



Kharazmi University

Analysis of Antimicrobial Properties of Silver and Copper Nanoparticles Compared to Sodium Hypochlorite Against Food-Contaminating Pathogens

Forogh Mohammadi¹ , Maryam Karimi-Dehkordi² , Ashkan Pourshahbaz^{3*} 

1. Department of Veterinary, Agriculture Faculty, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3*. D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran E-mail: ashkan_vet@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 20 October 2024
Received in revised form 6 April 2025
Accepted form 6 April 2025
Available online 27 June 2025

Keywords:
Antimicrobial,
Sodium hypochlorite,
Silver nanoparticle,
Copper nanoparticle

ABSTRACT

Objective: This study aimed to evaluate the antibacterial effects of chemically synthesized silver and copper nanoparticles against common foodborne pathogens, including *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, and *Kluyveromyces marxianus*. The goal was to lay the groundwork for using these novel antimicrobial agents to mitigate foodborne disease risks, especially in developing countries with limited food safety infrastructure.

Method: In this study, silver and copper nanoparticles were synthesized chemically and their properties were evaluated using SEM and X-ray diffraction. Their antimicrobial activity was quantified using standard methods like the MIC, MBC, and a well diffusion test. A conventional disinfectant, sodium hypochlorite, was used as a comparative control.

Results: SEM confirmed the nanoparticles had a spherical shape, while FTIR and XRD verified their chemical and structural integrity. The antimicrobial tests showed significant activity, with the nanoparticles creating clear non-growth zones and having superior MIC and MBC values compared to sodium hypochlorite. These findings confirmed their potent antimicrobial properties against the tested pathogens.

Conclusions: The study concludes that silver and copper nanoparticles are effective antimicrobial agents with considerable potential for practical application in food safety. Their successful synthesis and proven efficacy offer a strong foundation for future use in mitigating foodborne disease risks.

Cite this article: Mohammadi, Forogh., Karimi-Dehkordi, Maryam., & Pourshahbaz, Ashkan. (2025). Analysis of Antimicrobial Properties of Silver and Copper Nanoparticles Compared to Sodium Hypochlorite Against Food-Contaminating Pathogens. *Nova Biologica Reperta*, 12 (1), 1-19. <http://doi.org/0000000000000000>



© The Author(s).

DOI: <http://doi.org/0000000000000000>

Publisher: Kharazmi University.

Introduction

Foodborne diseases are a significant and widespread public health issue. This is especially true in developing countries where a lack of resources and limited food safety infrastructure make people more vulnerable to contaminated food. To help solve this problem, scientists are exploring new ways to fight the microbes that cause these diseases. Nanotechnology, the science of manipulating matter on an atomic and molecular scale, offers a promising new approach for creating powerful antimicrobial agents. This study explores the effectiveness of tiny silver and copper nanoparticles as new tools for food protection. Researchers compared these nanoparticles to sodium hypochlorite, a common household disinfectant. The goal was to see how well they could kill three different kinds of microbes that often contaminate food: *Salmonella typhimurium*, a bacteria that causes food poisoning; *Listeria monocytogenes*, a bacteria that can cause severe illness and is a major concern in the food industry; and *Kluyveromyces marxianus*, a yeast that can cause food to spoil.

Method

In this study, researchers chemically synthesized both silver and copper nanoparticles. To understand their properties, they first thoroughly characterized them. Scanning Electron Microscopy (SEM) was used to confirm their morphology and size, while X-ray diffraction analysis was performed to evaluate their crystalline structure. To determine the antimicrobial activity, a series of tests were conducted. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined for the copper nanoparticles, silver nanoparticles, and a conventional disinfectant, sodium hypochlorite. Finally, a well diffusion test was performed to visually assess the antibacterial activity of the synthesized nanoparticles by measuring the zones of inhibition. These methods provided a comprehensive evaluation of the agents' effectiveness against the target pathogens.

Results

The characterization of the synthesized nanoparticles confirmed their successful formation and key physical properties. Scanning electron microscopy (SEM) micrographs revealed that both the copper and silver nanoparticles had a consistent spherical morphology, providing visual confirmation of their shape and size. Further analysis using X-ray diffraction determined the crystalline structure of the nanoparticles, confirming their identity and purity. The FTIR spectrum also provided valuable data by identifying the stretching vibrations of various functional groups on the nanoparticle surfaces, which is important for understanding their chemical composition and stability. The antimicrobial efficacy of the synthesized nanoparticles was comprehensively evaluated and the results were significant for all tested pathogens. The well diffusion test provided visual evidence of antimicrobial activity, as demonstrated by clear inhibition zones around the wells containing the nanoparticles. The diameter of the inhibition zone (DIZ) indicated the microorganism's sensitivity to the agents. Positively charged silver nanoparticles (AgNPs) consistently produced the largest inhibition zones across all concentrations (250–1000 ppm) when compared to the negatively charged copper nanoparticles (CuNPs). Specifically, *Salmonella typhimurium* showed the highest sensitivity to AgNPs with a DIZ of 40 mm at 1000 ppm. For the other pathogens, *Listeria monocytogenes* showed a 30 mm DIZ with AgNPs at 1000 ppm, and *Kluyveromyces marxianus* showed a 35 mm DIZ at the same concentration. However, it's worth noting that CuNPs showed an impressive 41 mm DIZ against *Salmonella typhimurium* at 1000 ppm. The broth microdilution method precisely quantified the antimicrobial potency of the agents. The MIC values confirmed that both

nanoparticles were more effective at inhibiting microbial growth than the conventional disinfectant, sodium hypochlorite, at a 1000 ppm concentration. For both *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, the MIC was 125 ppm for AgNPs and 250 ppm for CuNPs, while sodium hypochlorite's MIC was 500 ppm. The yeast, *Kluyveromyces marxianus*, was particularly sensitive to the nanoparticles, with a MIC of just 62.5 ppm for AgNPs and 125 ppm for CuNPs, which were significantly lower than the 250 ppm required for sodium hypochlorite. The MBC values further confirmed these findings, with AgNPs and CuNPs requiring lower concentrations to kill the pathogens compared to sodium hypochlorite. For example, the MBC for AgNPs against *Listeria monocytogenes* was 250 ppm, whereas CuNPs required 500 ppm. These results collectively demonstrate the superior antimicrobial efficacy of the synthesized silver and copper nanoparticles against key foodborne pathogens.

Table 1. X-ray diffraction (XRD) pattern of copper nanoparticles (A) and silver nanoparticles (B).

Sample	Miller Indices (hkl)	2θ (°)	Relative Intensity
Cu Nanoparticle	(111)	38.5	High
	(200)	55.3	Medium
	(220)	68.9	Low
Ag Nanoparticle	(111)	38.2	High
	(200)	47.1	Low
	(220)	63.2	Low
	(311)	75.1	Low

Table 2. Results from Fourier transform infrared (FTIR) spectra for copper nanoparticles and silver nanoparticles.

Sample	Peak (cm ⁻¹)	Functional Group / Stretching Vibration
Cu Nanoparticle	2931	C-H stretching
	3432	N-H stretching
	1842	C-N stretching
	1383	C-N stretching
	1072	C-O stretching
Ag Nanoparticle	3398	N-H stretching
	2931	C-H stretching
	1711	C-O-C stretching
	1340	C-N stretching

Table 3. Results of determining the MIC and MBC of AgNPs, CuNPs, and sodium hypochlorite at different concentrations against *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, and *K. marxianus* after 24 hours.

Pathogen	Nanoparticle / Disinfectant	MIC (ppm)	MBC (ppm)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Silver nanoparticle (AgNPs)	125	250
	Copper nanoparticle (CuNPs)	250	500
	Sodium hypochlorite	500	1000
<i>Salmonella typhimurium</i>	Silver nanoparticle (AgNPs)	125	250
	Copper nanoparticle (CuNPs)	250	500
	Sodium hypochlorite	500	1000
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Silver nanoparticle (AgNPs)	62.5	125
	Copper nanoparticle (CuNPs)	125	250
	Sodium hypochlorite	250	500

Conclusions

The findings of this study offer compelling evidence for the potential of silver and copper nanoparticles as powerful new tools in the fight against foodborne pathogens. The research successfully synthesized stable, spherical nanoparticles, a crucial first step for any practical application. This success was confirmed through detailed characterization techniques like SEM, FTIR, and XRD, which not only verified their structural integrity but also provided key insights into the surface properties that drive their potent antimicrobial activity. The results from the well diffusion and broth dilution tests clearly show that both silver and copper nanoparticles are highly effective at inhibiting and killing common food contaminants like *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Kluyveromyces marxianus*. In fact, they proved to be more potent than a conventional disinfectant like sodium hypochlorite at the same concentrations. This superior efficacy, demonstrated by smaller MIC and MBC values, highlights their promise for practical use in food safety applications, especially in areas with limited resources where foodborne diseases are a significant public health challenge.

