

Antibacterial activity of zinc aluminate nanoparticles against foodborne pathogenic bacteria of *E. coli* and *P. aeruginosa*

Taheri, A.^{1*}, Ziaadini, M.², Gahramzai, M.³

1. Associate Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

2. Assistant Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

3. Graduate Student, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

*Corresponding Author: taherienator@gmail.com

(Received: 2019/12/10 Accepted: 2020/7/28)

Abstract

Materials in nanoscale dimensions have a high surface-to-volume ratio, and thus have better reactions with other materials. The development of nanotechnology over the past decades has opened up opportunities for discovering the antibacterial effects of metallic nanoparticles. In this study, the antibacterial properties of nanoparticles on aluminate ($ZnAl_2O_4$) were studied on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Antibacterial activity was assessed by using the disk diffusion method on agar using nanoparticles on synthesized aluminate. The non-growth halo diameter indicates the sensitivity of bacteria to antimicrobials. The minimum inhibitory concentration of bacterial growth (MIC) and minimum bacterial leaching concentration (MBC) was measured by microdilution in sterile tubes. Statistical analysis was done by T-test. The results of this study showed that *Pseudomonas aeruginosa* sensitivity ($16.06 \pm 1.8\text{mm}$) was higher than *E. coli* ($11.64 \pm 2.2\text{mm}$) ($p < 0.05$). The minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration MBC of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* bacteria MIC and MBC was lacking. According to the results obtained in this study, we conclude that *Pseudomonas aeruginosa* was more sensitive to alumina than that of *E. coli* against nanoparticles.

Conflict of Interest: None declared.

Keywords: Antibacterial activity, Zinc aluminate, nanoparticle, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

DOI:10.30495/JFH.2020.1885047.1250

«مقاله پژوهشی»

اثر ضدباکتریایی نانوذره آلومینات روی بر باکتری‌های بیماری‌زای غذایی *اشریشیا کولای* و سودوموناس آئروژینوزا

علی طاهری^{۱*}، مرتضی ضیاءالدینی^۲، معصومه گهرام‌زنی^۳

۱. دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
 ۲. استادیار شیمی آلی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
 ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
- *نویسنده مسئول مکاتبات: taherienator@gmail.com
(دریافت مقاله: ۹۸/۹/۱۹ پذیرش نهایی: ۹۹/۵/۷)

چکیده

مواد در ابعاد نانو که از نسبت سطح به حجم بالایی برخوردارند و واکنش‌پذیری بهتری با سایر ترکیبات دارند. گسترش فناوری نانو در دهه‌ی اخیر، فرصت‌هایی برای کشف اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات ایجاد کرده است. در این پژوهش خواص ضد باکتریایی نانوذره روی آلومینات ($ZnAl_2O_4$) علیه باکتری‌های عامل بیماری‌های غذازاد *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شد. با استفاده از نانوذره روی آلومینات سنتز شده فعالیت ضد باکتری به روش انتشار دیسک بر آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. قطر هاله‌های عدم رشد نشان‌دهنده میزان حساسیت باکتری‌ها به نانو مواد مورد استفاده بود. حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌ها (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها (MBC) به روش ماکرودایلوژن در لوله‌های استریل آزمایشگاهی انجام گرفت. بررسی آماری با آزمون T test انجام گرفت. با استفاده از نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی قطر هاله عدم رشد *سودوموناس آئروژینوزا* ($16/06 \pm 1/8$ میلی‌متر) نسبت به *اشریشیا کولای* ($11/64 \pm 2/2$ میلی‌متر) بیشتر بود ($p < 0.05$). کمترین غلظت مهارکننده رشد و غلظت کشندگی باکتری‌ها مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بود و باکتری *اشریشیا کولای* فاقد آن بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نانو ذرات روی آلومینات علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* فعالیت ضد باکتری بسیار خوبی نشان داد و می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی جدید در مطالعات بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: خاصیت ضدباکتریایی، نانوذره، آلومینات روی، *اشریشیا کولای*، *سودوموناس آئروژینوزا*

مقدمه

پاتوژن‌های مولد بیماری‌های غذازاد اهمیت بالایی در امنیت غذایی دارند. یکی از پاتوژن‌های تولیدکننده بیماری‌های غذازاد که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است *اشرشیا کولای* (*Escherichia coli*) می‌باشد. این پاتوژن در مواد گوشتی از جمله فرآورده‌های گوشتی آبیان یافت می‌شود و با مصرف فرآورده‌های گوشتی آلوده به این پاتوژن چندین مورد ابتلا به بیماری گزارش شده است. البته در میوه و سبزیجات، پنیر و آب‌میوه‌ها نیز گزارش شده است (Li et al., 2004; Rajkowski, 2012). همچنین *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) یکی دیگر از باکتری‌های مهم فساد محصولات غذایی نگه‌داری شده در یخچال است که شامل سبزیجات، گوشت، فرآورده‌های دریایی و مرغ می‌باشد (Nakai and Siebert, 2004). لذا مبارزه با چنین باکتری‌های عامل بیماری از اهمیت بالایی در صنایع غذایی برخوردار است.

امروزه تحقیق جهت یافتن روش‌های نوین مبارزه با باکتری‌های غذازاد جهت افزایش ایمنی مواد غذایی در حال توسعه است. در این بین نانو مواد با خاصیت ضد قارچ، ضد جلبک و ضد باکتری می‌تواند برای آلودگی‌زدایی مواد غذایی به کار رود (Hamed et al., 2015). نانوذرات موادی هستند که حداقل در یک بعد کمتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشند (Zhang, 2013; Sodagar et al., 2016). مواد در ابعاد نانو از نسبت سطح به حجم بالایی برخوردارند و واکنش بهتری با سایر ترکیبات دارند (Verma et al., 2010). نانو ذرات

اکسید فلزی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر به دلیل خصوصیات ویژه مانند اندازه کوچک ذرات و نسبت سطح به حجم بزرگ‌تر نسبت به ذرات با اندازه میکرو و ماکرو فعالیت افزایشی ضد میکروبی نشان می‌دهند (Jin and He, 2011). بر اساس گزارش‌های قبلی با کاهش اندازه ذرات سرامیک‌های فلزی خاصیت ضد میکروبی افزایش می‌یابد (Yamamoto, 2001; Huang et al., 2005). عملکرد ضد میکروبی مواد با مقیاس نانو می‌تواند به دلیل مهارکننده رشد باکتری، عامل کشنده باکتری و یا عامل انتقال ترکیب ضد میکروبی باشد (Azeredo, 2012).

