مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت ضدقارچی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس علیه گونه‌های مختلف آسپرژیلوس

نادر حبیبی[۱]، حمیدرضا قیصری[۱*]، محمود امین لاری[۱]، فاطمه صداقتی[۲]

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- گروه شیمی، مرکز آموزش عالی استهبان، استهبان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: مواد غذایی می‌توانند به قارچ‌های مختلفی آلوده شوند. استفاده از فن‌آوری نانو به‌خصوص اکسیدهای فلزی می‌توانند این آلودگی‌ها را کاهش دهد. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضدقارچی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس علیه گونه‌های قارچی آسپرژیلوس که در بهداشت مواد غذایی اهمیت دارند، بود.

مواد و روش‌ها: نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس به روش شیمیایی تولید شدند و مورفولوژی و اندازه آن‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری و همچنین روبشی، پراش اشعه ایکس و زتاسایزر بررسی شد MIC و MFC آن‌ها علیه گونه‌های آسپرژیلوس به‌تنهایی و در ترکیب باهم به روش میکرودایلوشن در محیط کشت‌های سابورودکستروز براث و سابورو دکستروز اگار بررسی گردید و FIC محاسبه شد.

نتایج: اندازه نانوذرات بین ۱۰ الی ۶۰ نانومتر بودند. میانگین MIC و MFC نانوذره اکسید منیزیم برای آسپرژیلوس فلاووس، فومیگاتوس، نیجر و پارازیتیکوس به ترتیب ۱۰/۱ و ۱۰/۳۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای نانوذره اکسید مس ۱۰/۲۵ و ۱۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین خاصیت ممانعت کنندگی و کشندگی این نانوذرات به ترتیب بر روی آسپرژیلوس نیجر و فومیگاتوس بود؛ اما شاخص FIC چون بیشتر از یک بود، تأثیر متقابلی نداشتند. میانگین MICترکیبی ۹/۹۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس به‌عنوان مواد ضدقارچی هرکدام به‌تنهایی می‌توانند خاصیت مهارکنندگی و کشندگی داشته باشند، اما مخلوط آن‌ها اثر متقابلی ندارد.

کلمات کلیدی: نانوذره، اکسید منیزیم، اکسید مس، آسپرژیلوس، MIC، MFC

مقدمه

با توجه به افزایش روزافزون جمعیت و نیاز به تولید بیشتر مواد غذایی، مشکلات فراوانی ازجمله آلودگی‌های میکروبی در مراحل مختلف تولید، نگهداری، فرآوری، توزیع و مصرف آن‌ها وجود دارد؛ بنابراین کنترل میکروارگانیسم‌های مخاطره‌آمیز امری اجتناب‌ناپذیر است (۱). قارچ‌ها ازجمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که باید کنترل شوند زیرا می‌توانند ازلحاظ کمی خسارات زیادی به مواد غذایی وارد کنند. همچنین علاوه براین می‌توانند در شرایط نامناسب تولید و نگهداری مواد غذایی مایکوتوکسین‌های زیادی را تولید نمایند (۲). قارچ‌ها علاوه بر کاهش ارزش غذایی به دلیل اثر بر مواد مغذی متشکل غذاها از طریق تولید مایکوتوکسین‌ها اثرات مخرب و شدیدی نظیر سرطان‌زایی، ناقص‌الخلقه زایی و کاهش رشد، مهار سیستم ایمنی و جهش‌زایی را در موجودات زنده ایجاد می‌کنند. طیف وسیعی از انواع قارچ‌های کپکی مانند آسپرژیلوس‌ها، پنی‌سیلیوم‌ها، فوزاریوم‌ها قادر به تولید مقادیر زیادی از مایکوتوکسین‌های خطرناک‌اند (۳). یکی از انواع میکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین است که *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* می‌توانند آن را تولید کنند. آفلاتوکسین به‌عنوان عامل مسمومیت حاد و سرطان‌زا شناخته شده است (۴). گونه‌های جنس آسپرژیلوس قادر به تولید اسپور فراوان بوده و توسط باد و حشرات می‌توانند در همه‌جا گسترش یابند. توانایی بالای آن‌ها در شرایط سخت محیطی سبب شده است که قدرت

* **نویسنده مسئول: حمیدرضا قیصری**، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
Email: ghaisari@shirazu.ac.ir

رقابت با سایر موجودات را بر سر بستره غذایی داشته باشند. *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* معمول‌ترین پاتوژن‌های این جنس هستند. *آسپرژیلوس فلاووس* در فساد مواد غذایی دخالت دارد (۵).

ظهور و توسعه مقاومت ضدمیکروبی در پاتوژن‌ها نگرانی زیادی را برای بهداشت عمومی جهانی ایجاد کرده است (۶). گسترش علم نانوتکنولوژی، فرصت‌هایی برای کشف تأثیرات ضدباکتریایی نانوذرات فلزی ایجاد کرده است (۷). مزیت مواد ضدباکتری معدنی نسبت به مواد ضدباکتری آلی این است که این‌ها دارای پایداری فوق‌العاده، سمیت کمتر، قابلیت انتخاب گسترده و مقاوم در برابر حرارت هستند (۸). اکسید کلسیم، اکسید منیزیم و همچنین نانوذرات اکسید روی و اکسید مس فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی از خود نشان داده‌اند (۹ و ۱۰). نانوذره اکسید منیزیم که برای سلول‌های پستانداران و محیط‌زیست بی‌خطر است، به‌تنهایی یا در ترکیب با دیگر عوامل ضدباکتری می‌تواند در محصولات غذایی و نیز پیشرفت سلامت میکروبیولوژیکی غذایی پیشنهاد گردد (۱۱).

اثر ضدباکتریایی نانو اکسید مس، بر روی *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به پنی‌سیلین و *اشریشیاکلی* مشاهده شده است؛ اما اطلاعات کمی در مورد قابلیت ضدقارچی نانوذرات اکسید روی، اکسید منیزیم، اکسید مس و اکسید سیلیکون موجود است (۱۲). نانوذره مس نیز برای پستانداران بی‌خطر است و فعالیت زیادی علیه میکروارگانیسم‌ها دارد، بنابراین به‌عنوان ضدمیکروب پیشنهاد می‌شود (۱۳).

