



بررسی خواص ضد باکتریایی نانو کامپوزیت سنتزی روی کرومیت-روی آلومینات (ZnCr₂O₄-ZnAl₂O₄) علیه باکتری‌های اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا

علی طاهری^۱، مرتضی ضیاءالدینی^۲، معصومه گهرام زئی^۱

^۱ گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
^۲ گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۲۵ فروردین ماه ۱۴۰۰، تاریخ پذیرش: ۱ تیر ماه ۱۴۰۰

doi 10.22059/jvr.2020.295926.3012



20.1001.1.20082525.1400.76.3.3.5

چکیده

زمینه مطالعه: امروزه مبارزه با باکتری‌های عامل بیماری‌های غذازاد در بسته‌بندی محصولات دریایی بسیار مهم است. لذا یافتن ترکیبات جدید با خواص ضد باکتری اهمیت دارد.

هدف: در مطالعه حاضر خواص ضد باکتریایی نانو کامپوزیت سنتزی روی کرومیت-روی آلومینات (ZnCr₂O₄-ZnAl₂O₄) علیه باکتری‌های اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد.

روش کار: پس از سنتز نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات فعالیت ضد باکتری به روش انتشار دیسک و حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌ها (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها (MBC) به روش رقت سازی متوالی مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: قطر هاله عدم رشد باکتریایی نشان از حساسیت بیشتر سودوموناس آئروژینوزا (۱۸/۶±۱/۲ میلی‌متر) نسبت به اشرشیا کلی (۱۲/۷±۱/۴ میلی‌متر) داشت. اختلاف معنی‌داری بین آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و نانو کامپوزیت سنتزی علیه سودوموناس آئروژینوزا مشاهده نشد ($P < 0/05$). کمترین میزان MIC و MBC مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا (۱/۶۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و بیشترین مقدار MIC مربوط به باکتری اشرشیا کلی (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود.

نتیجه‌گیری نهایی: در مطالعه حاضر دلیل اثرات نانو ذرات بر روی باکتری‌های گرم منفی با وجود مقاومت دیواره‌ای را می‌توان به کوچک بودن قطر یون‌ها و در نتیجه نفوذپذیری بیشتر این نانو ذرات نسبت داد. بر اساس نتایج، نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات کارایی بسیار خوبی علیه باکتری‌های گرم منفی به خصوص باکتری مقاوم سودوموناس آئروژینوزا نشان داد و می‌تواند برای مطالعات بعدی در مواد بسته‌بندی محصولات شیلاتی به کار رود.

کلمات کلیدی: ضد باکتری، نانوذره، روی کرومیت-روی آلومینات، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: علی طاهری، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
پست الکترونیکی: taherienator@gmail.com

مقدمه

از سوی دیگر پاتوژن‌هایی مانند سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی در فرآورده‌های گوشتی مانند گوشت آبزیان یافت می‌شود که می‌تواند عامل بیماری‌های غذازاد باشد (۲۵،۳۱). سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی است که دلیل اصلی برجستگی آن به‌عنوان یک پاتوژن، مقاومت ذاتی آن به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های معمول است. سودوموناس آئروژینوزا اغلب در برابر رژیم تک دارویی مقاوم است و بیشتر از یک ترکیب

در مبحث بسته‌بندی مواد غذایی، نانو کامپوزیت‌ها با کارایی مکانیکی بالا و خواص قوی ضد باکتریایی در حال توسعه سریع می‌باشند (۲). امروزه تکنیک‌های افزودن نانو مواد به مواد بسته‌بندی مثل پلیمرها، کاغذها، شیشه، سرامیک و سطوح فلزی به‌خوبی شناخته شده است. پس از سال ۲۰۲۰ حدود ۲۵ درصد از بازار بسته‌بندی مواد غذایی در اختیار نانو تکنولوژی خواهد بود که حدود ۱۰۰ میلیارد دلار برآورد می‌شود (۳۶).

به دلیل فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات اکسید فلزی، این مواد مورد توجه متخصصین محیط زیست، کشاورزی و سلامت می باشند که به دنبال یافتن عوامل نوین و بهتر برای کنترل و مبارزه با باکتری ها می باشند. به دلیل این که نانو ذرات اکسید فلزی مکانیسم های ضد باکتری متفاوتی دارند، نانو ذرات اکسید فلزی ترکیبی از دو یا چند فلز می تواند برای افزایش کارایی مبارزه با استرین های باکتریایی مختلف به خصوص سویه های مقاوم توسعه یابند. اکسیدهای دو فلزی مواد جدیدی حاوی دو نانو اکسید فلزی فعال (آهن، نیکل، منیزیم، روی و نقره) است که خواص منحصر به فردی مثل خاصیت بالای ضد باکتریایی دارند (۲۶،۴۰).

مطالعات گذشته در زمینه استفاده از نانو ذرات فلزی در بسته بندی فعال مواد غذایی نشان می دهد که نانو ذرات نقره، دی اکسید تیتانیوم، اکسید روی، اکسید منیزیم، اکسید آهن، اکسید مس، دی اکسید سیلیسیم، هیدروکسید کلسیم و منیزیم دارای اثرات ضد باکتری زیادی در کنترل پاتوژن های عامل بیماری های غذازاد در این بسته بندی ها هستند (۵).

نانو ذرات اکسید روی ترکیبات ضد میکروبی بسیار مؤثری می باشند و علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و اسپور آن ها کارایی دارند (۳۰). مکانیسم عمل آن به خوبی شناخته نشده اما یک تئوری تشکیل اکسیدانت های قوی مثل آب اکسیژنه می باشد. فرضیه دیگر ورود به دیواره سلولی باکتری می باشد. برخی دیگر از احتمالات نیز تولید گونه های فعال اکسیژن ROS در سطح نانوذره، آزاد شدن یون روی در سلول و اختلال عملکرد غشای سلولی است (۲۰). سه مکانیسم برای فعالیت ضد باکتری نانو ذرات می توان عنوان نمود:

(۱) غیرفعال کردن آنزیم سلولی و DNA (۲) تخریب نفوذپذیری غشا که منجر به لیز شدن سلول و مرگ می شود و (۳) نفوذ به سلول باکتری و کنداندن کردن DNA و واکنش با پروتئین سلولی و مرگ باکتری (۶،۷،۳۴). بار سطحی نیز مهم است. سطح باکتری بار کلی منفی دارد. جذب الکترواستاتیک بین سطح باکتری و نانو ذرات اکسید فلزی با پتانسیل زتا مثبت مثل اکسید روی می تواند رخ دهد. لذا باعث تخریب دیواره باکتری شده و مرگ باکتری را به همراه خواهد داشت (۴۵). همچنین نانو ذرات فلزی با پتانسیل زتا منفی نیز می تواند باعث مرگ باکتری شود زیرا جذب فقط به شکل الکترواستاتیک نیست و می تواند واندروالسی و آب گریز باشد. نانو ذرات اکسید