بررسی خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس در مقایسه با هیپوکلریت سدیم در برابر

پاتوژن‌های آلوده کننده مواد غذایی

فروغ محمدی^۱، مریم کریمی دهکردی^۲، اشکان پورشهباز^{۳✉}

۱. دانشیار گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. رایانامه
۲. دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۳. نویسنده مسئول، دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران. رایانامه:

ashkan_vet@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	مقدمه: بیماری‌های ناشی از غذا تهدیدی جدی برای سلامت عمومی در کشورهای در حال توسعه، محسوب می‌شوند. هدف این مطالعه بررسی و ارزیابی اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس سنتز شده به روش شیمیایی بر پاتوژن‌های رایج غذایی شامل <i>Salmonella typhimurium</i> ، <i>Listeria monocytogenes</i> و <i>Kluyveromyces marxianus</i> بود. این مطالعه همچنین اثربخشی این نانوذرات را با یک ضد عفونی کننده متداول، هیپوکلریت سدیم، مقایسه کرد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۹	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۰۶	
کلیدواژه‌ها:	مواد و روش: در این تحقیق، نانوذرات نقره و مس با استفاده از روش‌های شیمیایی سنتز شدند. مورفولوژی و اندازه آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و ساختار کریستالی آن‌ها با استفاده از پراش اشعه ایکس (XRD) تأیید شد. سپس، فعالیت ضد میکروبی نانوذرات و هیپوکلریت سدیم با استفاده از آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC) و تست انتشار از چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت.
ضد میکروبی، هیپوکلریت سدیم، نانوذرات مس، نانوذرات نقره	نتایج: تصاویر SEM نشان داد که نانوذرات سنتز شده دارای شکلی کروی هستند. نتایج FTIR و XRD نیز به ترتیب وجود گروه‌های عاملی و ساختار کریستالی آن‌ها را تأیید کرد. مشاهده مناطق بدون رشد (هاله عدم رشد) در اطراف نانوذرات و مقادیر معنی‌دار MIC/MBC، فعالیت ضد میکروبی قوی آن‌ها را تأیید نمود.
	نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نانوذرات نقره و مس پتانسیل قابل توجهی به عنوان عوامل ضد میکروبی مؤثر علیه پاتوژن‌های آلوده کننده مواد غذایی دارند. سنتز موفقیت‌آمیز نانوذرات کروی و پایدار، همراه با اثربخشی اثبات شده آن‌ها زمینه را برای استفاده از این مواد در بسته‌بندی مواد غذایی و تضمین ایمنی غذا به ویژه در مناطقی که با چالش‌های بهداشتی روبرو هستند، فراهم می‌کند.

استناد: محمدی، فروغ؛ کریمی دهکردی، مریم؛ و پورشهباز، اشکان (۱۴۰۴). عنوان مقاله. بررسی خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس در مقایسه با هیپوکلریت سدیم در برابر پاتوژن‌های آلوده کننده مواد غذایی. *یافته‌های نوین در علوم زیستی*، ۱۲ (۱)، ۱-۱۹.



<http://doi.org/10.22034/NBR.12.1.3>
© نویسنده‌گان.

ناشر: دانشگاه خوارزمی.

مقدمه

مسمومیت غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها اغلب به عنوان یک خطر قابل توجه برای سلامت جهانی در نظر گرفته می‌شود. سازمان بهداشت جهانی گزارش می‌دهد که عوامل بیماری‌زا از طریق غذا، مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها منجر به بیش از ۶۰۰ میلیون بیماری و ۴۲۰۰۰۰ مرگ در سراسر جهان در سال می‌شوند (Packialakshmi et al., 2023). سالانه بیماری‌های منتقله از غذا حدود ۱ نفر از هر ۱۰ نفر را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در کشورهای توسعه یافته، ۲۰ تا ۴۰ درصد از موارد ناراحتی روده به عفونت‌های ناشی از غذا نسبت داده می‌شود. تا کنون بیش از بیست و یک سویه باکتری و شش سویه ویروس، که عوامل مهم بیماری‌های عفونی شدید هستند، در منابع مختلف محیطی مانند سبزیجات تازه، غذاهای دریایی و محصولات کشاورزی شناسایی شده‌اند (Abatcha et al., 2020). طی سال‌های گذشته تغییرات قابل توجهی در اپیدمیولوژی بیماری‌های منتقله از غذا ایجاد شده است. ظهور مجدد عوامل بیماری‌زا از طریق غذا کمک زیادی به این روند نموده است. بیماری‌های ناشی از غذا معمولاً توسط ویروس‌های بیماری‌زا مانند هپاتیت A، نوروویروس و روتاویروس و همچنین باکتری‌هایی مانند کمپیلوباکتر ژژونی، اشریشیا کلی، لیستریا و سالمونلا ایجاد می‌شوند (Bhunia, 2018). مسمومیت می‌تواند به دلیل سموم تولید شده توسط عوامل بیماری‌زا مانند کلستریدیوم پرفرنجنس، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس نیز رخ دهد. گونه‌های سالمونلا و لیستریا به عنوان منابع قابل توجهی از آلوده کنندگان مواد غذایی شناخته شده‌اند که با وجود تلاش‌های نظارتی برای رسیدگی به این موضوع، اثرات اقتصادی قابل توجهی در سطح جهانی دارند (Lee et al., 2021).

خانواده انتروباکتریاسه که شامل سالمونلاهای گرم منفی و میله‌ای شکل غیر تیفوئیدی می‌باشد جزء شایع ترین پاتوژن‌های مشترک میان انسان و دام در سراسر جهان هستند. انسان‌ها این میکروب را از طریق گوشت گاو، مرغ، خوک، شیر، تخم مرغ آلوده و تماس با حیواناتی مانند مارمولک و لاک پشت آلوده دریافت می‌نمایند (Habib et al., 2021). مسمومیت با این پاتوژن به طور کلی منجر به گاستروانتریت خود محدود شونده خفیف تا متوسط همراه با درد معده، اسهال، استفراغ، گرفتگی عضلات، تب و تهوع می‌شود که ممکن است به مرگ نیز منجر شود (Nguyen et al., 2021). عفونت‌های ناشی از مواد غذایی جهان و خاورمیانه که توسط لیستریا مونوسیتوژنز ایجاد می‌شود، نیز به یک مسئله مهم بهداشت عمومی تبدیل شده است. این پاتوژن ممکن است محصولات تازه و با منشاء حیوانی را آلوده نماید. لیستریا در چندین منبع غذایی مانند گوشت، غذاهای دریایی، محصولات لبنی، سبزیجات، آب، گیاهان، خاک و مدفوع ناقلانی که هیچ علامتی ندارند، یافت شده است (Sodagari et al., 2020). سالانه، در سطح جهان، لیستریوز منجر به حدود ۲۳۱۵۰ مورد بیماری و نرخ مرگ و میر ۵۴۶۳ مرگ و میر می‌شود. این بیماری ممکن است به ویژه در افراد مسن، زنان باردار و کسانی که سیستم ایمنی ضعیفی دارند خطر آفرین باشد (Chen et al., 2019). کلویرومایسس مارکسیانوس مخمری هموتال و همی آسکومیست می‌باشد که از نظر فیلوژنتیکی مربوط به ساکارومایسس سرویزیه بوده و یک گونه خاوه‌ری از گونه شناخته شده تر از کلویرومایسس لاکتیس می‌باشد. این مخمر یکی از عوامل آلوده کننده و مولد فساد در برخی از مواد غذایی از جمله ماست و فرآورده های وابسته به آن، مانند نوشیدنی دوغ در ایران می‌باشد و می‌تواند سبب بادکردگی بسته بندی ناشی از تولید دوغ گردد (Alexander., 2021).

هدف اصلی در رسیدگی به پاتوژن‌های غذایی، مدیریت و کنترل موثر آن‌ها در تمام مراحل، از جمله برداشت، پردازش، ذخیره سازی و توزیع است. چندین استراتژی ضد باکتریایی و ضد ویروسی برای کنترل پاتوژن‌های غذایی استفاده شده است. شواهد حاکی از آن است که بیش از ۷۰ درصد از باکتری‌های مسئول عفونت و مسمومیت به یک یا چند عامل ضد میکروبی که معمولاً برای درمان عفونت‌ها و مسمومیت‌ها استفاده می‌شوند، مقاوم می‌باشند (Khezerlou et al., 2018). لذا با توجه به توانایی آن‌ها در تحمل شرایط محیطی متنوع و مقاومت در برابر طیف وسیعی از درمان‌های فیزیکیوشیمیایی، استراتژی‌های کنترل پاتوژن عفونی با توجه به انتشار بالقوه فرامرزی آن‌ها بسیار ضروری می‌باشد (Ermini et al., 2021).

