NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.9/36 , 2019

Scan online to view this article

Study on the antimicrobial effects of iron oxide nanoparticles synthesized by cytoplasmic extract of *lactobacillus fermentum*

Mina Fani[1], Fereshte Ghandehari[1*], Malahat Rezaee[2], Mahnoosh Fatemi[3]

1- Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2- Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3- Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Aim and Background: In recent years, science and industry have focused on preparing nanoparticles based on the principles of green chemistry. For this purpose, various types of biological structures such as bacteria, yeasts, and string molds are used. Due to the resistance of bacteria to antibiotics, the need to replace effective antimicrobials, with fewer side effects is less. The aim of this research was to synthesis the iron oxide nanoparticles by *lactobacillus fermentum* cytoplasmic extract and investigate its antimicrobial effects against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Materials and Methods: In this study, after preparing cytoplasmic extract of *Lactobacillus fermentum* from frees-thow method, iron sulfate solution 10^{-3} M were added and incubated for 3 weeks in the presence of 5 % carbon dioxide. Production of nanoparticles was investigated by X-ray Diffraction (XRD) and Transmission Electron Microscopy (TEM) and finally, the antimicrobial effects of standard strains of two bacteria (*Staphylococcus aurous* and *Pseudomonas aeruginosa*) were determined using agar diffusion method.

Results: Changing the color of solution to black is an indication of iron oxide nanoparticles production. The formation of iron oxide nano-crystals *by Lactobacillus fermentum* cytoplasmic extract was shown by XRD analysis and the average nanoparticles sizes that determined by transmission electron microscopy TEM were found to be about 10-15 nm with a spherical shape. The mean diameter of the no-growth field indicates that the synthesized nanoparticles inhibit *Staphylococcus aureus* in concentrations of 100 and 1000 mg/ ml, while are ineffective against *Psedumonas aeruginosa*.

Conclusion: The use of cytoplasmic extract of *Lactobacillus fermentum* can be introduced as an effective biological method for the production of iron oxide nanoparticles and with more studies in this area, green nanoparticles may be used as suitable candidates for the treatment of microbial infections.

Keywords: iron oxide nanoparticles, *Lactobacillus fermentum*, probiotic, XRD, TEM

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

Corresponding author:
Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
Email: ghandehari@iaufala.ac.ir

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۹ - شماره -۳۶ پائیز ۱۳۹۸
مقاله تحقیقی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

مطالعه اثرهای ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده توسط عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*

مینا فانی[۱]، فرشته قندهاری*[۱]، ملاحت رضایی[۲]،مهنوش فاطمی[۳]

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۲-گروه بیوشیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۳- گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر توجه علم و صنعت به تهیه نانو ذرات مبتنی بر اصول شیمی سبز متمرکز شده است و بدین-منظور از انواع گوناگونی از ساختارهای زیستی هم‌چون باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌های رشته‌ای استفاده می‌شود. باتوجه به مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، نیاز به جایگزین نمودن عوامل ضدمیکروبی مؤثر با عوارض جانبی کم‌تر، بیش‌تر است. هدف از این پژوهش سنتز نانوذرات اکسیدآهن توسط عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و بررسی اثرهای ضدمیکروبی آن برعلیه باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* و *سودوموناس آئروجینوزا* است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، پس از تهیه عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به روش ذوب و یخ ، محلول سولفات آهن (III) با غلظت 10^{-3} مولار، به آن اضافه و در حضور ۵ درصد دی اکسیدکربن به‌مدت ۳ هفته انکوبه شد. به‌منظور بررسی تولید نانوذرات آنالیزهای پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی عبوری(TEM) انجام گردید و در نهایت اثرهای ضدمیکروبی نانوذرات بر روی ۲ سویه استاندارد از باکتری‌های بیماری‌زای (*استافیلوکوکوس آرئوس* و *سودوموناس آئروجینوزا*) به روش انتشار چاهک مورد بررسی قرارگرفت.