ضد باکتریایی علیه این باکتری استفاده می شود. با توجه به اثرات جانبی آنتی بیوتیک های مصرفی و مقاومتی که سودوموناس آئروژینوزا در برابر آن ها کسب نموده اند، استفاده از روش های نوین و قطعی در مبارزه با این باکتری ضروری به نظر می رسد (۱۱). از سوی دیگر، یکی از عوامل مهم در بیماری های غذازاد باکتری /شرشیا کولی است که درمان دارویی آن سیپروفلوکساسین می باشد و ناراحتی های گوارشی و دستگاه سیستم عصبی ایجاد می کند (۲۶،۳۹). علاوه بر موارد گفته شده استفاده از آنتی بیوتیک های معمول نام برده شده در صنایع غذایی مجاز نمی باشد و می بایست ترکیبات جدید ضد باکتریایی که منشأ مخمر و قارچی ندارند مورد بررسی و استفاده قرار گیرند. لذا یافتن ترکیبات ضد باکتری جدید و مؤثر علیه این پاتوژن های عامل بیماری های غذازاد از اهمیت بالایی برخوردار است.

یکی از تلاش های اخیر محققان برای یافتن ترکیبات ضد باکتری استفاده از فناوری نانو می باشد (۴۷). فناوری نانو اصطلاحاً به طراحی، بررسی خصوصیات، تولید و استفاده از ساختارها و ابزارها با کنترل شکل و اندازه در مقیاس نانومتریک اطلاق می شود (۹). بررسی ها نشان داده است که هر چه اندازه نانو ذرات کوچک تر باشد، خصوصیات و فعالیت های جدید و متفاوت تری از خود نشان می دهند. این ویژگی ها باعث شده که امروزه سرعت استفاده از نانو مواد بسیار سریع گسترش یابد به طوری که در تمام ابعاد زندگی مانند صنایع غذایی، سیستم های الکترونیکی، مبارزه با میکروب ها، تشخیص و درمان بیماری ها کاربرد دارند (۴،۱۷،۳۶). مطالعات نانو ذرات فلزی و کامپوزیت آن ها با احتمال سمیت اندک در آینده نزدیک به شدت مورد استفاده خواهد بود و به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک های معمول و غلبه بر مقاومت باکتریایی به کار خواهد رفت (۱۳). نانو ذراتی چون کروم، تیتانیوم، نقره، روی و اکسید آن ها خاصیت باکتری کشی قوی دارند (۲۰). در چند دهه اخیر نانو مواد غیر آلی که دارای ساختار بسیار جدید، خواص بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی پیشرفته هستند با عملکردی که ناشی از اندازه نانویی آن ها است ساخته شده است. این مواد با ساختار و شکل نانویی خود توجه زیادی را به خود جلب کرده اند، زیرا پتانسیل بالقوه آن ها برای رسیدن به عملکرد خاص و انتخابی بسیار زیاد است (۴۴).

پرداخته شد تا مقدمه‌ای برای استفاده احتمالی آینده در بسته‌بندی ضد میکروبی محصولات شیلاتی باشد.

مواد و روش کار

سنتز کامپوزیت نانو: از روش رسوب مشترک برای تولید

نانو کامپوزیت استفاده شد. ۲۰ میلی‌مول محلول کروم نیترات و ۱۰ میلی‌مول محلول روی نیترات به همراه ۲۰ میلی‌مول محلول آلومینیوم نیترات به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونایز اضافه شد (محلول A). در ظرفی دیگر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونایز و اتانول (۱:۱) ۲۰ میلی‌لیتر آمونیاک اضافه و مخلوط شد (محلول B). محلول B آرام و به‌صورت قطره‌ای به محلول A اضافه و توسط همزن مغناطیسی با دور بالا هم زده شد و در دمای محیط ۱ ساعت اختلاط ادامه یافت. سپس رسوب ژل مانند پالایه گردید و با آب دو بار تقطیر شست شو داده شد و به مدت ۵ ساعت در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک و در نهایت در کوره الکتریکی در دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت کلسینه شد. محصول حاصل توسط آزمون پراش اشعه ایکس توسط یک پراش‌سنج (برای ۲θ محدود 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. از میکروسکوپ الکترونی FE-SEM برای بررسی ریزساختار نانو ذرات تولید شده پس از کوتینگ با طلا استفاده شد.

انتشار دیسک با نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی

آلومینات: باکتری‌های *اشرشیا کولای* (PTCC1399) و *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC 1430) از مرکز کلکسیون فارچ و باکتری کشور خریداری شد. باکتری‌ها ابتدا در محیط استریل زیر هود لامینار باز شد و طبق دستورالعمل در محیط کشت نوترینت برات فعال شد. سپس غلظتی از هر باکتری معادل نیم مک فارلند روی محیط کشت نوترینت آگار در پلیت‌های یک بار مصرف و به‌صورت جداگانه کشت داده شد و دیسک‌های بلانک روی کشت باکتری قرار داده شد. ۵ میلی‌گرم از پودر نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط شد و توسط شیکر لوله به حالت تعلیق درآمد. از تعلیق به‌دست آمده ۵ میکرولیتر بر روی دیسک‌های بلانک (با قطر ۶ میلی‌متر) ریخته شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. قطر هاله عدم رشد باکتری توسط کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. قطر هاله عدم رشد ≤ 12 به عنوان مقاوم، ۱۲-

فلزی می‌توانند به گروه‌های آمین، فسفات یا کربوکسیل در دیواره سلولی بچسبند و باعث مرگ باکتری شود (۳۷).

