

Synthesis of MgO Nanoparticles and Their Antibacterial Properties on Three Food Poisoning Causing Bacteria

Nadia Baniasadi, Ashraf Kariminik*^{id}, Sayed Mohamad Reza Khoshroo

Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

doi [10.30699/ijmm.13.5.379](https://doi.org/10.30699/ijmm.13.5.379)



ABSTRACT

Background: Application of nanoparticles in the removal of pathogenic bacteria is very important. The use of these materials can be appropriate for controlling pathogens and food-borne diseases. The purpose of this study was to synthesize magnesium oxide nanoparticles and investigate its antibacterial effect on several bacteria causing food poisoning.

Materials & Methods: Oxide magnesium nanoparticles are synthesized by chemical deposition method. In order to control the quality and morphology of samples, XRD and SEM methods were used. The effect of different concentrations of nanoparticles on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* and *Bacillus cereus* was evaluated by Agar well diffusion technique and the antibiotic resistance patterns of the bacteria used were also examined.

Results: MgO nanoparticles had an extensive antibiotic resistance but were effective on all bacteria and the minimum inhibitory concentration of growth on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* and *Bacillus cereus* was 0.75, 1.25, and 5 mg/mL and the minimum bactericidal concentration of them were determined to be 0.15, 2.5 and 10 mg/mL, respectively.

Conclusion: MgO nanoparticles exhibited remarkable antibacterial activity against food poisoning causing bacteria and can be used as an antibacterial agent more effectively.

Keywords: Magnesium oxide Nanoparticles, Food poisoning, Antibacterial properties. Preservative

Received: 2019/12/04;

Accepted: 2020/12/30;

Published Online: 2020/01/10

Corresponding Information:

Ashraf Kariminik, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran.

Email: a.kariminik@iauk.ac.ir



Copyright © 2019, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online



Baniasadi N, Kariminik A, Khoshroo S M R. Synthesis of MgO Nanoparticles and Their Antibacterial Properties on Three Food Poisoning Causing Bacteria. Iran J Med Microbiol. 2019; 13 (5) :379-390

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#)

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

Introduction

Today, drug resistance in many bacteria is significantly increased. Bacterial resistance to antibiotics is one of the biggest challenges that threatens human health in the modern age (1). Prevention of food spoilage and control of food poisoning pathogens are usually done with preservatives that have harmful effects on human health or increase the resistance of microbes to antimicrobial agents such as antibiotics (2,3). Nanoparticle technology is a new technology that is sweeping the whole world, and more precisely, nanotechnology is not part of the future, but it is the future. Nanotechnology is not a new discipline, but rather a new approach in all disciplines for

which they have listed applications in the various fields of food, medicine, medical diagnosis and industry (4). The nanoparticles are about 1 to 100 nm in diameter and have unique surface composition, size, shape, and chemical properties. The fine particle design can be used to target germs (5). These particles have been widely used as antimicrobial agents for the control and treatment of microbes and this may suggest the use of nanoparticles for antibiotic replacement (6). Nanoparticles have antibacterial properties due to their high surface-to-volume ratio and small size, penetrating microorganisms, as well as having photocatalytic,

catalytic and ionic effects, and are widely used in the fight against pathogenic microorganisms such as bacteria, fungi, and viruses (7,8). MgO nanoparticles of non-inorganic metal oxides have antibacterial properties and their important advantages are their non-toxicity and rapid, easy and low cost synthesis. The nanoparticle has been identified as a safe substance by the US Food and Drug Administration (21CFR184.1431) (9, 10). Bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica* play an important role in food poisoning (11). Enterotoxins of *B. cereus* cause diarrhea and nausea. It grows in foods such as rice, cereals, dairy and meat and by producing two types of enterotoxins, it causes food poisoning and remains in pasteurized milk due to the presence of spores as an opportunistic agent (12,13). In addition, *Salmonella* species, like *S. enterica*, are currently the most common cause of food poisoning (14). The aim of this study was to synthesize MgO nanoparticles and investigate their antibacterial effects against three food poisoning causing bacteria.

Materials and Methods

Synthesis and Characterization of MgO Nanoparticles

Chemical deposition method was used to prepare magnesium oxide nanoparticles (15,16). Therefore, 0.21 g magnesium nitrate and 2 mmol (0.44 g) sodium hydroxide was heated in a 100 mL human under stirring conditions at 60°C for 45 min. In another flask, 4 mmol (0.30 g) of sodium dodecyl sulfate surfactant as a stabilizing source in 10 mL methanol solvent was placed on a magnetic stirrer at 60°C for 30 min at a pH of 8 to 9. The magnesium oxide solution was then mixed with a surfactant solution in a 100 mL Erlenmeyer flask and incubated at 60°C for one hour. The resulting solution was first placed in an ultrasonic bath at 60 watts and then placed at 60°C to stabilize the particles. After deposition, the solution was discarded to remove the precipitate from the reaction solution. To remove impurities, the precipitate was washed several times with double distilled water and ethanol, and dried in a vacuum oven at 60°C for 24 hours. Quality control and morphology of magnesium oxide nanoparticles made by XRD (X-ray diffraction) and SEM (Scanning electron microscope) methods were used (15,16).

Antibacterial Effects of MgO Nanoparticles

Antibacterial effects of magnesium oxide nanoparticles against three food poisoning bacteria including *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica* isolated from food samples were done by Agar well diffusion method (17). Different concentrations of 5, 10, 20, 40, 2.5, 1.25, 0.62, 0.31 and 0.15 mg/mL of magnesium nano oxide made in dimethyl sulfoxide and methanol (v/v) solvents was prepared by doubling the dilution in each step (18). Each bacterium

was prepared from a standard suspension equivalent to a 0.5 McFarland's solution in sterile normal saline. The wells were embedded in a 4 mm diameter well in Muller Hinton agar medium and 20 µL of each nanoparticle concentration was poured into each well. This was done at concentrations of 5,10,20,40, 2.5, 1/25, 0.62, 0.31 and 0.15 mg / ml of magnesium nano oxide were performed separately with three replications. Plates were incubated at 4°C for one hour, and after absorbing the nano solution into the culture medium, they were incubated in the oven at 37°C for 24 h. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the synthesized nanoparticles against all three bacteria were determined. After incubation for 24 hours at 37°C, the diameter inhibition zone was measured in millimeters. It should be noted that solvent dimethyl sulfoxide and methanol were used as negative control. All the media and chemicals used were provided by Merck German Company (19).

Determination of Antibiotic Resistance Pattern of Bacteria

The purpose of the antibiogram was to determine the antibiotic resistance pattern of the bacteria used from wild strains isolated from food. For this purpose, disk diffusion method was used (20). A standard concentration of 0.5 standard McFarland was prepared from each bacterium. Antibiotics of cefalexin (30 mcg), amikacin (30 mcg), neurofloxacin (10 mcg), ciprofloxacin (5 mcg), gentamicin (10 mcg), ampicillin (20 mcg), sulfamethoxazole (10 mcg) and amoxicillin (25 mcg), made in Pars Tab Company, Iran. After incubation for 24 h at 37°C, the diameter of inhibition zone was measured in mm.