پیشرفت سریع فناوری نانو، تغییرات قابل توجهی را در صنایع غذایی و کشاورزی، به ویژه با ظهور بسته‌بندی‌های هوشمند و کاربردی، نانوحسگرها، نانو آفت‌کش‌ها و نانوکودها، امکان‌پذیر نموده است. به منظور اهدافی مانند نظارت بر شرایط محیطی،

افزایش کیفیت و ایمنی مواد غذایی، و ترویج رشد محصولات، نانومواد جدید متعددی توسعه یافته‌اند (He et al., 2021). نانوذرات ضد میکروبی در کاهش فساد مواد غذایی و افزایش ماندگاری مواد غذایی نویدبخش می‌باشند. ترکیبات آلی و معدنی مختلف به عنوان عوامل ضد باکتری کارآمد پیشنهاد شده‌اند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ذاتی نانوذرات معدنی (فلز و اکسید فلز) باعث افزایش تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که باعث استرس اکسیداتیو و در نتیجه آسیب سلولی می‌شود (Jaiswal et al., 2019). نانوذرات مبتنی بر فلز توانایی منحصربه‌فردی را برای هدف قرار دادن بیومولکول‌ها و باکتری‌های مختلف دارند و مانع از تشکیل سویه‌های مقاوم می‌شوند. آن‌ها همچنین به عنوان عوامل ضد میکروبی موثر از طریق فرآیندهای متمایز در مقایسه با درمان‌های سنتی عمل می‌کنند (Ahmad et al., 2020). فلزات حجیم به دلیل خواص ضد باکتریایی خود برای هزاران سال مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مس (Cu) و نقره (Ag) از زمان‌های قدیم برای تصفیه آب و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از ورقه‌های نقره در طول تاریخ برای جلوگیری از عفونت در زخم‌های جراحی استفاده می‌شده است، در حالی که ترکیبات مس به طور گسترده در کشاورزی به عنوان عوامل قارچ کش انگور و سیب زمینی استفاده می‌شود. نانوذرات مس زیست سازگار بوده و ممکن است با استفاده از تکنیک‌های سازگار با محیط زیست تولید شوند (Crisan et al., 2021). نانوذرات مبتنی بر مس در چندین کاربرد از جمله محصولات پوستی، پوشش‌های فلزی، جوهر و پلاستیک مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شوند. هم چنین این نانوذرات در آلیاژها برای پوشش‌های ضد میکروبی در دندانپزشکی و ضد عفونی و بررسی استفاده می‌شود (Rai et al., 2018). Ag و مشتقات نمک آن اغلب به عنوان عوامل باکتری کش برای درمان بیماری‌های میکروبی مختلف استفاده می‌شود. تحقیقات گسترده‌ای برای بررسی خواص باکتری کشی مواد مبتنی بر نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی برای بررسی برهم‌کنش‌های میان نانوذرات نقره و میکروب‌ها انجام شده است (Bruna et al., 2021). لذا هدف این مطالعه سنتز نانوذرات نقره و مس و بررسی اثرات مهارکنندگی آن بر باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسیتوزنز و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس به عنوان نمونه‌های از پاتوژن‌های آلوده کننده در مواد غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

سنتز نانوذرات نقره (Ag NPs)

به طور خلاصه، تمام ظروف شیشه ای آزمایشگاهی در یک محلول ۱:۳ از HCl/HNO_3 قرار داده شدند و سپس سه بار با آب مقطر کاملاً شستشو داده شدند. متعاقباً، مجموعاً ۱ میلی‌لیتر از محلول آبی ۰/۰۱ مولار AgNO_3 (سیگما آلدريج، ایالات متحده آمریکا) به ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۱-دودسیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلرید ($[\text{C}_{12}\text{mim}][\text{Cl}]$) ۶/۲ میلی‌مولار اضافه شد. پس از هم زدن شدید این محلول، محلول آبی تازه تهیه شده ۰/۴ مولار NaBH_4 به صورت قطره قطره با استفاده از قطره چکان به محلول قبلی اضافه شد تا رنگ محلول به طلایی تغییر کند که نشانه بصری تشکیل نانوذرات است. پس از آن، به منظور حذف مقدار اضافی مایعات یونی، محلول کلونیدی به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای از بین بردن یون‌های نقره اضافی، کلونیدهای نقره حداقل سه بار با آب دیونیزه شسته شده و در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت سه روز متوالی خشک شدند. پودر خشک شده‌ای از نقره با اندازه نانو بدست آمد.

سنتز نانوذرات مس (Cu NPs)

در این پژوهش نانوذرات مس با روش سیترات سدیم سنتز شدند. محلول سیترات سدیم به صورت قطره‌ای به محلول کلرید مس (CuCl_2) (۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) اضافه شد تا نسبت ۱:۲ یا ۱:۵ حفظ شود. رسوب قهوه‌ای رنگ با افزودن سریع محلول آبی سدیم فرمالدئید سولفوکسیلات (SFS) (۱:۱ نسبت به CuCl_2) به مخلوط واکنش پس از تقریباً ۳۰ دقیقه در دمای اتاق به دست آمد. سپس مخلوط به مدت یک ساعت دیگر در دمای کمتر از ۶۰ درجه سانتی گراد هم زده شد. به منظور جمع‌آوری پودر از سانتریفیوژ استفاده شد و سپس به مدت دو تا سه ساعت در آون و تحت شرایط خلاء تمیز و خشک شد (Karikalan, 2018).

تکنیک‌های شناسایی نانوذرات سنتز شده

پیوندهای شیمیایی و خصوصیات نانوذرات سنتز شده با استفاده از تکنیک‌های مختلفی از جمله دستگاه طیف سنج مادون قرمز (FTIR) و دستگاه آنالیز تفرق نور پویا (DLS) شناسایی شد. موفولوژی و اندازه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Zeiss Auriba) و ساختار کریستالی نانوذرات مس و نقره سنتز شده با استفاده از روش پراش اشعه ایکس (XRD) آنالیز شد. بلورینگی و ترکیب فاز نانوذرات مس و نقره با استفاده از پراش سنج XPERT-PRO PANalytical با استفاده از تابش $\text{CuK}\alpha$ فیلتر شده نیکل ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) با شکاف ثابت در ۴۵ کیلو ولت (ولتاژ) و ۴۰ میلی آمپر (جریان) در زاویه 2θ بررسی شد.

فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره و مس

گونه‌های باکتریایی و مخمر

نانوذرات سنتز شده تحت ارزیابی ضدباکتریایی و ضد قارچی روی هر دو گونه باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی مانند لیستریا مونوسیژنوز (گرم مثبت)، سالمونلا تیفی موریوم (گرم منفی) و مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس قرار گرفتند. گونه‌های مورد مطالعه از مرکز مطالعات و تحقیقات بیوتکنولوژی ایران، تهیه شدند. آمپول لیوفلیزه حاوی میکروارگانیسم‌های فوق طبق دستورالعمل شرکت سازنده در شرایط کاملاً استریل باز شد. کشت مادر در مورد باکتری‌ها بر روی محیط کشت تریپتیکاز سوی براث (TSB, Condalan, Spain) و در مورد کلویورومایسس مارکسیانوس بر روی محیط کشت YM براث (ایبریسکو، ایران) صورت گرفت و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری بر روی محیط کشت مغذی کشت داده شد.

بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات مس و نقره با روش انتشار از چاهک

در این روش از محیط کشت مولر هینتون آگار (ایبریسکو، ایران) برای کشت سویه‌های باکتریایی و محیط PDA (Potato Dextrose Agar, Merck, Germany) استفاده شد. ابتدا سوآب استریل را با سوسپانسیون باکتری و قارچی با کدورت نیم مک فارلند به خوبی آغشته نموده و در سطح پلیت به صورت چمنی کشت داده شد. سپس با انتهای پیت پاستور، چاهک‌های به قطر ۶ میلی متر ایجاد نموده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نانوذرات نقره و مس با غلظت‌های ۱۰۰۰-۲۵۰ ppm به هر چاهک اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۱ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شد. در صورت مشاهده هاله عدم رشد باکتری، قطر هاله اندازه گیری می‌گردد. از هیپوکلریت سدیم در غلظت ۱۰۰۰ ppm به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی با استفاده از روش میکرودایلوشن

روش مرسوم دایلوژن براث برای ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره، مس و هیپوکلریت سدیم استفاده شد. این رویکرد با تعیین حداقل غلظت باکتری کش (MBC) و حداقل غلظت بازدارنده (MIC) (CLSI M100-S25 ژانویه ۲۰۱۵) منجر به سرکوب رشد باکتری می‌شود. به طور خلاصه، باکتری‌ها یک شبه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در مولر-هینتون (MH) براث کشت داده شدند و با استانداردهای ۰/۵ مک فارلند به تراکم نهایی 10^8 واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر تنظیم شدند. هم چنین برای کلویورومایسس مارکسیانوس از محیط کشت PDB (Potato Dextrose Broth) استفاده شد. از هر محلول ذخیره، ۱ میلی لیتر سوسپانسیون AgNPs، ۱ میلی لیتر CuNPs و ۱ میلی لیتر محلول هیپوکلریت سدیم را در لوله های آزمایش اضافه شده و آن را به ترتیب با رقت دو برابری رقیق کردیم. سپس ۵ میکرولیتر از باکتری را به تمام لوله های آزمایش حاوی