یافته‌ها: تغییر رنگ محلول به رنگ سیاه نشان دهنده تولید نانوذرات اکسیدآهن بود، آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)، تشکیل نانوکریستال‌های اکسیدآهن به‌وسیله عصاره سیتوپلاسمی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* را نشان داد و اسکن میکروسکوپ الکترونی TEM شکل نانوذرات را کروی و میانگین اندازه آن را ۱۵ - ۱۰ نانومتر تعیین کرد. میانگین قطر هاله عدم رشد بیانگر آن است که نانوذرات سنتز شده در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رشد باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* را مهار، در حالی‌که برعلیه *سودوموناس آئروجینوزا* فاقد اثر مهار کنندگی است.

نتیجه‌گیری: استفاده از عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* را می‌توان به‌عنوان یک روش بیولوژیک کارآمد برای تولید نانوذرات اکسیدآهن معرفی نمود و با مطالعه‌های بیش‌تر در این زمینه شاید بتوان از نانوذرات سنتز شده به روش سبز به‌عنوان کاندیدای مناسبی در درمان عفونت‌های میکروبی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات اکسیدآهن، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، پروبیوتیک، XRD، TEM

مقدمه

یکی از زمینه‌های مهم تحقیقات در نانوتکنولوژی استفاده از نانو ذرات مختلف فلزی است.

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
پست الکترونیکی: ghandehari@iaufala.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱/۵/۱۳۹۷
تاریخ پذیرش: ۲۴/۱۱/۱۳۹۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

نانوذرات اکسیدآهن اغلب در اندازه‌های کوچک‌تر از ۲۰ نانومتر تولید می‌شوند این ترکیب‌های به‌علت ویژگی‌های مغناطیسی مناسب، سازگاری زیستی بالا، سمیت بسیار اندک، نسبت به نانوذرات دیگر بیش‌تر توجه محققین را به خود جذب کرده‌اند. روش‌های بسیاری برای سنتز نانوذرات وجود دارد، بسیاری از تکنیک‌ها از نظر مصرف مواد و انرژی مقرون‌به صرفه نبوده و آلودگی‌های زیست محیطی را به همراه دارند از این‌رو، تمایل به تهیه ذرات با ابعاد نانو مبتنی بر اصول شیمی سبز و استفاده بالقوه از آن‌ها با توجه‌به خصوصیت‌های منحصر به فردشان روز به روز در حال افزایش است و به این منظور انواع گوناگونی از ساختارهای زیستی از جمله گیاهان، جلبک-ها و میکروارگانیسم‌هایی از قبیل باکتری‌ها، کپک‌های رشته‌ای و مخمرها جهت تهیه نانوذرات استفاده می‌شوند (۱). میکروارگانیسم‌ها در روش میکروبی کارخانجات کوچک و زنده درجهت تولید نانو مواد بکار می‌روند که با استفاده از عوامل احیاءکننده ارزان و تجدیدپذیر خود مانند لاکتات یا استات قادرند نانوذرات فلزی را در سایز ۱ تا ۲۰۰ نانومتر در دمای اتاق یا دمای بالاتردر مورد گرمادوست‌ها سنتز نمایند. مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها روز به روز در حال افزایش است. این مسأله بشر را به فکر جایگزین کردن عوامل ضدمیکروبی مؤثر با عوارض جانبی کم‌تر به‌جای مواد ضدمیکروبی با اثر کم-تر و عوارض ناخواسته بیش‌تر سوق می‌دهد. در حال حاضر نانوتکنولوژی در زمینه نانوآنتی‌بیوتیک نیز سودمند است، این تکنولوژی به‌وسیله دستکاری در اندازه و مقیاس باعث افزایش عملکرد این مواد می‌شود (۲). ماده در ابعاد نانو به‌علت بالابودن نسبت سطح به حجمشان در مقایسه با همان ماده در ابعاد بزرگتر، خواص متفاوتی را از خود نشان می‌دهد. مطالعه‌های نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید فلزی هم‌چون اکسیدآهن دارای اثرهای زیست سازگاری و قدرت اثرگذاری بهتری را از خود نشان می‌دهند لذا یک کاندید انتخابی مناسب جهت مقابله با عوامل بیماری‌زا هستند. در این پژوهش سنتز نانوذرات اکسیدآهن مبتنی‌بر شیمی سبز[4] توسط عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*[1] سنتز و در نهایت اثرهای ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده برعلیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس آرئوس*[2] و *سودوموناس آئروجینوزا*[3] بررسی گردید.

