

Comparison of Antibacterial Effect of ZnO Nanoparticles in Apple Juice at 25 and 4 °C

مقایسه اثر ضد میکروبی نانوذره ZnO در آبمیوه سیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس

M. Mirhosseini¹, M. Kiany Harchegani²,
Sh. Kakai Dehkordi³,
F. Barzegary Firouzabadi^{4*}

1. Assistant professor of Microbiology, Biology Department, Payame Noor University, Iran, 2. MSc. Student of biochemistry, Biology Department, Payame Noor University, Iran, 3. MSc. Student of biochemistry, Biology Department, Payam-e-Noor University, Iran 4. MSc. Instructor, Biology Department, Payam-e-Noor University, Iran

(Received: Sep. 12, 2013; Accepted: Dec. 4, 2013)

محبوبه میر حسینی^۱، مولود کیانی هرچگانی^۲،
شیرین کاکایی دهکردی^۳، فاطمه برزگری فیروزآبادی^{۴*}
۱. استادیار و متخصص میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران، ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران، ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران، ۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۳)

Abstract

Nanoparticles (NPs) are increasingly recognized as their usage in biological applications including nanomedicine and food safety. Purpose of this study was Study on Comparison of antibacterial effect of ZnO nanoparticles in apple juice at 25 and 4 °C. The present study investigated the antibacterial activity of ZnO was tested against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in apple juice during storage at 25°C and 4°C. The bactericidal activity of the ZnO depended upon storage temperature, ZnO concentration, and microorganism type. ZnO was more effective at 25°C than at 4°C in studied apple juice. *Bacillus cereus* was more resistant to ZnO than *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. This study suggested that the application of ZnO NPs as antibacterial agents in food systems and medicine may be effective at inhibiting certain pathogens.

Keywords: Foods, Nanoparticles, Pathogens, Antibacterial agents, Zinc oxide.

چکیده

استفاده از نانوذرات در کاربردهای بیولوژیکی از جمله نانوپزشکی و ایمنی مواد غذایی بسیار شناخته شده است. هدف از انجام این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی نانوذره ZnO در آبمیوه سیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس است. در این مطالعه اثر سوسپانسیون اکسید روی در برابر رشد لیستریا منوسایتوتوزن، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب در ۲۵°C و ۴°C بررسی شده است. نتایج نشان داد فعالیت باکتریوسیدال نانوذره اکسید روی وابسته به درجه حرارت آزمایش، غلظت اکسید روی و نوع میکروارگانیسم است. اکسید روی در دمای ۲۵°C مؤثرتر از دمای ۴°C بود. باکتری باسیلوس سرئوس مقاومت بیشتری به اکسید روی در مقایسه با لیستریا منوسایتوتوزن، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس نشان داد. این مطالعه نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی به عنوان عوامل ضد باکتری در سیستم‌های غذا و دارو ممکن است در مهار پاتوژن‌های خاص مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوذره، اکسید روی، عوامل ضد میکروبی، غذا، پاتوژن مواد غذایی.

مقدمه

در دهه‌های اخیر نانو ذرات غیر آلی که ساختار ویژه از نظر فیزیکی، شیمیایی، خصوصیات زیستی و رفتاری دارند مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته‌اند (Baker, 2001). خصوصیات مفید نانو مواد، کاربرد آنها در انجام فرایندهای متنوع و حساس به ویژه در زیست‌شناسی و کاربردهای داروسازی را سبب شده است و منجر به جلب نظر زیست‌شناسان و داروسازان در جهت کاربرد نانو مواد در صنایع غذایی و دارویی شده است. گزارش‌هایی از اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی نانو مواد وجود دارد و حتی یکی از راههای مبارزه با ویروس ایدز استفاده از نانو مواد پیشنهاد شده است چرا که نانو مواد از جمله اکسید فلزات سنگین، تمایل بالایی به میانکنش با مولکول‌های زیستی دارند و سبب غیرفعال شدن آنها می‌گردند و در نهایت ویروس یا باکتری را از بین می‌برند (Bogunia-Kubik & Sugisaka, 2002; Burda *et al.*, 2005; Furno & Morley, 2006; Li *et al.*, 2005). مطالعات گذشته نشان می‌دهد که خصوصیات الکترومغناطیسی نوری و خصوصیات کاتالیزوری نانو کریستال‌ها تا حد زیادی به شکل، اندازه و نوع آنها بستگی دارد. بنابراین رفتار و خصوصیات متنوع در مورد نانو مواد توسط اندازه و شکل‌های متفاوت یک نوع نانو مواد مشاهده می‌شود. این اثرات زیستی متنوع توسط انواع متفاوت نانو مواد، منجر به ایجاد زمینه‌های تحقیقاتی متفاوت در سنتز انواع نانو مواد با اشکال و اندازه‌های متنوع برای ساخت نانو مواد با کارایی بالاتر بر باکتری‌ها و ویروس‌ها شده است. سنتز نانو ماده مؤثر بر باکتری با کارایی بالا می‌تواند برای ضدعفونی کردن و از بین بردن باکتری‌های محیطی و صنعتی مورد استفاده قرار گیرد (Baker, 2001; Burda *et al.*, 2005; Sondi & Salopek-Sondi, 2004; Stoimenov *et al.*, 2002).

