DOI: 10.48305/jims.v41.i729.0631

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۲۹/هفته‌ی اول مهر ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۱ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۳۱ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۷/۷

مروری بر اثرات ضد میکروبی نانوذرات و فناوری پلاسمای سرد اتمسفری

بهاره نوروزی[۱]، نازنین‌سادات هاشمی زاوه[۲]

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: مقاومت فزاینده و همه‌گیر نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌های موجود و همچنین ریسک حاصل از کاربرد سایر عوامل میکروب‌کش، تحقیقات را به سمت جستجوی روش‌های ضدمیکروبی تکمیلی و جدید سوق می‌دهد. اخیراً از پلاسمای سرد (Cold plasma) CP و نانوذرات، جهت گندزدایی میکروبی، ترمیم زخم‌ها و درمان سرطان استفاده می‌شود. هدف از مقاله‌ی حاضر، مروری بر بررسی خواص ضدمیکروبی، انواع روش‌های سنتز و تثبیت نانوذرات به همراه فناوری پلاسمای سرد اتمسفری و چگونگی اثرگذاری آن در غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در صنایع غذایی و بخش‌های بالینی است.

روش‌ها: در مطالعه‌ی مروری حاضر، از مقالات منتشر شده از سال ۲۰۱۱ تا ۲۰۲۳ و از پایگاه داده‌های اطلاعاتی علمی مانند Google Scholar, PubMed, ScienceDirect و Scopus استفاده شده است.

یافته‌ها: با اثر عوامل موجود در پلاسمای سرد شامل گونه‌های فعال اکسیژن ROS (Reactive oxygen species) و نیتروژن RNS (Reactive nitrogen speices)، تابش UV و ذرات باردار می توان باکتری ها را غیرفعال کرد که در میان گونه‌های ROS مؤثر، می‌توان به ازون، سوپراکسید، پراکسید و غیره و بین گونه‌های RNS، نیتروژن اتمی و نیتروژن برانگیخته اشاره کرد. همچنین ذرات باردار را می‌توان به صورت مستقیم و غیرمستقیم برای مقاصد ضد میکروبی استفاده نمود.

نتیجه‌گیری: از پلاسمای سرد می‌توان برای بهبود سلامت مواد غذایی، نابودی بیوفیلم‌های باکتریایی، تخریب میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، غیرفعال‌سازی هاگ‌ها و همین‌طور غیرفعال کردن ویروس‌ها بهره برد. با وجود اثرات ذکر شده‌ی پلاسمای سرد و کم بودن آلودگی‌های پس از پردازش آن، باید برای پذیرش کامل آن، رویکردهای زیست‌محیطی و انسانی آن را نیز در کنار اثربخشی آن در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: پلاسما؛ فارماکولوژی؛ بیوفیلم‌ها؛ صنایع غذایی

ارجاع: نوروزی بهاره، هاشمی زاوه نازنین‌سادات. **مروری بر اثرات ضد میکروبی نانوذرات و فناوری پلاسمای سرد اتمسفری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۲۹): ۶۴۲-۶۳۱

مقدمه

با افزایش در سطوح انرژی، ماده از جامد به مایع، مایع به گاز و گاز به حالت یونیزه‌ی گازی تبدیل می‌شود. این حالت یونیزه شده که به آن حالت چهارم ماده یا پلاسما می‌گویند، ویژگی‌های منحصربه‌فردی از خود نشان می‌دهد. پلاسمای سرد (CP (cold plasma حاوی چندین گونه‌ی رادیکال یونی، مولکولی و اتمی برانگیخته، به همراه تعداد زیادی گونه‌های فعال از جمله الکترون‌ها، یون‌های مثبت و منفی، رادیکال‌های آزاد، اتم‌های گازی، مولکول‌هایی در حالت پایه یا برانگیخته و کوانتای تابش الکترومغناطیس (فوتون‌های UV و نور مرئی) می‌باشد (۱).

پلاسما را با توجه به شرایط تولید آن به سه گروه پلاسمای فشار پایین، پلاسمای فشار اتمسفری و پلاسمای فشار بالا تقسیم‌بندی می‌کنند. این سه رده نیز مجدداً به زیرگروه‌های حرارتی و غیر حرارتی تعلق می‌گیرند. پلاسمای غیر حرارتی که به آن پلاسمای سرد نیز می‌گویند، هم در شرایط به دست آمده از فشار اتمسفری (Atmospheric pressure cold plasma) ACP و هم در فشار پایین، گونه‌های واکنش‌پذیر یکسانی تولید کرده و چگالی الکترونی مشابهی از خود نشان می‌دهد و در نتیجه، پلاسمای به‌دست آمده از هر دو روش، اثر مهاری یکسانی روی میکروب‌ها دارد (۲). با حرارت دادن به گاز تا رسیدن آن به دماهای بسیار زیاد (بیشتر از چندین هزار کلوین) و تا هنگامی‌که بین تمام یون‌ها، الکترون‌ها و گونه‌های

۱- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: بهاره نوروزی: استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Email: bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir

شیمیایی موجود، یک تعادل ترمودینامیکی برقرار شود، می‌توان پلاسمای حرارتی تولید کرد. پلاسمای سرد از لحاظ برقراری تعادل ترمودینامیکی در نقطه‌ی مقابل پلاسمای حرارتی قرار می‌گیرد. کاهش حرارت یون‌ها و مولکول‌های بدون بار، به انتقال انرژی از الکترون‌ها غلبه کرده و گاز را در دمای پایین نگه می‌دارد (۳).

با افزایش نگرانی‌ها در خصوص عفونت‌های باکتریایی، نیاز به تولید عوامل ضدباکتریایی جدید و قوی افزایش یافت. نانوذرات در نگهداری از مواد غذایی، پانسمان‌های سوختگی، نگهداری از لوازم آرایشی (٤)، دستگاه‌های پزشکی، تصفیه آب و طیف گسترده‌ای از محصولات دیگر استفاده می‌شوند (۵). کاربرد زیستی گسترده‌ی نانوذرات به فعالیت ضدباکتریایی بی‌نظیرشان علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی منجر می‌شود. اثرات ضدباکتریایی نانوذرات به اندازه، شکل، توزیع، مورفولوژی، گروه‌های عاملی سطحی و پایداری آن‌ها بستگی دارد. ممکن است نانوذرات به اشکال مختلفی از جمله کروی، پلاکت مانند، نانومیله‌ها، نانومیله‌های دایمری، صفحات شش‌ضلعی، U-شکل، گل‌شکل و نانومیله یافت شوند. همچنین، کاربرد نانوذرات معدنی در مقایسه با نانوذرات آلی به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی، مزایای متعددی از جمله افزایش پایداری و ایمنی دارد (٦).

سازمان بین‌المللی استاندارد (nternational Organization for Standardization) ISO، قوانین تنظیم‌کننده‌ی اقدامات ضدمیکروبی را تدوین کرده و روش‌هایی را برای ارزیابی فعالیت ضدباکتری مواد مختلف مشخص کرده است. برای مثال، ISO 20743، روش‌هایی را برای آزمایش کمی مشخص می‌کند که برای تعیین فعالیت ضدباکتری محصولات نساجی استفاده می‌شوند. ISO 22196، روشی را برای ارزیابی فعالیت ضدباکتری پلاستیک‌های فرآوری شده با مواد ضدباکتری و سایر سطوح غیرمتخلخل محصولات مشخص می‌کند. ISO 27447، نیز روشی را برای تعیین فعالیت ضدباکتری مواد کاتالیزور نوری تعیین می‌کند (۷).

نانوذرات از طریق روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیست‌شناختی ساخته می‌شوند. با وجود این، روش‌های احیای شیمیایی، از جمله متداول‌ترین این روش‌ها هستند. در سال‌های اخیر، ساخت نانوذرات با استفاده از مواد زیستی جدید، غیرسمی (۸)، سازگار با محیط زیست و مرسوم مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها، مولکول‌های زیستی و عصاره‌های گیاهی (جدول ۱) در حال بررسی هستند (۹).