روی کرومات (با فرمول شیمیایی $ZnCr_2O_4$) یک ترکیب

شیمیایی است که جرم مولی آن $181/403$ گرم بر مول می‌باشد. $ZnCr_2O_4$ یکی از اسپینل‌های کروم با عملکرد سنجش رطوبت (۲۹)، رفتار فوتوکاتالیستی (۲۷) و خواص مغناطیسی (۱۵) است. در یک مطالعه ساختار پوسته هسته $TiO_2 / ZnCr_2O_4$ سنتز شده در برابر *اشرشیا کولای* در حضور نور UV با میزان کشتن باکتریایی ۹۹/۸ درصد، پس از ۳ ساعت بسیار مؤثر بود. همچنین، در مقایسه با فوتوکاتالیست TiO_2 ، نانو ذرات $TiO_2/ZnCr_2O_4$ می‌تواند یک ماده ضد باکتریایی کارآمدتر باشد (۳۳). ترکیب روی آلومینات ($ZnAl_2O_4$) نیز دارای خصوصیات بیولوژیک شناخته شده‌ای است: پوشش‌های $ZnAl_2O_4$ و $Zn_3(PO_4)_2$ خواص سیتوپلاستیک بسیار عالی را نشان داده‌اند (۳۸،۴۸). علاوه بر این، به دلیل یون‌های آزاد شده Zn، کامپوزیت‌های حاوی Zn به‌طور بالقوه خواص ضد باکتری دارند. یون‌های Zn^{2+} که از مواد سرامیکی بر پایه Zn آزاد می‌شوند، می‌توانند به‌طور بالقوه با نشست روی سطوح باکتری، تعادل بار و ایجاد تغییر شکل سلول و باکتریولیز مؤثر باشند (۴۱). هرچند نانوذرات اکسیدی فلزی سمیت سلولی و انبوهش و چسبندگی دارند که کاربرد آن‌ها را با احتیاط همراه می‌کند. یافته‌های اخیر در نانوفناوری اکسیدهای فلزی شامل تولید ساختارهای نانو با حضور ۲ یا چند ترکیب فلزی می‌باشد. نانو ذرات چند اکسید فلزی مثل نانو کامپوزیت‌های $Zn_x Mg_{1-x}$ ، Ag/Fe_3O_4 و $Ta-ZnO$ ، O به‌عنوان عوامل ضد باکتری به دلیل اثر سینرژیستیک ترکیبات آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. به نظر می‌رسد که این نانو کامپوزیت‌های ترکیبی راه حل مشکل نانوذره اکسید فلزی خالص مثل سمیت سلولی و انبوهش و چسبندگی باشد (۳۷).

تاکنون خواص نانو کامپوزیت ترکیبی روی کرومیت-روی

آلومینات ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) علیه بیماری‌های غذازاد *اشرشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا در مطالعه حاضر ابتدا نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) به شیوه رسوب مشترک و کلسینه سازی تولید شد و سپس به مطالعه خواص ضد باکتریایی نانو کامپوزیت سنتزی علیه باکتری‌های عامل بیماری‌های غذازاد *اشرشیا کولای* و *سودوموناس آئروژینوزا*

آنالیز آماری: آنالیز آماری با روش مقایسه دوتایی (تی تست غیر جفتی) توسط نرم افزار Graphpad- Prism 7 انجام شد.

نتایج

تعیین ساختار و مورفولوژی نانو کامپوزیت: الگوی XRD نانو کامپوزیت سنتز شده با استفاده از یک دیفراکتومتر پیشرفته (برای ۲θ محدوده از ۰ تا ۹۰ درجه با یک مرحله به اندازه ۰/۰۱ درجه (۲θ)) با تک موج تابش Kα-Cu برای شناسایی ماهیت بلوری به دست آمد. تصویر ۱ الگوی XRD نانو کامپوزیت ZnCr₂O₄-ZnAl₂O₄ را که در دمای ۷۰۰ درجه سانتی گراد کلسینه شده است را نشان می دهد.

نتایج حاصل از آنالیز عنصری EDX ساختار نانو کامپوزیت در تصویر ۲ آمده است که میزان حضور روی (۳۶/۷۳ درصد)، کروم (۳۸/۴۸ درصد)، آلومینیوم (۷/۶۹ درصد)، اکسیژن (۱۶/۰۲ درصد) و نیتروژن (۱/۰۷ درصد) را در ساختار نانو کامپوزیت نشان می دهد.

تجزیه و تحلیل XRD از نانو کامپوزیت ZnCr₂O₄-ZnAl₂O₄ دو فاز با ساختار اسپینل مکعبی گروه فضای Fd-3m با کدهای مرجع: ۰۱-۰۷۳-۱۹۶۲ و ۰۰-۰۰۵-۰۶۶۹ به ترتیب مربوط به ZnAl₂O₄ و ZnCr₂O₄ می باشد که داده های مرجع مربوطه در (جدول ۱) آمده است.

۱۵ میلی متر به عنوان حساسیت متوسط و ≥ 15 میلی متر به عنوان حساس در نظر گرفته شد (۱۲).

تعیین MIC و MBC نانو کامپوزیت روی کرومیت-

روی آلومینات: از روش رقت سازی متوالی در لوله های استریل جهت بررسی اثرات حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری ها (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری ها (MBC) نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات استفاده شد. برای هر کدام از باکتری ها هفت لوله رقت سازی در محیط کشت نوترینت براث انجام شد. رقت سازی با افزودن ۱ میلی لیتر باکتری معادل نیم مک فارلند انجام شد. همچنین در لوله اول ۱ میلی لیتر از بالاترین غلظت محلول نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات (۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد. لوله استریلی حاوی ۹ میلی لیتر از محیط کشت مایع استریل و ۱ میلی لیتر از باکتری به عنوان کنترل مثبت و یک لوله حاوی ۹ میلی لیتر محیط کشت مایع و ۱ میلی لیتر نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات به عنوان کنترل منفی نیز تهیه شد. آنکوباسیون به مدت ۴۰-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد. اولین رقت فاقد کدورت قابل تشخیص به عنوان MIC در نظر گرفته شد. سپس از تمام لوله های فاقد کدورت میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و به روش پورپلیت کشت شد. تمام پتری دیش ها به مدت ۴۰-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. غلظتی که باکتری در روی محیط کشت هیچ گونه رشدی نداشت به عنوان (MBC) محاسبه شد. این آزمون برای هر باکتری و هر غلظت ۳ بار تکرار شد.

جدول ۱. داده های مرجع مربوط به الگوی XRD نانو کامپوزیت ZnCr₂O₄-ZnAl₂O₄

کد رفرنس	امتیاز	نام ترکیب	جابجایی (۲θ)	فاکتور وزنی	فرمول شیمیایی
۰۱-۰۷۳-۱۹۶۲	۳۵	اکسید کرومات روی	۰/۱۰۰	۰/۹۷۰	ZnCr ₂ O ₄
۰۰-۰۰۵-۰۶۶۹	۸	گائیت	۰/۱۰۰	۰/۶۳۷	ZnAl ₂ O ₄

جدول ۲. خاصیت ضد باکتریایی نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات علیه باکتری.

هاله عدم رشد باکتری ها (میلی متر)	باکتری	جنتامایسین ۱۰	نانوذره کامپوزیتی
۱۶/۵۴±۲/۳ ^a	اشرشیا کولی	۱۲/۷±۱/۴ ^b	۱۸/۶±۱/۲ ^a
۱۷/۸۸±۴/۹ ^a	سودوموناس آئروژینوزا		

نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین آورده شده است. حروف غیر هم نام در هر ردیف اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد را نشان می دهد.

جدول ۳. مقادیر MIC و MBC نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات علیه باکتری ها (میلی گرم بر میلی لیتر).