هدف از مطالعه‌ی حاضر اولاً سنتز نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس و بررسی ویژگی‌های ساختاری آن‌ها، ثانیاً بررسی اثرات منفرد نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس علیه گونه‌های آسپرژیلوس و ثالثاً بررسی برهم‌کنش‌های ضد میکروبی به شکل چهار حالت احتمالی هم‌افزایی (Synergistic)، افزایشی (Additive)، عدم تأثیر(Indifferent) و کاهشی (Antagonistic) بین عوامل یاد شده است. بدیهی است تلاش برای استفاده از ترکیبات جایگزین نگه‌دارنده‌های زیان‌بار شیمیایی در صنایع غذایی و همچنین افزایش قدرت ضدمیکروبی این مواد علیه ارگانسیم‌های بیماری‌زای غذازاد یا مولد فساد در مواد غذایی تبعات مثبتی را در بر خواهد داشت. این‌گونه مطالعات در گام اول در برون تن (مشابه با مقاله‌ی پیش روی)، سپس تعمیم در سیستم‌های مدل غذایی و در صورت نتایج مفید و مثبت، درنهایت به شکل کاربردی در صنعت غذا قابل‌اجرا می‌باشند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

قارچ‌هایی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند شامل: *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC 5004)، *آسپرژیلوس فومیگاتوس* (PTCC 5009)، *آسپرژیلوس نیجر* (PTCC 5012) و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (PTTC 5018) بودند که از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردیدند.

روش تولید نانوذره اکسید منیزیم

ابتدا محلول ۰/۲ مولار Mg^{+2} با اضافه کردن نمک $MgCl_2$-$6H_2O$ در آب مقطر به دست آمد. سپس محلول ۰/۵ مولار NaOH قطره‌قطره به محلول Mg^{+2} اضافه شد. عمل مخلوط شدن به‌وسیله هم زن مغناطیسی، ۶۰۰ دور در دقیقه در درجه حرارت اتاق ادامه یافت تا فرآیند تولید رسوب کامل گردید. سپس رسوب به‌دست‌آمده توسط سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه (۵۰۰۰ دور در دقیقه) جدا شد. رسوب حاصله با آب مقطر شسته شده و در هوای داغ آون در درجه حرارت ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. رسوب هیدروکسید منیزیم خشک شده آسیاب شده و در کوره الکتریکی با درجه حرارت ۵۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت (با سرعت حرارت دادن ۵ درجه سلسیوس به ازای هر دقیقه) حرارت داده شد تا نانوذرات اکسید منیزیوم به دست آید (۱۴).

روش تولید نانوذره اکسید مس

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ مولار مس استات مونو هیدرات $(CH_3COO)_2Cu.H_2O$ در یک بالن ته گرد ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک به محلول فوق اضافه گردید و بالن ته گرد روی هیتر قرار داده شد. یک همزن مغناطیسی در ته بالن ته گرد به‌منظور هم زدن ملایم قرار داده شد و توسط یک دماسنج در بالن ته گرد دمای محلول سنجش گردید .یک فویل آلومینیومی بر روی بالن ته گرد کشیده شد و زمانی که حرارت به ۱۰۰ درجه سلسیوس رسید ۳۰ میلی‌لیتر از محلول ۳ مولار NaOH به محتویات بالن ته گرد اضافه گردید. در این مرحله مقدار زیادی رسوب سیاه‌رنگ تشکیل گردید که این رسوب ۳ تا ۴ بار سانتریفیوژ شده و ۳ تا ۴ بار با آب دیونیزه شسته شد. رسوب از لوله خارج شده و در پلیت ریخته و به مدت ۲۴ ساعت

در هوای اتاق قرار داده شد تا خشک گردید. نانوذرات به‌دست‌آمده اکسید مس بودند (۱۵).

بررسی اندازه ذرات و مورفولوژی آن‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ، پراش اشعه ایکس (XRD) و Zetasizer انجام گرفت.

تهیه سوسپانسیون نانوذرات

برای تهیه محلول نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس جداگانه مقدار موردنظر از پودر خشک به‌دست‌آمده از آن‌ها توزین و در حجم مشخصی از آب مقطر استریل حل شد. سپس سوسپانسیون در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید و به‌وسیله حمام التراسونیک به مدت نیم ساعت همگن شد.

فعال‌سازی گونه‌های قارچی

گونه‌های استاندارد در آمپول‌های لیوفیلیزه طبق دستورالعمل شرکت سازنده تحت شرایط استریل در محیط کشت مایع YGC(Yeast Glucose Chloramphenicol) به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. سپس به مدت ۵ روز در ۲۵ درجه سلسیوس در آنکوباتور گرمخانه گذاری شدند. بعدازاین مدت، کشت دیگری روی سابورودکستروز آگار به‌عنوان کشت ذخیره تهیه شد و در مراحل بعدی استفاده گردید (۱۶).

تهیه سوسپانسیون هاگ قارچ‌ها و تلقیح

به‌وسیله یک حلقه کشت استریل از روی محیط کشت سابورودکستروزآگار، هاگ‌های قارچ‌ها را برداشت کرده و به لوله حاوی پپتون واتر انتقال داده و سوسپانسیون حاصل را با استفاده از یک صافی غشایی غیر جاذب سترون صاف نموده و تعداد هاگ‌های آن با استفاده از لام شمارش سلول‌های خونی شمارش شدند. بدین منظور سوسپانسیون هاگ‌های قارچ پس از صاف کردن به نسبت مناسب رقیق شد و یک قطره از آن را بر روی لام شمارش قرار داده و با قرار دادن لامل بر روی آن سعی شد تا که حباب ایجاد نشود. لام را زیر میکروسکوپ گذاشته و با عدسی شیئی ۱۰ یا ۴۰ روی محفظه شمارش انجام شد. تعداد هاگ‌ها ۱×۱۰^{۷} هاگ در میلی‌لیتر تنظیم گردید. سوسپانسیون میکروارگانیسم‌ها حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از تهیه، تلقیح شدند. برای تلقیح، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون دارای ۱×۱۰^{۶} هاگ قارچ (یعنی رقت $۱۰^{-۱}$ از اولین سوسپانسیون تهیه شده) به یک لوله حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت سابور دکستروزبراث اضافه شد. به‌این‌ترتیب هر لوله حاوی $۰/۵ \times ۱۰^{۶}$ هاگ قارچ بود.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذرات MIC (Minimum Inhibitory Concentration) به روش میکرودایلوشن براث

تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی به روش رقیق‌سازی متوالی در چاهک ۹۶ خانه‌ای صورت گرفت. از هر نانوذره ده غلظت ۱۱، ۱۰/۷۵، ۱۰/۵، ۱۰/۲۵، ۱۰، ۹/۷۵، ۹/۵، ۹/۲۵، ۹ و ۸/۷۵ برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در آب مقطر استریل ساخته شدند. به‌وسیله سمپلر در هرکدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت سابورودکستروزبراث که از قبل اتوکلاو شده بود ریخته شد، سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از هر غلظت موردنظر برای هر نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس به هر چاهک از هر ردیف اضافه گردید. این کار به‌صورت سریالی تا چاهک یازدهم ادامه پیدا کرد. ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک یازدهم برداشته و دور ریخته شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی با تعداد هاگ $۰/۵ \times ۱۰^{۶}$ آماده شده به هر یک از خانه‌ها به‌جز خانه یازدهم جهت کنترل منفی اضافه گردید. جهت کنترل مثبت خانه‌های ۱۲ از هر ردیف فقط حاوی محیط کشت سابورودکستروزبراث و سوسپانسیون قارچی بود. میکروپلیت‌ها به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در آنکوباتور شیکردار (۱۰۰ دور در دقیقه) گرمخانه گذاری گردیدند. پس از گذشت مدت‌زمان گرمخانه گذاری، میکروپلیت‌ها به‌خوبی تکان داده شدند و ازنظر کدورت حاصل از رشد قارچ‌ها توسط میکروپلیت ریدر بررسی گردیدند. کدورت حاصل از رشد با لوله‌های کنترل نیز مقایسه گردید. چاهکی که کدورت آن نصف چاهک مثبت بود به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی نانوذرات (Minimum Fungicidal Concentration) MFC

از تمام میکروپلیت‌هایی که در آن‌ها هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشده بود، روی محیط کشت سابورودکستروزآگارکشت سطحی داده شد. پلیت‌های هاگ‌های قارچ‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه گذاری شدند. پس از گذشت مدت‌زمان گرمخانه گذاری، پلیت‌ها ازنظر رشد قارچ‌ها بررسی گریدند. بالاترین رقت (یعنی حاوی کمترین غلظت از نانوذره) مربوط به اولین پلیتی که در آن رشدی مشاهده نشده بود، حداقل غلظت کشنده (MFC) در نظر گرفته شد. در بعضی موارد حداقل غلظت بازدارنده و کشنده با یکدیگر برابر بودند (۱۷).

تعیین حداقل غلظت مهاری مشترک

برای تعیین غلظت مهارکنندگی مخلوط دو نانوذره از روش Fractional Inhibitory Concentrations (FIC) استفاده شد. بدین منظور در هنگام ریختن غلظت‌های موردنظر مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر نانوذره در چاهک‌های میکروپلیت ریخته شد که مجموع آن‌ها ۱۰۰ میکرولیتر بود.

شاخص FIC

درجه سینرژیستی بین ترکیبات ضدمیکروبی معمولاً توسط مجموع (FIC) دو ترکیب بیان می‌شود. FIC برای ترکیب A توسط فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$FIC = \frac{\text{MIC of antibacterial A in combination}}{\text{MIC of antibacterial A alone}}$$

FIC برای ترکیب B نیز با همان فرمول محاسبه شد

$$\sum FIC = FIC\ of\ antibacterial\ A + FIC\ of\ antibacterial\ B$$

شاخص $\sum FIC$ برای شناسایی ماهیت میان‌کنش بین دو ترکیب ضد باکتریایی استفاده شد که این میان‌کنش از نوع سینرژیسمی یا افزایشی یا بی‌تفاوتی یا آنتاگونیسمی است. این شاخص به شرح زیر تفسیر گردید:

۱ > =هم‌افزایی؛ ۱= افزایشی، ۲-۱/۱= عدم واکنش ۲ < = کاهشی (۱۸).

آزمون آماری

آزمون‌ها سه بار تکرار گردید. برای تجزیه‌وتحلیل نتایج از نرم‌افزار MINITAB ۱۶ و آزمون LSD و تحلیل واریانس استفاده شد. سطح معناداری آزمون P< ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

ویژگی‌های نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس

برای بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس از TEM(100KV, PHILIPS- CM-10 Netherlands) و نیز آزمون EDX از SEM(TESCAM, MIRA3 CXECH) استفاده شد. اندازه ذرات اکسید منیزیم ۵۰-۱۰ نانومتر (شکل ۱ سمت راست) و ازلحاظ مورفولوژی نانوذرات به اشکال مختلف کروی، مثلثی، چندوجهی، میله‌ای مانند و رسوبی متخلخل بودند. اندازه ذرات اکسید مس ۶۰- ۲۰ نانومتر (شکل ۱ سمت چپ) و ازلحاظ مورفولوژی اغلب کروی، مثلثی، چندوجهی، میله‌ای مانند و رسوبی بودند.

در بررسی تجزیه عنصری و یا خصوصیات شیمیایی نانوذرات تولیدشده توسط EDX داده‌های تولیدشده نشان از طیف مسئول تشکیل نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس بود. برای نانو اکسید منیزیم درصد وزنی محاسبه‌شده نشان داد که اکسیژن ۵۹٪/۰۴ و منیزیم ۴۰/۹۶٪ و برای نانو اکسید مس درصد وزنی محاسبه‌شده نشان داد که اکسیژن ۲۵/۱۹٪ و مس ۷۴/۸۱٪ بود.

در بررسی اندازه و بار سطحی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس تولیدشده توسط Zetasizer(Malvern Zetesizer-nano.zs United Kingdom) مشخص شد که بار سطحی نانوذرات اکسید منیزیم مثبت و پتانسیل زتا برابر ۱۸/۲ میلی ولت و بار سطحی نانوذرات اکسید مس منفی و پتانسیل زتا برابر ۱۵ میلی ولت (عرض ۴/۷۲) بود.

برای بررسی ساختار شیمیایی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس تولیدشده از XRD(EQUNIOX3000, 30kv, 20m,Kalpha Cu, Inel France) استفاده شد.