جدول ۱. کاربرد عصاره‌های گیاهی مختلف در سنتز نانوذرات آنتی‌باکتریال

آزمایش ضدباکتریایی	فعالیت ضدباکتریایی	شکل/اندازه (nm)	نانوذرات	اندام	گیاه	منبع
انتشار در چاهک	*Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis*	کروی ۱۰-۳۵	اکسید روی	برگ	Lippia adoensis	(۴۵)
انتشار در چاهک	*Escherichia coli, Bacillus subtilis, Salmonella typhi, Klebsiella Pneumonia*	کروی، ۲۵-۸۷	دی‌اکسید تیتانیوم	برگ	Azadirachta indica	(۴۶)
انتشار دیسک	*Staphylococcus aureus*	شبیه برگ آلوئه‌ورا، ۴۸	اکسید روی	برگ	Pisonia Alba	(۴۷)
انتشار در چاهک	*Staphylococcus aureus, Klebsiella Pneumonia*	کروی، ۴۷	نقره	برگ	Cymbopogon citratus	(۴۸)
انتشار دیسک	*E. coli (ETEC), S. paratyphi, B. cereus, V. choler, and S. flexneri*	۱۵-۳۳ نامنظم (سنگدانه‌ای)	نقره	برگ	Green tea	(۴۹)
انتشار در چاهک	*Staphylococcus aureus, Klebsiella sp.*	کروی، ۲۷ -۳۲	طلا	برگ	Annona muricata	(۵۰)
انتشار دیسک	*Staphyloccus aureus, Clostridium sporogenes, Entrococcus faecalis, Klebsiella pneumonia*	کروی، ۱۰-۱۶	اکسید مس	برگ	Ephedra Alata aqueous	(۵۱)
انتشار در چاهک	*Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*	کریستالی، ۲۱/۵۹	اکسید آهن	برگ	Carica papaya	(۵۲)
انتشار دیسک	*Klebsiella spp., Escherichia Coli, Pseudomonas spp.,*	شش ضلعی، ۷۹	روی اکسید	برگ	Phlomis	(۵۳)
انتشار دیسک	*Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus, Escherichia Coli,*	کروی، ۱۵-۴۰	دی‌اکسید تیتانیوم	برگ	Acorus calamus	(۵۴)
انتشار دیسک	*Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli*	کریستالی ۲۰-۵۶	نقره	برگ	Carissa carandas	(۵۵)
انتشار دیسک	*Salmonella typhimurium, Enterobacter faecalis, Shigella flexneri, Citrobacter spp., Gonococci spp*					

همچنین، از آن‌جایی که نانومواد دارای فعالیت کاتالیزوری نوری هستند، پتانسیل زیادی در جذب و تخریب آلاینده‌های محیطی دارند. در چند سال اخیر، فعالیت‌های پژوهشی در خصوص کشف ویژگی‌های ذراتی در مقیاس نانو به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. مطالعات گسترده‌ای در خصوص کاربردهای ذرات معدنی و آلی در مقیاس نانو در زمینه‌های فتوشیمی، الکتروشیمی به‌عنوان الکترودهای پیل و ابرخازن‌ها، الکتروکاتالیز و کاتالیز ناهمگن انجام شده است. در سال‌های اخیر نیز از نانوذرات فلزی و اکسید فلزی متشکل از نقره، طلا، مس، اکسیدمس، اکسیدروی، مگمیت و مگنتیت در پزشکی (۱۰)، دندان‌پزشکی، داروسازی و زیست‌شناسی استفاده شد (۱۱).

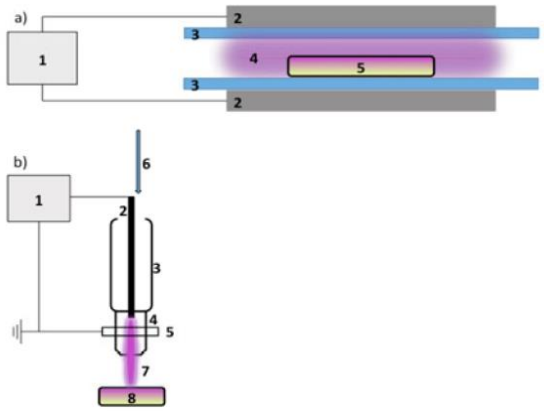
در بیشتر موارد، فعالیت ضدمیکروبی نانومواد سنتز شده با روش‌های برآورد حداقل غلظت بازدارنده (Minimum inhibitory concentration) MIC، حداقل غلظت ضدباکتری (Minimum bactericidalconcentration) MBC، آزمایش انتشار دیسک، آزمایش مهار رشد، روش شمارش کلنی، تست هاله، روش رقیق‌سازی آگار یا براث، سنجش کدورت یا روش رقیق‌سازی در مقیاس میکرو به‌طور کمی و کیفی علیه ارگانیسم‌های مدل بررسی می‌شود (۱۲). در میان روش‌های نامبرده شده، استفاده از MIC، به منظور تخمین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی در بسیاری از مطالعات استفاده می‌شود، چرا که معیاری در جهت تعیین غلظت مورد استفاده در بسیاری از سنجش‌های میکروبی خواهد بود (۱۳). معمولاً، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Listeria monocytogenes* و *Streptococcus mutans* بررسی می‌شود. این باکتری‌ها، عامل عفونت‌های متنوع و کاهش ایمنی در انسان هستند و خطرات بسیاری را در بسته‌بندی مواد غذایی، منسوجات مصنوعی، تجهیزات پزشکی، دندان‌پزشکی، تصفیه آب آشامیدنی و فاضلاب برای سلامت عمومی ایجاد می‌کنند (۹). در نتیجه، ایجاد پوشش‌های ضدمیکروبی مؤثر سطحی مبتنی بر نانوذرات در محافظت از سلامت بشر اهمیت بسیاری دارد (۱۴).

تاکنون، تنها چند مقاله‌ی مروری منتشر شدند که به توصیف ساخت و کاربرد زیستی نانوذرات پرداختند. در این مقالات به کاربرد نانوذرات آلی (پلیمری و لیپیدی) به‌عنوان حامل‌های آنتی‌بیوتیکی پرداخته شده است. در چند سال بعد محققان به کاربرد نانوذرات در هدایت هدفمند آنتی‌بیوتیک‌ها پرداختند. از این‌رو، هدف از مقاله‌ی حاضر، مروری بر بررسی خواص ضدمیکروبی، انواع روش‌های سنتز و تثبیت نانوذرات به همراه فناوری پلاسمای سرد اتمسفری و چگونگی اثرگذاری آن در غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در صنایع غذایی و بخش‌های بالینی بود (۱۵).

انواع مرسوم دستگاه‌های پلاسمایی

یکی از معروف‌ترین روش‌های تولید CP، استفاده از یک میدان الکترومغناطیسی بسیار قوی جهت یونیزه کردن یک گاز خنثی می‌باشد. انواع متنوعی از تخلیه‌های الکتریکی، از جمله تخلیه کرونا (Corona discharge)، تخلیه‌ی مایکروی کاتد توخالی (Micro hollow cathode discharge)، تخلیه‌ی قوس الکتریکی (Gliding arc discharge)، تخلیه‌ی جریان یکنواخت در اتمسفر (One atmospheric uniform glow discharge)، تخلیه‌ی سد دی‌الکتریک (Dielectric barrier discharge)، پلاسمای جت فشار اتمسفری (Atmospheric pressure plasma jet) و پلاسمای تزریقی (Plasma needle)، نیز منجر به تولید CP می‌شوند (۱۶).

به طورکلی، این‌که منبع تولید پلاسما چه باشد، کاربرد آن و همچنین ترکیب و میزان فراوانی گونه‌های شیمیایی تولید شده را، تحت تأثیر قرار می‌دهد. پلاسمای سرد به‌دست آمده از روش‌های جت پلاسما و تخلیه سد دی‌الکتریک (DBD)، که طراحی ساده‌ای داشته و پیکربندی آن‌ها را با توجه به زمینه‌ی مصرف‌شان می‌توان تنظیم کرد، به‌طور معمول برای مصارف محیطی، زیستی و زیست‌پزشکی (۱۷) مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۱) (۱۸، ۱۹).



شکل ۱. نمودار شماتیک DBD-CP(a: ۱- منبع تغذیه، ۲- الکترودها، ۳- مانع دی‌الکتریک، ٤- تخلیه پلاسما، ٥- نمونه؛ b) جت پلاسما: ۱- منبع تغذیه، ۲- الکترود ولتاژ بالا، ۳- الکترود لوله‌ای، ٤- نازل، ٥- الکترود حلقه‌ای، ٦- ورودی گاز، ۷- تخلیه پلاسما، ۸- نمونه (۱۹).

مکانیسم ضدمیکروبی پلاسمای سرد

پلاسمای سرد ترکیب شیمیایی پیچیده‌ای دارد و به نظر می‌رسد که هر کدام از گونه‌های واکنش‌پذیر موجود به‌صورت مستقل از هم و یا با تشدید اثر یکدیگر، در مهار فعالیت میکروب‌های مورد نظر، نقش دارند. به‌طور کلی، نحوه‌ی طراحی دستگاه و همچنین پارامترهای عملکردی سیستم از جمله ترکیب گازی، سرعت جریان، رطوبت،

دما، ولتاژ و فرکانس، بـر ترکیـب و اثرگـذاری پلاسـمای سـرد تـأثیر می‌گذارند (۲۰).

