بررسی خواص ضد میکروبی نانوسیال برپایه اسانس زیره سبز(CUMINUM CYMINUM) و اکسید روی (ZnO)

آزاده خیابانی[1] ، علی محمدی ثانی۲*

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران،

[2]هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی ،گروه علوم وصنایع غذایی،واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

چکیده

ترکیبات مشتق شده از گیاهان قرن ها است که به دلیل داشتن فعالیت ضد میکروبی استفاده های دارویی داشته اند. در این پژوهش اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاه دارویی زیره سبز که جایگاه مهمی در بین داروهای سنتی ایران دارد، در ترکیب با نانو ذره اکسید روی، روی تعدادی از پاتوژن های غذایی (باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا و اشرشیاکلی) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی این نانو سیال بر روی پاتوژن های شاخص غذایی به دو روش دیسک دیفیوژن و میکرودیلوشن براث و مقایسه نتایج آن با اسانس زیره سبز به عنوان شاهد انجام گرفت. نتایج بدست آمده از قطر هاله مهار رشد برای نانو سیال حاوی ZnO (۱۲-۳۱ mm) در مقایسه با نمونه فاقد ZnO می باشد. غلظت های MIC برای باکتری های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا و اشرشیا کلی به ترتیب برابر با: ۰/۰۳۸، ۰/۰۷۷، ۰/۱۵۵ و ۰/۱۸۷ و MBC برابر : ۰/۰۹۳، ۰/۱۲۴، ۰/۲۴۹ و ۰/۳۱۲می باشد، نتایج حاصل تایید کننده خاصیت ضد میکروبی نانو سیال حاصل از این گیاه بر روی پاتوژن های مورد آزمون بوده و اینکه می توان از این نانو سیال در صنعت غذا به عنوان نگهدارنده طبیعی و جایگزین نگهدارنده های شیمیایی استفاده نمود.

واژه های کلیدی: نانو سیال، زیره سبز، اثر ضد میکروبی، اکسید روی، نانو ذره

* مسوول مکاتبات : mohamadisani@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه با توجه به افزایش سطح آگاهی و نگرانی های عمومی در خصوص اثرات مضر نگهدارنده های شیمیایی غذایی، استفاده از نگهدارنده های طبیعی رشد روزافزونی داشته است(۱). اخیرا فرآورده هایی از گیاهان دارویی مانند اسانس ها و عصاره ها از نظر اثرات ضد میکروبی شان مورد بررسی قرارگرفته اند و مشخص شده که اغلب دارای خواص ضد قارچی، ضد انگل، ضد باکتری و ضد ویروس می باشند که می توان از این فرآورده ها به عنوان جایگزین طبیعی برای آنتی بیوتیک ها استفاده نمود(۲) . اسانس ها مایعات معطری هستند که از اجزای مختلف گیاه به دست می آیند . خواص ضد میکروبی اسانس ها سال هاست که شناخته شده است و امروزه رویکرد عموم مردم و سازمان های ملی و بین المللی مسئول در زمینه بهداشت مواد غذایی، استفاده از این عوامل طبیعی به جای مواد شیمیایی بوده است. علی رغم همه مطالعات که موجب شده بیشتر اسانس ها به عنوان طعم دهنده و ضد میکروب تأیید شوند برخی مطالعات نشانگر ایجاد تحریک و سمیت آنها می باشد، که علت آن شاید قابلیت حل کردن چربی غشاء باشد(۳) .

گیاه زیره سبز با نام علمی Cuminum cyminum یک گیاه آروماتیک از خانواده چتریان می باشد. این گیاه، بومی خاورمیانه به ویژه جنوب شرقی ایران است از ترکیبات مهم و عمده آن می توان به سابینن، فلاونوئیدها، پلی ساکاریدها ،کومارین، کومین آلدئید، پینن و ترپینن اشاره نمود(۴). زیره سبز دارای خواص آنتی باکتریایی ، آنتی اکسیدانی و ضد قارچی است که می توان به عنوان ماده افزودنی در مواد غذایی و دارویی از آن استفاده نمود.از زیره سبز می توان به عنوان یک جزء فعال در بسته بندی مواد غذایی با خاصیت ضد میکروبی بهره برد(۵). انکپسولاسیون اسانس زیره سبز توسط نانو ژل های مختلف نیز می تواند به افزایش خاصیت ضد میکروبی این اسانس کمک کند(۶).