MIC	MBC	باکتری
۵	-	اشرشیا کولی
۱/۶۶	۱/۶۶	سودوموناس آئروژینوزا

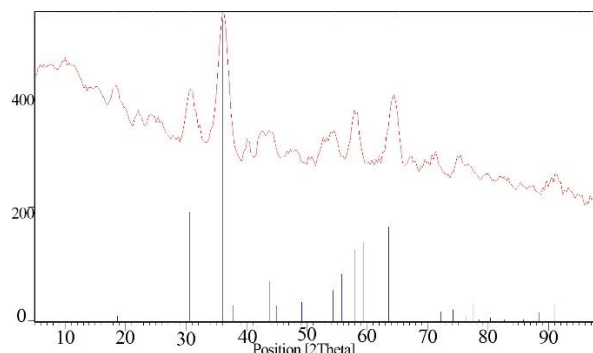
اندازه متوسط نانو ذرات $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$ با معادله شرر (Scherrer) و با استفاده از مقادیر پهنا در نصف مقدار بیشینه (FWHM) شدیدترین قله پراش XRD، $14/2$ نانومتر تخمین زده شد. همچنین اندازه متوسط نانو کامپوزیت توسط تصویر پراش میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) $17/1$ نانومتر به دست آمد (تصویر ۳).

نتایج ضد میکروبی حاصل از دیسک‌های نانو

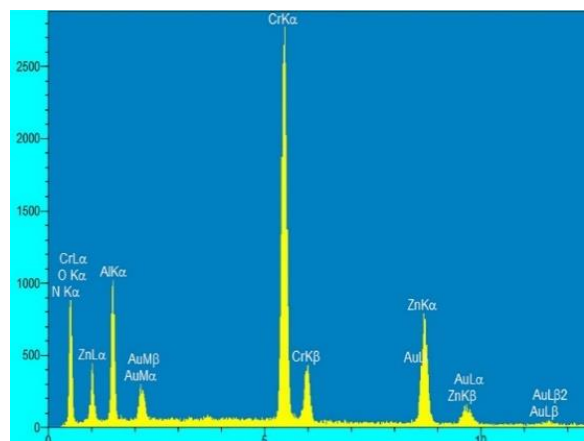
کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات: اثر ضد میکروبی نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات علیه دو گونه باکتری *Sودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کولی* در روش انتشار دیسک و هاله عدم رشد ایجاد شده در **جدول ۲** آورده شده است. بر اساس نتایج، نانو کامپوزیت سنتز شده فعالیت ضد میکروبی خوبی نشان داد. باکتری *Sودوموناس حساسیت بیشتری نسبت به باکتری اشرشیا کولی* در مقابل نانو کامپوزیت روی کرومیت-روی آلومینات نشان داد و قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تری داشت. باکتری *اشرشیا کولی* نسبت به شاهد مثبت اثر آنتی‌بیوتیک ضعیف‌تری داشت ($P < 0/05$) اما *Sودوموناس آئروژینوزا* اختلاف معنی‌داری با شاهد مثبت نشان نداد ($P > 0/05$) و کارایی بالایی در خاصیت ضد باکتریایی نانوذره کامپوزیتی علیه این باکتری دیده شد. متوسط هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کولی* در رنج حساسیت متوسط و متوسط هاله عدم رشد *Sودوموناس آئروژینوزا* در رنج حساس در مواجهه با نانو کامپوزیت قرار گرفت.

نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل

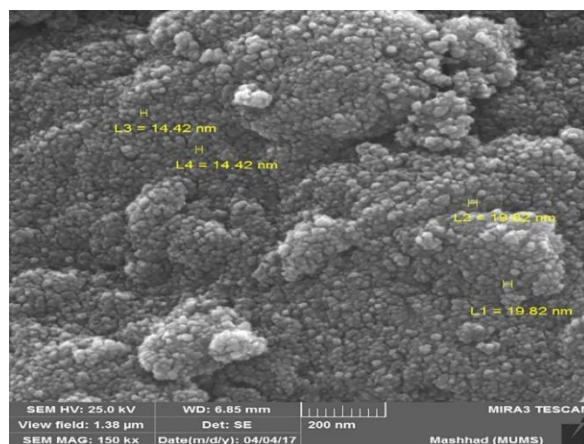
غلظت کشندگی (MBC): نتایج حاصل از مطالعه فعالیت ضد باکتریایی تعلیق نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات بر روی باکتری‌های *اشرشیا کولی* و *Sودوموناس* با تعیین مقادیر MIC و MBC در **جدول ۳** آورده شده است. با توجه به نتایج جدول کمترین غلظت مهارکننده رشد مربوط به باکتری *Sودوموناس آئروژینوزا* و بیشترین مقدار غلظت مربوط به باکتری *اشرشیا کولی* بود. حداقل غلظت کشندگی با حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری *Sودوموناس آئروژینوزا* برابر بود. حداقل غلظت کشندگی در حداکثر غلظت نانو کامپوزیت استفاده شده در این مطالعه برای باکتری *اشرشیا کولی* به دست نیامد و این‌گونه باکتری تا 5 میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مقابل کشندگی مقاومت داشت. در مقایسه با باکتری *اشرشیا کولی* باکتری *Sودوموناس آئروژینوزا* نسبت به نانو کامپوزیت روی کرومیت- روی آلومینات حساس‌تر بود.



تصویر ۱. الگوی XRD نانو کامپوزیت $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$ کلسینه شده در دمای 700 درجه سانتی‌گراد.



تصویر ۲. نتایج حاصل از آنالیز عنصری EDX ساختار نانو کامپوزیت.



تصویر ۳. تصویر پراش میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) نانو کامپوزیت $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$.

را در غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در تیمار ۲۴ ساعته نشان داد و نسبت به نانو ذره MgO و ZnO اثر افزایشی داشت. نانوذره $ZnMgO$ خواص نانوذره خالص هر کدام از دو فلز را نشان می‌دهد: فعالیت ضد باکتریایی قوی حاصل از نانو ذره ZnO و سمیت سلولی کم مشتق از نانوذره MgO (۴۰). علی‌رغم خاصیت ضد باکتریایی، نانو ذرات ZnO انبوهش ایجاد می‌کند اما نانوذره Fe_3O_4 پایداری کلونیدی بسیار خوب و فاقد خاصیت ضد میکروبی است. در یک مطالعه نانو کامپوزیت اکسید Zn/Fe با نسبت ۸:۲ و ۹:۱ دارای خواص ضد باکتری مشابه نانو ذره ZnO بود اما فاقد انبوهش گزارش شد. در واقع نانو ذره اکسید Zn/Fe هر دو خاصیت را نشان می‌دهد و هر چه نسبت بیشتر باشد خاصیت آنتی‌باکتریال بیشتر است (۸). این مطالعه عنوان نمود که تشکیل رادیکال هیدروکسیل در سطح اکسید روی باعث تخریب سلول *اشرشیا کولی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌گردد. یون‌های آهن سه‌ظرفیتی به‌عنوان ناخالصی در اکسید روی عمل کرده و خاصیت ضد میکروبی کلی را افزایش می‌دهد (۳۲).