مطالعات اخیر اثبات می‌کند که نانو مواد سولفیدی و اکسید فلزات دارای خواص آنتی‌باکتریایی بسیار خوبی هستند. عوامل آنتی‌باکتریایی که شامل این نانو مواد سولفیدی و اکسید فلزات می‌شوند، می‌توانند دارای خاصیت ضد میکروبی بسیار مؤثری باشند (Sondi & Salopek-Sondi, 2004; Stoimenov *et al.*, 2002; Sungkaworn *et al.*, 2007). در طول این مطالعه خواص آنتی‌باکتریایی ماده فلزی ZnO در برابر باکتری‌های لیستریا منوسایتوزنز (PTCC1163)، اشریشیاکلی (PTCC1394) استافیلوکوکوس آرتوس (PTCC1431) و باسیلوس سرئوس (PTCC1015) در آبیوم سبب در دو دمای متفاوت ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد محیط کشت و باکتری‌های مورد استفاده

سویه‌های باکتری مورد استفاده در این آزمایش شامل لیستریا منوسایتوزنز PTCC1163، اشریشیاکلی PTCC1394، استافیلوکوکوس آرتوس PTCC1431 و باسیلوس سرئوس PTCC1015 بود. باکتری‌های نامبرده از کلکسیون میکروبی ایران تهیه شد. محلول‌های استوک تا زمان مورد استفاده در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. باکتری‌ها در تریپتیک سوی آگار (TSA: Merck, Germany) در ۳۷ درجه سلسیوس فعال شدند و تا زمان استفاده در ۰ تا ۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. نانوذرات اکسید روی از TECONAN، اسپانیا (قطر ذرات ۲۰-۲۵ نانومتر) خریداری شد. درصد خلوص نانوذرات اکسید روی بیش از ۹۹٫۹۸٪ است. نانوذرات اکسید روی در آب دوبار تقطیر استریل حل شدند و برای این که آنها پراکنده شوند و محلول کلوئیدی یکسان را تشکیل دهند، سونیکه شدند. تمام آزمایش‌ها با استفاده یک محلول کلوئیدی تازه انجام گرفت.

تهیه و آماده سازی میوه و آبمیوه

میوه‌ها شسته شدند و به قطعات کوچک خرد شده و آب میوه با استفاده از دستگاه آبمیوه گیری (Model BP 4512, Vitoria, Spain) گرفته شد. آبمیوه‌های به دست آمده در دستگاه سانتریفوژ [Avanti™ J-25 Centrifuge (Iso lab germany) با دور (rpm) ۱۲۵۰۰ در دمای ۴°C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس آبمیوه‌ها صاف شده و داخل بطری ریخته شد و برای استریل کردن در دستگاه اتوکلاو (ایران تولید، ایران) در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند (Mirhosseini & Emtiazi, 2011).

تعیین pH

pH نمونه‌های آبمیوه سیب با استفاده از دستگاه pHسنج [Hanna Instruments pH210 (Vernon Hills USA)] اندازه‌گیری شد که حدود 3.2 ± 0.3 بود.

افزودن نانوذرات اکسید روی به آبمیوه ها

به ترتیب سوسپانسیون غلظت‌های ۵ میلی‌مولار و ۸ میلی‌مولار از نانو ذره اکسید روی به عنوان عوامل ضدباکتریایی به محیط‌های آبمیوه اضافه شد (Mirhosseini & Firouzabadi, 2013; Liu *et al.*, 2009). به آبمیوه‌های حاوی غلظت‌های ۵ و ۸ میلی‌مولار از نانو ذره اکسید روی به ترتیب با 10^6 cell/ml باکتری لیستریا منوسایتوژنز، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس تلقیح گردیدند. ارلن‌ها در ۲۵°C و ۴°C با دور ۵۰ در دقیقه در دستگاه شیکر قرار داده شدند. پس از تلقیح، تعداد باکتری‌ها به روش پلیت کانت آگار در هر ۴ h تا ۲۴ h تعیین گردیدند (Jin, 2009). برای گروه شاهد ارلن حاوی 10^6 cell/ml باکتری لیستریا منوسایتوژنز، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس

سرئوس بدون نانوذره اکسید روی مورد استفاده قرار گرفتند (Aronsson & Rinner, 2001).