عوامل ضد میکروبی اضافه گردید. لوله های آزمایش به خوبی تکان داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. MIC هر دو عامل ضد باکتری را با بازرسی بصری تعیین نموده و از طریق اسپکتروفتومتری تایید شد. پس از تعیین MIC نانوذرات نقره و مس، مقادیر ۵۰ میکرولیتر از تمام لوله هایی که رشد باکتریایی قابل مشاهده را نشان نمی دهند، روی صفحات مولر هینتون آگار کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. هنگامی که ۹۹/۹٪ از جمعیت باکتریایی در کمترین غلظت یک عامل ضد میکروبی کشته شوند، به عنوان نقطه پایانی MBC نامیده می شود. این کار با مشاهده صفحات آگار قبل و بعد از انکوبه برای وجود یا عدم وجود باکتری انجام شد

نتایج

ارزیابی خصوصیات نانوذرات نقره و مس

جدول ۱ الگوی XRD معمولی از نانوذرات Cu و Ag را نشان می دهد که در دما ۴۰۰ درجه سانتی گراد ثبت شده اند. پیک های پراش در نمونه نانوذرات Cu مربوط به خطوط مسی متمایز مکعبی با نمایه سازی ۱۱۱، ۲۰۰ و ۲۲۰ است که به ترتیب در زوایای پراش ۳۸/۵ درجه، ۵۵/۳ درجه و ۶۸/۹ درجه شناسایی شدند. این پیک های پراش در موقعیت زاویه ای با قله های کریستالی مس خالص قابل مقایسه بودند، اما به دلیل قرار گرفتن میانگین اندازه ذرات در محدوده نانومتری، به طور قابل توجهی گسترش یافتند. اوج پراش در زوایای ذکر شده مطابق با شدت ۱۱۱، ۲۰۰ و ۲۲۰ مجموعه صفحات شبکه از ساختار FCC یون های مس فلزی است، که نشان می دهد CuNP ها از مس کریستالی خالص ساخته شده اند. الگوی XRD گزارش شده در این مطالعه با گزارشات پیشین مطابقت داشت. نانوبلورهای نقره نیز در آنالیزهای پراش پودر اشعه ایکس شناسایی شدند. برای AgNP های تهیه شده با PVA به عنوان یک عامل محافظ در محلول آبی، یک الگوی پراش پودر پرتو ایکس ثبت شد که به خوبی با الگوی Ag (FCC) در کتابخانه مرجع JCPDS مطابقت دارد. در 2θ، برای نانوذرات Ag چهار قله پراش مختلف، به ترتیب ۳۸/۲ درجه، ۴۷/۱ درجه، ۶۳/۲ درجه و ۷۵/۱ درجه یافت شد که به ترتیب با صفحات کریستالی نقره مکعبی ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ مطابقت دارند.

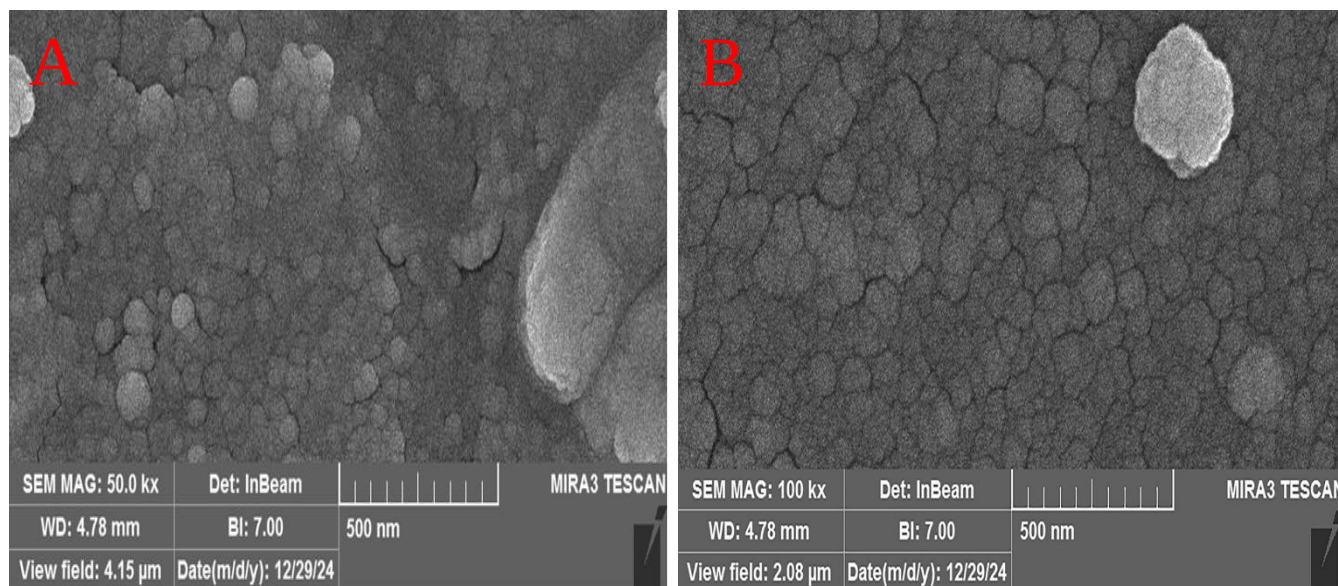
جدول ۱. الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نانوذرات مس (A) و نانوذرات نقره (B).

Table 1. X-ray diffraction (XRD) pattern of copper nanoparticles (A) and silver nanoparticles (B).

نمونه	شدت پراکنش	زاویه پراش 2θ
نانوذره Cu	۱۱۱	۳۸/۵
	۲۰۰	۵۵/۳
	۲۲۰	۶۸/۹
نانوذره Ag	۱۱۱	۳۸/۲
	۲۰۰	۴۷/۱
	۲۲۰	۶۳/۲
	۳۱۱	۷۵/۱

شکل ۱ یک میکروگراف الکترونی روبشی (SEM) از نانوذرات مس و نقره تولید شده در این مطالعه را نشان می دهد. میکروگراف نانوذرات کرومی را نشان می دهد. میکروگراف های SEM نانوذرات تولید شده برای بررسی اندازه، شکل و توزیع نانوذرات مورد استفاده قرار گرفتند. این تصاویر نشان می دهد که نانوذرات مس و نقره سنتز شده دارای اندازه متوسط ۵۰۰ نانومتر با شکل کرومی می باشند که به طور مساوی پراکنده شده اند. پتانسیل زتا، نشانگر پتانسیل بار سطحی، یک پارامتر مهم برای درک پایداری

نانوذرات در سوسپانسیون‌های آبی است. پتانسیل زتا برای نانوذرات نقره $30/3 \pm 0/3$ میلی ولت و برای نانوذرات مس $32/7 \pm 0/5$ میلی ولت اندازه گیری شد که نشان می دهد نانوذرات تولید شده بر روی سطح خود بار مثبت و منفی دارند.



شکل ۱. میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانوذرات مس (A) و نانوذرات نقره (B).

Figure 1. Scanning electron microscope (SEM) micrographs of copper nanoparticles (A) and silver nanoparticles (B).

وجود گروه‌های عملکردی شیمیایی مختلف، از جمله ارتعاشات کششی N-H آمین‌ها یا پیوندهای آمیدی (قله‌های قوی در $3300-3432$ سانتی متر^{-۱}، ارتعاش کششی C-H گروه آلکن‌ها (قله‌های کوچک در 2931 سانتی متر^{-۱}، ارتعاشات کششی C-O-C (باندهای مشاهده شده در 1842 سانتی متر^{-۱} و 1711 سانتی متر^{-۱}) ارتعاشات کششی C-N آمین‌های آروماتیک و آلیفاتیک (باندهای مشاهده شده به ترتیب در 1383 سانتی متر^{-۱} و 1340 سانتی متر^{-۱})، و ارتعاشات کششی C-O مربوط به گروه‌های کربوکسیلات و الکلی (باند ضعیف تر در 1024 سانتی متر^{-۱} و 1072 سانتی متر^{-۱}) روی سطح نانو ذرات Cu و Ag توسط FTIR ثبت شد (جدول ۲). بنابراین طیف FT-IR وجود برهمکنش‌های مولکولی Ag و Cu را تایید نمود.