در مطالعه Guo و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز نانو ذرات ترکیبی $Ta-ZnO$ خاصیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به نانو ذرات خالص اکسید روی نشان دادند. خاصیت ضد میکروبی نانو ذرات ترکیبی $Ta-ZnO$ علیه *باسیلوس سابتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کولی* و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شد و مشخص گردید که خاصیت باکتریواستاتیک این نانو ذره علیه باکتری‌های نامبرده افزایش یافت (۱۰). همچنین نانو ذرات اکسید روی حاوی منگنز و آهن افزوده فعالیت ضد باکتریایی بالاتری علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کولای*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند (۳۵، ۳۷).

قطر هاله عدم رشد در کامپوزیت‌های چندفلزی متفاوت است. مثلاً در مطالعه‌ای کامپوزیت نانوذرات نقره ترکیب با هیدروکسیدهای $Zn-Al$ علیه باکتری *اشرشیا کولی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار گرفت که به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۵ و ۶ میلی‌متر در حالت کامپوزیت معمولی و ۱۵ تا ۱۸ میلی‌متر در حالت کلسینه شده در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شد (۲۳). در مطالعه‌ای دیگر نانوکامپوزیت اکسید روی-سلنیوم مورد ارزیابی قرار گرفت. این نانوکامپوزیت توانایی جذب رادیکال‌های هیدروکسیل اضافی را داشت و با هاله عدم رشد ۴۰ میلی‌متر خاصیت ضد باکتری بسیار خوبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد (۱). در مطالعه حاضر نیز

داده‌های XRD نشانگر تشکیل کامل فاز اسپینل $ZnCr_2O_4$ و هم‌چنین $ZnAl_2O_4$ در مطالعه حاضر می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز عنصری EDX حضور Cr و Al و Zn را در ساختار نانو کامپوزیت تأیید می‌کند. به دلیل نزدیکی این دو ساختار اسپینلی به هم همان‌طور که در الگوی XRD نمایش داده شده قله‌های این دو فاز باهم همپوشانی کرده‌اند که نتیجه آن پهن شدن قله‌ها بوده است. تجزیه و تحلیل XRD از نانو کامپوزیت $ZnCr_2O_4$ - $ZnAl_2O_4$ دو فاز با ساختار اسپینل مکعبی گروه فضای $Fd-3m$ با کدهای مرجع: ۱۹۶۲-۰۷۳-۰۱ و ۰۶۶۹-۰۰۵-۰۰ به ترتیب مربوط به $ZnAl_2O_4$ و $ZnCr_2O_4$ می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز نانو ساختار کامپوزیت ساخته شده را تأیید می‌کند که در رنج بیشترین فعالیت بیولوژیکی مفید (۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر) می‌باشد.

مطالعه حاضر تأثیر یک نانو کامپوزیت دی فلزی را علیه باکتری‌های بیماری‌زای غذایی بررسی نمود. مطالعات منتشر شده قبلی فعالیت ضد میکروبی چندین نانواکسید دی فلزی را علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان می‌داد. باید عنوان نمود که خواص ضد باکتریایی ساختار کامپوزیتی ترکیبی از دو دی‌اکسید فلزی روی کرومیت-روی آلومینات تاکنون گزارش نشده است و نتایج مطالعه حاضر با مقایسه نانو ذرات اکسید فلزی و دی‌اکسید فلزی انجام شده است.

در مطالعه حاضر نانو کامپوزیت سنتزی علیه دوسویه باکتری بیماری‌های غذازاد *اشرشیا کولی* و *سودوموناس آئروژینوزا* خاصیت ضد باکتریایی بسیار خوبی نشان داد. باکتری *اشرشیا کولی* دارای حساسیت متوسط و باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به نانوکامپوزیت حساس تشخیص داده شد. قطر هاله عدم رشد بیش از ۱۰ میلی‌متر علیه هر دو باکتری مشاهده شد و هاله عدم رشد در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* با آنتی‌بیوتیک شاهد جنتامایسین فاقد اختلاف معنی‌دار و بیش از جنتامایسین بود که نشان از خاصیت ضد باکتری بالاتر نانوکامپوزیت نسبت به جنتامایسین داشت.

برخی از نانو ذرات اکسید چند فلزی در مقایسه با نوع نانو اکسید فلزی خالص با اندازه مشابه فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نشان می‌دهند. نانو ذره $ZnMgO$ یکی از این مواد است که مهار رشد متوسط *اشرشیا کولی* و مهار رشد کامل *باسیلوس سابتیلیس*

باکتری و حضور پمپ‌های افلاکس دارویی متعدد از مکانیسم‌های عمده مقاومت دارویی آن است (۱۱). در این مطالعه دلیل اثرات نانو کامپوزیت بر روی باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* با وجود مقاومت دیواره‌ای را می‌توان به کوچک بودن قطر یون‌ها و در نتیجه نفوذپذیری بیشتر این نانو ذرات به درون سلول از طریق غشای سلولی نسبت داد.

حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی نانو کامپوزیت تولیدی در مطالعه حاضر برای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* ۱/۶۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سنجش شد و حداقل غلظت بازدارندگی برای رشد *اشرشیا کولی* ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی میزان حساسیت برآورد شده در آزمون دیسک دیفیوژن آگار را تأیید می‌کند.

در مطالعه Jung و همکاران در سال ۲۰۰۸ بررسی اثر ضد باکتریایی نانو نقره علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کولی* از طریق میزان MIC انجام گرفت، نشان داده شد که میزان پارتيكل‌های نقره برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کولی* به ترتیب برابر ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام در میلی‌مول می‌باشد (۱۴). همچنین در مطالعه‌ای که Petica و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام دادند و در آن، اثر نانو ذرات کلئیدی را با غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام بر سه سویه *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کولی* سنجیدند. طبق نتایج ارائه شده از این مطالعه، مقادیر MIC حاصل از نانو ذرات علیه باکتری‌های فوق به ترتیب برابر با ۳۲، ۷ و ۳۱ پی‌پی‌ام بود (۲۸). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲، حساسیت باکتری *اشرشیا کولی* در برابر نانو ذرات روی بررسی شد. آن‌ها با تعیین MIC و MBC اثرات ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی را بررسی کردند، نتایج آن‌ها نشان داد *اشرشیا کولی* در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار شد؛ بنابراین گزارش کردند که نانو ذرات اکسید روی، اثر ضد باکتریایی قوی علیه سویه یاد شده دارند (۴۲). در مطالعه‌ای دیگر کامپوزیت نانوذره اکسید روی حاوی هیدروکسید مضاعف Zn-Al بررسی شد. نانوذره Zn_3Al تولیدی در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد خاصیت مهارکنندگی *اشرشیا کولی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را در غلظت ۳۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ۴ روز نشان داد (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر نیز نانو کامپوزیت $TiO_2/ZnCr_2O_4$ تولید شد. این نانو کامپوزیت توانایی کاهش ۱ تا ۲ واحد لگاریتمی باکتری *اشرشیا کولی* را نشان داد (۳۲).