آنالیزهای آماری

آزمایش‌های مختلف در سه تکرار انجام شدند و اثرات غلظت‌های متفاوت اکسید روی بر میزان رشد باکتری‌ها به وسیله ANOVA یک‌طرفه بررسی گردیدند. درصدهای بدست آمده در تست ANOVA برای تعیین اختلافات معنی‌دار بین میانگین‌های گروه‌ها مقایسه شدند. Hoc tests Post برای مقایسه‌های چندگانه با درجه اطمینان ۰.۹۵، استفاده گردید. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. $P \text{ values} < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

استفاده از سوسپانسیون اکسید روی در نگهداری مواد غذایی

دو غلظت (۵، ۸ میلی‌مولار) سوسپانسیون نانوذره اکسید روی به عنوان تیمار ضد میکروبی در نمونه‌های آبمیوه سیب مورد استفاده قرار گرفت.

شکل ۱ اثر سوسپانسیون نانوذره اکسید روی در برابر رشد لیستریا منوسایتوژنز، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب در طی ذخیره سازی ۲۴h در ۲۵°C را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد باسیلوس سرئوس، پس از ۲۴ ساعت، به تیمار نانوذره اکسید روی در ۲۵°C مقاوم بود.

همچنین سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث مهار یا کاهش استافیلوکوکوس آرتوس در آبمیوه سیب در ۲۵°C شود. طبق نتایج تعداد استافیلوکوکوس آرتوس، پس از ۲۴ ساعت، در نمونه آبمیوه سیب در ۲۵°C تحت تیمار با سوسپانسیون (۵، ۸ میلی‌مولار) نانوذره اکسید روی نسبت به شاهد به ترتیب به میزان 1.7،

با توجه به نتایج، سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث مهار یا کاهش اشربشیا کلی در آبمیوه سیب شود. نتایج نشان دادند تعداد اشربشیاکلی، پس از ۲۴ ساعت، در نمونه آبمیوه سیب در ۲۵°C تحت تیمار با (۵، ۸ میلی‌مولار) سوسپانسیون اکسید روی به ترتیب به میزان 1.38، 1.46 log CFU/ml نسبت به شاهد کاهش یافت.

شکل ۲ اثر سوسپانسیون نانوذره اکسید روی در برابر رشد لیستریا منوسایتوژنز، اشربشیاکلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب در طی ذخیره سازی ۲۴h در ۴°C را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد تعداد باسیلوس سرئوس در نمونه آبمیوه سیب تحت تیمار با ۵ میلی‌مولار سوسپانسیون نانوذره اکسید روی در ۴°C مقاوم بود ولی تیمار ۸ میلی‌مولار باعث 2 log CFU/ml کاهش در رشد باسیلوس سرئوس شد.

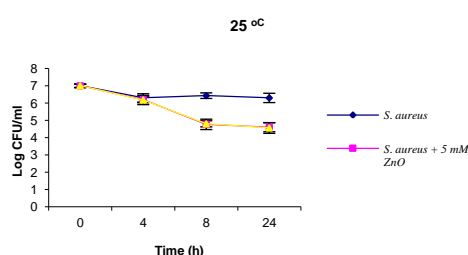
همچنین سوسپانسیون نانوذره اکسید روی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث مهار یا کاهش استافیلوکوکوس آرتوس در آبمیوه سیب تحت تیمار با (۵ میلی‌مولار) سوسپانسیون نانوذره اکسید روی در ۴°C مقاوم بود ولی تیمار ۸ میلی‌مولار باعث log 1.47 CFU/ml کاهش در رشد استافیلوکوکوس آرتوس شد.

همچنین لیستریا منوسایتوژنز در نمونه آبمیوه سیب تحت تیمار با (۵ میلی‌مولار) سوسپانسیون اکسید روی در ۴°C مقاوم بود ولی تیمار ۸ میلی‌مولار باعث کاهش 2.01 log CFU/ml در رشد لیستریا منوسایتوژنز شد.