علم و تکنولوژی نانو در طول چند سال اخیر فصل خارق العاده ای را از نظر گسترش و هیجان تجربه کرده است. اکسید روی ترکیبی نیمه رسانا با گاف نواری پهن حدود ۳/۳ eV و ساختار کریستالی ورتزایت از معدود موادی است که از یک سوبا دارا بودن خواص نیمه رسانایی و پیرو الکتریکی واز سویی دیگر تنوع چشم گیر در تشکیل نانو ساختارها کانون توجه محققان قرار گرفته است(۷). نانوذرات به دلیل قدرت نفوذ بسیار بالا و دارا بودن خواص ضد میکروبی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. نانو ذرات تولید شده توسط فرآیند سل- ژل با رفتار فتو کاتالیستی خود می توانند منجر به تولید انواع اکسیژن فعال شوند که توانایی تخریب ویروس ها را داشته و همچنین قادر به از بین بردن غشای سلول باکتریایی می باشند(۸). نانو ذرات ZnO خواص ضد میکروبی بسیار کارآمدی را بر روی بسیاری از میکروب های شاخص بیماری زا از خود نشان داده اند. این نانو ذرات علاوه بر خاصیت آنتی باکتریایی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی نیز می باشند(۹) .در بررسی ریخت شناسی نانو ذرات ZNO توسط XRD و SAED و تعیین ساختار شش ضلعی کریستال ذرات مشخص شده که ساختارهای گل مانند(۱۰) و ساختارهای نانو میله ای کوچکتر خاصیت آنتی باکتریالی بیشتری نسبت به سایر ساختارها بر روی پاتوژن های گرم منفی و گرم مثبت دارند(۱۱) . به منظور استفاده بهینه از قابلیت های ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی و توجه به این که تاکنون اثرات ضدباکتریایی گیاه مذکور آغشته به این نانو ذره مورد ارزیابی قرار نگرفته است ، در همین راستا هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد باکتریایی نانو سیال زیره سبز بر روی پاتوژن های غذایی (باسیلوس سرئوس ، استافیلوکوکوس اورئوس ، سالمونلا انتریکا و اشرشیاکلی) بود.

۲- مواد وروش ها

این مطالعه در شرایط In vitro در سه تکرار روی دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس(PTCC1431) و باسیلوس سرئوس(PTCC1015) و دو باکتری گرم منفی سالمونلا انتریکا(PTCC1709) و اشرشیاکلی (PTCC1399) در آزمایشگاه تحقیقاتی صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان در تابستان ۱۳۹۴ انجام گرفت .

محیط کشت مولر هینتون آگار با pH = ۷/۴ ±۰/۲ در۳۷°C از شرکت مرک آلمان، محیط کشت مولر هینتون براث با pH = ۷/۳ ±۰/۱ در۲۵°C از شرکت Liofilchem ایتالیا ، دیسک های کاغذی بلانک از شرکت پادتن طب ، میکروپلیت ۹۶ خانه ای استریل محصول شرکت(SPL) کره، دیسک آنتی بیوتیک جنتامایسین از شرکت پادتن طب، معرفTTC (2,3,5- triphenyl tetrazolium chloride) از شرکت مرک آلمان وحلالDMSO (دی متیل سولفوکسید) با مولاریته gr/ml

۷۸/۱۳ از شرکت مرک آلمان تهیه شد. اسانس زیره سبز به صورت آماده از شرکت گل قطره توس خریداری شد.

۲-۱- تولید نانو ذره اکسید روی

جهت سنتز و تولید نانو ذرات اکسید روی به روش سل-ژل، ابتدا ۰/۲مول تترا کلرید روی با متانول تحت هم زدن شدید توسط همزن مغناطیسی به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شدند. تا محلولی سفید و بدون تیرگی بدست آید، در این حالت بایستی pH آن تقریبا برابر پنج باشد. سپس برای تهیه NaOH ۱ مولار، ۲۲ گرم NaOH را وزن کرده و در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر می ریزیم و با آب مقطر به حجم می رسانیم. در مرحله بعد محلول سفید رنگ را با NaOH(۱ مولار) تیتر می کنیم تا pH آن تغییر کند و از شرایط اسیدیpH=۵ به شرایط قلیایی با pH هایی به ترتیب به (pH=۸-۹-۱۰) تحت همزدن شدید به ۳۰۰rpm برسد. جهت جلوگیری از تبخیر متانول درب بشر را با سلفون می پوشانیم، محلول سفید شیری(ژل) را به مدت ۱ ساعت بر روی یک همزن مغناطیسی قرار دادیم تا هم زده شود. سپس محلول به دست آمده در دمای ۲۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت حرارت دهی شده و پودر نانو ZnO تهیه می گردد.

۲-۲- آماده سازی نانو سیال

مقدار مشخص از نانو ذره اکسید روی (ZnO) که طی فرآیند سل – ژل تولید شد را وزن و به اسانس زیره سبز وحلال DMSO مخلوط شده به نسبت ۳ به ۱ (اسانس ۳cc و حلال cc DMSO ۱) اضافه می شود. برای تهیه سوسپانسیون نهایی ترکیب بدست آمده توسط دستگاه سونیکاتور صوت دهی و پراکندگی مورد نظر حاصل می شود.

۲-۳- آماده سازی سویه های میکروبی

برای تهیه کشت ۲۴ ساعته از کشت مادر توسط لوپ استریل مقداری برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار به حالت خطی کشت داده می شود و به حالت وارونه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده می شوند.

۲-۴- تهیه سوسپانیسون نیم مک فارلند

۰/۵میلی لیتر از کلرید باریم (BaCl2) ۰/۰۴۸ mol/l را به ۹۹/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۰/۱۸ mol/l اضافه کرده و با هم زدن مداوم سوسپانسیون بدست آمد. جذب آن در۶۲۵ نانومتر بین ۰/۰۸ تا۰/۱۳ می باشد.

۲-۵- تهیه سوسپانیسون میکروبی معادل نیم مک فارلند

از محیط کشت حاوی باکتری مقداری با سوآپ استریل برداشته و درون لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر سدیم کلراید استریل ریخته می شود. آنقدر باکتری اضافه می گردد تا کدورت محلول باکتری و مک فارلند یکسان شود. به عبارت دیگر سوسپانسیون تولیدی بایستی حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml باشد.