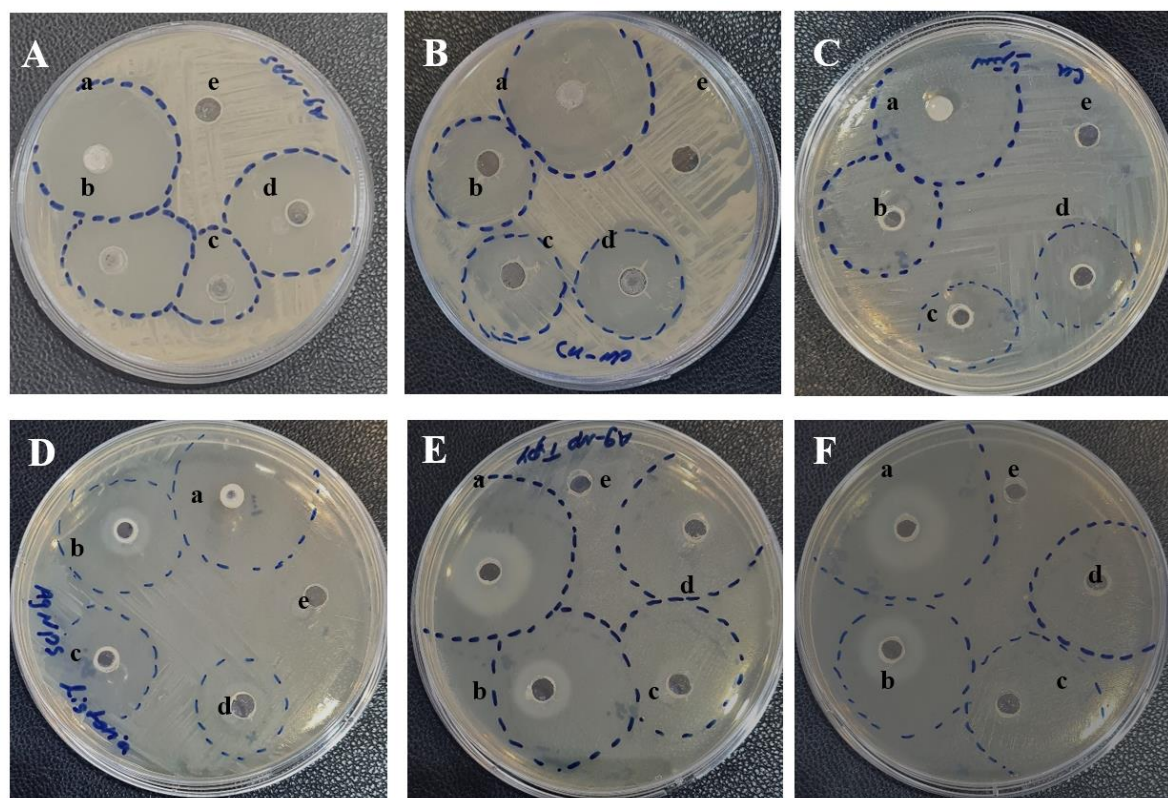
جدول ۲. نتایج حاصل از طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) برای نانوذرات مس و نانوذرات نقره.

Table 2. Results from Fourier transform infrared (FTIR) spectra for copper nanoparticles and silver nanoparticles.

نمونه	پیک (cm^{-1})	ارتعاشات کششی
نانوذره Cu	۲۹۳۱	C-H
	۳۴۳۲	N-H
	۱۸۴۲	C-N
	۱۳۸۳	C-N
	۱۰۷۲	C-O
نانوذره Ag	۳۳۹۸	N-H
	۲۹۳۱	C-H
	۱۷۱۱	C-O-C
	۱۳۴۰	C-N

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی با روش انتشار از چاهک (Disk Diffusion)

شکل ۲ مناطق بازدارندگی ناشی از نانوذرات نقره را در غلظت‌های مختلف در برابر گونه‌های باکتری‌ها و قارچ انتخاب شده را نشان می‌دهد. نتایج بصری نمونه در شکل ۲ مشخص شده است. AgNP‌های دارای بار مثبت در مقایسه با نانوذرات مس با بار منفی بیشترین مناطق بازدارندگی را در برابر همه‌ی سویه‌های استفاده شده در این مطالعه در تمام غلظت‌های مورد استفاده (۲۵۰-۱۰۰۰ ppm) نشان داد. قطر منطقه مهار (DIZ=Diameter of inhibition zone) نشان دهنده‌ی حساسیت سویه‌های مورد مطالعه نسبت به نانوذرات استفاده شده در این مطالعه می‌باشد. لیستریا مونوسیتوزنز بیشترین ناحیه مهار (۳۰ میلی متر) را در غلظت ۱۰۰۰ ppm و کمترین ناحیه مهار را (۲۲ میلی متر) در غلظت ۲۵۰ ppm برای نانوذرات نقره نشان دادند. سالمونلا تیفی موریوم نیز با قطر ۴۰ میلی متر بیشترین ناحیه مهار را در غلظت ۱۰۰۰ ppm از نانوذرات نقره نشان داد. بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به کلویورومایسس مارکسیانوس (۳۵ میلی متر) در غلظت ۱۰۰۰ ppm از نانوذرات نقره گزارش شد. نتایج این مطالعه نشان داد که حساسیت سویه‌های مورد مطالعه نسبت به هیپوکلویریت سدیم در غلظت ۱۰۰۰ ppm نسبت به نانوذرات نقره و مس سنتز شده در غلظت ۱۰۰۰ ppm کمتر می‌باشد. قطر هاله عدم رشد برای نانوذرات مس مورد مطالعه در این پژوهش برای سویه لیستریا مونوسیتوزنز در غلظت ۱۰۰۰ ppm، ۳۵ میلی متر و برای غلظت ۲۵۰، ۲۵ میلی متر گزارش شد. هم چنین قطر منطقه شفاف ناشی از غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm و ۲۵۰ از نانوذرات مس برای سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب ۴۱ و ۲۵ میلی متر و برای کلویورومایسس مارکسیانوس ۳۴ و ۲۵ میلی متر گزارش شد.



شکل ۲. ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی AgNPs و CuNPs سنتز شده در این پژوهش در مقایسه با هیپوکلریت سدیم. (A) تیمار *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*) با هیپوکلریت سدیم. (B) تیمار *Kluyveromyces marxianus* با نانوذرات نقره و غلظت ۱۰۰۰ ppm از هیپوکلریت سدیم، (C) تیمار *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) با نانوذرات مس و غلظت ۱۰۰۰ ppm از هیپوکلریت سدیم، (D) تیمار *Listeria monocytogenes* با نانوذرات مس و غلظت ۱۰۰۰ ppm از هیپوکلریت سدیم، (E) تیمار *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) با هیپوکلریت سدیم، (F) تیمار *Salmonella typhimurium* با نانوذرات مس و غلظت ۱۰۰۰ ppm از هیپوکلریت سدیم. (a) غلظت ۱۰۰۰ ppm، (b) ۵۰۰ ppm، (c) ۲۵۰ ppm، (d) غلظت ۱۰۰۰ ppm از هیپوکلریت سدیم و (e) کنترل منفی.

Figure 2. Evaluation of the antibacterial activity of Ag and Cu nanoparticles synthesized in this study compared to sodium hypochlorite. (A) Treatment of *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*) with AgNPs and 1000 ppm concentration of sodium hypochlorite, (B) Treatment of *K. marxianus* with CuNPs and 1000 ppm concentration of sodium hypochlorite, (C) Treatment of *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) with AgNPs and 1000 ppm sodium hypochlorite, (D) Treatment of *L. monocytogenes* with CuNPs and 1000 ppm sodium hypochlorite, (E) Treatment of *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) with AgNPs and 1000 ppm sodium hypochlorite, and (F) Treatment of *S. typhimurium* with CuNPs and 1000 ppm sodium hypochlorite. (a) 1000 ppm concentration, (b) 500 ppm concentration, (c) 250 ppm concentration, (d) 1000 ppm concentration of sodium hypochlorite, and (e) negative control.