پلاسمای سرد هوای اتمسفری، منبع فوق‌العاده‌ای از الکتـرون‌هـا، یون‌های مثبت و منفی، رادیکال‌های آزاد، محصـولات تبـدیل شـده‌ی پایدار (نظیر ازون)، مولکول‌ها و اتـم‌هـای برانگیختـه، و فوتـون‌هـای تابش فرابنفش (UV) است (۹). گونه‌های فعـال غالـب در پلاسـمای به‌دست آمده از روش‌هایی که بیشتر مرسوم هستند شـامل ایـن مـوارد می‌شوند: اکسیژن (O_2) و نیتروژنـی (N_2) کـه بـه لحـاظ ارتعاشـی و الکترونیکی در حالت برانگیخته قـرار دارنـد؛ اشـکال فعـال اتـم‌هـا و مولکول‌های اکسیژن و یا به عبـارت دیگـر گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن (Reactive oxygen species) ROS، ماننـد اکسـیژن اتمـی O، اکسیژن منفرد $^1O_2$، آنیون سوپراکسید O^-_2 و ازون O_3؛ گونه‌های فعال نیتروژن (Reactive nitrogen speices) RNS، مانند نیتروژن اتمـی N، نیتروژن برانگیخته (A) N_2، نیتریک اکسید NO؛ علاوه بر ایـن‌هـا در حضور رطوبت، H_2O^+، آنیون OH^-، رادیکـال OH یـا H_2O_2 نیـز قابل مشاهده هستند (۲۱).

مطالعات بر روی این‌کـه پلاسـمای سـرد دقیقـاً بـه چـه روشـی باکتری‌ها را غیر فعال می‌کند، همچنان ادامـه دارد و تـاکنون فقـط اثـر چندین عامل موجود در فاز گازی پلاسما مشخص شـده اسـت. ایـن عوامل شامل ROS، RNS، تابش UV و ذرات بـاردار مـی‌باشـند. در میان گونه‌های ROS ازون، اکسیژن اتمی، اکسیژن منفرد، سوپراکسـید، پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل، در مهار فعالیت باکتریـایی نقـش به سزایی دارند (۲۲).

گونه‌های ROS تأثیر فـوق‌العـاده‌ای بـر روی اکثـر بـاکتری‌هـا و بـه‌خصـوص بـاکتری‌هـای بـی‌هـوازی دارنـد. گونـه‌هـای اکسـیژن و رادیکال‌های حاوی اکسـیژن (نیتریـک اکسـید) بـا عبـور از دیـواره‌ی سلولی و اکسیداسـیون احتمـالی غشـای سیتوپلاسـمی، و رشـته‌هـای DNA و پروتئینـی، سـبب تخریـب بخـش‌هـایی از سـلول بـاکتری می‌شوند (۲۳).

در پژوهشی که توسط محققان انجام شـد، مشـخص گردیـد کـه پـاک‌سـازی گونـه‌هـای ROS درون *E.coli* اثـر تخریـب اکسـیداتیو صورت گرفته بر روی DNA آن را کاهش می‌دهد، و در ایـن مـوارد، گونه‌های پراکسید هیـدروژن و اکسـیژن منفـرد، عمـل پراکسیداسـیون لیپید غشایی را برعهده می‌گیرند. در پژوهشـی دیگـر مشـخص شـد، حضور ROS می‌تواند اثر مهـاری RNS را تحریـک کنـد. ایـن امـر، نشان‌دهنده‌ی اهمیت وجود اکسیژن در گازهای مورد استفاده می‌باشد. محققان دیگر توانستند با افزودن ۲ درصد اکسیژن بـه گـاز نیتـروژن و در نتیجه تولید نیتریک اکسـید، اثـر مهـاری را بـه‌طـور قابـل تـوجهی افزایش دهند. با استفاده از طیف‌سنجی نشر نوری، حضور گونـه‌هـای واکنش‌پذیر، مورد تأیید قرار گرفت (۲۴).

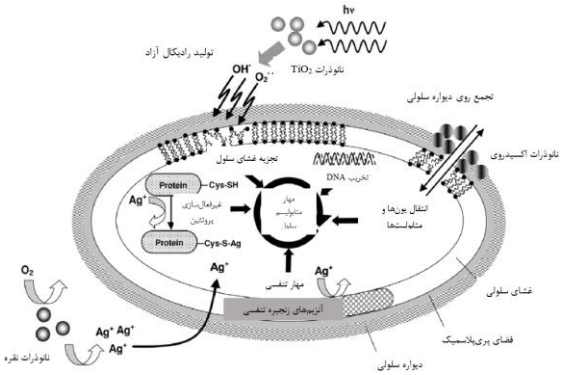
برای نفوذ ترکیبات سمی پلاسما به درون سلول باکتریایی، کـافی است دیواره‌ی سلولی باکتری را در معرض تعداد بسیار زیـادی ذرات باردار، یون‌ها و الکترون‌ها قرار دهـیم. در ایـن صـورت بـه واسـطه‌ی شکستن پیوندهـای شـیمیایی، خـراش‌هـایی در سـطح سـلول ایجـاد می‌شود. ترکیبات حاصل از گسستن پیونـدهای شـیمیایی بـه صـورت ضایعات رها می‌شوند و این امر سبب فرسایش دیواره‌ی سـلولی و در نتیجه ایجـاد شـکاف‌هـایی در غشـا مـی‌شـود. بـا توجـه بـه ایـن‌کـه باکتری‌های گرم‌منفـی، دیـواره‌ی نـازک‌تـری نسـبت بـه بـاکتری‌هـای گـرم‌مثبـت دارنـد، مهـار کـردن آن‌هـا از طریـق فرسـایش دیـواره‌ی سلولی‌شان راحت‌تر به نظر می‌رسد. در عین حال، به‌واسطه‌ی سـطوح بـالاتر ROS درون سـلول، در بـاکتری‌هـای گـرم‌مثبـت، تخریـب درون‌سلولی بیشتر مشاهده می‌شود (۲۵).

ذرات باردار به دو روش مستقیم و غیرمستقیم، نقش بسیار حـائز اهمیتی در تخریب غشای سلولی باکتریایی ایفا می‌کنند. در روش غیـر مستقیم طراحی سیستم به‌گونه‌ای است که برای جلوگیری از برخـورد مستقیم ذرات باردار با نمونه از یک توری فلزی استفاده می‌کنند و یـا از مسافتی طولانی‌تر ذرات را به سمت هدف می‌تابانند. در این روش، خود ذرات تابانـده شـده، تـأثیر چنـدانی در غیرفعـال‌سـازی بـاکتری ندارند، بلکه این ذرات قبل از رسیدن بـه نمونـه بـا یکـدیگر ترکیـب می‌شوند و از این طریق هدف مورد نظر را مهـار مـی‌کننـد. در روش تماس مستقیم، ذرات باردار می‌توانند روی سطح نمونه جمـع شـده و باعـث ایجـاد اسـترس الکترواسـتاتیک بـه هـدف شـوند. اسـترس الکترواستاتیک وارد شده بر مقاومت کششی غشای سلولی غلبه کـرده و سبب ایجاد تغییرات ریخت‌شناسی در باکتری هدف می‌شود (۲۶).

تحلیل غشای سلولی و نهایتاً سوراخ شدن آن، انتشـار گونـه‌هـای واکنش‌پذیر ثانویه‌ای که احتمالاً در اثر تخلیه‌ی پلاسما درون سلول بـه وجود آمده‌اند را تشدید می‌کند. واکنش بین اتـم‌هـا یـا مولکـول‌هـای برانگیخته و رادیکال‌ها و مواد آلـی، منجـر بـه شکسـتن پیونـدهـا بـه خصوص در ترکیبات هیدروکربنی می‌شود، و در نتیجه‌ی این اتفاق‌ها، دیواره‌ی سلول تحلیل می‌رود. ادامه‌ی این روند سبب تجزیه‌ی سـلول به قطعات مولکولی و ترکیبات فرار شده و در نتیجه تغییر شـکل کـل ساختار ظاهری سلول می‌شود. این تغییرات تا کاهش اندازه‌ی سـلول، تغییر ظاهر کانال‌هـای آن و در نهایـت تخریـب کامـل سـلول، پـیش می‌روند. اکسیژن اتمی و ازون، به آسانی با پیونـدهـای شکسـته شـده وارد واکنش می‌شوند و ایـن امـر باعـث تسـریع تحلیـل مولکـول‌هـا می‌گردد. این اثر فرسایشی که منشأ آن شکستن پیونـدهـای شـیمیایی می‌باشد، حتی می‌تواند ساختارهایی مانند بیوفیلم‌ها که نقشی حمـایتی برای اجتماع میکروبی دارند را نابود کند (۱).

سازوکارهای فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات

سازوکارهای کمی برای فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات شناخته شده است. محققان بر این باورند که ممکن است نانوذرات به دیواره‌ی سلولی یا غشای باکتری آسیب وارد کنند یا تغییرات مضری در اندامک‌های سلولی ایجاد نمایند. نمایی از سازوکار سمیت سلولی نانوذرات نسبت به سلول باکتری در شکل ۲ نشان داده شد (۲۷، ۲۸).



شکل ۲. سازوکار پیشنهادی فعالیت نانوذرات ضدباکتریایی (۲۸). مکانیسم تأثیر نانوذرات به این صورت است که با آسیب به دیواره‌ی سلولی یا غشای باکتری‌ها، منجر به تخریب اندامک‌های سلولی، مهار متابولیسم سلولی، غیر فعال‌سازی پروتئین، اختلال در انتقال یون‌ها و متابولیت‌ها می‌شوند.