[1] *Lactobacillus fermentum*
[2] *Staphylococcus aureus*
[3] *Psedumonas aeruginosa*
[4] Green synthesis

روش کار

خریداری و کشت باکتری

سوش باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* با شناسه (PTCC 1638) از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در شرایط استریل در ۱میلی‌لیتر آب مقطر استریل تزریق و پس از انتقال در محیط کشت MRS Broth[4] به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

سنتز نانوذرات اکسیدآهن توسط عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و تست‌های تشخیصی

ابتدا عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به روش freeze- thaw پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون محیط‌های کشت MRS Broth حاوی باکتری به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید. پس از اتمام سانتریفوژ رونشین دور ریخته شد و به رسوب حاصله ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شد (مرحله شستشو با بافر فسفات نمکی سه بار تکرارشد). سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه داخل تانک ازت (نیتروژن مایع ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. بعد از آن به‌مدت ۱۵ دقیقه درون حمام بخار ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در پایان در دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی به‌عنوان عصاره سیتوپلاسمی جمع آوری گردید (۳). محلول آبی اکسیدآهن 10^{-3} مولار تهیه و به عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به نسبت حجمی مساوی (۱۰ % V/V) اضافه و پس از تنظیم pH محلول در ۵/۶ به-مدت ۳ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۵ درصد دی اکسیدکربن و در تاریکی انکوبه گردید (۴). بعد از این مدت تجمع خارج سلولی ذرات فلز با تغییر رنگ محیط مشاهده شد. تغییر رنگ از بی‌رنگ به حالت سیاه نشان دهنده تولید نانوذرات اکسیدآهن بود. پس از این مدت محلول حاوی نانوذرات داخل لوله‌های فالکون استریل ریخته شدند و در دور ۲۵۰۰rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید، مایع رویی دور ریخته شد و رسوب حاصله دو بار با آب یون زدوده استریل و یک بار با استون شستشو داده شد. در پایان محلول واکنش توسط دستگاه خشک کن به پودر تبدیل شد و با نزدیک کردن آهن ربا مغناطیسی در مجاورت نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده زیستی خاصیت مغناطیسی نانوذرات مشاهده شد. برای بررسی تولید نانوذرات از دستگاه پراش پرتو

[5] De Man Rogosa and Sharpe Broth

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

ایکس مدل Philips 1×1800) استفاده شد. نمونه بر روی بستر شیشه‌ای قرار داده شد و اسکن با زاویه ۲θ و محدوده ۲۰ تا ۸۰ درجه انجام شد. ولتاژ استفاده شده ۴۰KV و جریان ۳۰ میلی آمپر بود. اندازه ذرات با ستفاده از رابطه دبای شرر و از طریق فورمول زیر محاسبه گردید:

$D= 0.9\lambda/\beta\cos\theta$

جهت بررسی شکل و اندازه نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل (Philips 208S 100Kv, Netherlands) استفاده شد. ابتدا نانوذرات بر روی توری مسی پوشیده شده از کربن ثابت و پس از خشک شدن با لامپ مادون قرمز عکس برداری با دقت ۲/۳۲ آنگسترم انجام شد.