تعیین MIC و MBC

اثر ضد میکروبی Ag NPs و Cu NPs با استفاده از روش استاندارد رقت براث مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری MIC از مولر هینتون براث، از رقت‌های ۱۰۰۰ - ۳/۹ نانوذرات نقره، مس و هیپوکلریت سدیم استفاده شد. غلظت باکتری 10^8 واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر (۰/۵ استاندارد مک فارلند) تنظیم شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون هوازی در دمای 37°C ، همه لوله‌های آزمایش تیمار شده با غلظت‌های ۳/۹ تا ۱۲۵ نانوذرات نقره کدورت واضحی را نشان دادند که نشان‌دهنده رشد لیستریا مونوسیتوژنز بود. مطابق با نتایج به دست آمده میزان MIC نانوذرات نقره بر علیه لیستریا مونوسیتوژنز ۱۲۵ ppm، برای نانوذرات مس ۲۵۰ ppm و برای هیپوکلریت سدیم ۵۰۰ ppm گزارش شد (جدول ۳). هم چنین میزان MIC بر علیه سالمونلا تیفی موریوم برای نانوذرات نقره ۱۲۵ ppm، برای نانوذرات مس ۲۵۰ ppm و برای هیپوکلریت سدیم ۵۰۰ ppm گزارش شد (جدول ۲). MBC برای نانوذرات نقره علیه لیستریا مونوسیتوژنز ۲۵۰ ppm و برای نانوذرات مس ۵۰۰ ppm گزارش شد (جدول ۳). هم چنین میزان MBC برای سالمونلا تیفی موریوم در نانوذرات مس، نقره و هیپوکلریت سدیم به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm گزارش شد (جدول ۳). علاوه بر این نتایج نشان داد که حداکثر غلظت مهار کننده رشد کلویورومایسس مارکسیانوس برای نانوذرات نقره ۶۲/۵ ppm و برای نانوذرات مس ۱۲۵ ppm می‌باشد که در مقایسه با هیپوکلریت سدیم (۲۵۰ ppm) بسیار کمتر بود (جدول ۳). میزان MBC برای هیپوکلریت سدیم بر علیه کلویورومایسس مارکسیانوس ۵۰۰ ppm گزارش شد.

جدول ۳. نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC نانوذرات نقره، نانوذرات مس و هیپوکلریت سدیم در غلظت‌های مختلف علیه لیستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و کلویورومایسس مارکسیانوس پس از ۲۴ ساعت.

Table 3. Results of determining the MIC and MBC of AgNPs, CuNPs, and sodium hypochlorite at different concentrations against *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, and *K. marxianus* after 24 hours.

نام پاتوژن	نمونه نانوذره	MIC (PPM)	MBC (PPM)
لیستریا مونوسیتوژنز	نانوذره نقره	۱۲۵	۲۵۰
	نانوذره مس	۲۵۰	۵۰۰
	هیپوکلریت سدیم	۵۰۰	۱۰۰۰
سالمونلا تیفی موریوم	نانوذره نقره	۱۲۵	۲۵۰
	نانوذره مس	۲۵۰	۵۰۰
	هیپوکلریت سدیم	۵۰۰	۱۰۰۰
کلویورومایسس مارکسیانوس	نانوذره نقره	۶۲/۵	۱۲۵
	نانوذره مس	۱۲۵	۲۵۰
	هیپوکلریت سدیم	۲۵۰	۵۰۰

بحث

مواد غذایی می‌توانند در مراحل مختلف زنجیره تامین مواد غذایی توسط مواد شیمیایی سمی و میکروب‌ها آلوده شوند و خطر قابل توجهی برای سلامت انسان به همراه داشته باشند. فناوری نانو در سال‌های اخیر به سرعت پیشرفت کرده است و روش‌های نوآورانه‌ای را برای رسیدگی به مسائل مختلف در زمینه‌های علمی و صنعتی از جمله نظارت بر مواد غذایی ارائه می‌نماید (Nam et al., 2022). نانوتکنولوژی به سرعت در زمینه‌های مختلف علوم غذایی به‌ویژه در پردازش، بسته‌بندی، ذخیره‌سازی، حمل‌ونقل، عملکرد و جنبه‌های ایمنی مواد غذایی پیشرفت کرده است. مواد نانوساختار (NSM) شامل فلزات معدنی، اکسیدهای فلزی، نانوکامپوزیت‌ها و مواد نانو آلی با ترکیبات زیست فعال در تجارت مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Zorraquín-Peña

(et al., 2020). زوال مواد غذایی میکروبی یک مسئله مهم در سراسر جهان است که می‌تواند طول عمر غذا را کاهش داده و شانس ابتلا به بیماری‌های ناشی از مواد غذایی را افزایش دهد (Bajpai et al., 2018). در این چارچوب، استفاده از مواد ضد باکتری قوی مانند نانوذرات نقره و مس یک استراتژی جذاب می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه تجزیه و تحلیل اثربخشی نانوذرات نقره و مس سنتز شده در این مطالعه در سرکوب رشد لیستریا مونوسیتوزنز، سالمونلا تیفی موریوم و کلویورومایسس مارکسیانوس بوده است.

ساختار مورفولوژیکی عامل مهمی در ارزیابی نانوذرات نقره و مس می‌باشد و ارتباط نزدیکی با ویژگی‌های نوری، الکتریکی و بیولوژیکی آن‌ها دارد. SEM ممکن است برای مشاهده مورفولوژی، پراکندگی و اندازه نانوذرات استفاده شود (Al-Otibi et al., 2021). شکل ۱ ایجاد مورفولوژی‌های مختلف نانوذرات نقره و مس را نشان می‌دهد که عمدتاً کروی با برخی از ذرات بیضی شکل بزرگتر بودند. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که تفاوت در اندازه و شکل نانوذرات تولید شده رایج است (Al-Otibi et al., 2021). نانوذرات نقره در این تحقیق همانطور که در شکل ۲B نشان داده شده است دارای اندازه ۵۰۰ نانومتر بودند. نانوذرات نقره تولید شده کروی، به طور یکنواخت پراکنده، در اندازه متفاوت بودند و هیچ تجمعی نشان ندادند. نانوذرات مس تولید شده نیز دارای شکل کروی، بیضی و چند شکل نامنظم با اندازه ۵۰۰ نانومتر بودند. با کاهش اندازه نانوذرات، نسبت سطح به حجم افزایش می‌یابد. مورونز و همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که نانوذرات نقره از ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر فعالیت ضد باکتریایی قوی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از خود نشان می‌دهند (Morones et al., 2005). اندازه ذرات کوچک AgNP‌ها به آن‌ها اجازه می‌دهد به دیواره سلولی بچسبند و به راحتی وارد سلول‌های باکتری شوند و اثر ضد باکتریایی آن‌ها را افزایش دهند (Morones et al., 2005). مشخص کردن نانوذرات با تجزیه و تحلیل فیزیکوشیمیایی برای مطالعه اثرات بیولوژیکی با استفاده از روش‌های پراکندگی تشعشع بسیار مهم است. DLS می‌تواند توزیع اندازه ذرات میکروسکوپی را در محلول یا سوسپانسیون، از زیر میکرون تا یک نانومتر، تجزیه و تحلیل کند. پراکندگی دینامیک نور به تعامل بین نور و ذرات متکی است. این تکنیک برای اندازه گیری توزیع اندازه ذرات دقیق، به ویژه در محدوده ۲ تا ۵۰۰ نانومتر مناسب است (Lin et al., 2014). نانو ذرات نقره سنتز شده پتانسیل زتا ۳۰/۳ + میلی ولت و نانوذرات مس ۳۲/۷- را نشان دادند. توصیه می‌شود که نانوذرات دارای سطحی با بار منفی در مایع پخش می‌شوند. مقدار منفی دافعه ذرات و پایداری بالای آن‌ها را نشان می‌دهد. نقره به دلیل بار مثبتش، تمایل به واکنش با مولکول‌های زیستی با بار منفی از جمله فسفر و گوگرد، که اجزای اساسی بازهای DNA، پروتئین‌ها و غشای سلولی را دارد. نانوذرات نقره با آسیب رساندن به دیواره سلولی و غشای آن‌ها، طیف وسیعی از تغییرات مورفولوژیکی را در سلول‌های باکتریایی ایجاد می‌کنند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که نانوذرات نقره در برابر میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی موثر می‌باشند (More et al., 2023). تجزیه و تحلیل FT-IR گروه‌های عاملی موجود در نمونه را شناسایی می‌کند که به عنوان عوامل پوشاننده برای تثبیت نانوذرات سنتز شده عمل می‌کنند. تجزیه و تحلیل FTIR در این تحقیق ارتعاشات کششی مربوط به گروه‌های عاملی C-H، C-O-C، C-N و ارتعاشات کششی C-O مربوط به گروه‌های کربوکسیلات و الکلی را در نانوذرات نقره و مس نشان داد. بررسی XRD ساختار کریستالی نانوذرات مس و نقره را تایید کرد. همه پیک‌ها با فایل JCPDS استاندارد از کمیته مشترک استانداردهای پراش پودر مطابقت داشتند. داده‌ها به طور واضح سنتز نانوذرات و عدم وجود آلاینده‌ای را در پراش XRD تایید نمودند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Badawy و همکاران همسو بود که الگوی پراش مونوکلینیک مشابه را برای

نانوذرات مس خالص به دست آمده را تضمین نمود (Badawy et al., 2021). دلیل دقیق اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر میکروارگانیسم‌های مضر به خوبی شناخته نشده است. برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اثرات باکتری کشی نانوذرات ممکن است به دلیل برهمکنش الکترواستاتیکی میان سلول‌های باکتریایی با بار منفی و نانوذرات با بار مثبت باشد. مکانیسم‌های فرضی مختلفی برای عملکرد ضد باکتریایی نانوذرات نقره و مس شامل تخریب آنزیم، غیرفعال سازی پروتئین سلولی و شکستن DNA گزارش شده است. اندازه کوچکتر نانوذرات به احتمال زیاد به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به غشای سلولی باکتری بچسبند و عملکردهای آن مانند نفوذپذیری و تنفس را مختل نمایند. این امر می‌تواند نفوذ نانوذرات را به باکتری‌ها را تسهیل نموده و به طور بالقوه منجر به آسیب با تعامل با ترکیبات حاوی گوگرد و فسفر مانند DNA شود که منجر به لیز سلولی می‌گردد (Patra et al.,