امروزه نانو فناوری در علوم و صنایع با سرعت بالایی در حال رشد است (Thakkar et al., 2010). این ذرات عوامل ضد باکتریایی مهمی علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها هستند (Percival et al., 2007). محققان فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره را به‌تنهایی و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کولای* ارزیابی کردند و افزایش قابل توجهی در فعالیت ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها در حضور نانو ذرات نقره مشاهده نمودند (Shahverdi et al., 2007). نقش نانو مواد شگفت‌انگیز است زیرا آنتی‌بیوتیک‌ها تنها تعداد بسیار کمی از عوامل مسبب بیماری‌های مختلف را از بین می‌برند در حالی که نانو مواد حدود ۶۵۰ نوع از عوامل ایجادکننده بیماری‌ها را نابود می‌کنند (Poole and Owens, 2003; Jiang et al., 2004). در سال‌های گذشته تحقیقات ارزشمندی در زمینه نانو ذرات فلزی در بسته‌بندی فعال مواد غذایی مطالعات ضد میکروبی این مواد انجام شده است که شامل نانو ذرات نقره، تیتانیوم دی‌اکساید، اکسید روی،

گسترده ضد باکتریایی علیه باکتری‌هایی چون *اشریشیا کولای*، *باسیلوس سابتیلیس*، *سودوموناس فلئورسنس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* از خود نشان داده است (Sadiq et al., 2009; Jiang et al., 2009; Bala et al., 2011). با توجه به این‌که نانو ذرات اکسید فلزی با خواص فیزیوشیمیایی متفاوت خواص ضد میکروبی متفاوتی نشان می‌دهند نانو ذرات اکسیدی با ترکیب ۲ یا تعداد بیشتری فلز می‌تواند برای از بین بردن کارآمد سویه‌های مختلف باکتریایی به‌خصوص گونه‌های بسیار مقاوم به کار رود. برخی نانو ذرات اکسید چندفلزی خاصیت ضد میکروبی بالاتری در مقایسه با ترکیب خالص تک فلزی با اندازه مشابه نشان داده است. برای مثال نانوذره اکسید منیزیم-روی خصوصیات ضد باکتری بالاتری از نانوذره اکسید روی و سمیت کمتری از نانوذره اکسید منیزیم نشان داد (Vidic et al., 2013). آلومینات روی با فرمول شیمیایی $ZnAl_2O_4$ از مهم‌ترین سرامیک‌های اکسید فلزی است. این ماده یک نیم‌رسانا با پایداری بالای حرارتی و شیمیایی و مقاومت مکانیکی است. ساختار آلومینات روی اسپینل نرمال با گروه فضایی FD3M است (Ziyaadini et al., 2018; Davar and Salavati-Niasari, 2011; Chen et al., 2004). آلومینات روی کاربردهای وسیعی در زمینه کاتالیست‌ها برای عملکردهای انتقالی مانند دهیدراسیون، استیلاسیون و هیدروژناسیون دارد همچنین در مواد رسانای الکتریکی و نیز در ابزارهای فتوالکترونی کاربرد دارد (Ziyaadini et al., 2018; Menon et al., 2017). بر اساس این خصوصیات نانوذره روی آلومینات می‌تواند یک عامل ضد باکتریایی بالقوه باشد. اما تاکنون تحقیقی روی اثر این نانوذره در کنترل پاتوژن‌های بیماری‌زا

اکسید منیزیم، اکسید آهن، اکسید مس، دی‌اکسید سیلیسیم، هیدروکسید کلسیم و هیدروکسید منیزیم می‌باشد (Azeredo, 2012; Huang et al., 2018). این مطالعات نشان از اثرات ضد میکروبی بسیار خوب نانو ذرات فلزی تولیدشده در کنترل پاتوژن‌های عامل بیماری‌های غذازاد دارند.

بر اساس یک تحقیق استفاده از نانو ذرات نقره در بسته‌بندی خشکبار به شکل معنی‌داری باعث افزایش مدت‌زمان ماندگاری فندق، بادام و پسته به مدت ۱۸ تا ۲۰ ماه گردید (Tavakoli et al., 2017). افزایش مدت‌زمان ماندگاری گوشت تورکی پوشش‌دار شده با فیلم خوراکی حاوی نانو ذرات نقره و بسته‌بندی‌شده در اتمسفر اصلاح‌شده و وکیوم شده برای ۱۲ روز گزارش گردید (Deus et al., 2017). در تحقیقی دیگر پلی لاکتیک اسید به‌عنوان فیلم ترکیبی با نانو ذرات نقره - مس و عصاره دارچین در بسته‌بندی گوشت مرغ نشان داد که این بسته‌بندی فعال باعث کنترل باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد موجود در گوشت مرغ گردیده است (Ahmed et al., 2018).