Results

Results of Quality of Synthesized MgO Nanoparticles

Identification and analysis of samples of MgO Nanoparticles made by XRD and SEM methods showed that these particles were spherical in shape with a diameter of about 64.23 nm and were well dispersed (Figure 1).

X-ray peaks also showed that the sample was highly purified in the crystalline phase. The X-ray pattern obtained from magnesium oxide microstructures shows that the structure in question is high purity without being amorphous with the JCPDS structural code. 01-1235 is formed (Figure 2).

The MgO nanoparticles synthesized against all three *S. aureus*, *B. cereus* and *S. enterica* were effective at low concentrations based on the results shown in Figure 3.

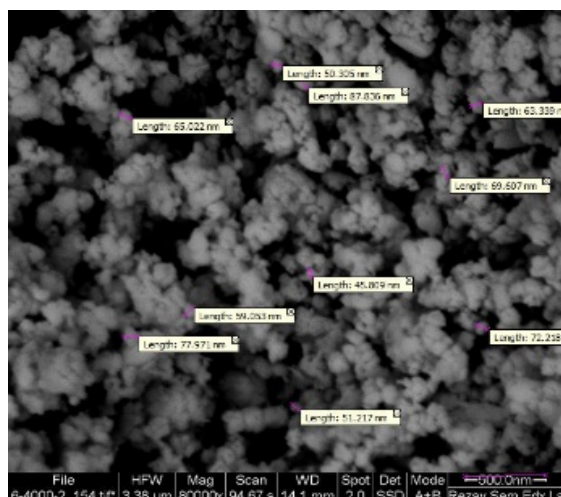


Figure 1. Observation of magnesium oxide nanoparticles made by scanning electron microscopy (SEM)

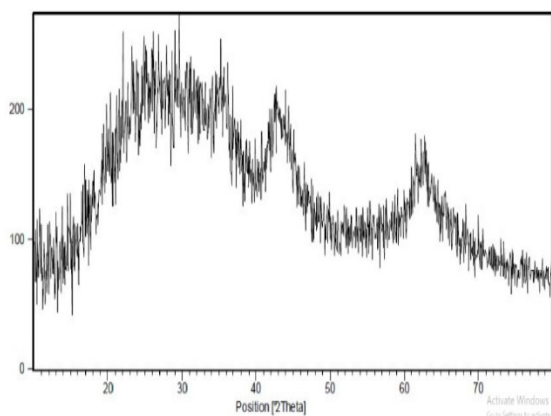


Figure 2. X-ray diffraction pattern of MgO nanoparticles

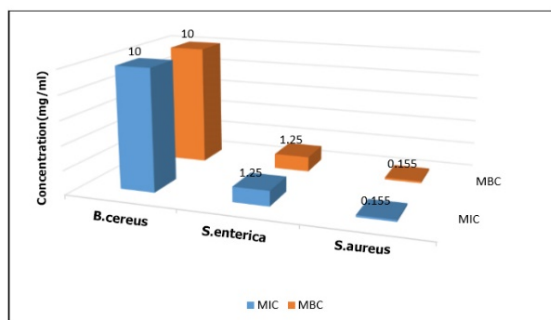


Figure 3. MIC and MBC of MgO nanoparticles against 3 bacteria

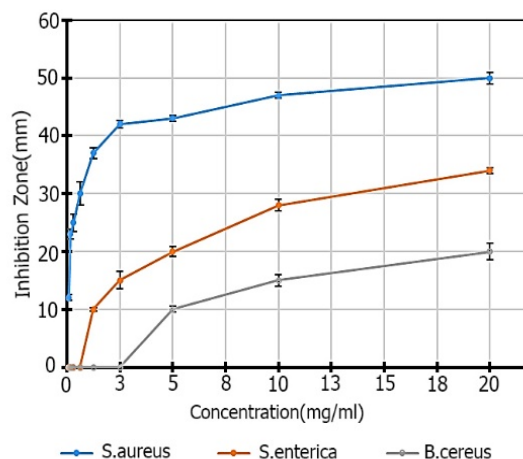


Figure 4. Comparison of the average diameter of inhibition zone (mm) based on the concentration of nanoparticles (mg/ml)

The inhibition zone diameter increases with increasing concentration of magnesium oxide nanoparticles. Table 1 shows the mean diameter of non-growth zone of magnesium oxide nanoparticles compared to the three bacteria. The results of analysis of variance of mean inhibition zone (mm) diameter based on concentration of nanoparticles (mg/mL) are shown in Table 2.

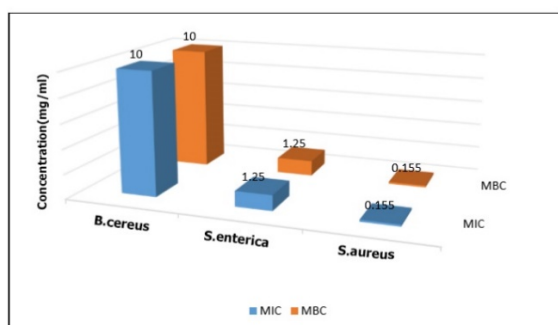
Table 1. Average inhibition zone diameter (mm) based on concentration of nanoparticles (mg/mL).

| Bacteria | Concentration | main | SD | SE |
|--------------------|---------------|-------|------|------|
| <i>S. aureus</i> | 20 | 50.00 | 1.41 | 1.00 |
| | 10 | 47.00 | .71 | .50 |
| | 5 | 43.00 | .71 | .50 |
| | 2.5 | 42.00 | .99 | .70 |
| | 1.25 | 37.00 | 1.27 | .90 |
| | 0.62 | 30.00 | 2.83 | 2.00 |
| | 0.31 | 25.00 | 2.12 | 1.50 |
| | 0.15 | 23.00 | 1.13 | .80 |
| <i>S. enterica</i> | 0.075 | 12.00 | .71 | .50 |
| | 20 | 34.00 | .71 | .50 |
| | 10 | 28.00 | 1.41 | 1.00 |
| | 5 | 20.00 | 1.13 | .80 |
| | 2.5 | 15.00 | 2.12 | 1.50 |
| | 1.25 | 10.00 | .42 | .30 |
| | 0.62 | .00 | .00 | .00 |
| | 0.31 | .00 | .00 | .00 |
| <i>B. cereus</i> | 0.15 | .00 | .00 | .00 |
| | 0.075 | .00 | .00 | .00 |
| | 20 | 20.00 | 2.12 | 1.50 |
| | 10 | 15.00 | 1.41 | 1.00 |
| | 5 | 10.00 | .71 | .50 |
| | 2.5 | .00 | .00 | .00 |
| | 1.25 | .00 | .00 | .00 |
| | 0.62 | .00 | .00 | .00 |

Table 2. Variance analysis of diameter average of inhibition zone (mm) based on nanoparticles concentration (mg/ mL)