کلسینه شدن در خلال فرایند تولید نانو کامپوزیت در دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد و قطر هاله عدم رشد بیش از ۱۲ میلی‌متر علیه *اشرشیا کولی* و بیش از ۱۸ میلی‌متر علیه *سودوموناس آئروژینوزا* احتمالاً به همین دلیل باشد. مطالعه روی نانو کامپوزیت مشابه تولید شده در دماهای متفاوت کلسینه شدن توصیه می‌گردد.

یکی دیگر از دلایل اصلی کشتن باکتری‌ها، تولید اکسیژن واکنشی (ROS) می‌باشد که می‌تواند به دلیل تعامل ساختار نانو یا یون‌های فلزی با غشای سلولی باشد (۳،۲۲). از دلایل مقاومت بیشتر *اشرشیا کولی* در مقابل نانو کامپوزیت سنتزی این مطالعه می‌توان گفت *اشرشیا کولی* از باکتری‌های گرم منفی است و دیواره باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت نفوذ ناپذیرتر است. دیواره *اشرشیا کولی* دو لایه هیدروفوب لیپوپلی‌ساکاریدی است و یک فضای پری پلاسمیک پپتیدوگلیکانی دارد که نفوذ دارو به آن را دو برابر سخت‌تر می‌سازد (۲۱).

مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد یکی از مکانیسم‌های اصلی عملکرد نانو ذرات اکسید فلزی بر پایه تغییر دادن سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) درون سلول‌ها می‌باشد. در شرایط خاص افزایش مقدار ROS می‌تواند استرس اکسیداتیو در سلول ایجاد کند و سبب آسیب غشای سلولی گردد. نانو ذرات قادرند تا سطح ROS درون سلول را تغییر دهند و رشد و تمایز انواع سلول‌ها را مختل کنند. مطالعات مختلف در محیط‌های *in vitro* و *in vivo* پیشنهاد می‌کنند که نانو ذرات قادرند ROS تولید کنند و بنابراین می‌توانند بر روی غلظت کلسیم درون سلولی، فعال نمودن فاکتورهای رونویسی و ایجاد تغییر در سایتوکین‌ها نقش داشته باشند. ROS از طریق روش‌های مختلفی نظیر آسیب رساندن به DNA، تداخل با مسیرهای سیگنال سلولی، تغییرات در روند رونویسی ژن‌ها و غیره می‌توانند به سلول‌ها آسیب وارد کند (۱۶).

در مطالعه حاضر عملکرد نانو کامپوزیت دی‌اکسید فلزی نسبت به جنتامایسین اختلاف معنی‌داری نداشت و قطر هاله عدم رشد بیشتری علیه *سودوموناس آئروژینوزا* ایجاد کرد که نشان از کارایی ضد باکتریایی بسیار خوب این نانو کامپوزیت علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* دارد که مهم‌ترین یافته مطالعه می‌باشد. *سودوموناس آئروژینوزا* دارای تعداد زیادی از فاکتورهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی به واسطه پلاسمید و کروموزوم است و مبارزه آنتی‌بیوتیکی آن را با مشکل مواجه ساخته و آنتی‌بیوتیک‌های جدید نیز علیه آن مؤثر نبوده‌اند. نفوذپذیری پایین غشاء خارجی

باکتری مقاوم *سودوموناس آئروژینوزا* عملکرد بسیار خوبی مشابه شاهد دارد که می‌تواند یافته بسیار مهمی برای مطالعات تکمیلی این نانو کامپوزیت در بسته‌بندی فرآورده‌های شیلاتی مانند بررسی سمیت سلولی و بررسی مهاجرت یونی در بسته‌بندی و یا مطالعات پیش‌کلینیکی جهت توسعه عوامل ضد باکتری نانو ساختار باشد. همچنین توصیه می‌گردد نانو کامپوزیت حاضر در سایر دماهای کلسینه سازی تولید شود و مطالعه روی سایر سویه‌های باکتری بیماری‌غذازاد نیز انجام شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت مادی و معنوی از مطالعه حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

میزان مقادیر MIC به دست آمده با نتایج مطالعه حاضر مطابقت نداشت. دلیل آن می‌تواند نوع نانو ذرات بکار رفته در این دو مطالعه باشد به طوری که غلظت‌های مورد استفاده در این دو مطالعه با یکدیگر متفاوت بوده و این موضوع نشان‌دهنده این است که هر نوع از مواد نانو با توجه به ویژگی‌هایی مانند اندازه، شکل، غلظت و نوع ترکیب می‌تواند اثر متفاوتی داشته باشد. میزان آسیب‌پذیری دیواره سلولی در سویه‌های مختلف باکتریایی به دلیل تفاوت در نفوذپذیری غشاء متفاوت از هم می‌باشند، لذا میزان حساسیت باکتری‌های مختلف در شرایط یکسان غلظت نانوذره و زمان تماس نسبت به هم بسیار متفاوت است (۴۸). شاید کلسینه کردن نانوکامپوزیت در دماهای متفاوت بر اثر بخشی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی تأثیر مثبت داشته باشد.

در نتیجه‌گیری باید عنوان نمود که نانو کامپوزیت سنتزی روی کرومیت-روی آلومینات ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) علیه