تهیه سویه‌های میکروبی و بررسی اثرهای ضد میکروبی نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده

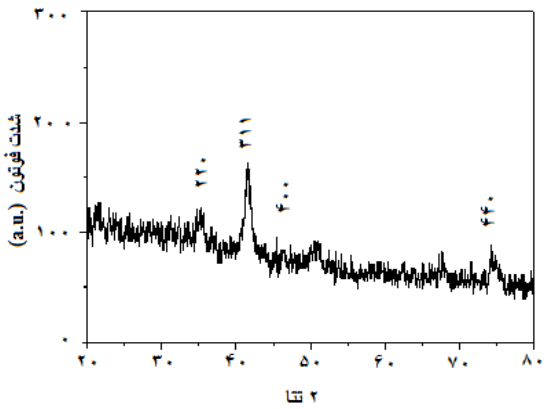
سویه‌های میکروبی استاندارد باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* (ATCC 25923) و *سودوموناس آئروجینوزا* (ATCC 27853) از شرکت داروش تهران خریداری گردید. در این روش سوش استاندارد باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* بر روی محیط کشت بلاد آگار و *سودوموناس آئروجینوزا* روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. در نهایت جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدآهن از روش انتشار از چاهک استفاده شد (۵). در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده به روش جارویی در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار با کدورت نیم مک فارلند (10^8 Cfu/ml ×۱/۵) به‌طور یکنواخت کشت داده شد. سپس در سطح محیط چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌لیتر حفر نموده و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱۰،۱۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده درون چاهک مربوطه ریخته شد. از ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی و سوسپانسیون آنتی‌بیوتیک خالص سفالکسین با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد (۵). تمام داده‌ها و نتایج حاصل از پژوهش توسط آزمون واریانس یک طرفه آنالیز و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel (version 2010) ترسیم گردید.

یافته‌ها

اولین نشانه از تشکیل نانوذرات اکسیدآهن تغییر رنگ محلول بعد از سه هفته بود. رنگ محلول سولفات آهن بعد از احیاء یون‌های آهن توسط عصاره سیتو پلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به رنگ سیاه درآمد.

آنالیز XRD[5]

به‌منظور اثبات تشکیل نانوذرات اکسیدآهن آنالیز XRD انجام گرفت. با توجه به شکل (۱) براساس یافته‌های به‌دست آمده پیک‌ها مربوط به زوایای ۲θ برابر۳۵،۴۳،۴۷،۷۴..... بود که به‌ترتیب مربوطبه اندیس‌های میلر در سطوح ۲۲۰،۳۱۱،۴۰۰،۴۴۰ است. این پیک‌ها با الگوی پراش اشعه X ماده Fe_3o_4 تطابق داشته و فاز جانبی دیگری مشاهده نمی‌شود. اندازه نانوذرات به کمک رابطه دبای شرر ۱۵ نانومتر محاسبه شد.



شکل۱- منحنی پراش پرتوایکس نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده به روش سبز، اندازه نانوذرات را ۱۵ نانومتر نشان داد

آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری

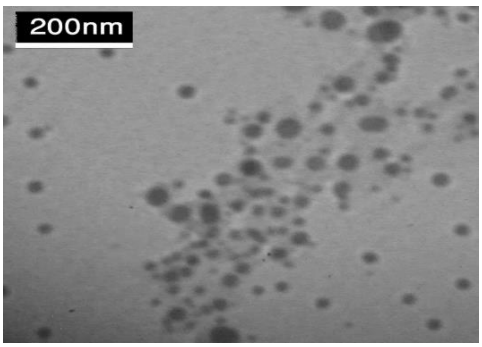
تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM[6]) نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده در شکل (۲) نشان داده شده است. این تصاویر برای تأیید مرفولوژی و اندازه نانوذرات اکسیدآهن استفاده می‌شود. با توجه‌به تصویر نانوذرات اکسیدآهن دارای شکل کروی و اندازه نانوذرات بین ۱۵-۱۰ نانومتر است.