نتایج بررسی اثر مهارکنندگی و کشندگی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس گونه‌های آسپرژیلوس

همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است بیشترین و کمترین مقدار MIC نانوذره اکسید منیزیم به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *آسپرژیلوس نیجر* ۱۰/۶۷ و ۹/۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بیشترین و کمترین مقدار MFC به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* ۱۰/۹۲

جدول۱- مقایسه میانگین های MIC بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تحت تأثیر کاربرد نانو ذرات اکسید منیزیم و اکسید مس

قارچ	نانو اکسید منیزیم	نانو اکسید مس	نانو اکسیدمنیزیم + نانو اکسید مس	شاخص FIC	تأثیرمتقابل
آسپرژیلوس فلاووس	۱۰/۴۱Aa	۱۰/۶۷Aa	۱۰/۶۷Aa	۱/۹۲	ندارد
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۹/۹۲Ba	۹/۱۷Cb	۹/۵Bb	۲	ندارد
آسپرژیلوس نیجر	۹/۴۲Cb	۱۰/۹۲Aa	۹/۱۷Bb	۱/۸	ندارد
آسپرژیلوس پارازیتیکوس	۱۰/۶۷Aa	۱۰/۲۵Bb	۱۰/۴۲Ab	۲	ندارد

و ۹/۶۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین و کمترین مقدار MIC نانوذره اکسید مس به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس نیجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* ۱۰/۶۷ و ۹/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و همچنین بیشترین و کمترین مقدار MFC به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس نیجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* ۱۰/۹۲ و ۹/۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

اعداد واقع در هر ستون با حروف بزرگ مشابه و در هر ردیف با حروف کوچک مشابه بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند. حروف غیرمشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P< ۰/۰۵ است.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهاری مشترک

نتایج حاصل از این آزمون در جدول ۲ به‌صورت غلظت مهاری مشترک نشان داده شده است. بیشترین و کمترین مقدار MIC مخلوط هردو نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* ۱۰/۶۷ و ۹/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار FIC برای تمام قارچ‌های مورد آزمون بیشتر از یک بود، بدین معنی که استفاده از ترکیب دو نانوذره هیچ اثر متقابلی ندارد.

اعداد واقع در هر ستون با حروف بزرگ مشابه و در هر ردیف با حروف کوچک مشابه بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند. حروف غیرمشابه نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

بحث

قارچ‌ها به‌خصوص جنس آسپرژیلوس می‌توانند در سطح وسیعی مواد غذایی را آلوده کرده و سبب وارد آمدن خسارات فراوان به آن‌ها شوند. علاوه براین می‌توانند میکوتوکسین‌های خطرناکی همانند آفلاتوکسین تولید کنند. با توجه به ظهور مقاومت میکروبی به مواد ضدقارچی، استفاده از نانوذرات پیشنهاد می‌گردد. در این تحقیق از دو نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس برای مقابله با چهار گونه آسپرژیلوس که عبارت بودند از *آسپرژیلوس فلاووس*، *فومیگاتوس*، *نیجر* و *پارازیتیکوس* استفاده شد.

در ابتدا نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس تولید شدند. اندازه آن‌ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود (شکل ۱). در آزمون XRD داده‌های تولیدشده نشان از طیف مسئول تشکیل نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس بود. آنالیز پراش اشعه ایکس نشان داد که پیک‌های مختلف همسان با ساختار مکعبی اکسید منیزیم و موافق با استاندارد و گزارش مقالات دیگر است. پیک‌های پراش نمونه‌ی اکسید مس نشان دادند که نمونه‌ها متعلق به سیستم کریستال مونوکلینیک با ثابت شبکه a= ۴/۶۸۸۳ ۳/۴۲۲۹ =b=۹۹/۵۰۶ β=۵/۱۳۱۹c هماهنگ بودند (شکل‌های ۲ و ۳).

در مقایسه بین گونه‌های مختلف آسپرژیلوس مشاهده می‌شود که بیشترین حساسیت به نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس نیجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* است. MIC نانوذرات مذکور به ترتیب ۹/۴۲ و ۹/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود؛ اما بیشترین MFC نانوذرات مذکور به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *آسپرژیلوس نیجر* با مقادیر ۱۰/۶۷ و ۱۰/۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. برای مبارزه با این قارچ‌ها استفاده از ترکیب آن‌ها پیشنهاد نمی‌گردد چون شاخص FIC آن‌ها نشان از بی‌اثر بودن است. در این رابطه بیشترین و کمترین MIC ترکیبی به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* با مقادیر ۱۰/۶۷ و ۹/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۱).

بیشترین خاصیت کشندگی برای نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس به ترتیب مربوط به *آسپرژیلوس نیجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* با مقادیر ۹/۶۷ و ۹/۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود؛ اما کمترین خاصیت کشندگی این نانوذرات به ترتیب مربوط به

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های MFC برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تحت تأثیر کاربرد نانو ذرات اکسید منیزم و اکسید مس

قارچ	نانواکسید منیزیم	نانواکسید مس
آسپرژیلوس فلاووس	۱۰/۹۲Aa	۹/۶۷Cb
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۱۰Ba	۹/۴۲Cb
آسپرژیلوس نیجر	۹/۶۷Cb	۱۰/۹۲Aa
آسپرژیلوس پارازیتیکوس	۱۰/۶۷ Aa	۱۰/۳۳Ba

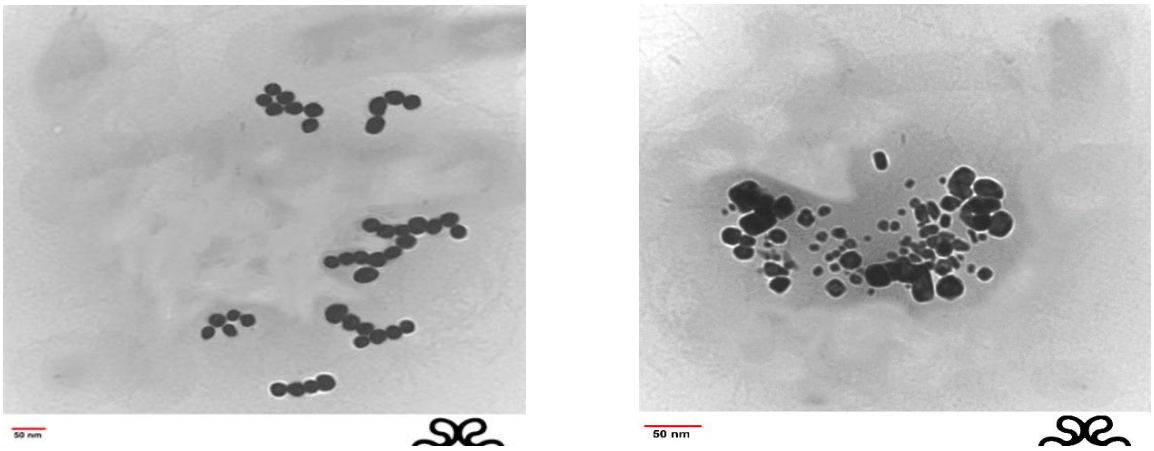
آسپرژیلوس فلاووس و *آسپرژیلوس نیجر* با ۱۰/۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌های MIC و MFC هردو نانوذره برای گونه‌های قارچی مورد آزمون نشان می‌دهد که خاصیت ممانعت کنندگی نانوذره اکسید منیزیم بیشتر از نانوذره اکسید مس بوده اما در ارتباط با خاصیت کشندگی برعکس است. میانگین MIC نانوذره اکسید منیزیم و اکسید مس به ترتیب ۱۰/۱ و ۱۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و میانگین MFC آن‌ها نیز به ترتیب ۱۰/۳۱ و ۱۰/۰۸ بود (جدول‌های ۱ و ۲).