2017). مکانیسم بالقوه اولیه ضد باکتری AgNP ها تولید یون‌های ضد میکروبی Ag^+ با انحلال نانوذرات نقره است. سپس این یون‌ها ممکن است با پروتئین‌های حاوی گوگرد در دیواره سلولی باکتری برهم کنش داشته و به طور بالقوه کارایی آن‌ها را به خطر بیندازند (Reidy et al., 2013). ترکیبات حاوی مس مانند $CuSO_4$ و $Cu(OH)_2$ مواد ضد باکتری غیر آلی معمولی می‌باشند. سلول‌های باکتریایی به دلیل وجود گروه‌های کربوکسیلیک اضافی در لیپوپروتئین‌های سطح باکتری، بار کلی منفی در سطوح pH بیولوژیکی دارند (Chatterjee et al., 2014). اعتقاد بر این است که چسبندگی و زیست فعالی باکتری‌ها و یون‌های مس تولید شده از نانوذرات ناشی از جاذبه بین بارهای متضاد آن‌هاست که مربوط به نیروهای الکترواستاتیکی است. پپتیدوگلیکان‌ها که مولکول‌هایی با بار منفی هستند، یون‌های Cu^{2+} را که از نانوذرات مس در یک محیط رشد مایع آزاد می‌شوند، جذب می‌کنند. بر اساس یک تئوری، باکتری‌ها می‌توانند یون‌های Cu^{2+} آزاد شده از نانوذرات را در غلظت‌های کافی جذب نمایند تا مکانیسم ضد باکتریایی نانوذرات مس را تشکیل دهند. این نانوذرات از طریق تغییر در ساختار پروتئین یا تغییر عملکرد آنزیم، می‌توانند به غشای سلولی باکتری آسیب وارد نمایند. وجود نانوذرات مس در محیط رشد سلول‌های باکتریایی را بی‌حرکت و غیرفعال نموده و روند تکثیر آن‌ها را مختل می‌نماید و منجر به از بین رفتن سلول‌های بعدی می‌شود (Raffi et al., 2010). تحقیق فعلی خواص ضد باکتریایی نانوذرات نقره و مس سنتز شده را بررسی نمود. سویه‌های مختلف باکتری از جمله لیستریا مونوسیتوزنز، سالمونلا تیفی موریوم و کلویرومایسس مارکسیانوس مورد آزمایش قرار گرفتند. این تحقیق شامل استفاده از پاتوژن‌های آلوده کننده مواد غذایی برای ارزیابی خواص ضد باکتریایی غلظت‌های مجزا از نانوذرات نقره و مس بود. سنجش انتشار دیسک شواهدی ارائه نمود که NP ها در مقایسه با هیپوکلریت سدیم ظرفیت حذف باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را با کارایی بیشتر دارند. یافته‌های این مطالعه از این فرضیه حمایت می‌کند که نانوذرات به عنوان عوامل طیف گسترده عمل می‌کنند، همانطور که قبلاً در ادبیات علمی مستند شده بود. هم چنین نتایج نشان داد که MIC نانوذره نقره بر ضد لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا تیفی موریوم ۱۲۵ ppm و MBC برابر با ۲۵۰ ppm می‌باشد. هم چنین MIC نانوذره نقره برای کلویرومایسس مارکسیانوس ۶۲/۶ ppm و MBC ۱۲۵ ppm گزارش شد که در مقایسه با غلظت مورد استفاده برای هیپوکلریت سدیم بسیار کمتر می‌باشد. تا کنون طیف وسیعی از روش‌های شستشو و ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی با درجات مختلف موفقیت در کاهش پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های فاسد کننده در سبزیجات مورد بررسی قرار گرفته‌اند. هیپوکلریت سدیم یک عامل ضدعفونی کننده پرکاربرد و کارآمد برای سبزیجات کمتر فرآوری شده است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که این ترکیب قادر به کاهش بار باکتریایی انواع پاتوژن‌ها از جمله لیستریا مونوسیتوزنز و گونه‌های سالمونلا می‌باشد (Arienzo et al., 2023). هیپوکلریت سدیم ارزان است و به راحتی در دسترس می‌باشد. هم چنین تأثیر کمی بر ویژگی‌های غذایی و حسی کالاهای تازه دارد. سطوح بالای هیپوکلریت سدیم می‌تواند مضر باشد زیرا می‌تواند محصولات جانبی ضد عفونی کننده (DBPs) از کلر ایجاد کند (Arienzo et al., 2023). نتایج حاصل از این مطالعه اثبات نمود که هیپوکلریت سدیم تنها در غلظت‌های ۵۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm رشد لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا تیفی موریوم را مهار نماید. در حالی که هیپوکلریت سدیم می‌تواند در کشتن میکروارگانیسم‌ها موثر باشد، مهم است که با احتیاط استفاده شود. قرار گرفتن مستقیم در معرض اشکال غلیظ هیپوکلریت سدیم می‌تواند منجر به تحریک پوست و چشم، مشکلات تنفسی و حتی سوختگی‌های شیمیایی شود. خوردن یا استنشاق هیپوکلریت سدیم می‌تواند بسیار خطرناک و بالقوه کشنده باشد. این ترکیب می‌تواند اثرات منفی بر محیط زیست داشته باشد. هنگامی که در بدنه‌های آبی رها می‌شود، می‌تواند به زندگی آبزیان آسیب برساند و اکوسیستم را مختل نماید. علاوه بر این، می‌تواند با مواد آلی مانند جلبک یا آمونیاک واکنش داده و محصولات جانبی بالقوه مضر را تشکیل دهد (Mishra et al., 2018). علی رغم این موضوع که هیپوکلریت سدیم یک ترکیب شیمیایی پرکاربرد با مزایای بی شماری از نظر ضدعفونی و تمیز کردن است و در از بین بردن میکروارگانیسم‌ها و تجزیه مواد آلی بسیار موثر است مهم است که از معایب آن، از جمله سمیت، خوردگی، اثرات بالقوه محیطی، و ماندگاری کوتاه آن آگاه باشیم. در شرایطی که خطرات مرتبط با هیپوکلریت سدیم بیشتر از مزایای آن است، ممکن است روش‌های ضدعفونی جایگزین در نظر گرفته شود (Yuan et al., 2021). به منظور غلبه بر این مشکلات، نانومواد زمینه جدیدی را در بخش‌های وسیع تری از بهداشت جهانی ایجاد نموده است. نتایج این مطالعه تایید می‌نماید که نانوذرات نقره و مس در غلظت‌های ۱۰۰۰ ppm، ۵۰۰ ppm و ۲۵۰ ppm می‌توانند اثرات ضد میکروبی و ضد مخمری قوی

تری را علیه پاتوژن‌های مهم و مرتبط با فساد مواد غذایی نسبت به هیپوکلریت سدیم نشان دهند. علاوه بر این نانوذرات نقره و نانوذرات مس به دلیل خواص فیزیکی، شیمیایی، الکتریکی، نوری و آلی متمایز خود، نقش مهمی در زمینه‌های علوم طبیعی و پزشکی ایفا می‌کنند که منجر به طیف گسترده‌ای از کاربردها می‌شود. این امر دانشمندان را به تحقیق در مورد تخصیص منابع و تکنیک‌های مدیریت کارآمدتر سوق داده است.