در کل، خواص ضدباکتریایی نانوذرات ناشی از نسبت سطح به حجم بالا است که موجب می‌شود سطح تماس خوبی با سلول باکتری ایجاد کند. سازوکارهای فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات، برای مثال نانوذرات نقره، در مقالات متعددی بررسی شده است (۲۹). یکی از سازوکارهای سمیت سلولی در نتیجه جذب نانوذرات نقره به وسیله‌ی سلول‌های باکتریایی است زیرا به دیواره‌ی سلولی باکتری نفوذ می‌کنند (۳۰). گمان می‌رود، میزان پراکنش نانوذرات در محلول آب، نقش مهمی در سازوکار ضدباکتریایی ایفا کند. با وجود این، هنوز محققان در این مورد نظرات روشنی ارائه نکردند. محققان اثبات کردند که فعالیت ضدباکتری نانوذرات نقره به میزان آگلومره شدن نانوذرات بستگی دارد. در محلولی که نانوذرات به‌خوبی پراکنده شدند، انتقال نانوذرات به دیواره‌ی سلولی باکتری در مقایسه با نانوذرات آگلومره بیشتر است. در مقابل، محققان در پژوهشی مدعی شدند که سازوکار اصلی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات به احتمال زیاد تشکیل کلاسترهای نانوذرات و اتصال‌شان به سطح سلول باکتری است (۲۳).

ممکن است سازوکارهای دیگر سمیت سلولی به دلیل حضور یون‌های نقره‌ی رها شده از سطح نانوذرات به روش اکسیداتیو باشد. با وجود اینکه فلز نقره با ظرفیت صفر در آب نامحلول است، اما یون‌های نقره به‌طور اکسیداتیو از سطح نانوذرات نقره رها می‌شوند. نخست، نانوذرات نقره فلزی به اکسید نقره متصل می‌شوند. سپس، در واکنش اکسید نقره با پروتون، یون‌های نقره آزاد می‌شوند. یون‌های نقره‌ی رها شده به دلیل سازوکارهای متعددی برای باکتری‌ها سمی هستند. همچنین، محققان اثبات کردند که فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره به شدت به رهایش یون‌های نقره بستگی دارد (۳۱).

در مطالعاتی که توسط محققان دیگر انجام شد، فعالیت ضدمیکروبی کاغذ پوشش داده شده با نانوذرات نقره به اکسیداسیون اندک نقره و رهایش آرام یون‌های Ag^+ از سطح پوششی مربوط بود. محققان تصور می‌کنند که ممکن است این یون‌ها با غشای سلولی برهمکنش داشته باشند. قرارگیری سلول‌های باکتریایی در معرض یون‌های نقره به ایجاد تغییراتی در اجزای ساختاری غشای سلولی منجر شده که در نهایت به افزایش نفوذپذیری و آسیب به غشا منجر می‌شود. این امر بر انتقال الکترولیت‌ها و سایر متابولیت‌ها اثر می‌گذارد که به تغییر در عملکردهای اساسی سلول و در نهایت مرگ سلولی منجر می‌شود. یون‌های نقره با مولکول‌های زیستی حاوی گروه تیول در پروتئین‌ها برهمکنش قوی دارند که موجب غیرفعال شدن‌شان می‌شود. همچنین، نانوذرات نقره به اختلال در عملکرد میتوکندری و ناهنجاری‌های کروموزومی منجر می‌شود. وجود یون‌های آزاد نقره در همانندسازی DNA باکتریایی اختلال ایجاد می‌کند (۳۲).

سنتز فیزیکوشیمیایی نانوذرات ضدباکتریایی

همزمان با پیشرفت‌های اخیر در حوزه‌ی فناوری نانو، روش‌های جالبی برای سنتز نانوذرات ارائه شده‌اند. در بیشتر موارد، نانوذرات با روش احیای شیمیایی یون‌های فلزی در محلول سدیم‌بورهیدرید، آسکوربات‌ها، سیترات‌ها یا کربوهیدرات‌ها سنتز می‌شوند. غالباً، نانوذرات ساخته‌شده بعد از احیای یون‌های فلزی با عوامل پوششی پوشانده می‌شوند. از پلیمرهایی مانند پلی‌اتیلن‌گلیکول، پلی وینیل‌الکل و پلی وینیل‌پیرولیدین و سورفاکتانت‌های غیریونی (برای مثال توین و تیتون X-100) برای پایداری می‌توان استفاده کرد. حفاظت الکترواستاتیکی نانوذرات نیز با افزودن سورفاکتانت یونی (برای مثال سدیم دودسیل‌سولفات و ستیل‌تری‌متیل آمونیوم‌برومید) محقق می‌شود. این روش به افزایش بار سطحی نانوذرات منجر می‌گردد (۳۳).

سنتز معمول نانوذرات نقره با روش احیای شیمیایی به این صورت است که نیترات نقره به‌صورت قطره قطره به محلول تری‌سدیم‌سیترات در حال جوش افزوده می‌شود. بعد از چند روز خنک شدن و خشک شدن در معرض هوا، پودر نانوذرات نقره

بدست آمد. در بیشتر موارد، فلز و اکسیدهای فلزی در مقیاس نـانو بـا استفاده از روش پلی‌اُل سنتز می‌شوند (۷). محققان اخیراً گزارشـی در خصـوص سـنتز قابـل کنتـرل نـانوذرات نقـره بـه همـراه پلـی وینیـل‌پیرولیـدون (Polyvinylpyrrolidone) PVP، بـه‌عنـوان تثبیت‌کننده، ارائه دادند. واکنش نیترات نقره با PVP در اتیلن‌گلیکـول (Ethylene glycol) EG و در دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انجـام شد. EG در این روش، به‌عنوان احیا کننـده و همچنـین حـلال بکـار می‌رود. محققان دیگر پیشنهادی مبنی بر سنتز نانوذرات ZnO با روش مکانیکی- شیمیایی ارائه کردند. در این نوع سنتز از کلرید روی‌بی‌آب، سدیم‌کربنات‌بی‌آب و سـدیم کلریـد بـه‌عنـوان مـواد آغـازگر اسـتفاده می‌شود. پیش‌سازها به مـدت ۹ سـاعت و ۲۵۰ دور در دقیقـه (rpm) آسیاب شدند. سپس، محصول پودر شده ایـن واکـنش ($ZnCO_3$)، بـه مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به ZnO اضافه شده و نانوذره، سنتز می‌شود (۲٤).

روش‌های زیستی سنتز نانوذرات

بیشتر روش‌های شیمیایی سنتز نانوذرات ضـدباکتریایی بـا اسـتفاده از عوامل احیاکننده سمی (برای مثال سدیم‌بورهیدرید) و حلال‌های آلـی مضر (بـرای مثـال N,N–دی‌متیـل‌فرامیـد (DMF و تتراهیـدروفوران (THF)) انجام می‌شوند. این مواد شیمیایی دارای خطـرات زیسـتی و زیست‌محیطی بالقوه‌ای هستند (۳٤).

به‌تازگی، روش کم هزینه و آسانی بـرای سـنتز نـانوذرات اکسـید روی در سوسپانسـیون محـیط کشـت بـاکتری‌هـای *Aeromonas hydrophila*، به‌عنوان عامـل احیاکننـده و سـازگار بـا محیط‌زیست، ارائه شد. فعالیت ضدباکتریایی و ضـدقارچی نـانوذرات اکسید روی بیوسـنتز شـده بـا اسـتفاده از روش انتشـار در چاهـک و بـرآورد حـداقل غلظـت بازدارنـده علیـه *A. hydrophila*، *E. coli*، *S. aureus*، *P. aeruginosa*، *Enterococcus faecalis*، *Aspergillus flavus* و *Candida albicans* بررسی شـد. بیشـترین منطقه‌ی مهارکننده‌ی رشد علیـه *P. aeruginosa* (۲۲ mm ± ۱/۸) و *A. flavus* (۱۹ mm ± ۱) بدست آمد (٦).

همچنـین، سـنتز نـانوذرات نقـره بـا اسـتفاده از محـیط کشـت بـاکتری‌هـای سرمادوسـت (از جملـه *Pseudomonas antarctica*، *P. proteolytica*، *P. meridiana*، *Arthrobacter kerguelensis* و *A. gangotriensis*) و مایع رویی عاری از سلول (به احتمال زیـاد حاوی متابولیت‌های باکتریـایی خـارج سـلولی) نیـز مطـرح شـد. بـه احتمال زیاد سنتز و پایداری نانوذرات نقره به دمـا، pH و گونـه‌هـای باکتریایی بستگی دارد. نتایج حاصل، نشان می‌دهـد کـه عامـل خـارج سلولی در مایع رویی عاری از سلول وجود دارد که نانوذرات نقـره را تثبیت می‌کند. اندازه‌ی متوسط نانوذرات نقره از ٦ تا ۱۳ نانومتر متغیـر بود. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره با روش‌های منحنـی رشـد و انتشار در آگار و با استفاده از سه غلظت مختلف نانوذرات نقـره (از ۲ تا ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتـر)، علیـه سـه بـاکتری گـرم‌مثبـت (یعنـی *A. kerguelensis*، *A. gangotriensis* و *Bacillus indicus*) و سه بـاکتری گـرم‌منفـی (*P. antarctica*، *P. proteolytica* و *E. coli*) بررسی شد. رشد همه‌ی باکتری‌های گـرم‌مثبـت و *P. antarctica* در کمتـرین غلظـت نـانوذرات نقـره مهـار شـد، در حـالی کـه رشـد *P. proteolytica* و *E. coli* در غلظت‌های بالاتر نانوذرات نقره مهار شد. نتایج آزمایش انتشار دیسک نیز با مقادیر MIC مطابقت داشت (۱٤).