میانگین MIC ترکیبی این دو نانوذره ۹/۹۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود که نشان از پایین بودن آن نسبت به MIC منفرد هرکدام از آن‌هاست؛ اما چون شاخص FIC بیشتر از یک بود بنابراین فاقد اثر متقابل محسوب می‌گردد.

گزارش شده است که افزایش سطح نانوذرات منیزیم اکسید سبب افزایش غلظت اکسیژن در محلول شده، درنتیجه تأثیر تخریبی دیواره سلول باکتری افزایش می‌یابد؛ اما اگر اندازه آن‌ها کمتر از ۱۵ نانومتر باشد به علت افزایش انرژی سطحی نانوذرات باهم جمع می‌شوند. اندازه بزرگ نانوذره از واکنش بین نانوذره و باکتری جلوگیری می‌کند. همچنین تأثیر باکتری کشی کاهش می‌یابد (۱۹).

با توجه به گزارش اخیر که می‌تواند برای قارچها نیز صدق کند و همچنین چون اندازه نانوذرات تولیدشده در تحقیق حاضر منتج از آزمون TEM برای نانو اکسید منیزیم بین ۱۰ الی ۵۰ و برای نانو اکسید مس بین ۲۰ الی ۶۰ نانومتر نشان داده شده است، بنابراین امکان جمع شدن ذرات وجود داشته و این سبب شده

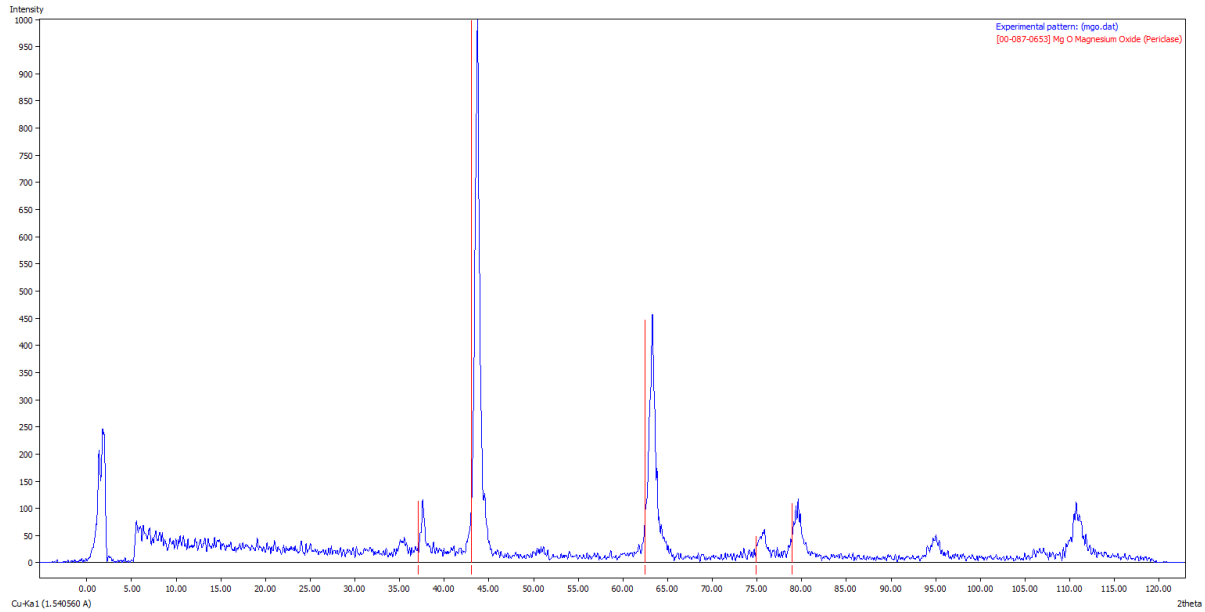


شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نانو اکسید منیزیم (سمت راست) نانو اکسید مس (سمت چپ)