نتایج حاصل از فعالیت ضد میکروبی تأثیر نانوذرات اکسید آهن بر علیه باکتری های استافیلوکوکوس آرئوس و سودوموناس آئروجینوزا

مطابق روش انتشار چاهک، اثر ضد میکروبی غلظت¬های ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، میکروگرم بر میلی¬لیتر از نانو ذرات اکسید آهن سنتز شده به روش سبز بر روی دو باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و سودوموناس آئروجینوزا بررسی شد. نتایج حاصل از میانگین قطرهاله عدم رشد بیانگر آن است که غلظت¬های

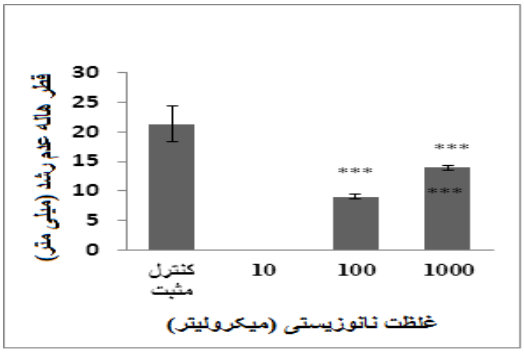
[5] X-ray powder diffraction
[6] Transmission Electron Microscopy

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات اکسید آهن سنتز شده به روش سبز، شکل نانو ذرات را کروی و میانگین اندازه آن را ۱۵-۱۰ نانومتر نشان داد. Bar=150 nm

۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی¬لیتر از نانو ذرات سنتزشده به روش سبز اثرهای ضدمیکروبی مؤثری را برعلیه *استافیلوکوکوس آرئوس* نشان داده درحالی‌که برعلیه باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* اثرهای مهاری مشاهده نشد. نتایج آنالیز آماری حاصل از بررسی مقایسه اثر ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدآهن تولید شده به روش سنتز سبز نسبت‌به گروه کنترل مثبت بر روی باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* بیانگر آن است که غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت‌به گروه کنترل مثبت به‌طور معناداری ($p \leq ۰/۰۰۱$) اختلاف نشان می‌دهد، مقایسه غلظت‌های ۱۰۰و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده بیانگر آن است که اختلاف معناداری در سطح ($p \leq ۰/۰۰۱$) بین این دو غلظت دیده می‌شود. نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت نانوذرات اثر ضدمیکروبی افزایش یافته و اثرهای ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده وابسته به دوز است (نمودار ۱).



نمودار ۱- اثر ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده سبز برعلیه *استافیلوکوکوس آرئوس*. هرنقطه روی نمودار بیانگر میانگین سه روز آزمایش و هر روز سه تکراراست. Error bar = Mean ± SD. ستاره‌های بالای نمودار مقایسه غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سنتز سبز نسبت‌به کنترل مثبت و ستاره‌های زیر نمودار مقایسه غلظت ۱۰۰۰ نسبت‌به ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. نمودار بر اساس میانگین ± انحراف معیار ترسیم شده است و سطح معنی دار به شکل($P^{*}\leq ۰/۰۵$)، ($P^{**}\leq ۰/۰۱$)، ($P^{***}\leq ۰/۰۰۱$) در نظر گرفته شده است.