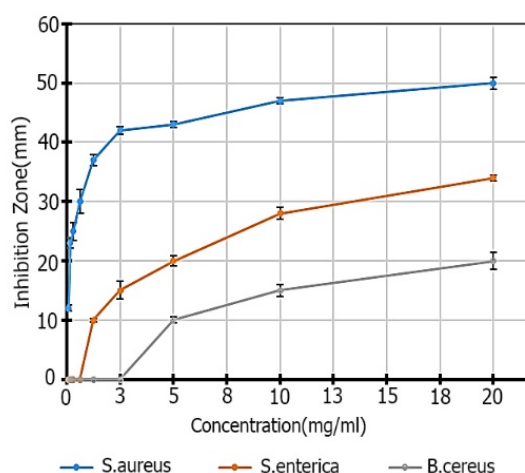
| Bacteria | Difference | SS | df | MS | F test | Sig. |
|--------------------|---------------|----------|----|---------|---------|------|
| <i>S. aureus</i> | Between group | 2560.000 | 8 | 320.000 | 144.869 | .000 |
| | Within group | 19.880 | 9 | 2.209 | | |
| | Total | 2579.880 | 17 | | | |
| <i>S. enterica</i> | Between group | 2785.778 | 8 | 348.222 | 370.449 | .000 |
| | Within group | 8.460 | 9 | .940 | | |
| | Total | 2794.238 | 17 | | | |
| <i>B. cereus</i> | Between group | 1000.000 | 8 | 125.000 | 160.714 | .000 |
| | Within group | 7.000 | 9 | .778 | | |
| | Total | 1007.000 | 17 | | | |

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *S. aureus*, *S. enterica* and *B. cereus* were 0.075, 1.25 and 5 mg/mL, respectively, and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Magnesium Oxide Nanoparticles were 0.15, 2.5 and 10 mg/mL respectively (Figures 3 and 4). Comparison of mean inhibition zone diameter based on Duncan's method at $\alpha=0.05$ showed that the concentrations used on average zone diameter were significantly different for *S. aureus* up to concentration 10 and for bacteria. Others are significant up to a concentration of 20 mg/ mL (Table 3).

**Figure 3.** MIC and MBC of MgO nanoparticles against three bacteria

Antibiogram Results

The results of the antibiotic effect on three bacterial strains isolated from the studied samples showed that *Staphylococcus aureus* was sensitive to only two antibiotics cefalexin and amikacin and to neurofloxacin, sephroploxacin, gentamicin, Sulfamethoxazole and amoxicillin were resistant. Resistance to cephalaxin, neurofloxacin and sulfamethoxazole was observed in *S. enterica* and resistance to cephalaxin, sulfamethoxazole, amoxicillin was observed in *Bacillus cereus*.

**Figure 4.** Comparison of the average diameter of inhibition zone (mm) based on the concentration of nanoparticles (mg / mL)**Table 3.** Comparison of mean diameter of inhibition zone (mm) based on concentration of nanoparticles (mg/ mL) by Duncan method at $\alpha = 0.05$.

| Concentration | <i>S. aureus</i> | <i>S. enterica</i> | <i>B. cereus</i> |
|---------------|------------------|--------------------|------------------|
| 20 | a | a | a |
| 10 | a | b | b |
| 5 | b | c | c |
| 2.5 | b | d | d |
| 1.25 | c | e | d |
| 0.62 | d | f | d |
| 0.31 | e | f | d |
| 0.15 | e | f | d |
| 0.075 | f | f | d |

Similar letters in each group did not differ significantly.

Discussion

The antimicrobial effect of the nanoparticles is due to their effect on the cell wall and the outer part of the bacterial cell and also because of its entry into the cell and its effect on the different internal parts of the bacterial cell. The nanoparticles initially absorb the negative charge on the outer surface of the bacterium due to the positive electron charge. This binding can both disrupt the bacterial electrolyte balance and can affect the respiratory cycle of the bacterial cells. In the latter case, the nanoparticles affect the proteins and DNA, the respiratory chain enzymes responsible for cell growth and disruption of replication, resulting in the formation of free radicals and reactive oxygen (21,22). Synthesis of nanoparticles with the potential to inhibit the growth of germs called nano-antibiotics is of great importance (23,24). The size of the nanoparticles is very effective in their antimicrobial activity and the smaller the size, the greater the antimicrobial effect is, plus the bacterial strain is effective in the sensitivity of the nanoparticles (25). In the present study, the antibacterial effects of

magnesium oxide nanoparticles were chemically evaluated against three food poisoning bacteria and all of them were resistant to some antibiotics but even on magnesium oxide nanoparticles. The concentrations were very low. Similar research has been done by other researchers on the effects of magnesium nanoparticles. The mechanism of antibacterial activity of magnesium oxide nanoparticles against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and *S. aureus*. The minimum inhibitory concentrations were 0.5 mg / mL for *E. coli* and 1 mg / mL for *P. aeruginosa* and *S. aureus*. They recognized that the sensitivity of the bacteria to the nanoparticles was not only related to the cell wall structure but also to the lipid peroxidation and production of reactive oxygen species (26). Other researchers examined the antibacterial effect of magnesium oxide nanoparticles, with an average size of 20 nm, on a number of bacteria, including *E. coli*, *Salmonella* and *Campylobacter*. Minimum inhibitory concentrations for *E. coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* were 1, 2 and 0.5 mg/mL, respectively. At 2 mg/mL concentration *Campylobacter* was completely inhibited for 2 h and at 2 to 4 mg/mL growth of *E. coli* and *Salmonella* stopped for 6-8 h (27). In another study, the magnesium oxide nanoparticles and the natural antimicrobial substance polyelelisine had antimicrobial effects on two foodborne bacteria, *E. coli* 0157: H7 (35218 ATCC) and *Listeria monocytogenes* (ATCC 19118), and their use had a synergistic effect. It also reduced the minimum concentration of the two compounds (28). A study by Ansari Moghaddam *et al.*, aimed to determine the cytotoxicity of magnesium oxide nanoparticles on 562 K leukemia K cells, showing that different concentrations of Mgo nanoparticles had no effect on normal and even carcinogen cells. An increase in the concentration of nanoparticles is not correlated with an increase in its effect on the cell lines studied. Therefore, magnesium oxide nanoparticles have no cytotoxic effect on human cells and have specific effects on microbial cells (29). The findings of the present study and other researchers indicated that magnesium oxide metal

nanoparticles have very effective antibacterial properties and there is a direct relationship between the concentration of nanoparticles and the bacterial elimination rate and the antibacterial effect is a bactericidal effect. Magnesium oxide nanoparticles have no growth inhibitory (bacteriostatic) effects, and the nanoparticle solution appears to be diffused as microscopic particles and can easily penetrate into bacterial cells. In general, nanoparticles can also be one of the important pollutants in the toxicity of different parts of the body due to their physical and chemical properties as well as the positive properties seen in in vitro conditions. Assessing the type of exposure and identifying hazardous properties for nanoparticles requires consideration of safety and knowledge of the effects of these substances on humans and the environment, thorough understanding of the substances and their toxicological effects. Nanoparticles, like a double-edged sword, have beneficial and harmful effects. Although nanotechnology has revolutionized and expanded widely in many fields, however, reducing toxicity and the dangers of exposure to nanoparticles should be one of the main goals of this field.