محققان دیگر، روشی را برای سنتز نانوذرات طـلا بـا اسـتفاده از *Trichoderma viride* مطرح کردند. در این تحقیق، یون‌هـای کلـرو اورات در حضور محیط کشت قـارچی فیلترشـده بـه نـانوذرات نقـره احیـا شـدند. نـانوذرات تهیـه شـده بـه آنتـی‌بیوتیـک گلیکوپپتیـدی (وانکومایسـین) متصـل شـدند و در روش رقیـق‌سـازی بـراث، علیـه *S. aureus* مقاوم به وانکومایسین (VRSA) فعالیت ضـدباکتریایی از خود نشان دادند. گروه دیگر، روشـی بـرای سـنتز نـانوذرات نقـره بـا اسـتفاده از قـارچ‌هـای خـاک‌زی (از جملـه *Aspergillus terreus*، *Paecilomyces lilacinus* و *Fusarium sp.*) ارائه کردند. به منظور سنتز زیستی نانوذرات نقره، سلول‌های قـارچی فیلترشـده بـا محلـول نیترات نقره تیمار شدند و فعالیت ضـدباکتریایی ایـن نـانوذرات علیـه *E. faecalis*، *S. aureus*، *S. pyogenes* و *Salmonella enterica* بررسی شد. فعالیت ضدباکتریایی مشاهده شده بـا توجـه بـه منطقـه‌ی بازدارنده‌ی رشد نانوذرات نقره علیه باکتری‌های مورد بررسی بین ۸ تا ۱٤ میلی‌متر بود (۷).

همچنین، نانومواد با اسـتفاده از مـواد زیسـتی مختلـف از جملـه مولکول‌های زیستی یا عصاره‌ی گیاهی نیز ساخته می‌شـوند. محققـان روشی را برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از پلی‌سـاکارید سـولفاته خالص‌شده از جلبک قرمز *Porphyra vietnamensis* مطرح کردنـد. مطالعات انجام‌شده، نقش بخش سـولفاته پلـی‌سـاکارید را در احیـای نیترات نقره نشان داد. نانوذرات نقره با قطر متوسط ۱۳ نـانومتر بسـیار پایدار بودند و فعالیت ضدباکتریایی قوی را علیه *E. coli* در مقایسه با *S. aureus* نشان دادند. در حال حاضر، عصاره‌های گیاهی برای سنتز نانوذرات فلزی بکار می‌روند. کاربرد عصـاره‌هـای گیـاهی، بـه‌عنـوان عوامل احیاکننده و تثبیت‌کننده، جایگزینی برای روش‌هـایی اسـت کـه در حضور محیط‌های کشت سلولی انجام می‌شوند (جدول ۱) (۱۱).

استفاده از پلاسمای سرد در افزایش سلامت مواد غذایی

باکتری‌های بیماری‌زا، ویروس‌ها، سموم باکتریایی، بقایـای آفـت‌کـش‌هـا و

مایکوتوکسین‌ها، تهدیدی جدی برای ایمنی مواد غذایی محسوب می‌شوند. *Escherichia coli* O157:H7، *Listeria monocytogenes* و *Salmonella* spp. از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در اکثر کشورهایی که در این زمینه گزارشی منتشر کرده‌اند، به‌شمار می‌روند. علاوه بر این، توانایی باکتری‌ها در تشکیل بیوفیلم، جای‌گیری سلول‌های آلوده‌کننده درون بافت یا سایر قسمت‌های میزبان و همچنین توانایی آن‌ها در تشکیل اسپور که ساختاری با مقاومت بسیار بالا می‌باشد، بر پیچیدگی فرایندهای گندزدایی مواد غذایی می‌افزاید و حتی در برخی موارد، تأثیر آن‌ها را از بین می‌برد (۵، ۳۵).

تخریب میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مواد غذایی

اثر ضدمیکروبی تا حد قابل توجهی به روشی که میکروارگانیسم‌ها در معرض پلاسما قرار می‌گیرند نیز بستگی دارد. محققان *Salmonella* را بر روی کل یک فلفل سیاه تلقیح کردند. سپس از دو روش برای مقایسه‌ی اثر ضد باکتریایی آن‌ها استفاده نمودند. در کاربرد پلاسما به صورت مستقیم، جت پلاسمای بر مبنای گاز آرگون تحریک‌شده با فرکانس امواج رادیویی، را مورد استفاده قرار دادند و در روش غیر-مستقیم، پلاسمای اتمسفری تولید شده با ریزموج مورد استفاده قرار گرفت. پلاسمای اتمسفری مورد استفاده در روش غیر مستقیم اثر باکتری‌کشی بالاتری از خود نشان داد. در پلاسماهای اتمسفری هر دو گونه‌ی اکسیژن و نیتروژن فعال تولید می‌شوند که مستقیماً بر میکروارگانیسم‌ها تأثیر می‌گذارند و آن‌ها را غیرفعال می‌کنند. گونه‌های فعال نیتروژن بر روی سطح میکروب انباشته شده و به آسانی از طریق غشای سلولی به درون سلول نشر می‌یابند. ورود گونه‌های فعال نیتروژن به درون سلول میکروبی pH درون‌سلولی را کاهش می‌دهد و از آن‌جایی که عملکرد سلول، فعالیت آنزیم‌ها، سرعت انجام واکنش‌ها، پایداری پروتئین‌ها و ساختار اسیدهای نوکلئیک، همه و همه به pH درون سلول وابسته هستند، تغییر در آن سبب مهار باکتری می‌شود (۱).

در تحقیقی دیگر مشخص شد، استفاده از یک سیستم حاوی ACP باعث افزایش اثر ضدمیکروبی بر آلودگی‌زدایی از مواد غذایی تازه می‌شود. زیرا در این روش، گونه‌های واکنش‌پذیر در حین کاربرد پلاسما و حتی پس از آن نیز محفوظ می‌مانند (۳۶). محققان دیگر، نقش حیاتی فاصله‌ی بین نمونه‌های هدف و ساطع‌کننده‌ی پلاسما و همچنین موقعیت نمونه‌های گوشت در طی زمانی که در معرض پلاسما قرار می‌گیرند را برای مهار باکتری *S. Typhimurium* نشان دادند. در این آزمایش، فاصله‌ی ۲۰ میلی‌متری و ساطع کردن پلاسما به‌صورت دوطرفه به مدت ۲/۵ دقیقه بر گوشت سینه‌ی جوجه‌ی مرغ و گوشت راسته‌ی خوک، نسبت به تابش پلاسما از یک طرف به مدت ۵ دقیقه، اثر ضد باکتریایی قوی‌تری به نمایش گذاشت (۳۷).

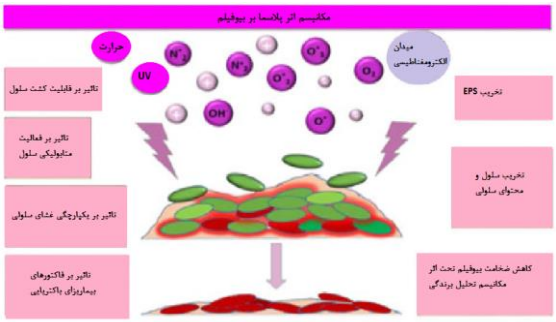
در مطالعه‌ای توسط امین رعنای جزه و همکاران، اثر پلاسمای سرد اتمسفری بر بقای سلول‌های سرطانی سینه بررسی گردید. نتایج حاصل از این بررسی منجر به کاهش زیست‌پذیری سلول‌های سرطانی و اثر سمی کمتر بر سلول‌های نرمال شد (۳۸). محققان در آزمایشات خود از اثرات ترکیبی گازها در پلاسما نیز استفاده کردند و نتایج قابل قبولی را به دست آوردند، به عنوان مثال در آزمایشی به بررسی کاهش آلودگی پودر فلفل قرمز با استفاده از پلاسمای سرد به دست آمده از گازهای هلیوم و اکسیژن پرداخته شد. نتایج نشان داد که در نتیجه‌ی به کار بردن توأم گازها، پلاسمای تولید شده سبب جلوگیری از رشد باسیلوس سرئوس در پودر فلفل قرمز شد (۳۹).

در مطالعه‌ی دیگری توسط Bahreini و همکاران، به بررسی تأثیر پلاسمای سرد بر جمعیت باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *اشرشیاکلای* در شیر خام پرداخته شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های شیر در معرض با پلاسما در ولتاژ ۲۰ کیلوولت و فرکانس ۲۸ کیلوهرتز با تفاوت معنی‌داری، بیشترین کاهش را در تعداد باکتری‌های ای‌کلای نسبت به کنترل داشتند و نمونه‌های شیر در معرض با ولتاژ ۱۰ کیلوولت و فرکانس۳۳ کیلوهرتز با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها، دارای بیشترین کاهش در تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند (٤٠).