بحث

درتولید بیولوژیکی، میکروارگانیسم‌ها قادرند یون‌های فلزی را احیاء کننده که در این فرآیند احیاء انواعی از آنزیم‌ها، پلی-ساکاریدهای خارج سلولی و مواد احیاء کننده، مؤثر هستند. یکی از دلایل تولید نانوذرات فلزی توسط میکروارگانیسم‌ها، کاهش اثرهای سمی یون‌های فلزی موجود در محیط رشد میکروب‌ها است (۶). میکروارگانیسم‌ها این عمل را از طریق احیائ بیولوژیکی یون‌های فلزی سمی (با استفاده ازآنزیم‌های خاص NADH ردوکتاز و یا نیترات ردوکتاز) به عناصر فلزی با سمیت کم‌تر، انجام می‌دهند، علاوه‌بر این حضور برخی پلی-ساکاریدها و مواد آلی تولیدی توسط میکروارگانیسم‌ها در درون سلول‌ها و نیز محیط کشت سبب تولید نانوذرات فلزی می‌گردد. این مواد آلی از طریق گروه‌های عملکردی خود مانند سیستئین، هیستیدین، آلدئیدها، کتون‌ها و... موجب احیاء یون‌های فلزی به ناذرات فلز می‌شوند (۶). نتایج به‌دست آمده در این تحقیق حاکی از آن است که عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* توانایی تولید نانوذرات اکسیدآهن را دارد، نانوذرات تولید شده کوچک، با اندازه ۱۵ نانومتر و کروی شکل هستند. در این راستا در مطالعه‌ای توسط امیدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در بررسی سنتز نانوذرات نقره توسط مایع رویی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، اندازه نانوذرات نقره تولید شده را بسیارکوچک و با اندازه متوسط ۱۵ نانومتر، با شکل کروی و تأثیر پذیری بالا بیان کردند (۴). مطالعه‌های هوآگ و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد که میانگین اندازه نانوذرات آهن سنتز شده توسط برگ گیاه *کاملیاسینسیس* ۵ تا ۱۵ نانومتر است (۷). مقایسه مطالعه حاضر با سایر مطالعه - های بیانگر آن است که نانوذرات اکسیدآهن به‌دست آمده با استفاده از عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در راستای سایر مطالعه‌های است و این روش را می‌توان یک روش مؤثر و کارآمد، بدون استفاده از عوامل شیمیایی احیاء کننده و پایدارکننده برای سنتز نانوذرات اکسیدآهن دانست و به‌نظر می‌رسد، به‌دلیل احیاء یون‌های فلزی توسط آنزیم‌های اکسیداسیون احیاء و سایر ترکیب‌های احیاءکننده در عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، نانوذرات اکسیدآهن سنتز گردیده است. در سال‌های اخیر، مقاومت‌به دارو یک