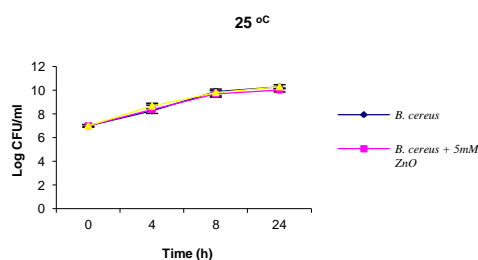
با توجه به نتایج سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی به طور قابل توجهی می‌تواند باعث مهار یا کاهش اشربشیا کلی در آبمیوه سیب شود. نتایج نشان داد تعداد اشربشیاکلی، پس از ۲۴ ساعت، در نمونه آبمیوه سیب در ۴°C تحت تیمار با (۵، ۸ میلی‌مولار) سوسپانسیون اکسید روی به ترتیب به میزان 2.87،

1.74 log CFU/ml کاهش داشت.

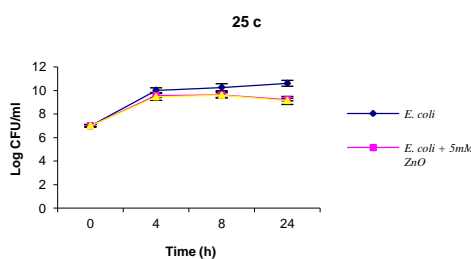
نتایج نشان دادند تعداد لیستریا منوسایتوژنز در نمونه آبمیوه سیب در (۲۵°C) تحت تیمار با (۵، ۸ میلی‌مولار) سوسپانسیون نانوذره اکسید روی به ترتیب به میزان 0.39, 0.69 log CFU/ml کاهش یافت.



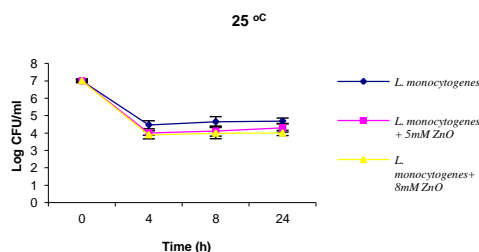
(الف)



(ب)



(ج)

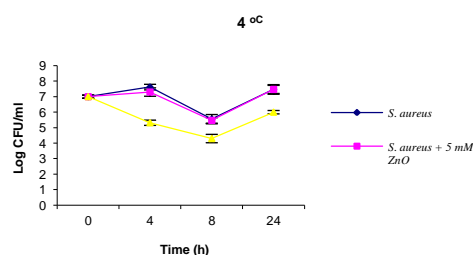


(د)

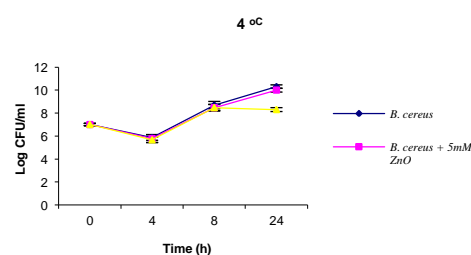
شکل ۱. اثر سوسپانسیون غلظت‌های مختلف (۵، ۸ میلی‌مولار) نانوذره اکسید روی در رشد (الف) استافیلوکوکوس آرتوس، (ب) باسیلوس سرئوس، (ج) اشربشیاکلی، (د) لیستریا منوسایتوژنز در آبمیوه سیب در ۲۵°C.