کنترل بیوفیلم‌های تولید شده توسط باکتری‌ها توسط پلاسمای سرد

بسیاری از بیماری‌زاهای انسانی، رشد به صورت بیوفیلم را به رشد به حالت پلانکتونیک ترجیح می‌دهند. به‌طورکلی، بیوفیلم‌های باکتریایی به عنوان جوامع میکروبی شناخته می‌شوند که به یکدیگر و یا سطح زیرین‌شان، بدون هیچ نگه‌دارنده‌ای چسبیده و توسط مواد پلیمری خارج‌سلولی (EPS (Extracellular polymeric substances احاطه شده و همچنین ویژگی‌های فنوتیپی‌شان از جمله سرعت رشد و رونویسی ژن‌ها تغییر پیدا کرده‌است (٤١).

تشکیل بیوفیلم‌های باکتریایی بر روی سطوحی که با مواد غذایی در تماس هستند، بر روی تجهیزاتی که مواد غذایی را پردازش می‌کنند و در سیستم‌های توزیع آب آشامیدنی، باعث فساد مواد غذایی و انتقال میکروارگانیسم‌ها بین محصولات غذایی و گسترش پاتوژن‌های غذایی می‌شود و در نتیجه تشکیل بیوفیلم یکی از چالش‌های عمده‌ی صنایع غذایی می‌باشد (شکل ۳). علاوه بر این، بیوفیلم‌ها نسبت به استرس‌های محیطی و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهند (۱۹، ۳۵).



شکل ۳. مکانیسم اثر پلاسمای سرد بر بیوفیلم (۱۹)

مکانیسم‌های اصلی که تا به امروز جهت غیر فعال‌سازی بیوفیلم توسط CP، گزارش شده‌اند، در شکل ۳ نمایش داده شده‌اند. این مکانیسم‌ها شامل، تغییرات در یکپارچگی غشای سلولی، تخریب EPS، تخریب سلول‌ها و اجزای سلولی، کاهش ضخامت بیوفیلم، کاهش قابلیت کشت سلول‌ها و همچنین کاهش فعالیت متابولیکی سلول‌ها می‌باشند.

کاربردهای بالینی پلاسمای سرد

مطالعات اخیر، قدرت غیرفعال‌سازی سریع ACP بر روی بیوفیلم‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و *Burkholderia cenocepacia* را به اثبات رساندند (۴۲). همچنین، برای اولین مرتبه گزارشی مبنی بر این‌که مواجهه با ACP سبب تولید سلول‌های مقاوم به پلاسما در بیوفیلم‌های *Pseudomonas aeruginosa* می‌شود، توسط محققان ارائه شده است. علت این امر تولید phenazine (رنگدانه‌ی آنتی‌بیوتیکی فعال از لحاظ اکسایش-کاهش) عنوان شده است. در حالی‌که مطالعات فوق، بر توانایی باکتری‌ها در ایجاد مقاومت نسبت به پلاسما، به ویژه در حالت بیوفیلم، اشاره دارند، برخی از تحقیقات به‌طور ویژه بر تأثیر برهم‌کنش‌های متقابل بین پلاسما و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تمرکز کرده‌اند (۴۳). در پژوهشی که توسط محققان انجام شد، پس از این‌که *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین، در معرض پلاسمای سرد قرار گرفتند، خاصیت حساس بودن نسبت به آنتی‌بیوتیک در آن‌ها بازگشت. در نتیجه این احتمال وجود دارد که بتوان با ترکیب روش اعمال پلاسما (جهت بازگشت حساسیت آنتی‌بیوتیکی به سلول‌ها) و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده را دور زد (۱۹).

باکتری‌های مقاوم به چندین دارو نیز پس از قرار گرفتن در معرض پلاسما به سرعت از بین می‌روند. باکتری‌کشی پلاسما یک مکانیسم فیزیکی محسوب می‌شود، به این علت که از طریق تخریب سطح سلول، باکتری‌ها را نابود می‌کند. بر طبق مطالعات اخیر، پلاسمای سرد اتمسفری توانایی ریشه‌کن کردن *Enterococci* مقاوم به وانکومایسین (VRE) و همچنین *Enterococci* مقاوم به سطوح بالای جنتامایسین (HLGR) را دارد. اگرچه، میزان اثربخشی آن به درجه‌ی مقاومت باکتری و تعلق آن به گروه‌های مقاوم ویژه‌ای که در شیوع بیماری‌ها بسیار حائز اهمیت هستند، بستگی دارد (۳۶).

پلاسمای سرد و اسپورکشی

اعضای جنس باسیلوس و کلستریدیوم، در شرایط تنش‌های محیطی ساختاری غیرفعال با تحمل بسیار بالا نسبت به این شرایط تشکیل می‌دهند. این ساختارها آندوسپورهای باکتریایی (یا هاگ‌ها) نامیده می‌شوند و باعث بقای سلول به مدت بسیار طولانی در شرایط استرس محیطی می‌شوند. آندوسپورهای باکتریایی جهت ماندگاری طولانی‌مدت در شرایط سخت محیطی، در طی دوران تکامل سازگاری‌هایی اتخاذ کرده‌اند که از طرف دیگر به‌طور قابل توجهی آن‌ها را در برابر ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی مقاوم می‌کند (۴۱).

این خصوصیات، هاگ‌های باکتریایی را به منبع ماندگار و مداومی برای آلودگی محصولات و در نتیجه به چالشی ویژه در صنایع غذایی، محیط‌های تولید دارو و محیط‌های مراقبت‌های بهداشتی، تبدیل می‌کنند. مکانیسم مقاومتی آندوسپور نسبت به ضدعفونی‌کننده‌ها و استریل‌کننده‌های شیمیایی به‌واسطه‌ی وجود لایه‌های غیرقابل نفوذ بیرونی و سطح پایین آب موجود در آن‌ها است (۲۷). پلاسمای سرد؛ محیطی به شدت اکسیدکننده در اطراف نمونه‌ی هدف ایجاد می‌کند و از این‌رو مشابه ضدعفونی‌کننده‌های دارای خاصیت اکسیدکنندگی (مانند سدیم هیپوکلریت، هیدروژن پراکسید و پراستیک اسید) می‌باشد. بدین جهت، هنگام ارزیابی خاصیت اسپورکشی پلاسما، پروفایل مقاومتی آن شبیه پروفایل ضدعفونی‌کننده‌های اکسیدکننده است. پلاسمای سرد ساطع شده از دستگاه پلاسما، آندوسپورهای *Bacillus steaothermophilus* و *Bacillus subtilis* موجود بر سطوح جامد، پارچه‌ها، کاغذ صافی و محیط کشت پودری را غیرفعال کرد. طبق گزارش نویسندگان این پژوهش، میزان حساسیت آندوسپورها نسبت به پلاسما متغیر بود. بدین‌ترتیب که پس از ۷ دقیقه اعمال پلاسما تعداد *B. stearothermophilus* به کمتر از ۳ $\log_{10}$ در CFU و پس از ۵ دقیقه اعمال پلاسما، تعداد اسپور زنده‌ی *B. subtilis* به کمتر از ۵ $\log_{10}$ در CFU کاهش پیدا کرد (۴۴).

ویروس‌کشی توسط پلاسمای سرد

پلاسمای سرد، می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های مرسوم ضدعفونی‌کننده علیه ویروس‌ها باشد. باکتریوفاژها جهت تسهیل عملیات، به عنوان مدل نمونه در بررسی قدرت ویروس‌کشی مواد ضدعفونی‌کننده‌ی شیمیایی در نظر گرفته شده برای ویروس‌های انسانی، حیوانی و گیاهی، انتخاب می‌شوند. از این‌رو در تحقیقات اولیه جهت بررسی اثر ویروس‌کشی CP نیز از باکتریوفاژها استفاده

شد و نتیجه‌ی آن، غیرفعال شدن سریع این ویروس‌ها توسط CP بود. محققان از اثر ضدمیکروبی یکی از سیستم‌های تجاری موجود دستگاه PlasmaSol را بر طیف وسیعی از باکتری‌ها، اسپورها و ویروس‌ها را در گزارشی بیان کردند. طبق گزارش این محققین، پس از ۱۰ دقیقه استفاده از این سیستم، باکتریوفاژهای ملایم و لیتیک به میزان ٦-٤ $\log_{10}$ در PFU/ml کاهش پیدا کردند (۱۸).