Conclusion

Due to the antimicrobial effect that magnesium oxide nanoparticles have on food-borne bacteria, it can be considered as a good candidate for controlling microbial contamination of food in food antimicrobial packaging.

Acknowledgement

Hereby we express our gratitude to our colleagues at the Microbiology Research Laboratory, Islamic Azad University, Kerman Branch.

Conflict of Interest

Authors declared no conflict of interests.



سنتر نانوذرات اکسید منیزیم و بررسی خواص ضد باکتریایی آن بر باکتری های عامل مسمومیت غذایی

نادیا بنی اسدی، اشرف کریمی نیک*^{ID}، سید محمد رضا خوشرو

گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، کرمان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: کاربرد نانو ذرات در حذف باکتری های بیماری زا، از اهمیت خاصی برخوردار است. استفاده از این مواد می تواند برای کنترل باکتری های ناشی از غذا نیز، انتخاب مناسبی باشد. هدف از پژوهش حاضر، سنتر نانو ذرات اکسید منیزیم و بررسی اثر ضد باکتریایی آن بر چند باکتری عامل مسمومیت غذایی بوده است.

مواد و روش کار: نانو ذرات اکسید منیزیم به روش رسوب گیری شیمیایی، سنتز شد. جهت کیفیت و ریخت شناسی نمونه ها از روش های XRD و SEM استفاده شد. تأثیر غلظت های مختلف نانو ذرات حاصله بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا انتریکا* و *باسیلوس سرئوس* به روش انتشار چاهک انجام گرفت و همچنین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های استفاده شده، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: باکتری ها دارای مقاومت آنتی بیوتیکی گسترده ای بوده ولیکن نانو ذرات بر هر سه باکتری موثر بوده و حداقل غلظت ممانعت از رشد نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا انتریکا* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب ۰/۰۷۵، ۱/۲۵ و ۵ و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب ۰/۱۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر، تعیین شد.

نتیجه گیری: نانو ذرات اکسید منیزیم، اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی را نسبت به باکتری های عامل مسمومیت غذایی نشان داده که می تواند به عنوان یک عامل ضد باکتریایی به طور موثر مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژه ها: نانو ذرات اکسید منیزیم، مسمومیت غذایی، خواص ضدباکتریایی، نگه دارنده

کپی رایت © مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۶

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۷

انتشار آنلاین: ۱۳۹۸/۱۱/۲۲

موضوع:

نانوتکنولوژی پزشکی

نویسنده مسئول:

اشرف کریمی نیک، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، کرمان، ایران
ایمیل: a.kariminik@iauk.ac.ir

مقدمه

ذرات با قطری حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر بوده و دارای ترکیب، اندازه، شکل و خصوصیت های شیمیایی سطحی منحصر به فرد می باشند. طراحی ریز ذره می تواند در هدف قرار دادن میکروب ها کاربرد داشته باشد (۵). این ذرات به عنوان عوامل ضد میکروبی به طور گسترده ای جهت کنترل و درمان میکروب ها، مورد استفاده قرار گرفته و این مهم می تواند پیشنهاد دهنده کاربرد نانو ذرات برای جایگزینی آنتی بیوتیک ها باشد (۶). نانو ذرات به طور معمول دارای درصد بیشتری از اتم ها در سطح خود هستند که باعث افزایش واکنش های سطحی می شود. نانوذرات به علت دارا بودن ویژگی هایی چون بالا بودن نسبت سطح به حجم و کوچک بودن ابعاد، با نفوذ به میکروارگانیسم ها ویژگی ضد باکتری داشته، همچنین با داشتن اثرات فتوکاتالستی، کاتالیستی و یونی، کاربرد گسترده ای در مبارزه با میکروارگانیسم های بیماری زا بی از قبیل باکتری ها، قارچ ها، و

امروزه مقاومت دارویی در بسیاری از باکتری ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است. مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها یکی از بزرگ ترین چالش هایی است که سلامت انسان عصر مدرن را تهدید می کند (۱). پیشگیری از فاسد شدن مواد غذایی و کنترل پاتوژن های عامل مسمومیت غذایی معمولاً با استفاده از مواد نگهدارنده ای که اثرات زیانباری بر سلامتی انسان گذاشته و یا موجبات افزایش روند مقاومت میکروب ها به عوامل ضد میکروبی از قبیل آنتی بیوتیک ها، می شوند، انجام می گیرد (۲-۳). فناوری نانو ذره ها، فناوری جدیدی است که تمام دنیا را فرا گرفته است و به تعبیر دقیق تر فناوری ریز بخشی از آینده نیست بلکه همه آینده است. فناوری ریز یک رشته جدید نیست، بلکه رویکردی جدید در تمام رشته هاست که برای آن کاربردهایی را در حوزه های مختلف غذا، دارو، تشخیص پزشکی، صنعت و غیره بر شمرده اند (۴). نانو

۲۴ ساعت در آن خلأ خشک شد (۱۶-۱۵). برای کنترل کیفیت و ریخت شناسی نمونه نانو ذرات اکسید منیزیم ساخته شده از روش‌های (X-ray diffraction) XRD و (Scanning electron microscope) SEM استفاده شد.

بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم

اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم بر علیه سه باکتری عامل مسمومیت غذایی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا انتریکا* جدا شده از نمونه‌های غذایی به روش انتشار چاهک صورت پذیرفت (۱۷). غلظت‌های متفاوت ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲، ۰/۳۱، ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر از نانو اکسید منیزیم ساخته شده در حلال دی‌متیل سولفوکسید و متانول (با حجم برابر) به روش دو برابر کردن رقت در هر مرحله تهیه شد (۱۸). از هر باکتری سوسپانسیون استاندارد معادل با کدورتی برابر با محلول نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. این کدورت دارای جذب نوری برابر با یک و طبق استاندارد نیم مک فارلند شمارش باکتری در آن $10^8 \times 1/5$ CFU/mL است. هر باکتری بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (کمپانی مرک، آلمان) به روش یکنواخت کشت داده شد. چاهک‌هایی به قطر ۴ میلی متر در محیط کشت مولر هینتون آگار تعبیه نموده و میزان ۲۰ میکرو لیتر از هر غلظت نانوذره در هر چاهک ریخته شد. این عمل در مورد غلظت‌های ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲، ۰/۳۱ و ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر از نانو اکسید منیزیم به طور جداگانه با سه تکرار انجام شد. پلیت‌ها بمدت یک ساعت در دما 40°C (یخچال) قرار داده شده و پس از جذب محلول نانو به محیط کشت، در گرمخانه با دمای 37°C ، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نانوذرات سنتز شده بر علیه هر سه باکتری مورد بررسی تعیین شد. پس از آنکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C ، قطر هاله عدم رشد ایجاد شده بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که از حلال دی‌متیل سولفوکساید و متانول به عنوان کنترل منفی استفاده شد. کلیه محیط‌های کشت و مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شد (۱۹).