روی در کاهش تعداد رشد لیستریا منوسایتوژنز، اشیریشیاکلی استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب مؤثرند. فعالیت باکتریوسیدال نانوذره اکسید روی وابسته به درجه حرارت آزمایش، غلظت اکسید روی و نوع میکروارگانیسم است. نتایج نشان داد که باسیلوس سرئوس در میان باکتری‌های مورد آزمایش مقاومت بیشتری به اکسید روی نشان داد. در این تحقیق باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان دادند به علت اینکه باکتری‌های گرم منفی دارای یک دیواره خارجی اضافه هستند (Ameer *et al.*, 2012)، البته باکتری باسیلوس سرئوس با اینکه یک باکتری گرم مثبت است به علت اینکه اسپور دار است مقاومت بیشتری نسبت به بقیه باکتری‌ها نشان داد. دمای 25°C و غلظت ۵ میلی‌مولار برای کاهش باکتری‌ها مؤثر است. نتایج تقریباً مشابهی با غلظت ۸ میلی‌مولار در کاهش تعداد باکتری‌ها در این دما مشاهده شد ولی در درجه حرارت پایین‌تر غلظت بالاتری (۸ میلی‌مولار) از اکسید روی برای کاهش تعداد باکتری‌های مورد آزمایش لازم است. بنابراین دمای ذخیره‌سازی آبمیوه به طور ویژه در کاهش تعداد باکتری‌های مورد آزمایش در آبمیوه مؤثر است. یعنی غلظت بالاتری از نانوذره اکسید روی برای کاهش تعداد باکتری‌ها در دمای 4°C نسبت به دمای 25°C مورد نیاز است. سیالیت بیشتر غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها در دماهای بالا (20°C) می‌تواند باعث ورود بیشتر اکسید روی به داخل سلول شود (Aronsson & Rinner, 2001). رشد سلول‌ها در درجه حرارت متوسط دارای تأثیر قابل توجهی بر خواص سیالیت غشا است. در دماهای پایین، فسفولیپیدها نزدیک به هم هستند و به صورت ساختار ژل سفت و محکم بسته‌بندی شده‌اند، در حالی که در درجه حرارت بالا آنها نظم کمتری دارند و غشا دارای یک ساختار کریستالی مایع است

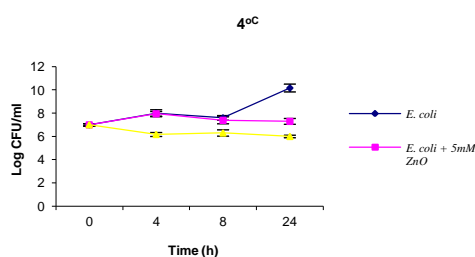
4.17 log CFU/ml نسبت به شاهد کاهش یافت.



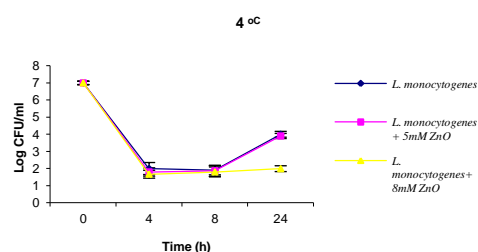
(الف)



(ب)



(ج)



(د)

شکل ۲. اثر سوسپانسیون غلظت‌های مختلف ۵، ۸ میلی‌مولار نانوذره اکسید روی در رشد (الف) استافیلوکوکوس آرتوس و (ب) باسیلوس سرئوس، (ج) اشیریشیاکلی، (د) لیستریا منوسایتوژنز در آبمیوه سیب در 4°C .

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر سوسپانسیون نانوذره اکسید روی در برابر رشد لیستریا منوسایتوژنز، اشیریشیاکلی استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سرئوس در آبمیوه سیب در طی ذخیره‌سازی. ۲۴h در 25°C و 4°C بررسی شدند. نتایج نشان می‌دهند نانوذره اکسید

می‌شوند، و در نتیجه باعث نشت محتویات داخل سلولی و در نهایت مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شوند (Huang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009). علاوه بر این، تولید پراکسید هیدروژن و یون Zn^{2+} به عنوان مکانیسم کلیدی اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است (Sawai, 2003).

حداکثر رژیم غذایی توصیه شده برای روی ۴۰ میلی‌گرم در روز برای بزرگسالان است (Li *et al.*, 2005) که معادل ۱۰۰ میلی‌لیتر مصرف روزانه آبمیوه است اگر ۰/۴ میلی‌گرم اکسید روی در هر میلی‌لیتر از مواد غذایی استفاده شده باشد.

بنابراین، تحقیقات بیشتری برای بررسی اثر اکسید روی در غلظت پایین تر برای غیرفعال کردن عوامل بیماری‌زا در مواد غذایی لازم است. مثلاً استفاده ترکیبی از ZnO با یکی از محافظ‌های غذایی، مانند نیسین، یا درجه حرارت و ... ممکن است یک رویکرد مؤثر در کاهش میزان نانوذره اکسید روی مورد استفاده در هر حجم از مواد غذایی باشد به طوری که که اثر نانوذره اکسید روی را در غیرفعال کردن میکروب‌ها حفظ شود یا حتی افزایش می‌دهد.

سپاسگزاری

این پروژه توسط دانشگاه پیام نور حمایت شده است. این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی با عنوان مقایسه اثر ضد میکروبی نانوذره ZnO در آبمیوه سیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس می‌باشد.