۲-۶- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی نانو سیال ها

بررسی فعالیت ضد میکروبی نانو سیال ها با استفاده از روش میکروبراث دایلوشن و دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۷- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC)

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. ابتدا ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث در همه خانه ها ریخته شد، سپس به اولین چاهک هر ستون۱۰۰ میکرولیتر نانو سیال اضافه گردید و از چاهک دوم به سوم و به همین ترتیب تا چاهک شماره ۱۰ رقیق شدند. بطوریکه غلظت نانو سیال از ۰/۳۷۵ %v/v به ۰/۰۰۰۵ %v/v و غلظت نانو ذره از ۵۰۰ppm به ۱ppm رسید . در نهایت به تمام چاهک ها ۵ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی($۱/۵\times۱۰^{۶}$) اضافه گردید. در یک ستون کنترل منفی که حاوی DMSO و محیط کشت و میکروب بودو در ستون دیگر کنترل مثبت آزمون انجام شد که حاوی جنتامایسن و محیط کشت و میکروب بود. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به تمام چاهک های میکروپلیت معرف TTC به مقدار ۲۰ میکرولیتر اضافه شد و بعد از طی ۳ ساعت از انکوباتور خارج شدند. اولین خانه ای که در آن کدورتی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین می شود. طبق تعریف آخرین غلظتی که رنگ قرمز تترازولیوم را به خود گرفته بود به عنوان MIC برای میکروب مورد نظر، در نظر گرفته شد(۱۲).

۲-۸- تعیین حداقل غلظت کشندگی(MBC)

از خانه هایی که در آنها کدورتی مشاهده نشد، ۱۰ میکرولیتر برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت خطی داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. غلظتی از ماده مورد نظر که در آن رشدی دیده نشود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای میکروب مورد نظر در نظر گرفته می شود(۱۲) .

۲-۹- روش دیسک دیفیوژن

در این روش ابتدا از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند بر روی محیط کشت مولر هینون آگار کشت چمنی انجام شد. روش آماده سازی به این صورت بود که مقدار ۱۵ میکرولیتر از نانو سیال و همچنین ۱۵ میکرولیتر DMSO، ۱۵ میکرولیتر اسانس به همراه DMSO که به نسبت ۱:۳ تهیه شد و به دیسک های بلانک تزریق گردید و دیسک جنتامایسن که آماده می باشد روی محیط کشت قرار داده شد. پس از طی مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با استفاده از خط کش دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری گردید. قطر هاله مهار رشد میکروارگانیسم ها برای نانوسیال زیره سبز بر پایه اکسید روی با غلظت ۰/۷۵ %v/v و ۱۰۰۰ ppm نانو و برای اسانس زیره سبز با غلظت ۰/۷۵ %v/v در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین و حلال DMSO اندازه گیری شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج بدست آمده در سه تکرار نشان داد (جدول شماره۱) به طور میانگین نانو سیال زیره سبز بر پایه اکسید روی، روی باسیلوس سرئوس در غلظت ۰/۰۳۸ %v/v و نانو ذره ۵۲ ppm (p<0/01) ، روی استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۰/۰۷۷ %v/v و نانو ذره ۱۲۵ ppm (p<0/01), ، روی سالمونلا انتریکا ۰/۱۵۵ %v/v در غلظت و نانو ذره ۲۰۸ ppm (p<0/01) و اشرشیا کلی در غلظت ۰/۱۸۷ %v/v و نانو ذره ۲۵۰ ppm (p<0/01) ،دارای MIC بود .نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها نشان داد نانو سیال زیره سبز بر پایه اکسید روی بر روی باکتری باسیلوس سرئوس دارای بیشترین اثر بازدارندگی می باشد و کمترین اثر بازدارندگی مربوط به باکتری اشرشیا کلی است ، اثر این نانو سیال بر همه باکتری ها در سطح ۱٪ معنی دار می باشد.

این نانو سیال روی باسیلوس سرئوس در غلظت ۰/۰۹۳ %v/v و نانو ذره ۱۲۵ ppm (p<0/01) ، روی استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۰/۱۲۴ %v/v و نانو ذره ۱۶۶ppm (p<0/01), ، روی سالمونلاانتریکا در غلظت ۰/۲۴۹ %v/v و نانو ذره ppm ۳۳۳ (p<0/01) و اشرشیا کلی در غلظت ۰/۳۱۲ %v/v و نانو ذره ppm ۴۱۶ (p<0/01) ، دارای MBC بود . نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها نشان داد نانو سیال زیره سبز بر پایه اکسید روی بر روی باکتری باسیلوس سرئوس دارای بیشترین اثر کشندگی می باشد و کمترین اثر کشندگی مربوط به باکتری اشرشیا کلی است ، اثر این نانو سیال بر همه باکتری ها در سطح ۱٪ معنی دار می باشد.