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها

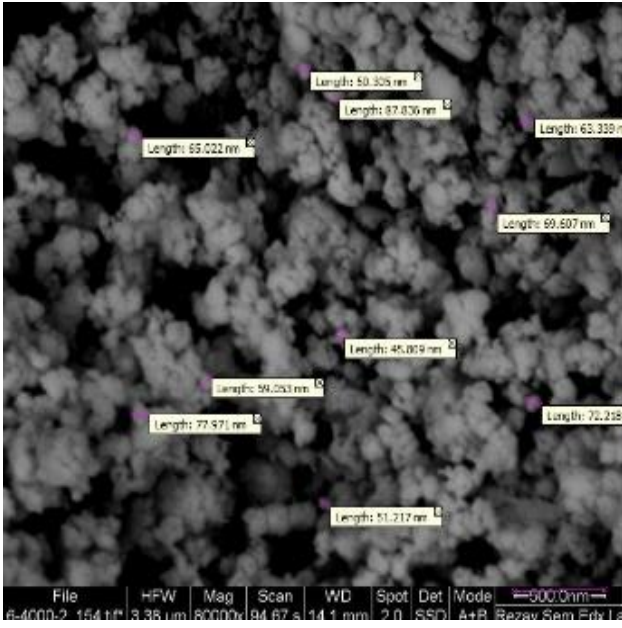
هدف از آنتی‌بیوگرام تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مورد استفاده که از سویه‌های وحشی جدا شده از مواد غذایی بود. بدین منظور از روش انتشار دیسک استفاده شد (۲۰). مشابه فوق غلظت استاندارد معادل نیم مک فارلند از هر باکتری تهیه و کشت انجام شد. از آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین (۳۰ mcg)، آمیکاسین (۳۰ mcg)، نورفلوکساسین (۱۰ mcg)، سیپروفلوکساسین

ویروس‌ها دارند (۸-۷). نانوذرات اکسید منیزیم از اکسیدهای فلزی غیر معدنی، دارای ویژگی ضد باکتریایی هستند و از مزایای مهم آن می‌توان به غیر سمی بودن و سنتز سریع، آسان و کم هزینه آن، اشاره نمود. این ریزدره به‌عنوان ماده بی‌خطر توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحد آمریکا (CFR184.143121) شناخته شده است (۹-۱۰). باکتری‌هایی نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا انتریکا*، نقش بسیار مهمی در مسمومیت‌های غذایی ایفا می‌کنند. *استافیلوکوکوس اورئوس* یکی از باکتری‌های بیماری زای غذایی مهم منطقه است که در گوشت، شیر و فرآورده‌های آنها انتروتوکسین تولید می‌کند (۱۱). انتروتوکسین‌های باکتری *باسیلوس سرئوس* عامل ایجاد اسهال و تهوع هستند. این باکتری در مواد غذایی مانند برنج، غلات، لبنیات و گوشت رشد کرده و با تولید دو نوع انتروتوکسین موجب مسمومیت غذایی می‌شود و به دلیل دارا بودن اسپور به عنوان عامل پایدار و فرصت طلب در شیر پاستوریزه باقی می‌ماند (۱۲-۱۳). همچنین در حال حاضر گونه‌های سالمونلا همانند *سالمونلا انتریکا* عامل رایج‌ترین نوع مسمومیت غذایی هستند (۱۴). لذا این مطالعه با هدف سنتز نانوذره اکسید منیزیم و بررسی اثرات ضدباکتریایی آن علیه سه باکتری عامل مسمومیت غذایی صورت پذیرفته است.

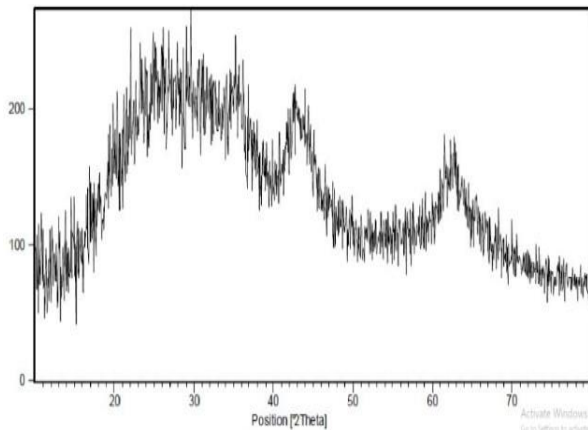
مواد و روش‌ها

ساخت و شناسایی نانو ذرات اکسید منیزیم

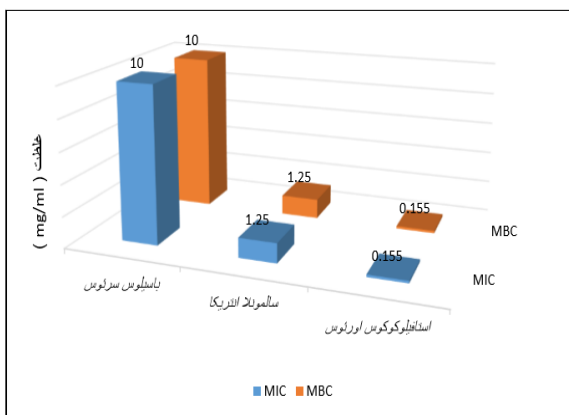
برای تهیه نانوذرات اکسید منیزیم از روش رسوب گیری شیمیایی استفاده شد (۱۶-۱۵). لذا مقدار ۰/۲۱ گرم نیترات منیزیم ۲، میلی مول (۰/۴۴ گرم) هیدروکسید سدیم در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری تحت شرایط همزن در دمای 60°C به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد. در بشر دیگری میزان ۴ میلی مول (۰/۳۰ گرم) سورفاکتانت سدیم دو دسیل سولفات بعنوان منبع پایدار کننده در ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول تحت دمای 60°C بمدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شدند در این شرایط pH محلول بین ۸ تا ۹ تنظیم شد. سپس محلول ذرات اکسید منیزیم در یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتر با محلول سورفاکتانت مخلوط نموده و بمدت یک ساعت در دمای 60°C روی همزن قرار داده شد. محلول حاصل ابتدا در دستگاه آلتراسونیک حمامی در توان ۶۰ وات قرار داده شد و سپس محلول حاصل در دمای 60°C به منظور تثبیت ذرات قرار داده شد. پس از ته‌نشین شدن رسوب، محلول روی آن دور ریخته شد تا رسوب از محلول واکنش جدا شود. به منظور حذف ناخالصی‌ها، رسوب چندین مرتبه با آب دوبار تقطیر و اتانول شستشو و در دمای 60°C بمدت



شکل ۱. مشاهده نانو ذرات اکسید منیزیم ساخته شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



شکل ۲. الگوی پراش اشعه ایکس ساختار نانوذرات اکسید منیزیم.



شکل ۳. حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات اکسید منیزیم نسبت به سه باکتری

(۵ mcg) ، جنتامایسین (۱۰ mcg) ، آمپی سیلین (۲۰ mcg) ، سولفامتاکسازول (۱۰ mcg) ، آموکسی سیلین (۲۵ mcg) از شرکت پارس طب ، ایران تهیه شد. پس از گرمخانه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای دمای ۳۷°C ، قطر هاله عدم رشد ایجاد شده بر حسب میلی متر اندازه گیری شد.

یافته‌ها

نتایج کیفیت ساخت نانوذرات اکسید منیزیم

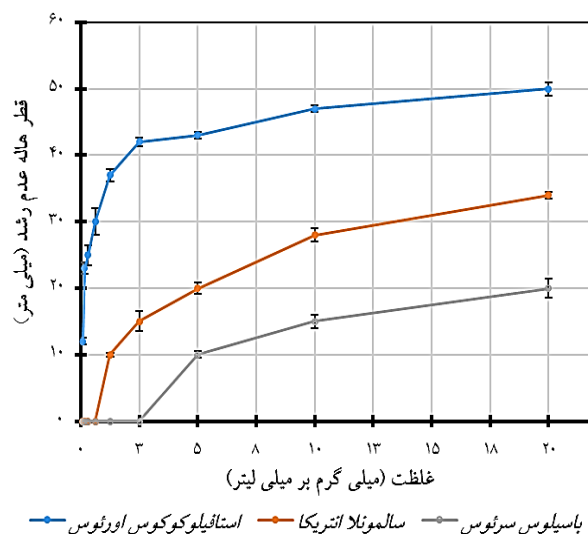
شناسایی و آنالیز نمونه نانوذرات اکسید منیزیم ساخته شده بر اساس روش‌های XRD و SEM نشان داد که این ذرات به شکل کروی با قطری حدود ۶۴/۲۳ نانومتر بوده و به خوبی پراکنده شده‌اند (شکل ۱). همچنین بررسی پیک‌های اشعه ایکس نشان داد که نمونه با خلوص بسیار بالایی در فاز کریستالی سنتز شده است. الگوی اشعه ایکس به دست آمده از ریزساختارهای اکسید منیزیم نشان می‌دهد که ساختار مد نظر با خلوص بالایی و بدون آمورف شدن با کد ساختاری JCPDS. 01-1235 تشکیل شده است (شکل ۲).

نتایج خواص ضد باکتریایی نانوذرات اکسید منیزیم

نانوذرات اکسید منیزیم سنتز شده بر علیه هر سه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا انتریکا* بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل ۳، در غلظت‌های کم، موثر واقع شدند. قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت نانوذرات اکسید منیزیم رو به افزایش است. در جدول ۱، میانگین قطر هاله عدم رشد نانوذره اکسید منیزیم نسبت به سه باکتری و در جدول ۲، نتایج تجزیه واریانس میانگین قطر عدم هاله رشد (میلی متر) بر اساس غلظت نانو ذره (میلی گرم بر میلی لیتر) نشان داده شده است. حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) بر باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا انتریکا* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب ۰/۰۷۵، ۱/۲۵ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نانو ذرات اکسید منیزیم به ترتیب ۰/۱۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد (شکل ۳ و ۴). مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد بر اساس غلظت نانو ذره به روش دانکن در سطح $\alpha=0.05$ نشان می‌دهد که غلظت‌های به کار رفته بر روی میانگین قطر هاله تفاوت معنی داری داشته در خصوص باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تا غلظت ۱۰ و در مورد باکتری‌های دیگر تا غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر معنادار است.

جدول ۱. میانگین قطر عدم هاله رشد (میلی متر) بر اساس غلظت ریز ذره (میلی گرم بر میلی لیتر)

| خطای استاندارد | انحراف استاندارد | میانگین | غلظت نانو ذره | باکتری |
|----------------|------------------|---------|---------------|----------------------|
| ۱/۰۰ | ۱/۴۱ | ۵۰ | ۲۰ | استافیلوکوکوس اورئوس |
| ۰/۵۰ | ۰/۷۱ | ۴۷ | ۱۰ | |
| ۰/۵۰ | ۰/۷۱ | ۴۳ | ۵ | |
| ۰/۷۰ | ۰/۹۹ | ۴۲ | ۲/۵ | |
| ۰/۹۰ | ۱/۲۷ | ۳۷ | ۱/۲۵ | |
| ۲/۰۰ | ۲/۸۳ | ۳۰ | ۰/۶۲ | |
| ۱/۵۰ | ۲/۱۲ | ۲۵ | ۰/۳۱ | |
| ۰/۸۰ | ۱/۱۳ | ۲۳ | ۰/۱۵ | |
| ۰/۵۰ | ۰/۷۱ | ۱۲ | ۰/۰۷۵ | |
| ۱/۰۰ | ۱/۴۱ | ۲۸ | ۱۰ | سالمونلا انتریکا |
| ۰/۸۰ | ۱/۱۳ | ۲۰ | ۵ | |
| ۱/۵۰ | ۲/۱۲ | ۱۵ | ۲/۵ | |
| ۰/۳۰ | ۰/۴۲ | ۱۰ | ۰/۶۲ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۶۲ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۳۱ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۱۵ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۰۷۵ | |
| ۱/۵۰ | ۲/۱۲ | ۲۰ | ۲۰ | باسیلوس سرئوس |
| ۱/۰۰ | ۱/۴۱ | ۱۵ | ۱۰ | |
| ۰/۵۰ | ۰/۷۱ | ۱۰/۰۰ | ۵ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۲/۵ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۶۲ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۶۲ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۳۱ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۱۵ | |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۰۷۵ | |



شکل ۴. مقایسه میانگین قطر عدم هاله رشد (میلی متر) بر اساس غلظت نانوذره (میلی گرم بر میلی لیتر).

نتایج آنتی بیوگرام

نتایج حاصل از اثر آنتی بیوتیک ها بر سه باکتری سوبیه های وحشی جدا شده از نمونه های غذایی مورد بررسی نشان داد که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تنها به دو آنتی بیوتیک سفالکسین و آمیکاسین حساس بود و نسبت به آنتی بیوتیک های نوروفلوکسازین، سپروفلوکسازین، جنتامایسین، آمپی سیلین، سولفامتاکسازول و آموکسی سیلین مقاوم بود. مقاومت به سفالکسین، نوروفلوکسازین و سولفامتاکسازول در باکتری سالمونلا انتریکا و مقاومت به سفالکسین، سولفامتاکسازول، آموکسی سیلین در مورد باکتری باسیلوس سرئوس مشاهده شد.