References

- Ahmad, A., Ullah, S., Ahmad, W., Yuan, Q., Taj, R., Ullah Khan, A., Ur Rahman, A., Ali Khan, U. (2020). Zinc oxide-selenium heterojunction composite: Synthesis, characterization and photo-induced antibacterial activity under visible light irradiation. *J Photochem Photobiol B*, 203, 111743. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111743> PMID: 31864091
- Alexandra, M., Dubois, P. (2000). Polymer-layered silicate nanocomposites: Preparation, properties and uses of a new class of materials. *Mat Sci Eng R*, 28, 1-63. [https://doi.org/10.1016/S0927-796X\(00\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S0927-796X(00)00012-7)
- Arakha, M., Saleem, M., Mallick, B.C., Jha, S. (2015). The effects of interfacial potential on antimicrobial propensity of ZnO nanoparticle. *Sci Rep*, 5(9578), 1-10. <http://dx.doi.org/10.1038/srep09578>
- Aslan, K., Geddes, C.D. (2005). Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology. *Curr Opin Biotech*, 16, 55-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2005.01.001> PMID: 15722016
- Azeredo, H.M.C.D. (2012). Antimicrobial activity of nanomaterials for food packaging applications. In: *Nano-Antimicrobials Progress and Prospects*. Cioffi, N., Rai, M. (eds.). (1st ed.). Springer. Berlin Heidelberg, Germany. p. 375-394.
- Choi, O., Deng, K.K., Kim, N.J., Ross, L. Jr., Surampalli, R.Y., Hu, Z. (2008). The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res*, 42(12), 3066-3074. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.02.021>
- Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., Kim, J.O. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*, 52(4), 662-668. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20001215\)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3) PMID: 11033548
- Gordon, T., Perlstein, B., Houbara, O., Felner, I., Banin, E., Margel, S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloid Surf A*, 374, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.10.015>
- Govindaraju, K., Tamilselvan, S., Kiruthiga, V., Singaravelu, G. (2010). Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. *J Biopest*, 3, 394-399.
- Guo, B.L., Han, P., Guo, L.C., Cao, Y.Q., Li, A.D., Kong, J.Z., Zhai, H.F., Wu, D. (2015). The antibacterial activity of Ta-doped ZnO nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*, 10, 1047. <https://doi.org/10.1186/s11671-015-1047-4> PMID: 26293495
- Hancock, R.E., Speert, D.P. (2000). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resist Updat*, 3(4), 247-255. <https://doi.org/10.1054/drup.2000.0152> PMID: 11498392
- Jorgensen, J.H., Turnidge, J.D. (2007). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Tenover, M.C. (eds.). (9th ed.) ASM Press, Washington, D.C. USA. p. 1152-1172. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch71>
- Jagadeeshan, S., Parsanathan, R. (2019). Nano-metal oxides for antibacterial activity. In: *Advanced Nanostructured Materials for Environmental Remediation*. Naushad, M., Rajendran, S., Gracia, F. (eds.). (1st ed.) Springer. Gewerbestrasse, Switzerland. p. 59-90. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-04477-0>
- Jung, W.K., Cheong Koo, H., Kim, K.W., Shin, S., Kim, S.H., Park, Y.H. (2008). Antibacterial activity and mechanism of

- action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*, 74, 2171-217. <https://doi.org/10.1128/AEM.02001-07>
15. Kagomiya, I., Toki, B., Kohn, K., Hata, Y., Kita, E., Siratori, K. (2004). Magnetic clusters in three dimensional spin frustrated system $ZnCr_2O_4$. *J Magn Magn Mater*, 272-276, 1031-1032. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2003.12.1028>
 16. Kim, S.H., Lee, H.S., Ryu, D.S., Choi, S.J., Lee, D.S. (2011). Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Korean J Microbiol Biotechnol*, 39(1), 77-85.
 17. Kumar, A., Jakhmola, A. (2007). RNA-mediated fluorescent Q-Pb nanoparticles. *Langmuir*, 23, 2915-2918. <https://doi.org/10.1021/la0628975>
 18. Lara, H.H., Ayala-Nunez, N.V., Ixtepan Turrent, L.D.C., Rodríguez Padilla, C. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, 26(4), 615-621. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0211-3>
 19. Li, M., Xu, Z.P., Sultanbawa, Y., Chen, W., Liu, J., Qian, G. (2019). Potent and durable antibacterial activity of ZnO-dotted nanohybrids hydrothermally derived from ZnAl-layered double hydroxides. *Colloid Surface B*, 181, 585-592. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.013> PMID: 31195314
 20. Li, P., Li, J., Wu, C., Wu, Q., (2005). Synergistic antibacterial effects of Lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *J Nanotechnol*, 16, 1912-1917. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/9/082>
 21. Liang, X., Sun M., Li, L., Qiao, R., Chen, K., Xiao, Q., Xu, F. (2012). Preparation and antibacterial activities of polyaniline/Cu_{0.05}Zn_{0.95}O nanocomposites. *Dalton Trans*. 41(9), 2804-2811. <https://doi.org/10.1039/c2dt11823h> PMID: 22249414
 22. Malwal, D., Gopinath, P. (2017). Efficient adsorption and antibacterial properties of electrospun CuO-ZnO composite nanofibers for water remediation. *J Hazard Material*, 321, 611-621. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.09.050> PMID: 27694025
 23. Mishra, G., Dash, B., Pandey, S., Mohanty, P.P. (2013). Antibacterial actions of silver nanoparticles incorporated Zn-Al layered double hydroxide and its spinel. *J Environ Chem Eng*, 1, 1124-1130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2013.08.031>
 24. Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahizadeh, H. (2010). *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *J Medicinal Plants Res*, 4(25), 2753-2759.
 25. Nakai, S.A. Siebert, K.J. (2004). Organic acid inhibition models for *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Oenococcus oeni*. *Food Microbiol*, 21, 67-72. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00043-1](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00043-1)
 26. Parham, S., Wicaksono, D.H.B., Bagherbaigi, S., Lee, S.L., Nur, H. (2016). Antimicrobial treatment of different metal oxide nanoparticles: a critical review. *J Chin Chem Soc*, 63, 385-393. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180219130659> PMID: 29468956
 27. Peng, C., Gao, L. (2008). Optical and photocatalytic properties of spinel $ZnCr_2O_4$ nanoparticles synthesized by a hydrothermal route. *J Am Ceram Soc*, 91, 2388-2390. <https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2008.02417.x>
 28. Petica, S., Gavariliu, A. M., Lungue, N., Buruntea, C., Panzaru, B. (2008). Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Mater Sci Eng*, 15, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2008.06.021>
 29. Pokhrel, S., Jeyaraj, B., Nagaraja, K.S. (2003). Humidity-sensing properties of $ZnCr_2O_4$ -ZnO composites, *Mater Lett*, 57, 3543-3548. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(03\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00122-8)
 30. Raghupathi, K.R., Koodali, R.T., Manna, A.C. (2011). Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*, 27, 4020-4028. <https://doi.org/10.1021/la104825u> PMID: 21401066
 31. Rajkowski, K.T. (2012). Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on catfish and tilapia. *Food Microbiol*, 30, 427-431. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.019> PMID: 22365356
 32. Ravichandran, K., Rathi, R., Baneto, M., Karthika, K., Rajkumar, P.V., Sakthivel, B., Damodaran, R. (2015). Effect of Fe⁺F doping on the antibacterial activity of ZnO powder. *Ceramics Inter*, 41, 3390-3395. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.10.121>
 33. Salehi, M., Eshaghi, A., Tajizadegan, H. (2019). Synthesis and characterization of TiO₂/ZnCr₂O₄ core-shell structure and its photocatalytic and antibacterial activity. *J Alloy Compd*, 778, 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.11.025>
 34. Sambhy, V., MacBride, M.M., Peterson, B.R., Sen, A. (2006). Silver bromide nanoparticle/polymer composites: dual action tunable antimicrobial materials. *J Am Chem Soc*. 128(30), 9798-9808. <https://doi.org/10.1021/ja061442z>
 35. Sharma, N., Jandaik, S., Kumar, S., Chitkara, M., Sandhu, I.S. (2016). Synthesis, characterisation and antimicrobial activity of manganese and iron-doped zinc oxide nanoparticles. *J Exp Nanosci*, 11, 54-71. <https://doi.org/10.1080/17458080.2015.1025302>
 36. Sosa, I., Noguez, C., Barrera, R.G. (2003). Optical properties of metal nanoparticles with arbitrary shapes. *J Phys Chem*, 107, 6269-6275. <https://doi.org/10.1021/jp0274076>
 37. Stankic, S, Suman, S., Haque, F., Vidic, J. (2016). Pure and multi metal oxide nanoparticles: synthesis, antibacterial and cytotoxic properties. *J Nanobiotechnol*, 14, 73. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0225-6> PMID: 27776555
 38. Suarez-Franco, J. L., García-Hipólito, M., Suráez-Rosales, M.A., Pedrero, A., Álvarez-Fregoso, O., Juárez-Islas, J.A., Álvarez-Pérez, M.A. (2013). Effects of surface morphology of ZnAl₂O₄ ceramic materials on osteoblastic cells responses. *J Nanomater*, 2013, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2013/361249>
 39. Talan, D.A., Naber, K.G., Palou, J., Elkarrat, D. (2004). Extended-release ciprofloxacin (Cipro XR) for treatment of urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*, 1, 54-66. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.12.005> PMID: 15037329
 40. Vidic, J., Stankic, S., Haque, F., Ciric, D., Le Goffic, R., Vidy, A., Jupille, J., Delmas, B. (2013). Selective antibacterial effects of mixed ZnMgO nanoparticles. *J Nano particle Res*, 15, 1595. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1595-4> PMID: 23710129
 41. Wang YW., Cao, A., Jiang, Y., Zhang, X., Liu, J.H., Liu, Y., Wang, H. (2014). Superior antibacterial activity of zinc oxide/graphene oxide composites originating from high zinc concentration localized around bacteria. *ACS Appl Mater Interfaces*, 6, 2791-2798. <https://doi.org/10.1021/am4053317>
 42. Wang, C., Liu, L.L., Zhang, A.T., Xie, P., Lu, J.J., Zou, X.T. (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88. *African J Biotechnol*, 44, 10248-10254. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3703>
 43. Wei, H., YanJun, Y., NingTao, L., LiBing, W. (2011). Application and safety assessment for nano-composite materials in food packaging. *Chinese Sci Bullet*, 56(12), 1216-1225. <https://doi.org/10.1007/s11434-010-4326-6>