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

نگرانی جهانی است زیرا مصرف نامناسب و غیرمنطقی داروهای ضدمیکروبی، شرایط مناسبی را برای ایجاد میکروب‌های مقاوم به دارو، فراهم می‌کند. عفونت‌هایی که به‌علت میکروارگانیسم-های مقاوم ایجاد می‌شوند به درمان‌های معمول پاسخ نمی-دهند و این امر منجربه طولانی شدن بیماری و افزایش خطر مرگ می‌گردد. نانو مواد به‌علت خصوصیت‌های ویژه‌ای چون بزرگ بودن نسبت سطح به حجم و فعالیت واکنشی بالا از اهمیت زیادی برخوردار هستند. نانوذرات در شرایط نامساعد مانند دمای بالای استریلیزاسیون، که آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم غیرفعال می‌شوند، فعال هستند. از طرفی دیگر اثبات شده است نانوذرات اکسید فلزی هم‌چون آهن ،منیزیوم و روی در مقایسه با نانوذرات نقره و مس از سمیت کم‌تری در بدن برخوردارند اما به‌دلیل داشتن فعالیت ضدباکتریایی مؤثر برعلیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی و هم‌چنین کم هزینه بودن، این نانوذرات می‌توانند کاندید انتخابی مناسب جهت مقابله و پیش‌گیری از عوامل بیماریزا باشند (۸،۹). نتایج حاصل از ارزیابی اثرهای ضدمیکروبی مطالعه حاضر بیانگر آن است که نانوذرات سبز اثرهای ضدمیکروبی مؤثری را برعلیه *استافیلوکوکوس آرئوس* نشان داده درحالی‌که برعلیه باکتری *سودوموناس آئروجینوزا* فاقد اثرهای مهاری است. با وجودی که اثرهای کشندگی نانوذرات سنتز شده سبز به اندازه کنترل مثبت نیست، ولی با افزایش غلظت، اثرکشندگی نانو ذرات بر علیه باکتری افزایش یافته است. پس در یک دیدگاه کلی نتایج حاصله حاکی از آن است که غلظت نانوذرات اکسیدآهن سنتز شده با استفاده از عصاره سیتوپلاسمی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* با خاصیت ضدمیکروبی آن نسبت مستقیم دارد. به‌طوری‌که در غلظت‌های بالاتر نانوذرات اثرضدمیکروبی بیش‌تری را بر علیه باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* از خود نشان داده است. در مطالعه انجام شده توسط ابراهیمی‌نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز نشان داده شد که، نانوذرات اکسیدآهن مانند یک شمشیر دو لبه عمل کرده و در غلظت‌های بالا اثرهای مخرب-شان بر روی میکروارگانیسم‌ها بیش‌تر از اثرهای مفیدشان است و میزان افزایش رشد میکروبی وابسته به غلظت نانوذرات بوده و در غلظت‌های اندک، نانوذرات می‌توانند به‌عنوان منابعی جهت تأمین یون آهن مورد نیاز میکروارگانیسم عمل کرده و رشد را بهبود بخشند و با افزایش غلظت نانوذرات اثرهای ممانعت کننده از رشد پدیدار می‌شوند (۱۰). در مطالعه ما مشخص شد که بسته به نوع باکتری‌ها اثرهای مهاری نانوذرات متفاوت بوده و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس آرئوس* نسبت‌به باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروجینوزا* حساسیت بیش‌تری ازخود نشان داده است. در این راستا رایی و همکاران درسال ۲۰۰۸ طی تحقیقی نشان دادند حساسیت باکتری‌ها نسبت‌به نانوذرات فلزات مختلف وابسته‌به گونه باکتری تولید کننده نانوذرات، سایز، شکل و غلظت نانوذرات و نوع نانوذرات تولیدی و نیز شرایط فیزیکوشیمیایی محیط واکنش است (۱۰). از آن‌جائی‌که باکتری‌های گرم مثبت دارای دیواره سلولی با محتوی پپتیدوگلیکان چند لایه و ضخیم هستند در حالی‌که باکتری‌های گرم منفی دارای پپتیدوگلیکان نازک‌تر اما غشائ خارجی آن‌ها دارای لیپو پلی‌ساکارید است که نفوذپذیری کمی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها و عوامل ضدمیکروبی دارد. به‌همین دلیل مقاومت باکتری‌های گرم منفی بیش‌تر از باکتری‌های گرم مثبت است (۱۲،۱۳). اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذرات، به‌صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذرات عمل کرده و به دنبال اتصال نانوذرات به سطح سلول باعث مرگ سلول می-شود. در نهایت تعداد زیادی از این تماس‌ها منجر به اکسید شدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها و مرگ سریع آن‌ها می-شوند (۱۳)۰البته این امکان وجود دارد که برخی باکتری‌ها ی گرم مثبت در برابر تنش حاصله اسپور مقاوم تشکیل دهند که در این صورت امکان حذف آن‌ها با هر ترکیب شیمیایی و غیرشیمیایی سخت تر خواهد شد. احتمال داده می‌شود یون-های آزاد شده از نانو مواد با گروه‌های تیول پروتئین‌های سطحی سلول‌های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشائ سلول‌های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره را به عهده دارند؛ که نانو مواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیر فعال شدن و نفوذناپذیری غشاء می‌شوند. در مطالعه ما مشخص شد نانوذرات اکسیدآهن بر اساس نسبت سطح به حجم، با اندازه میانگین ۱۵-۱۰ نانومتر و شکل کروی خود توانستند خاصیت ضدباکتریایی متفاوتی را نشان دهند. در همین راستا مونتیرو و همکاران در سال

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

۲۰۰۹ در بررسی تأثیرهایی آنتی باکتریال نانوذرات نقره بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* و *اشرشیاکلای بیان نمودند که* نانوذرات نقره با اندازه ۱۴ نانومتر و به شکل کروی قادر به حذف درصد بالایی از باکتری‌های مذکور هستند (۱۴). کاواتاو همکاران در سال ۲۰۰۹ عنوان کردند که، کبالت و آهن در مقایسه با سایر نانوذرات اکسید فلزی مثل نقره دارای اثرهای زیست سازگاری بهتری هستند و نیز قدرت اثرگذاری مناسبی را از خود نشان می‌دهند لذا یک عامل انتخابی مناسب برای کاربردی نمودن این نانوذرات جهت مقابله و پیش‌گیری از این عوامل بیماری‌زا هستند (۸).

نتیجه‌گیری

مقایسه پژوهش حاضر با سایر پژوهش¬ها بیانگر این است که با کاهش اندازه نانوذرات آهن شاهد اثر ضدمیکروبی بهتری هستیم و این می تواند به‌احتمال به-دلیل افزایش سطح به حجم نانوذرات اکسیدآهن و در دسترس بودن سطح بیش‌تری جهت واکنش با پروتئین¬های باکتریایی و یا به‌دلیل قابلیت نفوذ بیش‌تر نانوذرات کوچک‌تر به درون سلول باکتری باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که به‌طور کلی سنتز نانوذرات مبتنی‌بر شیمی سبز را می¬توان یک روش ایمن، ساده و دوست¬دار با محیط زیست معرفی نمود و با انجام

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]

منابع

1. Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, SarkarG, Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. Appl Microbiol Biotechnol. 2006; 69(5): 485–92.

2. Athirah Nur A. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles on Multi Drug Resistant *PseudomonasAeruginosa*. World Acade of Science, Engineering & Technology (WASET).2012; 6 (7): 258-261.

3. Wang Z, Zhang L, Tan T. High cell density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* GS_2 for selenium-enriched yeast production. Korean J Chem Engin. 2010; 27(6): 1836-1840.

4. Omidi B, Hashemi J, Bayat M, Larijani K. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *Lactobacillus fermentum*. Bull. Env. Pharmacol Life Sci. 2014; 3(12): 186-192.

5. Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. Food Chem. 2009;114 (4): 1173–1182.

6. Mollazadeh Moghaddam K. An introduction to microbial metal nanoparticle preparation method. J Young Invest, 2010; 19(19): 18-24.

7. Hoag GE, Collins JB, Holcomb JL, Hoag JR, Nadagouda MN, Varma RS. Degradation of bromothymol blue by greener nanoscale zero valent iron synthesized using tea polyphenols. J Mater Chem. 2009; 19(45): 8671–8677.

8. Kawata K, Osawa M, Okabe S. In vitro toxicity of silver nanoparticles at non-cytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. Environ Sci Technol. 2009; 43(15): 6046-6051.

9- Tayel AA, El-Tras WF, Moussa S ,El-Baz AF, Mahrous H, Salem MF, et al. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. J Food Saf. 2011;31(2):211-8.

10. Ebrahiminezhad A, Davaran S, Rasoul-Amini S, Barar J, Moghadam M, Ghasemi Y. Synthesis characterization and anti-*Listeria monocytogenes* effect of amino acid coated magnetite nanoparticles. Curr Nanosci. 2012; 8(6): 868-874.

11. Rai M, Yadave A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv. 2009; (27)1: 76-83.

12. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine. 2007; 3(1): 95-101.

13. Feng Q, Wu J, Chen G, Cui F, Kim T, Kim J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. J Biomed Mater Res. 2000; 4(52): 662-668.

14. Moniteiro DR, Gorup LF,Takamiya AS, Ruvollo-Filho AC, Camargo-Barbosa DB. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effects of medical devices containing silver. Int J Antimicrob. 2009; 2(34): 103-110.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-03-19]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.36.1.5]