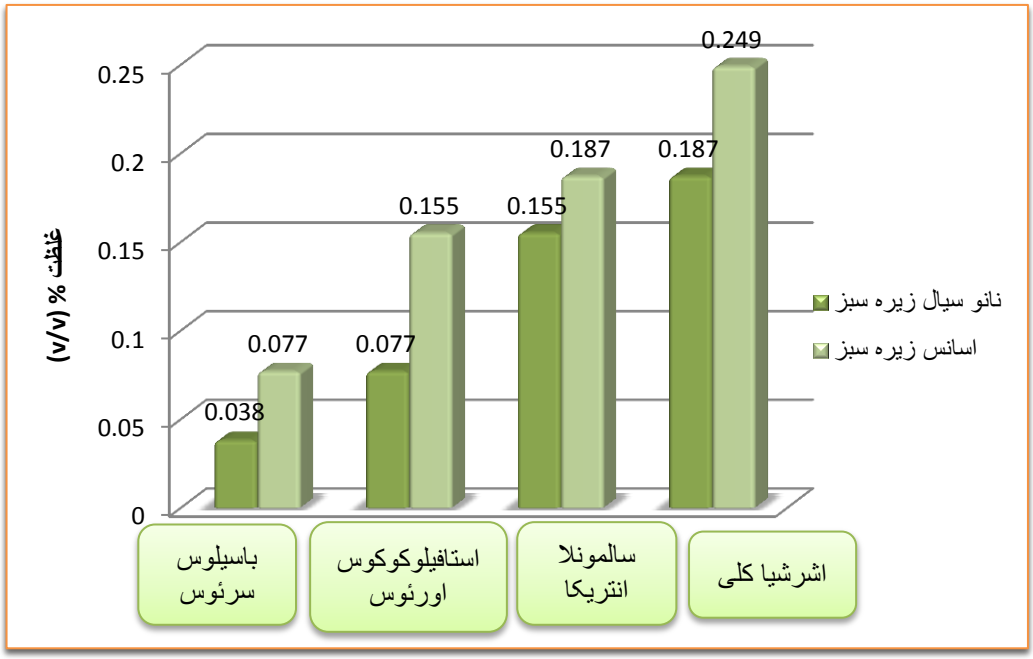
اسانس زیره سبز روی باسیلوس سرئوس در غلظت ۰/۰۷۷ %v/v (p<0/01), ،روی استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۰/۱۵۵ %v/v (p<0/01) ، سالمونلا انتریکا در غلظت ۰/۱۸۷ %v/v (p<0/01), و اشرشیا کلی در غلظت ۰/۲۴۹ %v/v (p<0/01), ،دارای MIC بود نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها نشان داد اسانس زیره سبز روی باکتری باسیلوس سرئوس دارای بیشترین اثر بازدارندگی می باشد و کمترین اثر بازدارندگی مربوط به باکتری اشرشیا کلی است ، اثر این اسانس بر همه باکتری ها در سطح ۱٪ معنی دار می باشد. این اسانس روی باسیلوس سرئوس در غلظت ۰/۱۵۵ %v/v (p<0/01), و روی استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۰/۳۱۲ %v/v (p<0/01), ، روی سالمونلا انتریکا و اشرشیا کلی در غلظت ۰/۳۷۵ %v/v (p<0/01), دارای MBC بود. نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها نشان داد اسانس زیره سبز روی باکتری باسیلوس سرئوس دارای بیشترین اثرکشندگی می باشد و کمترین اثر کشندگی مربوط به باکتری های سالمونلا انتریکا و اشرشیا کلی است ، اثر این اسانس بر همه باکتری ها در سطح ۱٪ معنی دار می باشد.

در روش دیسک دیفیوژن مقایسه قطر هاله مهار رشد ، نتایج بدست آمده در سه تکرار نشان داد (جدول شماره ۲) که به طور میانگین در همه میکرو ارگانیسم های مورد آزمون بیشترین قطر مربوط به آنتی بیوتیک جنتامایسین می باشد، حلال DMSO بدون تاثیر بوده و هاله مهار رشد نانو سیال زیره سبز نسبت به اسانس زیره سبز بیشتر می باشد. نتایج جدول تجزیه واریانس و

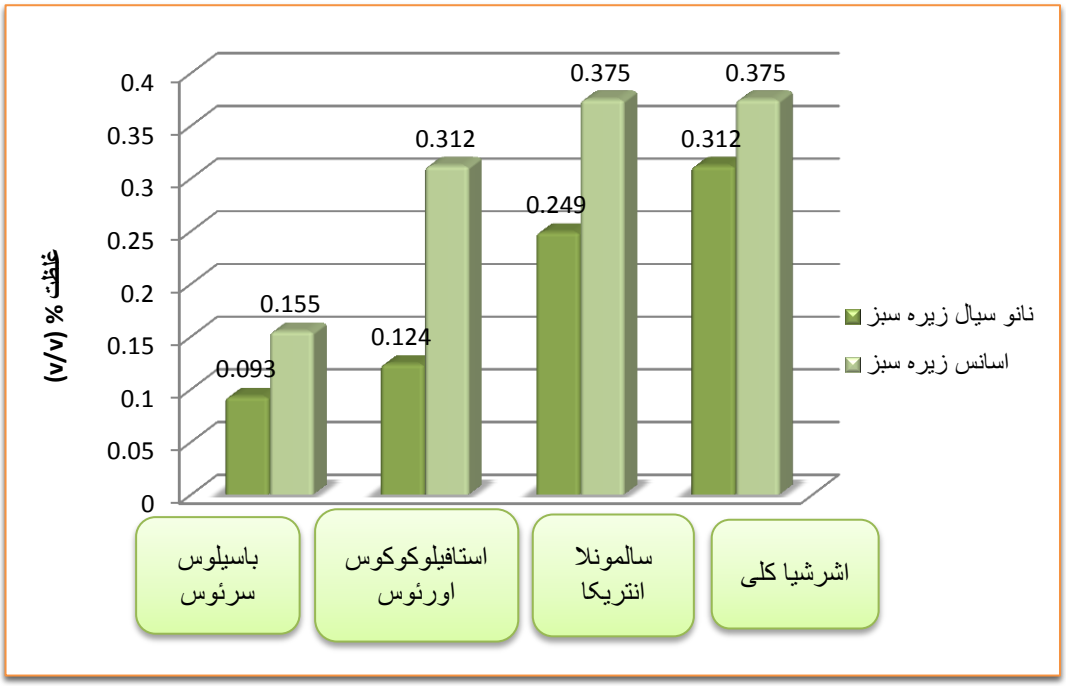
مقایسه میانگین ها نشان داد اثر این نانو سیال و اسانس بر همه باکتری ها در سطح ۱٪ ,(p<0/01) معنی دار می باشد.