REFERENCES

Ameer Azam B, Arham S, Ahmed M, Oves MS, Adnan M (2012) Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and -negative bacterial strains. *Int. J. Nanomedicine*. 7: 3527-3535.

(Rosa *et al.*, 2009). در حال حاضر، گزارش‌های بسیار کمی مربوط به استفاده از نانوذرات در ایمنی مواد غذایی وجود دارد، برای مثال، اکسید روی کوانتومی به عنوان تیمار ضد میکروبی در نمونه سفیده تخم مرغ مایع استفاده شده است. نتایج نشان داده است با افزایش غلظت اکسید روی کوانتومی به طور قابل توجهی رشد لیستریا منوسایتوژنز و سالمونلا انتریدی‌س در سفیده تخم مرغ مایع کاهش یافته است (Jin, 2009). اثرات مهاری مشابه برای نانوذرات اکسید روی بر کاهش استافیلوکوکوس ارئوس و اشیریشیاکلی در نمونه‌های شیر مشاهده شده است (Mirhosseini & Firouzabadi., 2013). مکانیسم‌های دقیقی که به وسیله آن نانومواد رشد میکروبی را مهار می‌کنند کاملاً درک نشده است. تحقیق و پژوهش‌های متعدد مکانیسم‌های احتمالی واکنش و فعل و انفعال‌های نانو مواد با ماکرومولکول‌های زیستی را این طور پیشنهاد می‌کنند که: به طور کلی اعتقاد بر این است که نانو مواد یون‌هایی را آزاد می‌کنند که با گروه تیول (-SH) پروتئین‌های موجود بر سطح سلول باکتری‌ها واکنش می‌دهند. این قبیل پروتئین‌ها از غشاء سلولی باکتری به سمت بیرون برآمدگی داشته و موجب انتقال مواد غذایی از دیواره سلول می‌شوند. نانومواد این پروتئین‌ها را غیرفعال کرده، بنابراین نفوذپذیری غشاء را کاهش داده و سرانجام باعث مرگ سلولی می‌شود (Feng & Wu, 2000; Stoimenov *et al.*, 2002). همچنین نانوذرات اکسید روی باعث تخریب چربی و پروتئین غشای سلولی باکتری

Aronsson K, Rinner U (2001) Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields. *Innovative Food. Sci. Emerging Technol*, 2: 105-112.

- Baker JR (2001) The synthesis and testing of anti-cancer therapeutic nanodevices. *Biomed. Microdevices*, 3: 61–69.
- Bogunia-Kubik K, Sugisaka M (2002) From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 65: 123–138.
- Burda C, Chen X, Narayanan R, El-Sayed MA (2005) Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chem. Rev*, 105: 1025-1102.
- Feng QL, Wu J (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.
- Furno F, Morley KS (2006) "Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection?" *J. Antimicrob. Chemother*, 54(6): 1019-1024.
- Huang Z, Zheng X, Yan D, Yin G (2008) Toxicological effect of ZnO nanoparticles based on bacteria. *Langmuir*, 24: 4140-4144.
- Jin T, Sun D, Su JY, Zhang H, Sue HJ (2009) Antimicrobial efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7. *J. Food. Sci*, 74: 46-52.
- Li P, Li J, Wu C, Wu Q (2005) Synergistic antibacterial effects of lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnol*, 16: 1912–1917.
- Liu Y, He L, Mustapha A, Li H (2009) Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. *J. Appl. Microbiol*, 107: 1193-1201.
- Mirhosseini M, Emtiazi G (2011) Optimisation of Enterocin A Production on a Whey-Based Substrate. *World. Appl. Sci. J*, 14: 1493-1499.
- Mirhosseini M, Firouzabadi F (2013) Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticle suspensions on food-borne pathogens. *Inter. J. Dairy. Technol*, 66: 291-5.
- Rosa M. Raybaudi-Massilia, Jonathan Mosqueda-Melgar, Olga Martin-Belloso (2009) Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food. Control*, 20: 105–112
- Sawai J (2003) Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conduct metric assay. *J. Microbiol. Methods*, 54: 177–182.
- Sondi I, Salopek-Sondi B (2004) Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid. Interface. Sci*, 275: 177–182.
- Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin G L, Klabunde KJ (2002) Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18: 6679-6686.
- Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ (2002) Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18: 6679-6686.
- Sungkaworn T, Triampo W, Nalakarn P, Triampo D, Tang IM, Lenbury Y and *et al.* (2007) The effects of TiO2 nanoparticles on tumor cell colonies: fractal dimension and morphological properties. *Int. J. Biomed. Sci*, 2: 67-74.