نانوذره اکسید روی ماده نیمه رسانایی است که ساختار هگزاگونال دارد. نانو اکسید روی پایداری بسیار زیاد و خاصیت ضدباکتری گسترده و طولانی‌مدت و قیمت اندکی دارد (Yang et al., 2006) و به شکل گسترده به‌عنوان ماده ضدباکتری به کار می‌رود (Lu et al., 2013; Kuang et al., 2015). از سوی دیگر نانوذره اکسید آلومینیوم ساختاری با ۶ اتم اکسیژن در اطراف یک اتم آلومینیوم دارد. بازار اقتصادی این نانوذره در صنایع مختلف در حال توسعه است (Hassanpour et al., 2018). این نانوذره خواص

در این معادله، L اندازه ذره (نانومتر)، K ثابت، λ طول موج اشعه ایکس (نانومتر)، β عرض در نصف ارتفاع پیک (قله فاز) و θ زاویه پراش می‌باشد. از میکروسکوپ الکترونی FE-SEM برای بررسی ریزساختار نانو ذرات تولیدشده پس از کوتینگ با طلا استفاده شد.

- بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات آلومینات روی از باکتری‌های *اشریشیا کولای* (PTCC1399) و *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC 1430) خریداری شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری کشور استفاده شد. فعالیت ضد باکتری نانو آلومینات روی به روش انتشار دیسک بر آگار موردسنجش قرار گرفت. بر روی محیط کشت نوترینت آگار غلظت معادل نیم مک فارلند از باکتری *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا* در پتری دیش‌های جداگانه کشت داده شد. ۵ میلی‌گرم پودر نانوذره آلومینات روی در یک میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط شد. از تعلیق به دست آمده به مقدار ۵ میکرولیتر بر روی دیسک‌های بلانک (با قطر ۶ میلی‌متر) ریخته شد و بر روی کشت باکتریایی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد شکل گرفته اطراف نمونه پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس با کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. یک تیمار با استفاده از کلروفرم خالص بدون نانوذره برای تأثیر اثر ضد میکروبی کلروفرم استفاده شد. از دیسک استاندارد جنتامایسین ۱۰ برای مقایسه اثر ضد میکروبی استفاده شد.

- آزمون تعیین MIC و MBC نانو ذرات آلومینات روی جهت بررسی اثرات حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) نانو ذرات آلومینات روی از روش

جهت بسته‌بندی مواد غذایی گزارش نشده است. لذا در این پژوهش به مطالعه خواص ضد باکتریایی نانوذره روی آلومینات ($ZnAl_2O_4$) علیه باکتری‌های *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا* پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

- سنتز و بررسی نانوذره آلومینات روی محلولی از نیترات روی (۱۰ میلی‌مول) و نیترات آلومینیوم (۲۰ میلی‌مول) در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدایی شده تهیه شد (محلول A). در ظرف دیگر ۲۰ میلی‌لیتر آمونیاک به ۵۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدایی شده و ۵۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه و محلول به هم زده شد (محلول B). محلول B به آرامی و قطره‌قطره به محلول A اضافه گردید و توسط همزن مغناطیسی با دور بالا یک ساعت هم زده شد. سپس رسوب ژل‌مانند پالایه گردید و با آب دو بار تقطیر شستشو داده شد و به مدت ۵ ساعت در آون در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس خشک شد و در نهایت در دمای ۷۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت کلسینه گردید. محصول حاصل توسط آزمون پراش اشعه ایکس توسط یک پراش‌سنج (برای ۲θ محدوده از ۰ تا ۸۰ درجه با یک مرحله به‌اندازه ۰/۰۱ درجه (۲θ)) با استفاده از تک‌رنگ تابش $K\alpha$ -Cu مورد بررسی و تأیید ساختار قرار گرفت. اندازه متوسط نانوذرات با استفاده از معادله شرر (Scherrer) (معادله ۱) و با استفاده از مقادیر پهنا در نصف مقدار بیشینه (FWHM) شدیدترین قله پراش XRD تخمین زده شد.

$$L = \frac{\kappa\lambda}{\beta \cos\theta} \quad \text{معادله (۱)}$$

دیش‌ها به مدت ۴۰-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. حداقل غلظتی که باکتری در روی محیط کشت هیچ‌گونه رشد و تشکیل کلنی نداشت به‌عنوان (MBC) در نظر گرفته شد. این آزمون برای هر دو باکتری و هر غلظت ۳ بار تکرار شد.

- آنالیز آماری

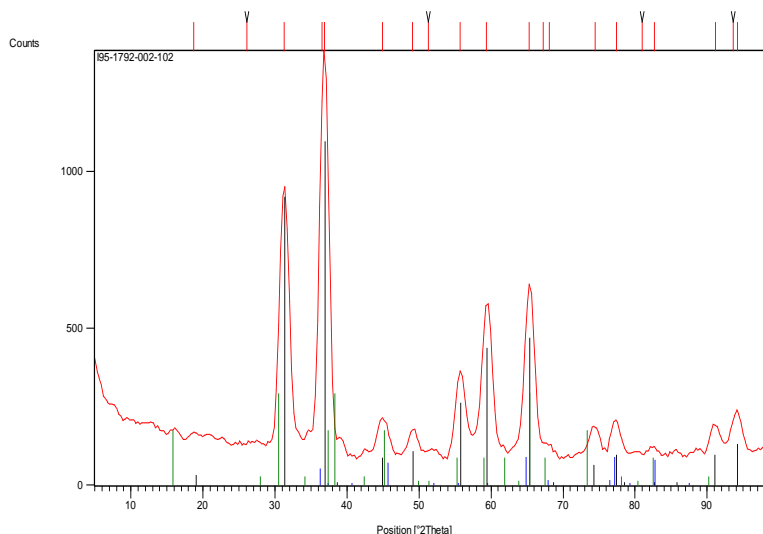
نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلیک انجام شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمون T test انجام گرفت. از نرم‌افزار Graphpad-Prism 5 استفاده شد.