جدول ۱- حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) (%v/v) نانو سیال زیره سبز بر پایه ZnO و اسانس زیره سبز به روش میکروبراث دایلوشن

سویه های میکروبی	نانو سیال زیره سبز بر پایه ZnO		اسانس زیره سبز	
	MIC	MBC	MIC	MBC
	غلظت اسانس غلظت نانو ذره (ppm)	غلظت اسانس غلظت نانو ذره (ppm)	غلظت اسانس	غلظت اسانس
باسیلوس سرئوس	۰/۰۳۸ ۵۲	۰/۰۹۳ ۱۲۵	۰/۰۷۷	۰/۱۵۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۰۷۷ ۱۲۵	۰/۱۲۴ ۱۶۶	۰/۱۵۵	۰/۳۱۲
سالمونلا انتریکا	۰/۱۵۵ ۲۰۸	۰/۲۴۹ ۳۳۳	۰/۱۸۷	۰/۳۷۵
اشرشیا کلی	۰/۱۸۷ ۲۵۰	۰/۳۱۲ ۴۱۶	۰/۲۴۹	۰/۳۷۵



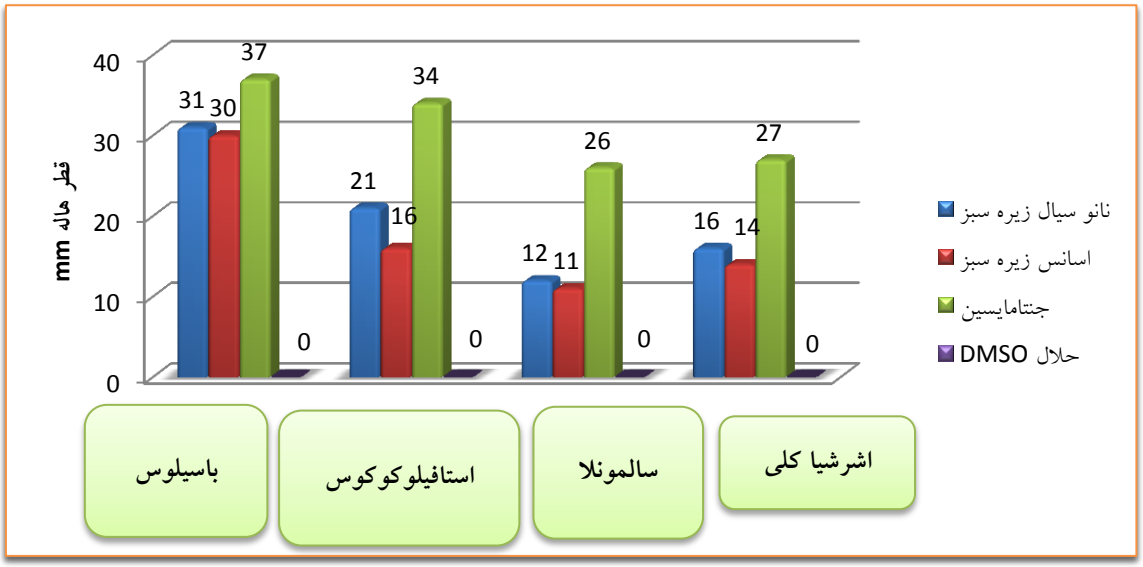
شکل ۱- حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) (%v/v) نانو سیال زیره سبز بر پایه ZnO و اسانس زیره سبز به روش میکروبراث دایلوشن