نتیجه‌گیری

استفاده از نانومواد در بسیاری از محصولات، به ویژه در بخش‌های پزشکی و زندگی روزمره، به طور قابل توجهی گسترش یافته است. علاوه بر این، برای اطمینان از وجود ایمن، آرام و بهینه، پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با آب، منسوجات، مواد غذایی و محیط‌های پزشکی ضروری است. نانوذرات نقره و مس برای چندین دهه برای جلوگیری از عفونت‌های میکروبیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نانوذرات نقره و مس در طیف وسیعی از اقلام روزمره و دستگاه‌های پزشکی کاربرد پیدا می‌کند و یک استراتژی نوآورانه برای مبارزه با باکتری‌های مقاوم میکروبی و جلوگیری از عفونت‌های باکتریایی ارائه می‌کند. مطالعه حاضر شواهد قانع‌کننده‌ای را ارائه می‌کند که از اثربخشی نانوذرات نقره و مس سنتز شده، به عنوان عوامل ضد باکتری در برابر طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌های فاسد کننده مواد غذایی حمایت می‌کند. ساختار اولیه و سنتز مؤثر نانوذرات با نتایج مشخص‌سازی به‌دست‌آمده از طریق DLS، FTIR و SEM تأیید شد. هم‌چنین پتانسیل ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده در این مطالعه نسبت به هیپوکلریت سدیم مورد ارزیابی قرار گرفت و تایید شد. در نهایت می‌توان ذکر نمود که استفاده از این نانوذرات فلزی برای نگهداری طولانی‌مدت و جلوگیری از آلودگی مواد غذایی می‌تواند با توجه به فعالیت ضد میکروبی بالقوه آن‌ها در برابر باکتری‌های منتقله از غذا، برای صنایع غذایی مفید باشد. با استفاده مداوم از نانوذرات فلزی، مهم‌ترین پیچیدگی‌های صنایع غذایی مانند آلودگی باکتریایی و فساد قابل حل می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

اشکان پورشهباز: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله
 فروغ محمدی: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله
 مریم کریمی دهکردی: استاد مشاور پایان‌نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

حامی مالی

این مقاله هیچ کمک مالی یا حمایت مالی از هیچ نهاد خصوصی یا دولتی دریافت نکرده است. کلیه هزینه‌های تحقیق و نگارش این اثر به صورت شخصی تامین شده است.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه‌های آزاد اسلامی واحد کرمانشاه و سندج به دلیل حمایت مالی، حمایت معنوی و همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

References

- Abatcha MG, Goni MD, Abbas MA, Jalo IM, Mohammed GO. A review of Listeria and Salmonella: An update on description, characteristics, incidence, and antibiotic susceptibility. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2020;8(11):1232-49. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.11.1232.1249>.
- Ahmad SA, Das SS, Khatoon A, Ansari MT, Afzal M, Hasnain MS, Nayak AK. Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials science for energy technologies.* 2020 Jan 1;3:756-69. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.09.002>.
- Al-Otibi F, Alkudhair SK, Alharbi RI, Al-Askar AA, Aljowaie RM, Al-Shehri S. The antimicrobial activities of silver nanoparticles from aqueous extract of grape seeds against pathogenic bacteria and fungi. *Molecules.* 2021 Oct 8;26(19):6081. <https://doi.org/10.3390/molecules26196081>.
- Alexander E. Yeasts in nanotechnology-enabled oral vaccine and gene delivery. *Bioengineered.* 2021 Jan 1;12(1):8325-35. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1985816>.
- Arienzo A, Gallo V, Tomassetti F, Antonini G. Implication of sodium hypochlorite as a sanitizer in ready-to-eat salad processing and advantages of the use of alternative rapid bacterial detection methods. *Foods.* 2023 Aug 11;12(16):3021. <https://doi.org/10.3390/foods12163021>.
- Badawy AA, Abdelfattah NA, Salem SS, Awad MF, Fouda A. Efficacy assessment of biosynthesized copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on stored grain insects and their impacts on morphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. *Biology.* 2021 Mar 17;10(3):233. <https://doi.org/10.3390/biology10030233>.
- Bajpai VK, Kamle M, Shukla S, Mahato DK, Chandra P, Hwang SK, Kumar P, Huh YS, Han YK. Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. *Journal of food and drug analysis.* 2018 Oct 1;26(4):1201-14. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.011>.
- Bhunia A. *Foodborne microbial pathogens.* SpringerPublisher, New York. 2008:201-6.
- Bruna T, Maldonado-Bravo F, Jara P, Caro N. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International journal of molecular sciences.* 2021 Jul 4;22(13):7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>.
- Chatterjee AK, Chakraborty R, Basu T. Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology.* 2014 Feb 28;25(13):135101. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/13/135101>.
- Chen M, Cheng J, Zhang J, Chen Y, Zeng H, Xue L, Lei T, Pang R, Wu S, Wu H, Zhang S. Isolation, potential virulence, and population diversity of Listeria monocytogenes from meat and meat products in China. *Frontiers in microbiology.* 2019 May 7;10:946. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00946>.
- Crisan MC, Teodora M, Lucian M. Copper nanoparticles: Synthesis and characterization, physiology, toxicity and antimicrobial applications. *Applied Sciences.* 2021 Dec 24;12(1):141. <https://doi.org/10.3390/app12010141>.
- Ermini ML, Voliani V. Antimicrobial nano-agents: the copper age. *ACS nano.* 2021 Apr 1;15(4):6008-29. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c10756>.
- Habib I, Mohamed MY, Khan M. Current state of Salmonella, Campylobacter and Listeria in the food chain across the Arab countries: a descriptive review. *Foods.* 2021 Oct;10(10):2369. <https://doi.org/10.3390/foods10102369>.

- He X, Deng H, Hwang HM. Nanosensors for heavy metal detection in environmental media: recent advances and future trends. *Nanosensors for Environment, Food and Agriculture* Vol. 1. 2021:23-51. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63245-8_2.
- Jaiswal L, Shankar S, Rhim JW. Applications of nanotechnology in food microbiology. *In Methods in microbiology* . Vol. 46.2019: 43-60). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2019.03.002>.
- Karikalan N. Synthesis and characterization of copper nanoparticles and evaluation of antibacterial activity. *Rasayan J Chem*. 2018 Oct 1;11(4):1451-7. <http://dx.doi.org/10.31788/RJC.2018.1143068>.
- Khezerlou A, Alizadeh-Sani M, Azizi-Lalabadi M, Ehsani A. Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microbial pathogenesis*. 2018 Oct 1;123:505-26. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.008>.
- Lee H, Yoon Y. Etiological agents implicated in foodborne illness world wide. *Food science of animal resources*. 2021 Jan 1;41(1):1. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e75>.
- Lin PC, Lin S, Wang PC, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*. 2014 Jul 1;32(4):711-26. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.006>.
- Mishra V, Abrol GS, Dubey N. Sodium and calcium hypochlorite as postharvest disinfectants for fruits and vegetables. *In Postharvest disinfection of fruits and vegetables*. 2018 Jan 1 (pp. 253-272). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00014-5>.
- More PR, Pandit S, Filippis AD, Franci G, Mijakovic I, Galdiero M. Silver nanoparticles: bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. *Microorganisms*. 2023 Feb 1;11(2):369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>.
- Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, Yacaman MJ. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2005 Aug 26;16(10):2346. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>.
- Nam NN, Do HD, Trinh KT, Lee NY. Recent progress in nanotechnology-based approaches for food monitoring. *Nanomaterials*. 2022 Nov 22;12(23):4116. <https://doi.org/10.3390/nano12234116>.
- Nguyen TK, Bui HT, Truong TA, Lam DN, Ikeuchi S, Ly LK, Hara-Kudo Y, Taniguchi T, Hayashidani H. Retail fresh vegetables as a potential source of Salmonella infection in the Mekong Delta, Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*. 2021 Mar 2;341:109049. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109049>.
- Packialakshmi JS, Kang J, Jayakumar A, Park S, Chang Y, Kim JT. Insights into the antibacterial and antiviral mechanisms of metal oxide nanoparticles used in food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 2023 Dec 1;40:101213. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101213>.
- El-Hamid MI, Ibrahim D, Abdelfattah-Hassan A, Mohammed OB, Pet I, Khalil SS, El-Badry SM, Metwally AS, Azouz AA, Elnegiry AA, Elnahriry SS. Silver nanoparticles loaded with pomegranate peel extract and hyaluronic acid mediate recovery of cutaneous wounds infected with *Candida albicans*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024 Nov 29;14:1469493. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1469493>.
- Raffi M, Mehrwan S, Bhatti TM, Akhter JI, Hameed A, Yawar W, ul Hasan MM. Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli*. *Annals of microbiology*. 2010 Mar;60:75-80. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0015-6>.

- Rai M, Ingle AP, Pandit R, Paralikar P, Shende S, Gupta I, Biswas JK, da Silva SS. Copper and copper nanoparticles: Role in management of insect-pests and pathogenic microbes. *Nanotechnology Reviews*. 2018 Aug 28;7(4):303-15. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2018-0031>.
- Reidy B, Haase A, Luch A, Dawson KA, Lynch I. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. *Materials*. 2013 Jun;6(6):2295-350. <https://doi.org/10.3390/ma6062295>.
- Sodagari HR, Habib I, Shahabi MP, Dybing NA, Wang P, Bruce M. A review of the public health challenges of Salmonella and turtles. *Veterinary sciences*. 2020 Apr 27;7(2):56. <https://doi.org/10.3390/vetsci7020056>.
- Yuan L, Sadiq FA, Wang N, Yang Z, He G. Recent advances in understanding the control of disinfectant-resistant biofilms by hurdle technology in the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021 Dec 16;61(22):3876-91. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1809345>.
- Zorraquín-Peña I, Cueva C, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV. Silver nanoparticles against foodborne bacteria. Effects at intestinal level and health limitations. *Microorganisms*. 2020 Jan 17;8(1):132. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010132>.