یافته‌ها

- بررسی ترکیب و ریزساختار نانو ذرات روی آلومینات تولیدی

برای تشخیص فاز بلوره‌ای و مقایسه اندازه ذره، تجزیه و تحلیل پراش پرتو ایکس با استفاده از یک پراش سنج (برای 2θ محدوده از ۰ تا ۸۰ درجه با یک مرحله به اندازه ۰/۰۱ درجه (2θ)) با استفاده از تکرنگ تابش $K\alpha$ -Cu در نمونه‌ها انجام شد. شکل ۱ نشان می‌دهد که محصول نهایی $ZnAl_2O_4$ با ساختار اسپینل مورد نظر و تمام قله‌ها می‌توانند به‌عنوان فاز اسپینل $ZnAl_2O_4$ (گروه فضایی Fd-3m، کد مرجع ۰۱-۰۷۴-۱۱۳۶) نمایه شوند. پیک‌های مشخصه در 2θ از ۳۱/۳۵، ۳۷/۷۴، ۴۴/۷۵، ۵۵/۷۴، ۵۹/۴۳ و ۶۵/۴۳ مربوط به سیاره‌های هسته کریستالوگرافی اسپینل فاز، $ZnAl_2O_4$ به ترتیب (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۴۲۲)، (۵۱۱) و (۴۴۰) هستند.

ماکرو دایلوژن در لوله‌های استریل آزمایشگاهی استفاده شد. در ابتدا برای هر کدام از باکتری‌ها تا هفت لوله رقت سازی انجام شد که از محیط کشت نوترینت براث استریل ۱۰۰۰ میکرولیتر داخل هر یک از لوله‌های آزمایشگاهی ریخته شد و به اولین لوله ۱۰۰۰ میکرولیتر از بیشترین غلظت آماده شده ی محلول نانوذره آلومینات روی (۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد. از لوله اول ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول برداشت گردید و به لوله‌های دیگر که تنها حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر محیط کشت بود اضافه شد. این روند از لوله دوم به سوم و به همین ترتیب تا لوله هفتم ادامه پیدا کرد تا تمامی غلظت‌های مورد نظر ساخته شوند و ۱۰۰۰ میکرولیتر از لوله آخر دور ریخته شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر باکتری معادل نیم مک فارلند به هر کدام از ۷ لوله اضافه گردید. یک لوله دیگر به‌عنوان کنترل مثبت که حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع استریل و ۱۰۰۰ میکرولیتر از باکتری و یک لوله حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع و ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذره آلومینات روی به‌عنوان کنترل منفی تهیه شد. در ادامه به مدت ۴۰-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. مقدار کدورت ایجاد شده در لوله‌ها بیانگر مقدار رشد باکتری است که با چشم غیر مسلح و با روئیت کردن کدورت هر لوله بررسی شد. در این روش اولین لوله‌ای که کدورت ایجاد نشده بود حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) را نشان داد. از تمام لوله‌های قبل از لوله حاوی کدورت میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و در ظروف پتری دیش به‌روش پورپلیت کشت شد و تمامی پتری



شکل (۱) - الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نمونه سنتز شده آلومینات روی

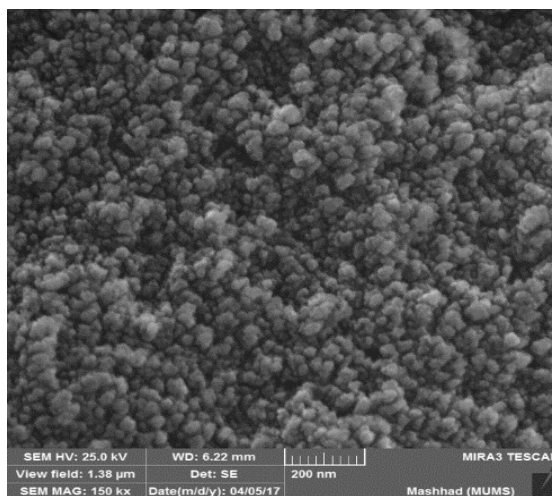
همچنین داده‌های جدول (۱) ساختار نانوذره و اندازه محصول تولیدی را می‌دهد و تأیید می‌کند که ذره تولید شده ساختار $ZnAl_2O_4$ را داراست. بر اساس معادله

شیر اندازه نانوذره آلومینات روی $35/5$ نانومتر محاسبه شد.

جدول (۱) - داده‌های مرجع مربوط به الگوی XRD نانوذره $ZnAl_2O_4$

کد رفرنس	امتیاز	نام ترکیب	Displacement [°2Th.]	فاکتور اندازه‌گیری	فرمول شیمیایی
00-005-0669	۸۰	Gahnite	۰/۱۰۲	۰/۹۰۴	$Zn Al_2O_4$

تصویر اسکن الکترونی نانو ذرات آلومینات روی در شکل (۲) آورده شده است. تصویر نشان‌دهنده ساختار هم‌ساز ذرات است که همگی اندازه کمتر از 100 نانومتر دارند.



شکل ۲- تصویر اسکن الکترونی نانو ذرات روی آلومینات تولید شده

- نتایج تست ضدباکتریایی دیسک‌های نانوذره روی آلومینات

نتایج سنجش نانوذره آلومینات روی به روش انتشار دیسک علیه باکتری‌های *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا* در جدول (۳) نشان داده شد. قطر هاله عدم رشد پس از کسر میزان قطر حاصل از تیمار کلروفرم خالص بدون نانوذره گزارش شده است. اندازه قطر هاله

عدم رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* از اندازه قطر هاله عدم رشد باکتری *اشریشیا کولای* بزرگ‌تر بود (جدول ۳). در نتیجه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در مقایسه با باکتری *اشریشیا کولای* نسبت به نانوذره آلومینات روی حساسیت بیشتری دارد.