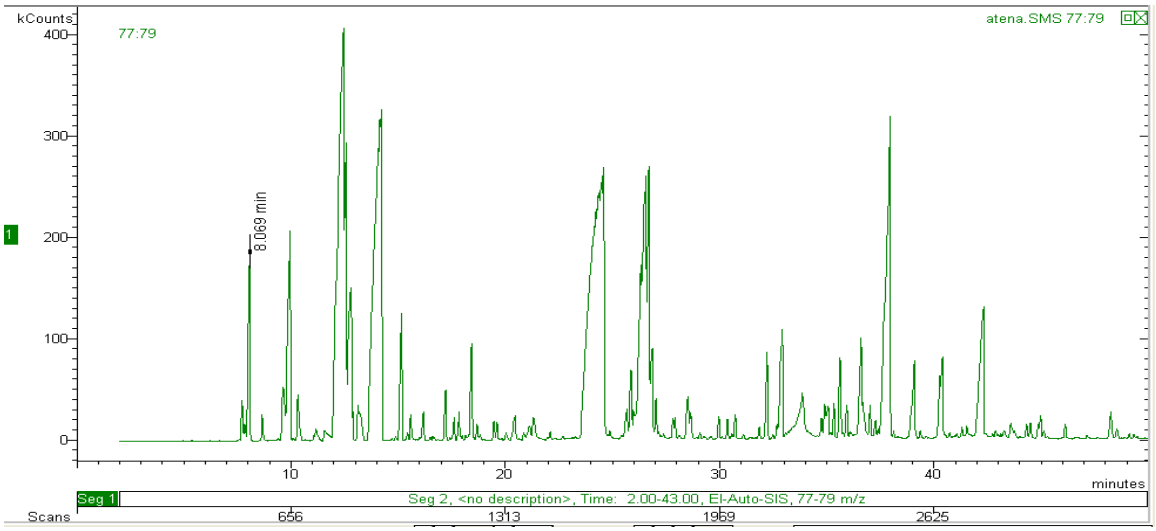
شکل ۲- حداقل غلظت کشندگی (MBC) (%v/v) نانو سیال زیره سبز بر پایه ZnO و اسانس زیره سبز به روش میکروبراث دایلوشن

جدول ۲- قطر هاله مهار رشد میکروارگانیسم ها برای نانوسیال زیره سبز بر پایه اکسید روی با غلظت %v/v ۰/۷۵ و ۱۰۰۰ppm نانو ذره به روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین

موارد آزمون شده	اشرشیا کلی	سالمونلا انتریکا	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس
	قطرهاله mm	قطرهاله mm	قطرهاله mm	قطرهاله mm
نانو سیال زیره سبز	۱۶	۱۲	۲۱	۳۱
اسانس زیره سبز	۱۴	۱۱	۱۶	۳۰
جنتامایسین	۲۷	۲۶	۳۴	۳۷
حلال DMSO	۰	۰	۰	۰



شکل ۳- قطر هاله مهار رشد میکروارگانیسم ها برای نانوسیال زیره سبز بر پایه اکسید روی با غلظت ۰/۷۵ %v/v و ۱۰۰۰ppm نانو ذره به روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین



شکل ۴- کروماتوگرام ترکیبات تشکیل دهنده اسانس زیره سبز(CUMINUM CYMINUM)

جدول ۳- آنالیز اسانس دانه زیره سبز با استفاده ازGC/MS *

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری	درصد
بتاپینن	۱۳/۰۶	۹۸۰	۷/۷۲
میرسن	۱۳/۸۰	۹۹۱	۱/۱۰
پاراسیمن	۱۵/۶۰	۱۰۲۷	۸/۵۵
۱و ۸ سینئول	۱۵/۸۰	۱۰۳۱	۰/۸۴
گاماترپینن	۱۷/۳۸	۱۰۶۱	۱۲/۹۴
سس دی هیدرو کارون	۲۳/۹۹	۱۱۹۵	۴/۴۵
کومین آلدهید	۲۶/۴۵	۱۲۴۷	۲۹/۰۲
آلفا ترپینن	۲۸/۴۰	۱۲۸۹	۲۰/۷۰
گاما ترپینن ۳ ال	۲۹/۱۱	۱۳۰۴	۸/۹۰

*در این جدول به ترکیبات اساسی از لحاظ دارا بودن بیشترین درصد اشاره شده و از ذکر ترکیبات جزئی پرهیز شده است.