محققان در تحقیقی جداگانه، اثر ویروس‌کشی یک راکتور تخلیه مانع دی‌الکتریک، که به تازگی عرضه شده بود، را بررسی نموده و مشاهده کردند که تنها پس از ۲۰ ثانیه، عفونت‌زایی فاژ لامبدا تا ٦ $\log_{10}$ کاهش پیدا کرد. باکتریوفاژ *E. coli* MS2 به عنوان نماینده‌ی مناسب نوروویروس‌های انسانی، در بررسی اثر ویروس‌کشی زیست‌کش‌ها در مطالعاتی که جهت آزمایش کارآیی ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی انجام می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. محققان دیگر اثر ویروس‌کشی یک دستگاه دستی جت پلاسمای غیرحرارتی فشار اتمسفری (KHz) بر مبنای اکسیژن/هلیوم را، بر روی باکتریوفاژ MS2 بررسی کردند. این باکتریوفاژ پس از اعمال پلاسما در این روش به سرعت غیرفعال شد. با افزایش درصد اکسیژن در گاز ورودی، ثابت سرعت غیرفعال‌سازی نیز تا ۰/۷۵ درصد افزایش پیدا کرد. باکتریوفاژ پس از ۳ ثانیه اعمال پلاسما به میزان ۳ $\log_{10}$ در PFU/ml، و پس از ۹ دقیقه بیش از ۷ $\log_{10}$ در PFU/ml کاهش پیدا کرد (١٤).

نتیجه‌گیری

در دو دهه‌ی اخیر، کاربردهای بالقوه‌ی CP جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی در محیط‌های بالینی، به سرعت گسترش یافته است. هدف اولیه‌ی این مطالعات، کنترل پاتوژن‌های باکتریایی بود. در عین حال، توانایی CP در غیر فعال‌سازی مؤثر و سریع طیف گسترده‌ای از عوامل عفونت‌زا نیز به اثبات رسید و به‌ویژه، چندین گروه از محققین توانایی پلاسما در نابودی مؤثر بیوفیلم‌های باکتریایی را ثابت کردند. بیوفیلم‌ها مقاومت بسیار بالایی نسبت به روش‌های ضدمیکروبی از خود نشان داده و در عفونت‌های مرتبط با تجهیزات پزشکی و مراقبت‌های بهداشتی دخیل هستند و همچنین به عنوان منبع عفونت‌زای محیطی عمل می‌کنند. در نتیجه یکی از چالش‌های عمده در محیط، مراقبت‌های بهداشتی به‌شمار می‌روند. در مواقعی که بیوفیلم‌ها حالت غالب رشد را از آن خود می‌کنند، عامل بسیاری از عفونت‌های حاد و مزمن به‌شمار می‌روند.

پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی شناخت مکانیسم‌های ضدمیکروبی گونه‌های فعال CP، منجر به غلبه بر چالش‌هایی از جمله مقاومت و پایداری میکروارگانیسم‌ها نسبت به عوامل ضدمیکروبی شده است. استفاده از مواد شیمیایی و حلال‌های سمی، دانشمندان را بر آن داشته است که از روش‌های تولید سازگارتر با طبیعت، پاک‌تر، زیست‌سازگارتر و ایمن‌تر در سنتز نانوذرات، بخصوص نانوذراتی که دارای کاربردهای زیستی هستند، استفاده کنند. برای حل این مشکلات، سنتز زیستی نانومواد به منظور توسعه‌ی روش‌های سازگار با محیط زیست و پاک به نیاز رو به رشدی بدل شده است تا با استفاده از مواد شیمیایی غیرسمی و عوامل احیاکننده‌ی تجدیدپذیر، نانوذرات را تولید کند. از آن‌جایی که نانوذرات دارای خواص ضدباکتریایی قوی بوده و سمیت کمی برای سلول‌های پستانداران دارند، با موفقیت به‌عنوان عوامل ضدعفونی‌کننده در طیف وسیعی از زمینه‌ها کاربرد دارند. با این حال، با افزایش نگرانی‌هایی که در مورد فساد مواد غذایی وجود دارد، ضرورت استفاده از روش‌های ضدمیکروبی، تحقیقات آینده را به سمت استفاده از پلاسمای مایع یا گازی با تولید گونه‌های فعال پلاسما در محفظه‌ی بسته، سوق می‌دهد.

References

1. Aggelopoulos CA. Recent advances of cold plasma technology for water and soil remediation: A critical review. J Chem Eng 2022; 428: 131657.
2. Gilmore BF, Flynn PB, O'Brien S, Hickok N, Freeman T, Bourke P. Cold plasmas for biofilm control: opportunities and challenges. Trends Biotechnol 2018; 36(6): 627-38.
3. Ekezie FGC, Sun DW, Cheng JH. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. Trends Food Sci Technol 2017; 69: 46-58.
4. Nowruzi B. A review of sunscreens and moisturizers compounds drived from cyanobacteria [in Persian]. JDC 2022; 13(2) :119-132
5. Šimončicová J, Kryštofová S, Medvecká V, Ďurišová K, Kaliňáková B. Technical applications of plasma treatments: Current state and perspectives. Appl Microbiol Biotechnol 2019; 103: 5117-29.
6. Smet C, Govaert M, Kyrylenko A, Easdani M, Walsh JL, Van Impe JF. Inactivation of single strains of Listeria monocytogenes and Salmonella typhimurium planktonic cells biofilms with plasma activated liquids. Front Microbiol 2019; 10: 1539.
7. Theinkom F, Singer L, Cieplik F, Cantzler S, Weilemann H, Cantzler M, et al. Antibacterial efficacy of cold atmospheric plasma against Enterococcus faecalis planktonic cultures and biofilms in vitro. PLoS One 2019; 14(11): e0223925.
8. Sabzevari O, Khajerahimi A, Kazempoor R, Nowruzi B. A review of the antimicrobial and toxic properties of nanoparticles as a new alternative in the control of aquatic diseases. SAHMJ 2022; 8(1): 78-102.
9. Najafi Y, Nowruzi B, Sari AH. Review on the combined effect of cold plasma treatment technology

and cyanobacteria in heavy metal removal such as Zinc, Calcium, and Magnesium [in Persian]. IJAP 2023; 13(1): 75-116.
10. Anvar SAA, Nowruzi B, Afshari G. A review of the application of nanoparticles biosynthesized by microalgae and cyanobacteria in medical and veterinary sciences [in Persian]. Iran J Vet Med 2023; 17(1): 1-18.
11. Mouele ESM, Tijani JO, Badmus KO, Pereao O, Babajide O, Fatoba OO, et al. A critical review on ozone and co-species, generation and reaction mechanisms in plasma induced by dielectric barrier discharge technologies for wastewater remediation. J Environ Chem Eng 2021; 9(5): 105758.
12. Patange A, Boehm D, Ziuzina D, Cullen P, Gilmore B, Bourke P. High voltage atmospheric cold air plasma control of bacterial biofilms on fresh produce. Int J Food Microbiol 2019; 293: 137-45.
13. Hosseini Bafghi M, Zarrinfar H, Darroudi M, Zargar M, Nazari R. Green synthesis of selenium nanoparticles and evaluate their effect on the expression of ERG3, ERG11 and FKS1 antifungal resistance genes in Candida albicans and Candida glabrata. Lett Appl Microbiol 2022; 74(5): 809-19.
14. Mandal R, Singh A, Singh AP. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. Trends Food Sci Technol 2018; 80: 93-103.
15. Niedźwiedź I, Waśko A, Pawłat J, Polak-Berecka M. The state of research on antimicrobial activity of cold plasma. Pol J Microbiol 2019; 68(2): 153-64.
16. Liao X, Liu D, Xiang Q, Ahn J, Chen S, Ye X, et al. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. Food Control 2017; 75: 83-91.
17. Nowruzi B, Sarvari G, Blanco S. Applications of cyanobacteria in biomedicine. In: Konur O, editor. Handbook of algal science, technology and medicine. Cambridge, Massachusetts: Academic Press; 2020. p. 441-53.
18. López M, Calvo T, Prieto M, Múgica-Vidal R, Muro-Fraguas I, Alba-Elías F, et al. A review on non-thermal atmospheric plasma for food preservation: Mode of action, determinants of effectiveness, and applications. Front Microbiol 2019; 10: 622.
19. Bourke P, Ziuzina D, Han L, Cullen PJ, Gilmore BF. Microbiological interactions with cold plasma. J Appl Microbiol 2017; 123(2): 308-24.
20. Sakudo A, Yagyu Y, Onodera T. Disinfection and sterilization using plasma technology: Fundamentals and future perspectives for biological applications. Int J Mol Sci 2019; 20(20): 5216.
21. Pankaj SK, Keener KM. Cold plasma: Background, applications and current trends. Curr Opin Food Sci 2017; 16: 49-52.
22. Bourke P, Ziuzina D, Boehm D, Cullen PJ, Keener K. The potential of cold plasma for safe and sustainable food production. Trends Biotechnol 2018; 36(6): 615-26.
23. Fan J, Wu H, Liu R, Meng L, Sun Y. Review on the treatment of organic wastewater by discharge plasma combined with oxidants and catalysts. Environ Sci Pollut Res Int 2021; 28: 2522-48.
24. Shang K, Jie L, Morent R. Hybrid electric discharge plasma technologies for water decontamination: a short review. Plasma Sci Technol 2019; 21(4): 043001.
25. Yang C, Guangzhou Q, Tengfei L, Jiang N, Tiecheng W. Review on reactive species in water treatment using electrical discharge plasma: formation, measurement, mechanisms and mass transfer. Plasma Sci Technol 2018; 20(10): 103001.
26. Murugesan P, Monica E, Moses J, Anandharamakrishnan C. Water decontamination using non-thermal plasma: Concepts, applications, and prospects. J Environ Chem Eng 2020; 8(5): 104377.
27. Gururani P, Bhatnagar P, Bisht B, Kumar V, Joshi NC, Tomar MS, et al. Cold plasma technology: advanced and sustainable approach for wastewater treatment. Environ Sci Pollut Res Int 2021; 28(46): 65062-82.
28. Moritz M, Geszke-Moritz M. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. J Chem Eng 2013; 228: 596-613.
29. Golizadeh Z, Nowruzi B, Falsafi S. Study of antimicrobial activity of biosynthesized nanoparticles via two different methods by freshwater cyanobacteria Nostoc sp. BJM 2022; 4: 34-42.
30. Barjasteh A, Dehghani Z, Lamichhane P, Kaushik N, Choi EH, Kaushik NK. Recent progress in applications of non-thermal plasma for water purification, bio-sterilization, and decontamination. Appl Sci 2021; 11(8): 3372.
31. Brun P, Bernabè G, Marchiori C, Scarpa M, Zuin M, Cavazzana R, et al. Antibacterial efficacy and mechanisms of action of low power atmospheric pressure cold plasma: membrane permeability, biofilm penetration and antimicrobial sensitization. J Appl Microbiol 2018; 125(2): 398-408.
32. Foster JE. Plasma-based water purification: Challenges and prospects for the future. Phys Plasmas 2017; 24(5): 055501.
33. Patange A, Boehm D, Giltrap M, Lu P, Cullen P, Bourke P. Assessment of the disinfection capacity and eco-toxicological impact of atmospheric cold plasma for treatment of food industry effluents. Sci Total Environ 2018; 631: 298-307.
34. Varilla C, Marcone M, Annor GA. Potential of cold plasma technology in ensuring the safety of foods and agricultural produce: a review. Foods 2020; 9(10): 1435.
35. Zeghioud H, Nguyen-Tri P, Khezami L, Amrane A, Assadi AA. Review on discharge Plasma for water treatment: Mechanism, reactor geometries, active species and combined processes. J Water Process Eng 2020; 38: 101664.
36. Zhao YM, Patange A, Sun DW, Tiwari B. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. Compr Rev Food Sci Food Saf 2020; 19(6): 3951-79.
37. Laroque DA, Seó ST, Valencia GA, Laurindo JB, Carciofi BAM. Cold plasma in food processing: Design, mechanisms, and application. J Food Eng 2022; 312: 110748.