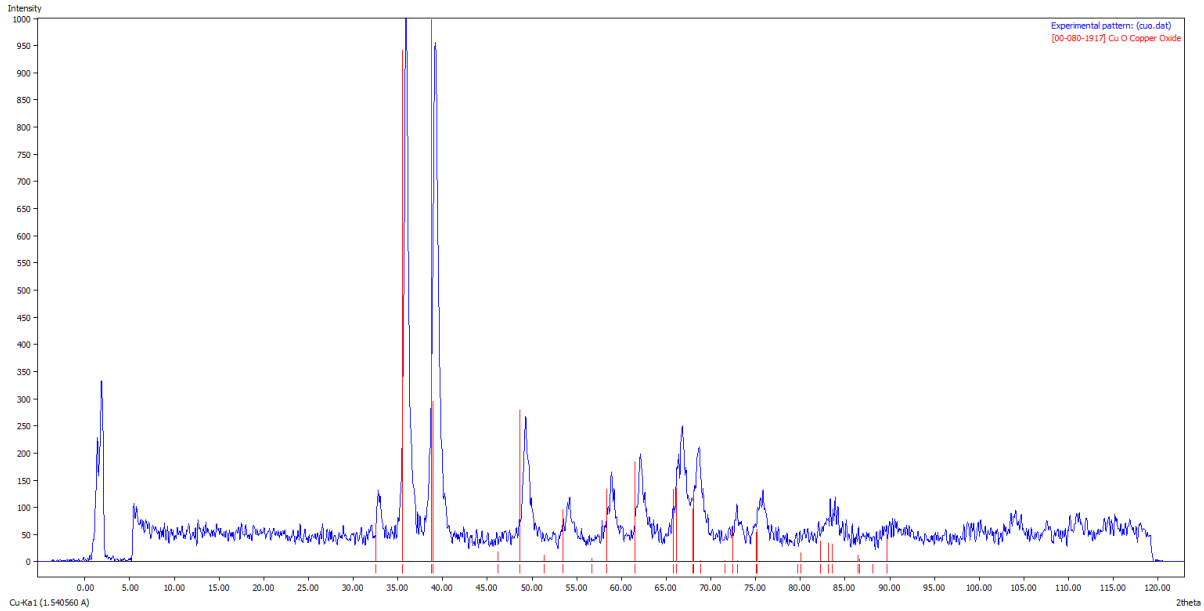
است که مقادیر MIC و MFC نانوذرات مذکور برای مقابله با گونه‌های قارچی مورد آزمون نسبتاً بالا باشد. علاوه براین، بارهای سطحی نانو ذرات تولیدشده نسبتاً پایین می‌باشند (نانوذرات اکسید منیزیم ۱۸+ ونانوذرات اکسید مس ۱۵- میلی ولت) و این سبب تجمع ذرات و کاهش تأثیرگذاری آن‌ها شده است. طی مطالعه‌ای گزارش شده که اگر همه نانوذرات در سوسپانسیون دارای بار سطحی بالای مثبت یا منفی باشند آن‌ها تمایل به دفع یکدیگر دارند و تجمع پیدا نمی‌کنند، اما اگر پتانسیل سطحی آن‌ها پایین باشد نیرویی برای جلوگیری از تجمع آن‌ها وجود ندارد. همچنین شاخص زتا پتانسیل کمک به شناسایی واکنش‌های بین ذرات در سوسپانسیون می‌کند و میزان چسبندگی ذرات بستگی به شارژ سطحی آن‌ها دارد (۲۰).

کریمیان آثار ضدقارچی چهار نانوذره اکسید روی، اکسید سیلیکون، اکسید منیزیم و اکسید مس در مقایسه با آمفوتریسین B، بر روی *کاندیدا آلبیکانس* را بررسی کرده است و نشان داده که مقادیر ۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمتر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید سیلیکون، فاقد اثر ضدقارچی می‌باشند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۱۲).

یکی از نقاط قوت استفاده از نانوذرات به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی این است که در میکروارگانیسم مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌شود و دیگر اینکه اکسیدهای فلزی در حالت پایدار هستند؛ اما از نقاط ضعف آن‌ها می‌توان به این مطلب اشاره کرد که نانوذرات به‌مرورزمان تجمع پیدا می‌کنند و از خاصیت



شکل ۲- آنالیز پراش اشعه X (XRD) نانو اکسید منیزیم



شکل ۳- آنالیز پراش اشعه X (XRD) نانو اکسید مس

ضدمیکروبی آن‌ها کاسته می‌شود. عیب دیگر این است که مستقیماً به‌عنوان نگه‌دارنده نمی‌توان از آن‌ها در نگهداری مواد غذایی استفاده کرد و باید در ارتباط غیرمستقیم با مواد غذایی باشند. مثلاً برای شستشو و ضدعفونی کردن سطوح انبارها، ماشین‌آلات و خطوط تولید از آن‌ها استفاده کرد. Krishnamoorthy و همکاران اذعان داشتند که حساسیت باکتری‌ها به نانوذرات فقط به ساختار دیواره سلولی مربوط نمی‌شود بلکه ممکن است به پراکسیداسیون چربی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن نیز مربوط باشد (۲۱).

اما درباره نحوه تأثیرگذاری بر قارچها گزارشی یافت نشد. Aboli Pariz و همکاران گزارش کردند که سوسپانسیون ۰.۲٪ نانوذره اکسید منیزیم به‌طور معنی‌داری از رشد فوزاریوم اکسی سپاریوم جلوگیری می‌کند. در مقایسه با نتایج تحقیق حاضر مشاهده می‌شود که گونه‌های آسپرژیلوس نسبت به نانوذره

اکسید منیزیم مقاومت کمتری داشته‌اند، زیرا اگر MIC آن‌ها به درصد تبدیل شود کمتر از ۲٪ خواهد بود (۲۲).

خصوصیات اصلی این نانوذره به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی می‌تواند تأثیر علیه باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، پایداری بالا و خاصیت ضد قارچی باشد. عامل اصلی مؤثر بر فعالیت ضدمیکروبی اندازه ذرات و غلظت است (۲۳-۲۵).

CuO از ترکیبات نقره ارزان‌تر است و به‌آسانی با پلیمرها مخلوط می‌گردد و ازلحاظ فیزیکی و شیمیایی نسبتاً پایدار است (۲۶). در تحقیق Ramyadevi و همکاران قطر هاله عدم رشد قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نیجر* توسط نانوذرات مس به ترتیب (۰/۵۷۷ ±۱۳) و (۰/۳۵۴±۱۶) میلی‌متر گزارش شده است. باید در نظر داشت که روش مطالعه متفاوت بوده و همچنین از نانوذره مس به‌جای اکسید مس استفاده شده است (۲۷). همچنین در تحقیق Jayandran و همکاران قطر هاله عدم رشد *آسپرژیلوس نیجر* ۱۹ میلی‌متر بوده است (۲۸).

گزارش شده است که نانو ذرات مس در مقابل انواع وسیعی از باکتری‌ها و قارچ‌ها، با توجه به نسبت سطح به حجم بسیار بالا، بسیار سمی هستند و به‌طورکلی سلول‌ها را با مکانیسم‌های گوناگون همچون تخریب غشا، مسدود کردن بیو شیمیایی، تشکیل کمپلکس با پروتئین و آسیب DNA از بین می‌برند (۳۱-۲۹).

Jehad و همکاران تأثیر نانوذره اکسید روی را بر روی *آسپرژیلوس نیجر* بررسی کردند و MIC آن را بیشتر از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اعلام کردند. این نتیجه موافق با تحقیق حاضراست (۳۲).

Naghsh و همکاران طی مطالعه‌ای MIC و MFC نانوذره نقره را بر روی *آسپرژیلوس فومیگاتوس* به ترتیب ۳۱/۲۵ و ppm ۶۲/۵ گزارش کرده‌اند. نتایج مذکور با تحقیق حاضر مطابقت ندارد و نشان می‌دهد که نانوذره نقره خاصیت ضدقارچی بیشتری دارد. دلیل عمده آن می‌تواند اندازه ذرات آن باشد که ۱۰ نانومتر بوده است (۳۳).

