های 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 باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بوده و باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بالاتری نسبت به نانوذره اکسیدروی داشته اند [۱۳]. تاسکین و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی عصاره‌های مختلف برگ‌های سریش تماشایی را ارزیابی کردند. نتایج حاکی از این بود که عصاره آبی اثر ضد باکتریایی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است [۱۴]. طبق تحقیقات کنعانی و همکارانش بر روی خواص آنتی باکتریال عصاره متانولی گیاه سریش بر عوامل میکروبی شاخص غذایی و نتایج این پژوهش تاثیر ترکیب عصاره سریش با نانوذره بیشتر از تاثیر هریک از آنها بود [۴].

۳-۱- نتایج انتشار دیسک نانوذره عصاره

اتانولی سریش

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

می دهد که بین غلظت مهارکنندگی رشد سه باکتری تفاوت معناداری وجود دارد (جدول ۳).

۲-۳- تعیین MIC و MBC

بررسی اثر نانوسیال عصاره اتانولی سریش روی سه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و سالمونلا آنتریکا نشان

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

Bacterial strains	nanofluid including <i>Eremurus spectabiils</i> extract ZnO		Ethanol extract of <i>eremurus</i>	
	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. Data with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

۱) القای استرس اکسیداتیو به دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، واکنش این رادیکال‌های اکسیژن فعال با DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها و در نتیجه مرگ سلول.
 ۲) از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات درغشای باکتری و همچنین تجمع آنها در درون سلول
 ۳) آزاد شدن یون‌های روی که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند.
 با این حال سمیت نانو ذرات اکسید روی مستقیماً 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 و انفعال‌های نانو مواد با ماکرومولکول‌های بیولوژیکی را این طور پیشنهاد می‌کنند که نانو مواد یون‌هایی آزاد می‌کنند که با گروه تیول (-SH) پروتئین‌های موجود بر سطح سلول باکتری‌ها

حداقل غلظت مهارکنندگی نانوسیال روی باکتری‌های مذکور به ترتیب ۱۲/۵، ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. کنعانی و همکاران (۲۰۱۵) حداقل غلظت بازدارندگی را برای باکتری‌های اشرشیاکلی، سالمونلا آنتریکا و استافیلوکوکوس اورئوس 50 mg/ml و برای باکتری باسیلوس سرئوس 12/5 mg/ml گزارش نمودند. همچنین حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های اشرشیاکلی و سالمونلا آنتریکا، ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد.
 گزارش‌هایی از اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی نانو مواد وجود دارد چرا که تمایل بالایی به واکنش با مولکول‌های زیستی دارند و سبب غیرفعال شدن آنها می‌گردند و در نهایت ویروس یا باکتری را از بین می‌برند [۱۶]. مکانیسم احتمالی اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی می‌تواند موارد ذیل باشد:

- 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 Fe₂O₃ 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-Schranz K., Kantiani L., Barcelo D. (2012). Eco toxicity and analysis of

واکنش می دهند. این قبیل پروتئین‌ها 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 و سرانجام باعث مرگ سلولی می‌شوند [۱۶].

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

نتایج حاصل از پژوهش انجام شده نشان داد باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*سالمونلا انتریکا* و *اشرشیاکلی*) حساسیت بیشتری نسبت به نانوسیال حاوی عصاره گیاه سریش نشان داد (جدول ۳). تمام سویه‌های میکروبی مورد آزمون مقاومت کمتری در برابر نانو سیال در مقایسه با عصاره داشتند، بنابراین استفاده همزمان از نانو ذره ZnO با یکی از محافظ‌های غذایی مانند اسانس‌های گیاهی می‌تواند به عنوان یک رویکرد مؤثر در افزایش 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 aureus*. *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*

- [17] Makhluף, 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.
- 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

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 *Staphylococcus 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 *Staphylococcus 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