جدول (۳)- خاصیت ضد باکتریایی نانوذره‌ی آلومینات روی باکتری‌های *اشریشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا*

اندازه هاله عدم رشد باکتری بر حسب mm		
نانوذره‌ی آلومینات روی	جنتامایسین ۱۰	باکتری
$11/64 \pm 2/2^b$	$16/54 \pm 2/3^a$	<i>اشریشیا کولای</i>
$16/06 \pm 1/8^a$	$17/88 \pm 4/9^a$	<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>

نتایج به صورت انحراف معیار \pm میانگین آورده شده است. حروف غیر هم نام در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح آلفای ۹۵ درصد است.

- نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های بررسی فعالیت ضدباکتریایی سوسپانسیون نانو ذرات آلومینات روی بر روی باکتری‌های *اشریشیا کولای* و *سودوموناس* مقدار MIC و MBC برای هر یک از باکتری‌ها نسبت به نانوذره آلومینات روی تعیین شد. نتایج تعیین MIC و MBC برای هر کدام از باکتری‌ها در جدول (۴) آورده شده است. با توجه به نتایج جدول کمترین غلظت

مهارکننده رشد MIC مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بود و باکتری *اشریشیا کولای* فاقد MIC و MBC بود. بر اساس نتایج جدول (۴)، باکتری *اشریشیا کولای* در مقایسه با باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به نانوذره آلومینات روی مقاوم‌تر بود و در غلظت‌های ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و پایین‌تر قدرت بازدارندگی (MIC) و قدرت کشندگی (MBC) نداشت.

جدول (۴)- مقادیر MIC و MBC نانوذرات آلومینات روی ضد باکتری‌ها (mg/ml)

MIC	MBC	باکتری
-	-	<i>اشریشیا کولای</i>
۱/۶۶	۱/۶۶	<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج پراش اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی ساختار نانوذره آلومینات روی تولید شده مورد تأیید قرار گرفت و ساختار تولیدی اندازه زیر ۱۰۰ نانومتر داشت که با محاسبه توسط معادله شرر از نتایج XRD این اندازه ۳۵/۵ نانومتر محاسبه شد. مطالعه حاضر بیان می کند که نانوذره آلومینات روی دارای خواص ضد باکتریایی بسیار خوبی است و این نانو مواد می تواند دارای خاصیت ضد میکروبی بسیار مؤثری جهت استفاده در بسته بندی مواد غذایی باشد. با توجه به نتایج، نانو ماده آلومینات روی دارای اثرات قابل توجه بر باکتری *سودوموناس آنورژینوزا* است و روی *اشریشیا کولی* نیز اثر ضد باکتریایی نشان می دهد.

نانوذرات به دلیل خصوصیات کاربردی ویژه و فیزیکوشیمیایی به طور گسترده در صنایع غذایی مختلف استفاده می شوند (Joye and McClements, 2014; Sarkar et al., 2017). به علاوه در زمینه ایمنی مواد غذایی کاربردهای گسترده ای یافته اند (Ravichandran, 2010). نانوذرات فلزی به علت خواص ضد میکروبی در پوشش دهی مواد غذایی به کار می روند (Bastarrachea et al., 2015).

مطالعات متعددی درباره اثر نانوذرات فلزی مانند نانوذرات اکسید روی و خاصیت ضد باکتری آنها در نگهداری مواد غذایی گزارش شده است (Huang et al., 2018). در یک مطالعه اثر نانوذرات اکسید روی، روی فیله ماهی کاد بررسی شد و مشاهده گردید که از دست دادن آب فیله کاهش یافت و چسبندگی فیله به ظرف نگهداری کم شد (Mizielinska et al., 2018). در مطالعه ای دیگر فیلم ژلاتین ماهی فلاندر زیتونی

ترکیب شده با نانوذرات اکسید روی خاصیت ضد میکروبی بالایی علیه *لیستریا مونوسیتوژنز* در اسفناج نشان داد اما اثر منفی بر کیفیت، رنگ و محتوای ویتامین ث نداشت (Beak et al., 2017). همچنین مشاهده شده است که فیلم بسته بندی حاوی نانوذرات اکسید روی باعث صدمه دیدن میکروارگانیسم ها گردیده و برای کنترل گوشت در نگهداری به شیوه سرد مفید است (Suo et al., 2017). در یک تحقیق دیگر روی فیلم بسته بندی مواد خوراکی حاوی نانوذرات اکسید روی تشکیل بیوفیلم باکتری های عامل بیماری های غذازاد شامل *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیا کولای* مهار گردید (Al-Shabib et al., 2016). در یک تحقیق نانوذرات نقره در پدهای سلولوزی وارد شد و دور گوشت گاو پیچیده شد. نتایج نشان از کاهش معنی دار بار میکروبی عصاره گوشت داشت (Smolkova et al., 2015). مطالعاتی نیز اثر نانوذرات مس روی نگهداری روغن نارگیل و مهار باکتری *اشریشیا کولای* در روغن و فیلم نانوکامپوزیت مس برای نگهداری یک محصول لبنی هندی به نام پدا (Peda) گزارش شده است (Gautam and Mishra, 2017; Lomate et al., 2018). همچنین بر اساس آخرین مطالعات نانوذرات سربوم اکساید (CeO_2) به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی قوی جهت استفاده در صنایع غذایی می باشد زیرا اثر سمیت روی سلول پستانداران ندارند و علیه باکتری *اشریشیا کولای* بسیار خاصیت ضد میکروبی زیادی نشان داده اند (Zhang et al., 2019).

با توجه به مطالعات قبلی به نظر می رسد که ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی *اشریشیا کولی* در حضور نانو ذرات، مقاوم تر از ترکیبات لیپیدی غشاء سلولی باکتری

استفاده از نانوذرات اکسید فلزی جهت استفاده‌های زیست‌محیطی، کشاورزی و بهداشت و سلامت به‌عنوان عوامل جدید برای کنترل و جلوگیری از آلودگی‌های باکتریایی مطرح است (Stankic et al., 2016). مکانیسم عمل ضد باکتریایی این نانوذرات اکسید فلزی هنوز به‌طور کامل شناخته‌شده نیست. برخی مکانیسم‌ها برای این منظور پیشنهاد شده است که شامل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، آزادسازی یون فلزی، ورود ذره نانو به درون باکتری و تخریب دیواره یا غشای سلول باکتری می‌باشد. ترکیبات نانو اکسید فلزی می‌تواند خواص باکتریواستاتیک یا باکتری‌کش نشان دهد. در حالت باکتریواستاتیک باکتری نمی‌میرد اما تقسیم و رشد آن متوقف می‌شود. اگر باکتری در این حالت از محیط حاوی نانوذره جدا شود می‌تواند دوباره رشد کند. اما در حالت باکتری کشی رشد مجدد کلنی باکتری در محیط آگار بدون نانوذره مشاهده نمی‌شود (Stankic et al., 2016).

مولکول آب‌اکسیژنه، رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل و اکسیژن یا یون سوپراکساید نمونه‌هایی از گونه‌های فعال اکسیژنی هستند که می‌توانند در سطح نانوذرات تولید شوند و با استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید غشایی باعث مرگ سلول باکتری شوند. بعلاوه این گونه‌های فعال می‌توانند به پروتئین و اسیدهای نوکلئیک باکتری نیز آسیب بزنند. برای مثال نانوذره اکسید طلا باعث تخریب DNA باکتری/شیریشیا کولای و مرگ آن می‌شود (Sondi and Salopek-Sondi, 2004). همچنین نانوذرات اکسید مس تولید گونه‌های اکسیژن فعال از نوع سوپراکساید می‌کنند که به سطح باکتری جذب می‌شود یا به آن وارد می‌گردد و باعث مرگ باکتری‌های

سودوموناس می‌باشند. در مرور منابع مطالعه دیگری روی اثر ضد باکتریایی نانوذره آلومینات روی یافت نشد اما دو گروه از محققین اظهار داشتند که باسیلوس سابتیلیس به نانو ذرات نقره و مس نسبت به/شیریشیا کولای بیشتر حساس بوده است. شاید دلیل این اختلاف به وجود لیپو پلی ساکارید باکتری‌های گرم منفی، یعنی تفاوت در ساختار دیواره سلولی مربوط باشد که با تحقیق حاضر مشابهت داشت (Yoon et al., 2007; Diao and Yao, 2009). در مطالعه حاضر نانوذرات آلومینات روی تأثیر مهاری بسیار خوبی از خود نشان دادند، اما جهت استفاده در صنایع غذایی نیاز به تحقیقات بیشتری در زمینه سمیت آن روی سلول‌های انسانی و ایمنی در صنایع غذایی است.

در مطالعه‌ای در ایران، مشاهده شد که کلونید نانو ذرات نقره اثرگذاری مطلوب و مناسبی را بر باکتری مورد آزمایش دارد به‌طوری‌که حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری مذکور، غلظت ۳/۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت باکتری کشی غلظت ۳۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. هم‌چنین در آزمون‌های آنتی‌بیوگرام روی پلیت و آنتی‌بیوگرام داخل لوله کاهش قابل‌مقایسه‌ای از باکتری‌ها در مقابل بسترهای پالایه‌سرامیکی پوشش یافته با نانو ذرات نقره مشاهده گردید (Nafisi Bahabadi et al., 2016). بر اساس نتایج مطالعه‌ای دیگر باکتری‌های/شیریشیا کولای کمترین حساسیت و باکتری‌های/استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین حساسیت را نسبت به نانوذرات نقره نشان دادند (Salmani et al., 2017). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

وارد شده بود توانست فعالیت ضد میکروبی را افزایش دهد. در مطالعات دیگر نانوذرات اکسید سیلیسیوم حاوی طلا علیه سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کولای خاصیت ضد میکروبی بسیار خوبی نشان دادند (Kim et al., 2007). نانوذره اکسید روی حاوی آهن و منگنز نیز علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولای، سالمونلا تایفی، سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سابتیلیس کارآمد بود (Sharma et al., 2016).

در مطالعه حاضر نتایج تعیین مقدار MIC و MBC نشان داد که باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به باکتری اشریشیا کولای حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرات اکسید آلومینات روی داشت و یا به عبارتی دیگر اشریشیا کولای نسبت به نانو ذرات آلومینات روی مقاوم تر بود. با توجه به کارایی نانوذره تولیدی پیشنهاد می گردد نانوذره آلومینات روی در مطالعات بسته بندی مواد غذایی و ایمنی مورد سنجش و ارزیابی قرار گیرد تا امکان استفاده آن تأیید شود. مطالعه روی سایر گونه های بیماری زای غذایی اعم از باکتری ها و قارچ ها ضروری است.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت مادی و معنوی از تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای گزارش ندارند.

گرم منفی مثل استافیلوکوکوس اورئوس و گرم مثبت مثل اشریشیا کولای می شود (Applerot et al., 2012). خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ذرات نانو اکسید فلزی مثل اندازه، ترکیب و ساختار کریستالی و بار سطحی با افزایش خاصیت ضد باکتریایی در ارتباط است. ذرات کوچک تر از ۲۰ نانومتر به راحتی به باکتری نفوذ می کنند و می توانند باعث آزادسازی یون سمی فلز به سیتوپلاسم سلول شوند (Sirelkhatim et al., 2015). البته در تحقیق حاضر اندازه متوسط نانوذرات ۳۵/۵ نانومتر گزارش شد و شاید نفوذ راحتی به درون باکتری نداشته باشد و سایر مکانیسم های باکتری کشی نامبرده برای عملکرد آن محتمل تر باشد.

در مطالعه حاضر نانوذره اکسید تولیدی از ترکیب ۲ فلز ساخته شد. برخی نانوذرات اکسید دو یا چندفلزی خاصیت ضد میکروبی بالاتری در مقایسه با تک فلز نشان داده است. برای مثال نانوذره اکسید منیزیم-روی باکتری گرم مثبت باسیلوس سابتیلیس را به طور کامل مهار کرد و باکتری گرم منفی اشریشیا کولای را تا حدی مهار نمود (Vidic et al., 2013). عملکرد این نانوذره ترکیبی به صورت تخریب غشا و خروج محتوای سلولی بود. در مقایسه نانولوله های اکسید روی هر دو سلول را به صورت غیرانتخابی تخریب کرد و سلول های HeLa انسانی را نیز از بین برد. اما نانوذرات اکسید منیزیم تا حدی خاصیت مهار باکتریایی نشان داد و برای سلول های انسانی سمیت کمتری داشت. همچنین نانوذرات روی حاوی آهن به طور کارآمد اشریشیا کولای را مهار کرد و اثر سمیت روی سلول انسانی نداشت (Ravichandran et al., 2015). یون آهن سه ظرفیتی که در این ترکیب به شکل یک ناخالصی

منابع

- Ahmed, J., Arfat, Y.A., Bher, A., Mulla, M., Jacob, H., and Auras, R. (2018). Active chicken meat packaging based on polylactide films and bimetallic Ag-Cu nanoparticles and essential oil. *Journal of Food Science*, 83(5):1299–1310.
- Al-Shabib, N.A., Husain, F.M., Ahmed, F., Khan, R.A., Ahmad, I., Alsharaeh, E., Khan, M.S., Hussain, A., Rehman, M.T., Yusuf, M. *et al.* (2016). Biogenic synthesis of zinc oxide nanostructures from nigella sativa seed: Prospective role as food packaging material inhibiting broad-spectrum quorum sensing and biofilm. *Scientific Report*, 6:36761.
- Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. and Banin, E. (2012). Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress. *Small*, 8(21):3326–3337.
- Azeredo, H.M.C.D. (2012). In: nano-antimicrobials progress and prospects, Cioffi, N. and Rai, M. (Editors), *Antimicrobial activity of nanomaterials for food packaging applications*. First edition, Springer. P. 375.
- Bala, T., Armstrong, G., Laffir, F. and Thornton, R. (2011). Titania – silver and alumina silver composite nanoparticles: novel, versatile synthesis, reaction mechanism and potential antimicrobial application. *Journal of Colloid and Interface Science*, 356(2):395 – 403.
- Bastarrachea, L.J., Denis-Rohr, A., and Goddard, J.M. (2015). *Antimicrobial Food Equipment Coatings: Applications and Challenges*. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6:97–118.
- Beak, S., Kim, H. and Song, K.B. (2017). Characterization of an olive flounder bone gelatin-zinc oxide nanocomposite film and evaluation of its potential application in spinach packaging. *Journal of Food Science*, 82:2643–2649.
- Chen, L., Sun, X., Liu, Y., Zhou, K. and Li, Y. (2004). Porous ZnAl₂O₄ synthesized by a modified citrate technique. *Journal of alloys and compounds*, 376(1-2): 257-261.
- Davar, F. and Salavati-Niasari, M. (2011). Synthesis and characterization of spinel-type zinc aluminate nanoparticles by a modified sol-gel method using new precursor. *Journal of Alloys and Compounds*, 509(5):2487-2492.
- Deus, D., Kehrenberg, C., Schaudien, D., Klein, G. and Krischek, C. (2017). Effect of a nano-silver coating on the quality of fresh turkey meat during storage after modified atmosphere or vacuum packaging. *Pollution Science*, 96:449–457.
- Diao, M. and Yao, M. (2009). Use of zero-valent iron nanoparticles in inactivating microbes. *Water research*, 43(20): 5243-5251.
- Gautam, G. and Mishra, P. (2017). Development and characterization of copper nanocomposite containing bilayer film for coconut oil packaging. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41:13243.
- Hamed, M.E., Mashad, A. and Pan, Z. (2015). Food decontamination using nanomaterials. *MOJ Food process and Technology*, 1(2):40–41.
- Hassanpour, P., Panahi, Y., Ebrahimi-Kalan, A., Akbarzadeh, A., Davaran, S., Nasibova, A.N., *et al.*, (2018). Biomedical applications of aluminium oxide nanoparticles. *Micro and Nano Letters*, 13(9):1227–1231.
- Huang, L., Li, D., Lin, Y., Evans, D.G. and Duan, X. (2005). Influence of nano-MgO particle size on bactericidal action against *Bacillus subtilis* var. niger. *Chinees Science Bulletin*, 50(6):514–519.
- Jiang, H., Manolache, S. and Te-Hsing, W. (2004). Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(3):1411-1422.
- Jiang, W., Mashayekhi, H. and Xing, B. (2009). Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*, 157(5):1619–1625.

- Joye, I.J. and McClements, D.J. (2014). Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloidal Interface Sciences*, 19:417–427.
- Kim, Y.H., Lee, D.K., Cha, H.G., Kim, C.W. and Kang, Y.S. (2007). Synthesis and characterization of antibacterial Ag-SiO₂ nanocomposite. *Journal of Physical Chemistry C*, 111(9):3629–3635.
- Kuang, H.J., Yang, L., Xu, H.Y. and Zhang, W.Y. (2015). Antibacterial properties and mechanism of zinc oxide nanoparticles. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(29):153–154.
- Li, Q., Sherwood, J.S. and Logue, C.M. (2004). The prevalence of *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 on bison carcasses during processing. *Food Microbiology*, 21:791–799.
- Lomate, G.B., Dandi, B. and Mishra, S. (2018). Development of antimicrobial LDPE/Cu nanocomposite food packaging film for extended shelf life of peda. *Food Packaging and Shelf Life*, 16:211–219.
- Lu, Y., Yang, F.X. and Zhang, H.G. (2013). Preparation and Properties of Silver-loaded LDPE Antibacterial Films. *Packaging Engineering*, 11:27–30.
- Menon, S.G., Hebbar, D.N., Kulkarni, S.D., Choudhari, K.S. and Santhosh, C. (2017). Facile synthesis and luminescence studies of nanocrystalline red emitting CrZnAl₂O₄ phosphor. *Materials Research Bulletin*, 86: 63-71.
- Mizielinska, M., Kowalska, U., Jarosz, M. and Suminska, P. (2018). A comparison of the effects of packaging containing nano ZnO or polylysine on the microbial purity and texture of Cod (*Gadus morhua*) fillets. *Nanomaterials*, 8:158.
- Nafisi Bahabadi, M., Hosseinpour Delavar, F., Mirbakhsh, M., Niknam, K.H. and Johari, S.A. (2016). Assessing antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles against *Bacillus spp.* *ISMJ*, 19(1): 1-14. [In Persian]
- Nakai, S.A. and Siebert, K.J. (2004). Organic acid inhibition models for *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Oenococcus oeni*. *Food Microbiology*, 21:67–72.
- Percival, S.L., Bowler, P.G. and Dolman, J. (2007). Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in vitro biofilm model. *International Wound Journal*, 4(2):186–191.
- Poole, C.P.J. and Owens, F.J. (2003). Introduction to nanotechnology. *Wiley-Inter science*, 8(2): 29-48.
- Rajkowski, K.T. (2012). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on catfish and tilapia. *Food Microbiology*, 30:427-431.
- Ravichandran, K., Rathi, R., Baneto, M., Karthika, K., Rajkumar, P.V., Sakthivel, B., and Damodaran, R. (2015). Effect of Fe⁺ doping on the antibacterial activity of ZnO powder. *Ceramics International*, 41:3390–3395.
- Ravichandran, R. (2010). Nanotechnology applications in food and food processing: innovative green approaches, opportunities and uncertainties for global market. *International Journal of Green Nanotechnology Physics and Chemistry*, 1:72–96.
- Sadiq, I.M., Chowdhury, B., Chandrasekaran, N. and Mukherjee, A. (2009). Antimicrobial sensitivity of *Escherichia coli* to alumina nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(3):282–286.
- Salmani, M.H., Mirhosieni, M., Moshtagi Iaregani, M. and Akrami, K. (2017). Survey of silver nanoparticles antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria *in vitro*. *J Toloee behdasht Sci*, 15(1): 76-84. [In Persian]
- Sarkar, P., Choudhary, R., Panigrahi, S., Syed, I., Sivapatha, S. and Dhumal, C.V. (2017). Nano-inspired systems in food technology and packaging. *Environmental Chemistry Letter*, 15:607–622.

- Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R. and Minaian, S. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine*, 3:168–171.
- Sharma, N., Jandaik, S., Kumar, S., Chitkara, M. and Sandhu, I.S. (2016). Synthesis, characterisation and antimicrobial activity of manganese-and iron-doped zinc oxide nanoparticles. *Journal of Experimental Nanoscience*, 11:54–71.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H. and Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano Microbiology Letter*, 7:219–242.
- Smolkova, B., Yamani, N., Collins, A.R., Gutleb, A.C. and Dusinska, M. (2015). Nanoparticles in food. Epigenetic changes induced by nanomaterials and possible impact on health. *Food Chemical Toxicology*, 77:64–73.
- Sodagar, A., Bahador, A., Pourhajibagher, M., Ahmadi, B. and Baghaeian, P. (2016). Effect of addition of Curcumin nanoparticles on antimicrobial property and shear bond strength of orthodontic composite to bovine enamel. *Journal of Dentistry*, 13(5):373-82.
- Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloidal Interface Science*, 275:177–182.
- Stankic, S., Suman, S., Haque, F., and Vidic, J. (2016). Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties. *Nanobiotechnology*, 14(73):1-20.
- Suo, B., Li, H., Wang, Y., Li, Z., Pan, Z. and Ai, Z. (2017). Effects of ZnO nanoparticle-coated packaging film on pork meat quality during cold storage. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 97:2023–2029.
- Tavakoli, H., Rastegar, H., Taherian, M., Samadi, M. and Rostami, H. (2017). The effect of nano-silver packaging in increasing the shelf life of nuts: An in vitro model. *Italian Journal of Food Safety*, 6: 68-74.
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S. and Parikh, R.Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine and Nanotechnology*, 6(2): 257-262.
- Tony Jin, T. and He, Y. (2011). Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*, 13:6877–6885.
- Verma, S.K., Prabhat, K., Goyal, L., Rani, M. and Jain, A. (2010). A critical review of the implication of nanotechnology in modern dental practice. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 1(1):41-44.
- Vidic, J., Stankic, S., Haque, F., Ciric, D., Le Goffic, R., Vidy, A., Jupille, J. and Delmas, B. (2013). Selective antibacterial effects of mixed ZnMgO nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 15:1595.
- Yamamoto, O. (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, 3:643–646.
- Yang, F., Liu, Q.L. and Lei, B. (2006). Research on the Application of Nano-Zinc Oxide. *Anhui Chemical Industry*, (1):13 –15.
- Yoon, K., Byeon, J.H., Park, J. and Hwang, J. (2007). Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 373: 572–575.
- Zhang, H. (2013). Application of Silver Nanoparticles in Drinking Water Purification. University of Rhode Island; 2013. 29 p.
- Zhang, M., Zhang, C., Zhai, X., Luo, F., Du, Y. and Yan, C. (2019). Antibacterial mechanism and activity of cerium oxide nanoparticles. *Science China Materials*, 62(11):1727–1739.

-
- Ziyaadini, M., Zahedi, M.M. and Dehghan-Rahimi, A. (2018). Enhanced photocatalytic degradation of 2,4-dichlorophenol in water solution using Sr-doped $ZnAl_2O_4$ nanoparticles. *Journal of Particle Science and Technology*, 4:101-109.