جدول ۲. تجزیه واریانس میانگین قطر عدم هاله رشد (میلی متر) بر اساس غلظت نانو ذره (میلی گرم بر میلی لیتر)

| سطح معنی داری | آزمون F | میانگین مربعات | درجه آزادی | مجموع مربعات | اختلاف | باکتری |
|---------------|----------|----------------|------------|--------------|--------------|----------------------|
| ۰/۰۰۰ | ۱۴۴۴/۸۶۹ | ۳۲۰/۰۰۰ | ۸ | ۲۵۶۰/۰۰۰ | بین گروه ها | استافیلوکوکوس اورئوس |
| | | ۲/۲۰۹ | ۹ | ۱۹/۸۸۰ | درون گروه ها | |
| | | | ۱۷ | ۲۵۷۹/۸۸۰ | کل | |
| ۰/۰۰۰ | ۳۷۰/۴۴۹ | ۳۴۸/۲۲۲ | ۸ | ۲۷۸۵/۷۷۸ | بین گروه ها | سالمونلا انتریکا |
| | | ۰/۹۴۰ | ۹ | ۸/۴۶۰ | درون گروه ها | |
| | | | ۱۷ | ۲۷۹۴/۲۳۸ | کل | |
| ۰/۰۰۰ | ۱۶۰/۷۱۴ | ۱۲۵/۰۰۰ | ۸ | ۱۰۰۰/۰۰۰ | بین گروه ها | باسیلوس سرئوس |
| | | ۰/۷۷۸ | ۹ | ۷/۰۰۰ | درون گروه ها | |
| | | | ۱۷ | ۱۰۰۷/۰۰۰ | کل | |

جدول ۳. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) بر اساس غلظت ریز ذره (میلی گرم بر میلی لیتر) به روش دانکن در سطح $\alpha=0.05$.

| غلظت | استافیلوکوکوس اورئوس | سالمونلا انتریکا | باسیلوس سرئوس |
|-------|----------------------|------------------|---------------|
| ۲۰ | a | a | a |
| ۱۰ | a | b | b |
| ۵ | b | c | c |
| ۲/۵ | b | d | d |
| ۱/۲۵ | c | e | d |
| ۰/۶۲ | d | f | d |
| ۰/۳۱ | e | f | d |
| ۰/۱۵ | e | f | d |
| ۰/۰۷۵ | f | f | d |

حروف مشابه در هر گروه با هم تفاوت معنی دار ندارند.

بحث

اثر ضد میکروبی نانو ذرات، از یک سو به واسطه تأثیر روی دیواره سلولی و بخش خارجی سلول باکتری و از سوی دیگر به خاطر ورود به سلول و تأثیر روی بخش های درونی مختلف سلول باکتری است. بر اساس تحقیقات انجام شده و گزارش شده در مقالات، نانو ذرات در حالت اول به علت بار الکترونی مثبت جذب بار منفی سطح خارجی سلول باکتری می شوند. این اتصال سبب برهم زدن تعادل الکترولیتی باکتری شده می تواند روی چرخه تنفسی سلول های باکتری تأثیر بگذارد. در حالت دوم نانو ذرات روی پروتئین ها و DNA، آنزیم های زنجیره تنفسی و مسئول رشد سلول، اثر گذاشته و همانندسازی و رونویسی را مختل نموده و سبب تشکیل رادیکال های آزاد و اکسیژن فعال می گردند (۲۱-۲۲). سنتز نانو ذرات با ابعاد نانومتری با پتانسیل مهار رشد میکروب ها با عنوان نانو آنتی بیوتیک، از اهمیت بسزایی برخوردار است (۲۳-۲۴). اندازه نانو ذرات در اثر ضد میکروبی آنها بسیار تأثیر گذار است و هر چه این اندازه کوچکتر باشد، اثر ضد میکروبی بیشتری از خود نشان می دهد به علاوه نوع باکتری نیز در حساسیت به نانو ذرات مؤثر است (۲۵). در پژوهش حاضر اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید منیزیوم ساخته شده به روش شیمیایی بر علیه سه باکتری عامل مسمومیت غذایی بررسی شد و هر سه باکتری علی رغم این که به برخی از آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان دادند ولیکن نسبت به نانو ذرات اکسید منیزیوم حتی در غلظت های بسیار کم حساس بودند. تحقیقات مشابهی نیز در خصوص اثرات نانو ذرات منیزیوم توسط سایر محققین صورت پذیرفته است. در پژوهشی مکانیسم فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید منیزیوم بر علیه باکتری های گرم منفی / شرشیا کلی و

سودوموناس آئروژینوزا و باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس تعیین شد. حداقل غلظت مهار رشد روی / شرشیا کلی ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر و روی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس ۱ میلی گرم در میلی لیتر بود. آن ها اذعان داشتند که حساسیت باکتری ها به نانو ذرات فقط به ساختار دیواره سلولی مربوط نمی شود بلکه ممکن است به پر اکسیداسیون چربی و تولید گونه های فعال اکسیژن نیز مربوط باشد (۲۶). محققین دیگری تأثیر ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید منیزیوم با میانگین اندازه ۲۰ نانومتر بر تعدادی از باکتری ها از جمله / شرشیا کلی، سالمونلا و کمپیلوباکتر را مورد بررسی قرار دادند. حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای / شرشیا کلی، سالمونلا و کمپیلوباکتر به ترتیب ۱، ۲ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر کمپیلوباکتر در مدت ۲ ساعت به طور کامل مهار شد و در غلظت ۲ تا ۴ میلی گرم بر میلی لیتر رشد / شرشیا کلی و سالمونلا طی ۸-۶ ساعت متوقف شدند (۲۷). در مطالعه ای دیگر، نانو ذرات اکسید منیزیوم و ماده ضد میکروبی طبیعی پلی ال ایزین اثر ضد میکروبی بر روی دو باکتری غذایی / شرشیا کلی (ATCC 0157:H7) و لیستریا مونوسییتوزنز (ATCC ۱۹۱۱۸) تأثیر داشتند و استفاده توأم آن ها اثر هم افزایی جزئی داشته و همچنین باعث کاهش حداقل غلظت مهار کنندگی ترکیبی دو ماده شد (۲۸). در پژوهشی که توسط انصاری مقدم و همکاران با هدف تعیین سمیت سلولی نانو ذره اکسید منیزیوم بر روی سلول های K سرطانی خون رده K ۵۶۲ صورت گرفت مشخص شد که غلظت های مختلف نانو اکسید منیزیوم بر روی سلول های سرطانی و طبیعی هیچ گونه تأثیری ندارد و حتی افزایش غلظت نانو ذره هم ارتباطی بر افزایش تأثیر آن بر رده های سلولی مورد مطالعه ندارد. بنابراین نانو ذره اکسید منیزیوم دارای خاصیت سیتوتوکسیک بر سلول های انسانی نبوده و دارای اثرات اختصاصی بر سلول های میکروبی می باشد (۲۹). بررسی یافته های تحقیق حاضر و سایر محققین بیانگر آن است که نانو ذرات فلزی اکسید منیزیوم دارای خواص آنتی باکتریال بسیار موثری هستند و بین غلظت نانو ذرات و درصد حذف باکتری ارتباط مستقیم وجود دارد و اثر ضد باکتریایی بصورت اثرات کشندگی (باکتریسیدال) است و صرفاً نانو ذرات اکسید منیزیوم دارای اثرات مهار رشد (باکتریواستاتیک) نمی باشند و به نظر می رسد محلول نانو ذرات به صورت ذرات میکروسکوپی منتشر شده و به راحتی می تواند به داخل سلول های باکتری نفوذ کنند. به طور کلی نانو ذرات به دلیل ویژگی های فیزیکی و شیمیایی در کنار ویژگی های مثبتی که در شرایط برون تنی دیده می شود، می توانند یکی از آلاینده های مهم

کاندیدای مناسبی برای کنترل آلودگی های میکروبی مواد غذایی در بسته بندی های ضد میکروبی مواد غذایی در نظر گرفته شود.

سیاسگزاری

از همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی و حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، سیاسگزاری می گردد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض منافع گزارش نشده است.