۴- نتیجه گیری

در مورد اثر ضد میکروبی اسانس گیا ه زیره سبز پژوهش های زیادی صورت گرفته است ، مطالعه ای نشان داد که اسانس زیره سبز اثر ضد میکروبی قابل قبولی را نسبت به سویه های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است(۱۳). لاکوبلیس و همکاران نشان دادند حضورمیزان بالای کومین آلدهید(حدود ۱۶/۱ درصد) در اسانس زیره سبز میتواند دارای فعالیت ضد باکتریایی در مقابل برخی از باکتری های گرم منفی و مثبت باشد(۱۴) .درپژوهشی دیگر، اثر ضد میکروبی اسانس زیره سبز بر علیه باکتری های اشریشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم بررسی و اثبات شده است(۱۵). سلیمانی و همکاران نشان دادند اسانس زیره سبز دارای اثرات ضد باکتریایی است که در مورد سوش های مختلف اثرات متفاوتی دارد در این مطالعه امکان استفاده از زیره سبز به عنوان یک ماده آنتی باکتریال به ویژه در موارد مقاومت دارویی مطرح شده است ، همچنین این اسانس دارای اثرات سینرژیستی با چندین آنتی بیوتیک از جمله جنتامیسین است و می تواند اثر این داروها را افزایش دهد و امکان استفاده آن را به عنوان مکمل دارویی مطرح می نماید(۱۶).در مطالعه ای که توسط میر حسینی و همکاران اثر سوسپانسیون اکسید روی در برابر رشد لیستریا منوسایتوژنز، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس ارئوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب در ۲۲ °C و ۴ °C بررسی شده است، نتایج نشان داد فعالیت باکتریوسیدال نانوذره اکسید روی وابسته به درجه حرارت آزمایش، غلظت اکسید روی و نوع میکروارگانیسم است، اکسید روی در دمای۲۲ °C مؤثرتر از دمای ۴ °C بود . این مطالعه نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی به عنوان عوامل ضد باکتری در سیستم های غذا و دارو ممکن است در مهار پاتوژنهای خاص مؤثر باشد، در این تحقیق باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان دادند(۱۷) .به علت اینکه باکتری های گرم منفی دارای یک دیواره خارجی اضافه هستند(۱۸). اثرات مهاری مشابه برای نانوذرات اکسید روی بر کاهش استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیاکلی در نمونه های شیر مشاهده شده است(۱۹). مطالعه ای دیگر نشان داد ، نانو ذرات اکسید روی خاصیت ضد میکروبی در مقابل محدوده وسیعی از باکتری ها هم از نوع گرم مثبت و نیز گرم منفی را دارند(۲۰). گزارش هایی از اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی نانو مواد وجود دارد چرا که نانو مواد از جمله اکسید فلزات سنگین، تمایل بالایی به میان کنش با مولکول های زیستی دارند و سبب غیرفعال شدن آنها می گردند و در نهایت ویروس یا باکتری را از بین می برند(۲۱،۲۲و۲۳). نتایج حاصل از پژوهش انجام شده، تایید کننده خاصیت ضد میکروبی نانو سیال حاصل از گیاه زیره سبز بر روی پاتوژن های غذایی گرم مثبت (باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس) و گرم منفی (سالمونلا انتریکا و اشرشیاکلی) بوده (جدول ۱) . در شکل های شماره ۱ و ۲ میزان تاثیر نانو ذره اکسید روی بر افزایش قدرت آنتی باکتریالی اسانس زیره سبز نشان داده شده است. در مقایسه اثر بازدارندگی نانو سیال مورد آزمون بیشترین مقاومت مربوط به باکتری های گرم منفی و به ویژه اشرشیا کلی بود و کمترین مقاومت مربوط به باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس می باشد (جدول ۱). مقایسه اثر کشندگی نانو سیال زیره سبز نشان دهنده بیشترین مقاومت در باکتری های گرم منفی و سویه اشرشیا کلی است و کمترین مقاومت در گروه گرم مثبت و مربوط به باسیلوس سرئوس می باشد(جدول ۲). تمام سویه های میکروبی مورد آزمون مقاومت کمتری در برابر نانو سیال در مقایسه با اسانس داشتند که این میزان در جدول ۲ و شکل شماره ۳ نشان داده شده است .

به طور کلی اعتقاد بر این است که نانومواد یون هایی را آزاد می کنند که با گروه تیول(SH-)پروتئین های موجود بر سطح سلول باکتری ها واکنش می دهند .این قبیل پروتئین ها از غشاء سلولی باکتری به سمت بیرون برآمدگی داشته و موجب انتقال مواد غذایی از دیواره سلول می شوند .نانومواد این پروتئین ها را غیرفعال کرده، بنابراین نفوذپذیری غشاء را کاهش داده و سرانجام باعث مرگ سلولی می شود(۲۴و۲۵). همچنین نانوذرات اکسید روی باعث تخریب چربی و پروتئین غشای سلولی باکتری می شوند، و در نتیجه باعث نشت محتویات داخل سلولی و در نهایت مرگ سلول های باکتریایی می شوند(۲۶و۲۷).علاوه بر این، تولید پراکسید هیدروژن و یون Zn^{+2} به عنوان مکانیسم کلیدی اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است(۲۸،۲۹و۳۰).

بنابراین استفاده همزمان از نانو ذره ZnO با یکی از محافظ های غذایی، مانند اسانس های گیاهی می تواند به عنوان یک رویکرد مؤثر در افزایش خاصیت آنتی باکتریایی اسانس ها و نانو ذرات

اکسید روی و غیرفعال کردن میکروب ها به شمار آید. با توجه به اینکه حد مجاز دریافت روزانه روی برای بزرگسالان ۴۰ میلی گرم در روز می باشد، با یک بررسی مناسب می توان از این نانو سیال در صنعت غذا به عنوان نگهدارنده طبیعی و جایگزین نگهدارنده های شیمیایی استفاده نمود.

۵- منابع

[1]. Kostic, D. A. Velickovic, M. Mitic, J, S. Mitic, S. N. Randelovic, M.S . 2012. Phenolic Content, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crataegus Oxyacantha L (Rosaceae) Fruit Extract from Southeast Serbia. Tropical Journal of Pharmaceutical, 11: 117-124.

[2]. Juliany, R.C. Philip, G. Crandall, C.A. O'Bryan, S.C.R. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. Journal of Food Control , 54: 111–119.

[3]. Tajkarimi, M.M. Ibrahim, S.A. Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Journal of Food Control, 21(9): 1199–1218.

[4]. Oroojalian , F. Kasra-Kermanshahi, R. Azizi, M. Bassami , M.R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Journal of Food Chemistry , 120(3): 765–770.