44. Wu, X., Liu, H., Liu, J., Haley, K.N., Treadway, J.A., Larson, J.P., Ge, N., Peale, F., Bruchez, M.P. (2003). Immunofluorescent labeling of cancer marker Her 2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat Biotech*, 21, 41-46. <https://doi.org/10.1038/nbt764> PMID: [12459735](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12459735/)
45. Xie, Y., He, Y., Irwin, P.L., Jin, T., Shi, X. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol*, 77, 2325-2331. <https://doi.org/10.1128/AEM.02149-10> PMID: [21296935](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21296935/)
46. Zhang, D., Chen, L., Zang, C., Chen, Y., Lin, H. (2013). Antibacterial cotton fabric grafted with silver nanoparticles and its excellent laundering durability. *Carbohydrate Polymer*, 92(2), 2088-2094. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.100>
47. Zhang, L., Pornpattananakul, D., Hu, C.M.J., Huang, C.M. (2010). Development of Nanoparticles for Antimicrobial Drug Delivery. *Current Med Chem*, 17, 585-594. <https://doi.org/10.2174/092986710790416290> PMID: [20015030](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20015030/)
48. Zhao, X.C., Xiao, G.Y., Zhang, X., Wang, H.Y., Lu, Y.P. (2014). Ultrasonic induced rapid formation and crystal refinement of chemical converted hopeite coating on titanium. *J Phys Chem*, 118, 1910-1918. <https://doi.org/10.1021/jp408444j>



Antibacterial Properties Study of Synthetic Nanocomposite Zinc Chromite-Zinc Aluminate ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) Against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*

Ali Taheri¹, Morteza Ziaadini², Masumeh Gahramzai¹

¹ Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

² Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

doi 10.22059/jvr.2020.295926.3012

Received: 14 April 2021, Accepted: 22 June 2021

Abstract

BACKGROUND: Today, the fight against the bacteria causing foodborne diseases is of particular importance in the packaging of seafood. It is therefore vital to find new compounds with antibacterial properties.

OBJECTIVES: In the present study, antibacterial properties of synthetic nanocomposite zinc chromite-zinc aluminate ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) on *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were studied.

METHODS: After synthesis of nanocomposite, antibacterial activity of nanocomposite zinc chromite-zinc aluminate was evaluated via disk diffusion method, Minimum Inhibition Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) using the microdilution method.

RESULTS: The results of this study revealed a higher sensitivity reaction of *Pseudomonas aeruginosa* (18.6 ± 1.2 mm) compared to *E. coli* (12.7 ± 1.4 mm). No significant differences were observed between Gentamicin antibiotic and synthetic nanocomposite against *Pseudomonas aeruginosa* ($P < 0.05$). The minimum MIC and MBC concentrations were seen in *Pseudomonas aeruginosa* (1.66 mg/ml) and the maximum concentration of MIC belonged to *E. coli* (5 mg/ml).

CONCLUSIONS: In this study, the effects of nanoparticles on these gram-negative bacteria could be attributed to the small diameter of the ions, and hence the greater penetrability of these nanoparticles despite the wall's resistance. Based on the results, zinc chromite-zinc aluminate nanocomposite showed a better performance compared with gram-negative bacteria, specifically *Pseudomonas aeruginosa* resistant bacteria, and could be used for further studies in fisheries product packaging.

Keywords: Antibacterial, Nanocomposite, Zinc Chromite-Zinc Aluminate, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: taherienator@gmail.com Tel/Fax: 054-31272174/054-31272095

How to cite this article:

Taheri, A., Ziaadini, M., Gahramzai, M. (2021). Antibacterial Properties Study of Synthetic Nanocomposite Zinc Chromite-Zinc Aluminate ($ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$) Against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Vet Res, 76(3), 304-314. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.295926.3012>

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Reference data of XRD pattern of $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$ nanocomposites.

Table 2. Antibacterial property of zinc chromate-zinc aluminate nanocomposites against bacteria.

Table 3. MIC and MBC values of zinc chromate-zinc aluminate nanocomposites against bacteria (mg/ml).

Figure 1. XRD pattern of $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$ nanocomposite calcined at 700 °C.

Figure 2. The results of elemental analysis of EDX nanocomposite structure.

Figure 3. Scanning Electron Microscopy (FESEM) image of $ZnCr_2O_4-ZnAl_2O_4$ nanocomposites.