در ایجاد سمیت بر عضوهای مختلف بدن، نیز باشند، ارزیابی نوع مواجهه و شناسایی ویژگی های خطر برای نانو ذرات، نیازمند در نظر گرفتن ایمنی و آگاهی در رابطه با اثرات این مواد بر انسان و محیط زیست، شناخت کامل مواد و اثرات سم شناسی آنهاست. نانو ذرات، همانند یک شمشیر دولبه دارای اثرات مفید و مضر هستند. گرچه فناوری نانو باعث انقلاب و تحول گسترده ای در بسیاری از زمینه ها شده است؛ با این حال کاهش سمیت و خطرات مواجهه با نانو ذرات بایستی از اهداف اصلی این حوزه محسوب شود (۳۰-۳۱).

نتیجه گیری

با توجه به اثر ضد میکروبی که نانوذرات اکسید منیزیم بر علیه باکتری ها با منشا غذا از خود نشان داده است، می تواند به عنوان

Referance

- Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*. 2015;40(4):277.
- Russell NJ, Gould GW. *Food preservatives*: Springer Science & Business Media; 2003. [DOI:10.1007/978-0-387-30042-9]
- Udompijitkul P, Paredes Sabja D, Sarker MR. Inhibitory effects of nisin against *Clostridium perfringens* food poisoning and nonfood borne isolates. *J Food Sci*. 2012;77(1):M51-M6. [DOI:10.1111/j.1750-3841.2011.02475.x] [PMID]
- Kagan CR. At the nexus of food security and safety: opportunities for nanoscience and nanotechnology. ACS Publications; 2016. [DOI:10.1021/acsnano.6b01483] [PMID]
- Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, de Aberasturi DJ, de Larramendi IR, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol*. 2012;30(10):499-511. [DOI:10.1016/j.tibtech.2012.06.004] [PMID]
- Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:1227. [DOI:10.2147/IJN.S121956] [PMID] [PMCID]
- Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology*. 2004;2(1):3. [DOI:10.1186/1477-3155-2-3] [PMID] [PMCID]
- Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*. 2006;311(5761):622-7. [DOI:10.1126/science.1114397] [PMID]
- Krishnamoorthy K, Moon JY, Hyun HB, Cho SK, Kim S-J. Mechanistic investigation on the toxicity of MgO nanoparticles toward cancer cells. *J. Mater. Chem.* 2012;22(47):24610-7. [DOI:10.1039/c2jm35087d]
- Jin T, He Y. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *J Nanopart Res*. 2011;13(12):6877-85. [DOI:10.1007/s11051-011-0595-5]
- Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(4): 815-836. [DOI:10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x] [PMID]
- Tewari A, Abdullah S. *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. *J. food sci. technol*. 2015;52(5):2500-11. [DOI:10.1007/s13197-014-1344-4] [PMID] [PMCID]
- Eneroth Å, Svensson B, Molin G, Christiansson A. Contamination of pasteurized milk by *Bacillus cereus* in the filling machine. *J Dairy Res*. 2001;68(2):189-96. [DOI:10.1017/S002202990100485X] [PMID]
- Kunwar R, Singh H, Mangla V, Hiremath R. Outbreak investigation: *Salmonella* food poisoning. *Med J Armed Forces India*. 2013;69(4):388-91. [DOI:10.1016/j.mjafi.2013.01.005] [PMID] [PMCID]
- Cushing BL, Kolesnichenko VL, O'Connor CJ. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem. Rev*. 2004;104(9):3893-9. [DOI:10.1021/cr030027b] [PMID]
- Cui H, Feng Y, Ren W, Zeng T, Lv H, Pan Y. Strategies of large scale synthesis of monodisperse nanoparticles. *Recent Pat Nanotechnol*. 2009;3(1):32-41. [DOI:10.2174/187221009787003302] [PMID]
- Valgas C, Souza SMD, Smânia EF, Smânia Jr A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz J Microbiol*. 2007;38(2):369-80. [DOI:10.1590/S1517-83822007000200034]
- Nazoori ES, Kariminik A. In Vitro Evaluation of Antibacterial Properties of Zinc Oxide Nanoparticles on

- Pathogenic Prokaryotes. *J Appl Biotechnol Rep.* 2018;5(4):162-5. [DOI:10.29252/JABR.05.04.05]
19. Saha B, Bhattacharya J, Mukherjee A, Ghosh A, Santra C, Dasgupta AK, et al. In vitro structural and functional evaluation of gold nanoparticles conjugated antibiotics. *Nanoscale Res. Lett.* 2007;2(12):614. [DOI:10.1007/s11671-007-9104-2] [PMCID]
 20. Bonev B, Hooper J, Parisot J. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008;61(6):1295-301. [DOI:10.1093/jac/dkn090] [PMID]
 21. Li WR, Xie XB, Shi QS, Zeng HY, You-Sheng OY, Chen YB. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. microbiol. biotechnol.* 2010 ; 85 (4) : 1115-22. [DOI:10.1007/s00253-009-2159-5] [PMID]
 22. Panyala NR, Peña-Méndez EM, Havel J. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health? *J Appl Biomed.* 2008 Sep 1;6(3). [DOI:10.32725/jab.2008.015]
 23. Hoseynzadeh A, Khaleghi M, Sasan H. Investigating the Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles Synthesized by Bacteria Isolated From Agricultural Soils of Kerman, Iran. *Iran J Med Microbiol.* 2017 Nov 10;11(5):136-48..
 24. Dizaj SM, Lotfipour F, Barzegar-Jalali M, Zarrintan MH, Adibkia K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C.* 2014; 1;44:278-84 [DOI:10.1016/j.msec.2014.08.031] [PMID]
 25. Martinez-Castanon G, Nino-Martinez N, Martinez-Gutierrez F, Martinez-Mendoza J, Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *J Nanopart Res.* 2008;10(8):1343-8. [DOI:10.1007/s11051-008-9428-6]
 26. Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. *J Nanopart Res .* 2012;14(9):1063. [DOI:10.1007/s11051-012-1063-6]
 27. Xie Y, He Y, Irwin PL, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011;77(7):2325-31. [DOI:10.1128/AEM.02149-10] [PMID] [PMCID]
 28. Samadi M, Shekarforoush SS, Ghaisari HR. Antimicrobial effects of magnesium oxide nanoparticles and ϵ -poly-L-lysine against *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Iranian Journal of Medical Microbiology.* 2016 Jul 15;10(2):33-41.
 29. Ansari Moghaddam S, Rahmani F, Delirezh N. Investigating the effects of Magnesium Oxide Nanoparticle Toxicity on K562 Blood Type Cancer Cells. *Armaghane danesh.* 2017 Dec 15;22(5):584-94.
 30. Choi J, Wang NS. Nanoparticles in biomedical applications and their safety concerns. *Biomedical engineering from theory to applications.* 2011; 29:486. [DOI:10.5772/18452]
 31. Jain A, Ranjan S, Dasgupta N, Ramalingam C. Nanomaterials in food and agriculture: an overview on their safety concerns and regulatory issues. *Crit Rev Food Sci.* 2018; 58(2):297-317. [DOI:10.1080/10408398.2016.1160363] [PMID]