در مطالعه حاضر مقادیر FIC گونه‌های آسپرژیلوس بیشتر از یک بود. با توجه به تفسیری که از این شاخص می‌شود ترکیب این دو نانوذره تأثیری بر روی افزایش یا مهار قارچ‌های مذکور نداشت. مقادیر شاخص FIC کوچک‌تر از ۰/۵ نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی، مقادیر بین ۰/۷۵- ۰/۵ هم‌افزایی جزئی، مقادیر مابین ۱ – ۰/۷۵ اثر جمع‌پذیر (Additive effect)، مقادیر بالای ۱ عدم واکنش و مقادیر بالای ۲ ناشی از وجود اثر متضاد (Antagonist effect) است (۳۴).

وقتی مخلوط چند ماده ضدمیکروبی هم‌زمان بر جمعیت میکروبی یکنواختی عمل می‌کنند، ممکن است در مقایسه با اثرات انفرادی آن‌ها، منجر به پاسخ ضد میکروبی افزایش‌یافته یا بدون تغییر شوند. مواد ضدمیکروبی که از یک گروه می‌باشند یا دارای مکانیسم عمل یکسان هستند احتمالاً فقط اثر جمع‌پذیر دارند، درحالی‌که آن‌هایی که مکانیسم عمل متفاوت دارند یا محل اثر آن‌ها متفاوت است ممکن است اثر هم‌افزایی یا متضاد داشته باشند (۳۵ و ۳۶). مناسب‌ترین ترکیب دو نانوذره به کار گرفته شده برای مقابله با *آسپرژیلوس نیجر* با مقدار ۹/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که کمتر از مقادیر MIC آن‌ها بود؛ اما برای دیگر قارچ‌های مورد آزمون مقایسه مناسبی نمی‌توان ارائه داد زیرا اختلاف چشمگیری باهم ندارند و گاهی مقادیر با یکدیگر مساوی هستند.

Hanna و همکاران سمیت نانوذره اکسید مس را بر روی سلول‌های ریه انسان بررسی کردند. ثابت شد که نانوذرات مس در مورد سمیت سلولی و آسیب به DNA دارای قدرت زیادی هستند. این سمیت به‌احتمال‌زیاد توسط یون مس آزاد شده به محیط سلولی است. این ذرات همچنین باعث ضایعات اکسیداتیو و افزایش ROS در درون سلول شدند. با این وصف نمی‌توان درجاهایی که مستقیماً با مواد غذایی تماس دارد آن را استفاده کرد (۳۷).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش بیان‌گر آن است که به‌کارگیری نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس می‌تواند به‌عنوان یک رهیافت یا رویکرد مؤثر برای کنترل ارگانیسم‌های بیماری‌زای غذازاد و القاکننده‌ی فساد در مواد غذایی به کار گرفته شود. نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس به‌عنوان مواد ضدقارچی هرکدام به‌تنهایی می‌توانند خاصیت مهارکنندگی و کشندگی علیه گونه‌های مختلف آسپرژیلوس به‌خصوص *آسپرژیلوس نیجر* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* داشته باشند، اما مخلوط آن‌ها اثر متقابل ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات کارکنان آزمایشگاه‌های دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز و دانشکده شیمی دانشگاه رازی که در

انجام کارهای عملی این پژوهش ما را یاری نمودند، قدردانی و تشکر می‌گردد..

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Hoseinzadeh E, Samarghandi M R, Alikhani M Y, Godini H, Shams Khorramabadi G. Sensitivity Coefficient and Death Kinetics of Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus to Zinc Oxide and Copper Oxide Nanoparticles. J Isfahan Medical School. 2012; 30 (200): 1-11.
2. Mikaili A. Aflatoxin bread flour and yeast species in Kermanshah in 2003. 9th Iranian Nutrition Congress Tabriz. Tabriz: University of Tabriz press; Sep 4-7, 2003; pp. 216. [In Persian].
3. Kazemi A. Consumption of rice contamination by fungi that produce mycotoxins in East Azerbaijan Province. Tabriz Univ Med Sci. 2008; 30(3): 111-118. [In Persian].
4. Binder, E. M. Managing the risk of mycotoxin in moder food production. Food Science and Technology. 2007; 133(1-2):149-166.
5. Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyer P, Denning DW. Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology. 2007; 153(6): 1677–1692.
6. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ,et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. J Nanomedicine. 2007; 3(1): 95-101.
7. Lioyd JR. Microbial reduction of Metals and radionuclides. FEMS Microbial Rev. 2003; 27(2-3): 412-425.
8. Nagarajan P, Rajagopalan V. Enhanced bioactivity of ZnO nano-particles—an antimicrobial study. Environ. Sci. Technol. 2008; 9(3): 7-15.
9. Ohira Y O, Iida Y, Nakagawa T Z-e. Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. J Mater Sci Mater Med. 2008; 19:1407-1412.
10. He L, Liu Y, Mustapha A, Lin M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicillium expansum. Microbiological Research. 2010. 166(3):207-15.
11. Tony J, Yiping H. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. J Nanopart Res. 2011; 13 (12): 6877-6885.
12. Karimin, A.The antifungal effect of nanoparticles of magnesium oxide, zinc oxide, silicon dioxide and zinc oxide on Kandbda albicans. Iran. Professional Doctoral Thesis. Ahvaz Sh Ch University; 2011. [In Persian].
13. Hsiao MT, Chen SF, Shieh DB, Yeh CS. One-pot synthesis of hollow Au_3Cu_1 spherical-like and biomineral botallackite $Cu_2(OH)_3Cl$ flowerlike architectures exhibiting antimicrobial activity. J Physical Chemistry. B, 2006; 110: 205–210.
14. Srivastava S, Sharma YC, Sillanpää M. Green synthesis of magnesium oxide nanoflower and its application for the removal of divalent metallic pecies from synthetic waste water Ceramics International. 2015; 41:6702-3709.
15. Shamsazar A, Asadi A, Shamsazar F. Determination of Serum Glucose Samples Using Biosensor Based on Copper Oxide Nanoparticles. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2015; 15(3): 330-338.
16. Yousefli M, Hosseini Z, Haddad Khodaparast M H, Azarnivand H, Pezeshki P. Antimicrobial effect of Salvia leriifolia leaf extract powder against the growth of Staphylococcus aureus in hamburger. JFST. 2011; 8(29):126-136. [In Persian].
17. Iranian National Standards Organization.Preservatives. Minimum Inhibitory Concentration.(MIC). Microbiology test methods. 1nd revision. 2003; ISIRI No. 5875. [In Persian].
18. Habiba U, Mujahid SA, Bilal MF,Muhammad S, Muhammad R, Ibrahim M, Ghulam Hasan Abbasi G H, Tahir Hayat T, Basharat Ali B. EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by Brassica napus L. ESPR. 2015; 22 (2): 1534–1544.
19. Yamamoto, O, Sawai J. and Sasamoto T. Change in antibacterial characteristics with doping amount of ZnO in MgO-ZnO solid solution. Int J Inorg Mater. 2000; 2: 451-454.
20. Jiří S, Jiří P, Pavel B, Jiří B, Vít V,David S, et al. Ag-Cu colloid synthesis: bimetallic nanoparticle characterisation and thermal treatment. J Nanomaterials. 2014; 2014: 1-13.
21. Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. Antibacterial activity of Mgo nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. J Nanopart Res. 2012; 14(9): 1063-1066.
22. Aboli Parizi M, Moradpour Y, Roostaei A, Khani M, Negahdari M, Rahimi G. Evaluation of the antifungal effect of magnesium oxide nanoparticles on Fusarium oxysporum F. Sp. lycopersici, pathogenic agent of tomato. European Journal of Experimental Biology. 2014;4(3):151-156.
23. Ojas M, Megha B, C Gopalakrishnan,Kentha D A. Ultrafine dispersed CuO nanoparticles and their

antibacterial activity. J. Exp. Nanosci. 2008; 3(3): 185–193.
24. Ameer A, Arham S A Mohammad O, Mohammad S K, Sami S H, Adnan Memic. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study, Int. J. Nanomedicine. 2012; 7(5): 6003–6009.
25. Maqusouod A, HeshamA A,M, AMajeed Khan, Ponmurogun K, Naif A Aldhabi. (2014).Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. J. Nanomater. 2014; 2014 (1): 1–4.
26. Xu, J F, J I W, Shen Z.X, Tang SH, Ye XR,et al.(1999). Preparation and characterization of CuO nanocrystals. J Solid State Chem. 1999; 147(2): 516-519.
27. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Abdul Rahuman A. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. Materials Letters. 2012; 71: 114–116.
28. Jayandran M, Muhamed H M, Balasubramanian V. Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity Studies of Curcuminaniline Biofunctionalized Copper Oxide Nanoparticles. Indian Journal of Science and Technology. 2016;9(3):1-9.
29. Cioffi N, Torsi L, Ditaranto N, Tantillo G, Ghibelli L, Sabbatini L, Bleve-Zacheo T, D'Alessio M, Zambonin PG, Traversa E. Copper nanoparticle polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. Chem Mater. 2005;17(21): 5255-5262.
30. Ruparelia J, Chatterjee A, Duttagupta S, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater. 2008; 4(3): 707-716.
31. Ren G, Hu D, Cheng EWC, Vargas-Reus MA, Reip P, Allaker RP. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. Int. J. Antimicrob. Agents. 2009; 33(6): 587-590.
32. Jehad M, Yousef E, N, Danial. In Vitro Antibacterial Activity and Minimum Inhibitory Concentration of Zinc Oxide and Nano-particle Zinc oxide Against Pathogenic Strains. Journal of Health Sciences,2012 2(4): 38-42.
33. Naghsh N, Doudi M, Safaeinejad Z. The Antifungal Activity of Silver Nanoparticles and Fluconazole on Aspergillus Fumigatus. Medical Laboratory Journal. 2013;7(2):8-14.
34. Najjar MB, Kashtanov D, Chikindas M. Natural antimicrobials ε-poly-l-lysine and Nisin A for control of oral microflora. Probiotics & Antimicro Prot. 2009; 1(2): 143-147.
35. Bell A. Antimalarial drug synergism and antagonism: Mechanistic and clinical significance. FEMS Microbiology Letters. 2005; 253: 171-184.
36. Nasr A, Kermanshahi RK, Nahvi A. Study the hurdle effect of some organic and chemical food preservatives on a resistance of Bacillus cereus sp. Iranian J Food Sci and Tech Res. 2007; 1(2): 11-21.
37. Hanna L, karisson P C, Johanna G, Lennart M. Copper Oxide Nanoparticles Are Highly Toxic: A Comparison between Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes. 2008;21(9):1726-1732.

Original Article

The Study of Antifungal Activities of Magnesium Oxide and Copper Oxide Nanoparticles Against Different Species of Aspergillus

Habibi N[1], Gheisari HR[1]*, Aminlari M[1], Sedaghati F[2]

1- Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Department of Chemistry, Estahban High Education Center, Estahban, Iran

Received: 11 Mar 2017 Accepted: 06 Jul 2017

Abstract

Background & Objective: Food can be contaminated with various fungi. The use of nanotechnology, especially metal oxides can reduce this contamination. The aim of this study was to investigate the antifungal effect of magnesium oxide and copper oxide nanoparticles against Aspergillus species that are important in food hygiene.

Materials & Methods: Magnesium oxide and copper oxide nanoparticles were synthesized chemically, then their morphology and size were investigated by transmission electron microscopy, scanning electron microscopy, X-ray diffraction and zetasizer. MIC and MFC of these nanoparticles against Aspergillus species were examined individually and in combination with each other by micro dilution method in saboraud dextrose broth and saboraud dextrose agar media and FIC was calculated.

Results: The size of nanoparticles was between 10 to 60 nm. They had different forms and high purity. The mean MIC and MFC values of magnesium oxide nanoparticles for the species of A. flavus, A. fumigatus, A. niger and A. parasiticus were 10.1 and 10.31 mg/ml, respectively. These values for copper oxide nanoparticles were 10.25 and 10.08, respectively. Most inhibitory and fungicidal effect of these nanoparticles was on A. niger and A. fumigatus respectively. Since FIC index was greater than 1, there was no interaction. The mean MIC value of the two nanoparticles combination was 9.49 mg/ml.

Conclusions: This study showed that each of magnesium oxide or copper oxide nanoparticles as anti-fungal substances could have inhibitory and fungicidal properties individually, but their combination do not have any interacting effect.

Keywords: Nanoparticle, Magnesium oxide, Copper oxide, Aspergillus, MIC, MFC

*** Corresponding author: Hamid Reza Gheisari,** Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
Email: ghaisari@shirazu.ac.ir