[5]. Akrami, F. Rodríguez-Lafuente, A. Bentayeb, K. Pezo, D. Ghalebi, S.R. Nerín, C. 2015. Antioxidant and antimicrobial active paper based on Zataria (Zataria multiflora) and two cumin cultivars (Cuminum cyminum). Journal of LWT - Food Science and Technology , 60(2): 929–933.

[6]. Zhaveh, S. Mohsenifar , A. Beiki, M. Khalili, S.T. Abdollahi, A.Rahmani-Cherati, T. Tabatabaei, M. 2015. Encapsulation of Cuminum cyminum essential oils in chitosan-caffeic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus. Journal of Industrial Crops and Products, 69: 251–256.

[7]. Park, W.I . Yi, G.C . Kim, J.W. Park, S.M Appl. Lett,82: 4358.

[8]. Saravanan, P. Jayamoorthy, K. Ananda Kumar, S. 2015. Switch-On fluorescence and photo-induced electron transfer of 3-aminopropyltriethoxysilane to ZnO: Dual applications in sensors and antibacterial activity. Journal of Sensors and Actuators B: Chemical, 221: 784–791.

[9]. Suresh,D. Udayabhanu, P.C. Nethravathi, K. Lingaraju, H. Rajanaika, S.C. Sharma, H. Nagabhushana .2015. EGCG assisted green synthesis of ZnO nanopowders: Photodegradative, antimicrobial and antioxidant activities. Journal of Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy , 136: 1467–1474.

[10]. Talebian, N. Matin Amininezhad, S. Doudi, M. 2013. Controllable synthesis of ZnO nanoparticles and their morphology-dependent antibacterial and optical properties. Journal of Food Chemistry,120: 66–73.

[11]. Stanković, A. Dimitrijević, S. Uskoković, D. 2013. Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO powders hydrothemally synthesized using different surface stabilizing agents. Journal ofColloids and Surfaces B: Biointerfaces , 102: 21–28.

[12]. Duffy, C. f. and Power, R.F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Internat. J. Antimicro. Age, 17: 527-529.

[13]. Bonyadian, M. and Karim, G. 2002. study of the effect of some volatile oils of herbs (pennyroyal, peppermint, tarragon, caraway seed and Thyme) against E.coli and S.aureus in broth media. Journal of Veterinary Research, 57(4): 81-83.

[14]. Iacobellis, N. Lo Cantore, P. Capasso, F. Senatore, F. 2005. Antibacterial activity of Cuminum cyminum L. and Carum carvi L. essential oils. J Agric Food Chem. 53(1):57-61.

[15]. Mekawey, A.A.I. Mokhtar, M.M. Farrag, R.M. 2009. Antitumor and Antibacterial Activities of [1-(2- Ethyl, 6-Heptyl) Phenol] from Cuminum Cyminum Seeds. Journal of Applied Sciences Research, 5(11):1881-1888.

[16]. Soleimani. N. Daneshmandi, S. Sattari, M. Pourfathollah, A.A. 2010. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of cuminum cyminum essential oil. Arak Medical University Journal (AMUJ), 13(2): 75-82.

[17]. Mirhosseini, M. Kiany Harchegani, M. Kakai Dehkordi, Sh. Barzegary Firouzabad, F.2013. Comparison of Antibacterial Effect of ZnO Nanoparticles in Apple Juice at 25 and 4° C. Journal of Applied Sciences Research, 5(11):1891-1898.

[18]. Ameer Azam, B. Arham, S. Ahmed, M. Oves, M.S. Adnan, M. 2012. Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and -negative bacterial strains. Int.J. Nanomedicine, 7: 3527-3535.

[19]. Mirhosseini, M.and Firouzabadi, F. 2013. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. Inter. J. Dairy. Technol, 66: 291-295.

[20]. Wang, Y. Zhang, Q. Chen-lu, Z. Li, P. 2012. Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes. Journal of Food Chemistry, 132(1): 419–427.

[21]. Bogunia-Kubik, K. and Sugisaka, M. 2002. From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. Biosystems, 65: 123–138.

[22]. Li, P. Li, J. Wu, C. Wu, Q. 2005. Synergistic antibacterial effects of lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. Nanotechnol, 16: 1912–1917.

[23]. Furno, F. and Morley, K.S. 2006. Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection. J. Antimicrob. Chemother, 54(6): 1019-1024.

[24]. Stoimenov, P.K. Klinger, R.L. Marchin, G.L. Klabunde, K.J. 2002. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. Langmuir, 18: 6679-6686.

[25]. Feng. Q.L. and Wu, J. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J. Biomed. Mater. Res, 52(4): 662-668.

[26]. Liu, Y. He, L. Mustapha, A. Li, H. 2009. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7. J. Appl. Microbiol, 107: 1193-1201.

[27]. Huang, Z. Zheng, X. Yan, D. Yin, G. 2008. Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. Langmuir, 24: 4140-4144.

[28]. Sawai, J. 2003. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metalic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conduct metric assay. J. Microbiol. Methods, 54: 177– 182.

[29]. Meghana, R. Ponnusamy, S. Chellamuthu. M. Joseph, C. Satheesh, K. Enrico, M. 2013. Morphology-directed synthesis of ZnO nanostructures and their antibacterial activity. Journal of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 105: 24–30.

[30]. Chinnammal, J. Sailatha, E. Gunasekaran, S. 2015. Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles. Journal of Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy , 144(5):17–22.