38. Aminraya Jezeh M, Khani M, Niknejad H, Shokri B. Effects of cold atmospheric plasma on viability of breast (MDA-MB-231) and cervical (Hela) cancer cells [in Persian]. Koomesh 2019; 21(4): 694-701.
39. Afshari R, Hosseini H. Non-thermal plasma as a new food preservation method, its present and future prospect. Arch Adv Biosci 2014; 5(1): 31-45.
40. Bahreini M, Anvar SA, Nowruzi B, Sari AH. Effects of the cold atmospheric plasma treatment technology on staphylococcus aureus and escherichia coli populations in raw milk. JNFH 2021; 9(4): 296-305.
41. Wardenier N, Vanraes P, Nikiforov A, Van Hulle SW, Leys C. Removal of micropollutants from water in a continuous-flow electrical discharge reactor. J Hazard Mater 2019; 362: 238-45.
42. Hertwig C, Meneses N, Mathys A. Cold atmospheric pressure plasma and low energy electron beam as alternative nonthermal decontamination technologies for dry food surfaces: A review. Trends Food Sci Technol 2018; 77: 131-42.
43. Misra N, Yadav B, Roopesh M, Jo C. Cold plasma for effective fungal and mycotoxin control in foods: mechanisms, inactivation effects, and applications. Compr Rev Food Sci Food Saf 2019; 18(1): 106-20.
44. Vanraes P, Ghodbane H, Davister D, Wardenier N, Nikiforov A, Verheust YP, et al. Removal of several pesticides in a falling water film DBD reactor with activated carbon textile: Energy efficiency. Water Res 2017; 116: 1-12.
45. Demissie MG, Sabir FK, Edossa GD, Gonfa BA. Synthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of lippia adoensis (koseret) and evaluation of its antibacterial activity. J Chem 2020; 2020: 1-9.
46. Thakur B, Kumar A, Kumar D. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using Azadirachta indica leaf extract and evaluation of their antibacterial activity. S Afr J Bot 2019; 124: 223-7.
47. MuthuKathija M, Badhusha MSM, Rama V. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Pisonia Alba leaf extract and its antibacterial activity. Appl Surf Sci Adv 2023; 15: 100400.
48. Rakib-Uz-Zaman SM, Apu EH, Muntasir MN, Mowna SA, Khanom MG, Jahan SS, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles from Cymbopogon citratus leaf extract and evaluation of their antimicrobial properties. Challenges 2022; 13(1): 18.
49. Widatalla HA, Yassin LF, Alrasheid AA, Ahmed SAR, Widdatallah MO, Eltilib SH, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using green tea leaf extract, characterization and evaluation of antimicrobial activity. Nanoscale Adv 2022; 4(3): 911-5.
50. Folorunso A, Akintelu S, Oyebamiji AK, Ajayi S, Abiola B, Abdusalam I, et al. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of Annona muricata. J Nanostructure Chem 2019; 9: 111-7.
51. Atri A, Echabaane M, Bouzidi A, Harabi I, Soucase BM, Chaâbane RB. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Ephedra Alata plant extract and a study of their antifungal, antibacterial activity and photocatalytic performance under sunlight. Heliyon 2023; 9(2): :e13484.
52. Bhuiyan MSH, Miah MY, Paul SC, Aka TD, Saha O, Rahaman MM, et al. Green synthesis of iron oxide nanoparticle using Carica papaya leaf extract: application for photocatalytic degradation of remazol yellow RR dye and antibacterial activity. Heliyon 2020; 6(8): e04603.
53. Alyamani AA, Albukhaty S, Aloufi S, AlMalki FA, Al-Karagoly H, Sulaiman GM. Green fabrication of zinc oxide nanoparticles using phlomis leaf extract: characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity and antibacterial properties. Molecules 2021; 26(20): 6140.
54. Ansari A, Siddiqui VU, Rehman WU, Akram MK, Siddiqi WA, Alosaimi AM, et al. Green synthesis of TiO2 nanoparticles using Acorus calamus leaf extract and evaluating its photocatalytic and in vitro antimicrobial activity. Catalysts 2022; 12(2): 181.
55. Singh R, Hano C, Nath G, Sharma B. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of Carissa carandas L. and their antioxidant and antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. Biomolecules 2021; 11(2): 299.

DOI: *10.48305/jims.v41.i729.0631*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 729, 1st Week, October 2023**

Received: 02.03.2023 Accepted: 22.08.2023 Published: 29.09.2023

A Review on the Antimicrobial Effects of Nanoparticles and Atmospheric Cold Plasma Technology

Bahareh Nowruzi[1], Nazaninsadat Hashemizaveh[2]

ReviewArticle

Abstract

Background: Increasing widespread resistance in all available antibiotics, as well as the risk of using other germicidal agents, have prompted research effort to explore additional and new antimicrobial methods. Recently cold plasma (CP) and nanoparticles are used for microbial disinfection, wound healing and cancer treatment. The purpose of this article is to review the antimicrobial properties, various methods of synthesis and stabilization of nanoparticles along with cold plasma technology. Atmospheric and how it affects the inactivation of pathogenic microorganisms in the food industry and clinical departments.

Methods: In the present review, articles published from 2011 to 2023 were used and scientific information databases such as Google Scholar, PubMed, ScienceDirect and Scopus have been used.

Findings: Bacteria can be deactivated by the effect of agents in cold plasma including reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (RNS), UV radiation and charged particles. Among the effective species of ROS, ozone, superoxide, peroxide, etc., and among the species of RNS, atomic nitrogen, and excited nitrogen can be mentioned. Also, charged particles can be used directly and indirectly for antimicrobial purposes.

Conclusion: Cold plasma can be used to improve the food safety, eliminate bacterial biofilms, destroy pathogenic microorganisms, inactivate spores, and also deactivate viruses. In spite of the mentioned effects of cold plasma and the low pollution after its processing, for its full acceptance, its environmental and human approaches should be considered along with its effectiveness.

Keywords: Plasma; Pharmacology; Biofilms; Food industry

Citation: Nowruzi B, Hashemizaveh N. **A Review on the Antimicrobial Effects of Nanoparticles and Atmospheric Cold Plasma Technology.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(729): 631-42.

1- Assistant Professor, Department of Biotechnology, School of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran

2- Master Student of Microbial Biotechnology, School of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran

Corresponding Author: Bahareh Nowruzi, Assistant Professor, Department of Biotechnology, School of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran; Email: bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir