

## Research Paper

# Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using Bunium Persicum Plant Extract



Maryam Bakhti<sup>1</sup>, Fahimeh Baghbani-Arani<sup>1</sup>, Parisa Shishesaz<sup>1</sup>, \*Masoumeh Mahdavi-Ourtakand<sup>2</sup>

1. Department of Genetics and Biotechnology, School of Biological Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.  
2. Department of Biology, School of Biological Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.



**Citation** Bakhti M, Baghbani-Arani F, Shishesaz P, Mahdavi-Ourtakand M. [Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using Bunium Persicum Extract (Persain)]. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2022; 16(5):366-377. <https://doi.org/10.32598/qums.16.5.2600.1>

 <https://doi.org/10.32598/qums.16.5.2600.1>



Received: 16 Mar 2022

Accepted: 25 Jun 2022

Available Online: 01 Aug 2022

### Keywords:

Antimicrobial agents,  
Zinc oxide, Nanoparticles,  
Green synthesis

## ABSTRACT

**Background and Objectives** Zinc oxide nanoparticles as a new generation of antimicrobial substances, are of interest in medicine and food industry. This study aims to investigate the antimicrobial effect of zinc oxide nanoparticles synthesized by using Bunium persicum plant extract.

**Methods** In this study, the biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by Bunium persicum extract was performed by zinc acetate precursor. The structure and morphology of the synthesized nanoparticles were characterized by field emission scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, and Zetasizer. Then, the antimicrobial effects of synthesized nanoparticles against some gram-positive and gram-negative bacteria were assessed by the disk diffusion and broth microdilution methods.

**Results** The synthesized zinc oxide nanoparticles had spherical to polygonal shapes with an average size of 100 nm. The minimum inhibitory concentration of nanoparticles against the study bacteria was in range of 3.125 to 25 µg/mL.

**Conclusion** The extract of Bunium persicum plant can be a good candidate for the green synthesis of zinc oxide nanoparticles with significant antibacterial effects.

### \* Corresponding Author:

Masoumeh Mahdavi-Ourtakand, PhD.

Address: Department of Biology, School of Biological Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Tel: +98 (912) 4286312

E-Mail: m.mahdavi@iauvaramin.ac.ir

## Extended Abstract

### Introduction

One of the most promising methods to overcome bacterial resistance is the use of metal nanoparticles. Due to small size and high surface-area-to-volume ratio, these nanoparticles have a high level of contact with the environment and microorganisms, which can lead to an increase in their biological and chemical activity. This makes the antimicrobial effects of metal nanoparticles much higher compared to the metals. Zinc oxide nanoparticles are non-toxic, biocompatible and stable to the processing conditions. These nanoparticles have been reported to have selective toxicity on bacteria, but have shown minimal side effects on human and animal cells. Studies have also shown the antimicrobial activity of these nanoparticles against food-borne pathogens. The green synthesis process using plant extracts as a simple method has been proposed as an alternative to chemical and physical methods. It is cost-effective and environmentally friendly, with the possibility of easy production with large scale.

*Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch from the family of Apiaceae, is one of the most valuable native medicinal plants in Iran. There are various compounds in the extract of this plant, including cumin aldehyde, gamma terpinene, and other active substances such as terpenes, and have many applications as antibacterial and antioxidant substances. This study aims to synthesize zinc oxide nanoparticles for the first time by *Bunium persicum* extract to investigate the antimicrobial effect of synthesized nanoparticles on a number of pathogenic gram-positive and gram-negative bacteria.

### Methods

The extract of *Bunium persicum* was prepared from the fruits of the plant, and the biosynthesis of zinc oxide nanoparticles was performed by this extract using zinc acetate precursor. The structure and morphology of the synthesized nanoparticles were evaluated by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD) and Zetasizer. Then, the antimicrobial effect of synthesized nanoparticles was investigated against a number of bacteria by disk diffusion and broth microdilution methods. The studied bacterial strains were *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6536), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25923), and *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028).

In disk diffusion method, 100  $\mu$ l of each bacterium with a concentration of 0.5 McFarland was cultured on Mueller-Hinton agar medium. For each bacterium, a plate containing a disk impregnated with 6  $\mu$ l of the synthesized zinc oxide nanoparticle suspension was used. After 24 hours of incubation, the diameter of the growth inhibition zone was measured and recorded as an indicator of antibacterial properties of the samples. All experiments were performed three times and the results were recorded. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the synthesized zinc oxide nanoparticles was evaluated by 96-well polystyrene microtiter plates with Mueller-Hinton broth. For broth microdilution, 100  $\mu$ l of 0.78-1600 mg/mL dilutions from synthesized zinc oxide nanoparticle suspension was prepared by the serial dilution method and added to a 96-well microplate. Then, 100  $\mu$ l of tested bacteria was added into each well to obtain a final concentration of  $\times 510^5$  CFU/mL. The final volume of all wells was 200  $\mu$ l. The microplates were placed on a shaker (At a speed of 250 rpm) for 1 minute until the mixture was completely uniform. After 24 hours of incubation at 37°C, the lowest concentration in which no bacterial growth was observed and there was no turbidity, was determined as the MIC.

### Results

A gradual change in the reaction solution's color to yellow was the first step in confirming the synthesis of zinc oxide nanoparticles. The nanoparticles became milky powder after synthesis. The surface properties and the size of zinc oxide nanoparticles were studied with an FE-SEM microscope equipped with an X-ray energy detector. Nanoparticles were spherical to polygonal. The amount of zinc in the synthesized nanoparticles was 83.1% and oxygen was 16.9%, indicating that the synthesized nanoparticles were pure and there was no impurity in other components. A Zetasizer was used to measure the diameter of nanoparticles. The results showed that the average size of nanoparticles was 100 nm. The XRD analysis results showed that the nanoparticles had a single-phase crystal structure, and no peak related to impurity was observed. Analysis of the nanoparticle structure using FTIR method confirmed that the synthesized nanoparticles had strong bonding ability. The results of disk diffusion method showed that *S. aureus* with the largest diameter of growth inhibition zone (30 mm) was the most sensitive bacterium against zinc oxide nanoparticles, while *P. aeruginosa* with the lowest diameter (15 mm) was the most resistant bacterium against synthesized nanoparticles. The MIC of nanoparticles for the study bacteria was in a range of 3.125 to 25  $\mu$ g/mL, and nanoparticles had effective antimicrobial effect on all bacteria. *E. coli*, *S. typhimurium* and *P. aeruginosa* were more resistant to zinc oxide nanoparticles than other studied bacteria.

## Discussion

In this study, a simple and acceptable method for green synthesis of zinc oxide nanoparticles was performed using *Bunium persicum* extract as a reducing agent. The results showed the efficiency of *Bunium persicum* extract in the synthesis of zinc oxide nanoparticles. The synthesized nanoparticles had good shape and size, and antibacterial effects on the studied bacteria. One of the most important mechanisms for their antimicrobial effect is the induction of oxidative stress due to the production of reactive oxygen radicals, the reaction of these reactive oxygen radicals with DNA, proteins, and lipids, and thereby cell death. Zinc oxide nanoparticles could destroy the membrane arrangement due to their accumulation in the bacterial membrane and inside the cell and the release of Zn ions which bind to the membrane of microorganisms and cause an antimicrobial effect. In conclusion, *Bunium persicum* extract, due to containing large amounts of antioxidants such as phenolic compounds, can be considered as a suitable candidate for the green synthesis of zinc oxide nanoparticles.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This study obtained its ethical approval from the Ethics Committee of [Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch](#) (Code: IR.IAU.VARAMIN.REC.1399.023).

### Funding

This article was taken from the master's thesis of Ms. Maryam Bakhti, which was done at the [Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch](#).

### Authors contributions

Conceptualization: Masoumeh Mahdavi-Ourtakand; Methodology: Maryam Bakhti, Parisa Shishesa; Investigation: Masoumeh Mahdavi-Ourtakand, Fahimeh Baghbani-Arani; Writing–Original Draft: Maryam Bakhti, Parisa Shishesaz; Writing–Review & Editing: Masoumeh Mahdavi-Ourtakand; Funding Acquisition: Maryam Bakhti, Parisa Shishesaz; Resources: Masoumeh Mahdavi-Ourtakand; Supervision: Masoumeh Mahdavi-Ourtakand.

### Conflicts of interest

There is no conflict of interest between researchers in this research.

## مقاله پژوهشی

## بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره گیاه زیره کرمانی

مریم بختی<sup>۱</sup>، فهیمه باغبانی آرانی<sup>۱</sup>، پریسا شیشه‌ساز<sup>۱</sup>، معصومه مهدوی اورتاکند<sup>۲</sup>

۱. گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.  
 ۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

Use your device to scan  
and read the article online

**Citation** Bakhti M, Baghbani-Arani F, Sheshesaz P, Mahdavi-Ourtakand M. [Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using Bunium persicum Extract (Persain)]. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2022; 16(5):???. <https://doi.org/10.32598/qums.16.5.2600.1>

**doi** <https://doi.org/10.32598/qums.16.5.2600.1>

## چکیده

تاریخ دریافت: ۲۵ اسفند ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۴ تیر ۱۴۰۱

تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۱

**زمینه و هدف:** نانوذرات اکسیدروی به‌عنوان نسل جدیدی از مواد ضد میکروبی در پزشکی و صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط عصاره گیاه زیره کرمانی انجام شده است.

**روش بررسی:** در این پژوهش، بیوسنتز نانوذرات اکسیدروی توسط عصاره گیاه زیره کرمانی و با استفاده از پیش‌ماده استات‌روی دو آبه و سود انجام گرفت. ساختار و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده توسط تحلیل‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف‌سنجی مادون قرمز، تبدیل فوریه، پراش اشعه ایکس و ژتاسایزر ارزیابی شد. سپس اثر ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده به روش دیسک دیفیوژن و میکروداپلوشن برات، علیه تعدادی باکتری گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج تحلیل‌های انجام شده نشان داد که نانوذرات اکسیدروی به‌شکل چندوجهی تا گرد و با اندازه میانگین ۱۰۰ نانومتر سنتز شده‌اند. MIC نانوذرات اکسیدروی علیه باکتری‌های مورد مطالعه بین ۳/۱۲۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به اینکه سنتز سبز یک روش کارآمد، ساده و سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذرات است، عصاره گیاه بومی زیره کرمانی می‌تواند گزینه مناسبی جهت سنتز نانوذرات اکسیدروی باشد. یافته‌ها نشان داد نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی هستند.

## کلیدواژه‌ها:

عوامل ضد میکروبی،  
نانوذرات، اکسیدروی،  
سنتز سبز

## \* نویسنده مسئول:

دکتر معصومه مهدوی اورتاکند

نشانی: ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۴۲۸۶۳۱۲ (۹۱۲) +۹۸

رایانامه: m.mahdavi@iauvaramin.ac.ir

## مقدمه

سازگار توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است [۱]. از طرفی استفاده از گیاهان بومی ایران برای سنتز نانوذرات به دلیل سازگاری آن‌ها با شرایط اکولوژیک کشور حائز اهمیت است. گیاه زیره کرمانی با نام علمی (بونیوم پرسیکوم<sup>۱</sup>) از تیره چتریان، یکی از مهم‌ترین و ارزشمندترین گیاهان دارویی بومی ایران است که به صورت وحشی در مناطقی از ایران با آب‌وهوای خشک، مانند استان‌های کرمان، فارس، اصفهان و یزد می‌روید. ترکیبات مختلف در عصاره این گیاه وجود دارند شامل کومین آلدهید، گاما ترپینن، پاراسایمن و مواد مؤثره دیگری است که اغلب از ترکیبات ترپنی هستند و کاربردهای فراوانی به عنوان مواد آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدان دارند [۹، ۱۰]. هدف از این مطالعه، سنتز نانوذرات اکسید روی برای اولین بار توسط عصاره گیاه زیره کرمانی و بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده علیه تعدادی از باکتری گرم مثبت و گرم منفی شایع بیماری‌زا (سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی موریوم، انتروکوکوس فکالیس، اشرشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا بود).

## روش بررسی

سنتز نانوذره اکسیدروی با استفاده از عصاره زیره کرمانی، ابتدا میوه گیاه زیره کرمانی در خرداد ماه سال ۱۳۹۹ از استان کرمان جمع‌آوری شد و نمونه‌ها توسط متخصص سیستماتیک گیاهی تأیید شد. سپس میوه‌های جمع‌آوری شده، در شرایط سایه و دمای محیط خشک شدند تا از هیدرولیز ترکیبات موجود در بذرها جلوگیری شود. جهت سنتز نانوذره اکسیدروی، ۲۰ گرم از میوه گیاه زیره کرمانی با آب شست‌وشو داده شد. سپس توسط هاون خرد و با ۲۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه جوشانده شد. محلول حاوی عصاره را جدا کرده و اجازه داده شد تا رسیدن به دمای اتاق خنک شود. سپس محلول را از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده تا فاقد هرگونه ذرات معلق باشد. سپس ۰/۲۲ گرم از استات روی دوآبه  $(Zn(CH_3COO)_2 \cdot (H_2O)_2)$  را در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل نموده و استات روی دوآبه ۰/۰۲ مولار به دست آمده را به مدت ۳۰ دقیقه روی هم‌زن مغناطیسی هم زده شد.

۱ میلی لیتر عصاره گیاهی (بدون ذرات جامد معلق) به این محلول اضافه کرده و به مدت ۲ ساعت دیگر هم زده شد. سپس قطره‌قطره سود ۰/۰۲ مولار را به محلول اضافه شد؛ تاجایی که PH محلول حاصل به ۱۲ برسد، ادامه یافت. رنگ مخلوط واکنش پس از ۱ ساعت از زمان انکوباسیون تغییر کرد. هم زدن این مخلوط ۳ ساعت دیگر ادامه یافت. مشاهده رنگ زرد پس از زمان انکوباسیون، سنتز نانوذرات ZnO را تأیید کرد. نانوذرات

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی برای درمان عفونت سبب مقاومت باکتری‌ها در برابر آن‌ها شده است. به همین دلیل، نیاز به یافتن داروهای جدید برای مقابله با بیماری‌ها ضروری است. داروهای شیمیایی علاوه بر اثرات درمانی محدود و کوتاه‌مدت غالباً با عوارض جانبی فراوانی همراه هستند. میکروارگانیسم‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی به دلیل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، مشکلات فراوانی برای بیماران و بخش درمان ایجاد کرده است [۱]. یکی از راهکارهای امیدوارکننده برای غلبه بر مقاومت‌های باکتریایی، استفاده از نانوذرات فلزی است. این نانوذرات به دلیل اندازه کوچک و در نتیجه بالا بودن نسبت سطح به حجم، سطح تماس بالایی با محیط و میکروارگانیسم‌ها پیدا می‌کند. این مسئله می‌تواند به افزایش فعالیت بیولوژیک و شیمیایی آن‌ها منجر شود. همین امر موجب می‌شود که اثرات ضد میکروبی نانوذرات فلزی در مقایسه با خود فلزات بسیار بالاتر باشد [۲].

نانوذرات اکسیدروی یک ترکیب غیرسمی، زیست سازگار و پایدار نسبت به شرایط پردازش است. گزارشات حاکی از آن است که این ذرات، سمیت انتخابی بر باکتری‌ها دارند اما حداقل اثرات جانبی را بر سلول‌های انسانی و حیوانی نشان داده‌اند. این ذرات در صنعت دارویی به عنوان حامل دارویی، در بخش ترمیم دندان جهت تولید ترکیبات پرکننده با جلای بالا و نیز در محصولات آرایشی و بهداشتی به کار برده می‌شوند. همچنین مطالعات نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی این ذرات در مقابل پاتوژن‌های مربوط به مواد غذایی هستند [۳، ۴].

پیشرفت تکنولوژی به توسعه روش‌های دوست‌دار محیط‌زیست یا فرایندهای سبز در تولید محصولات منجر شده است. این مورد به‌ویژه در علوم نانو تکنولوژی به وضوح قابل مشاهده است. از منابع زیستی بسیاری از جمله باکتری‌ها، جلبک‌ها، قارچ‌ها، گیاهان و محصولات آن‌ها می‌توانند در سنتز نانوذرات استفاده شوند. سنتز نانوذرات به وسیله مواد گیاهی از طریق احیای سریع یون‌های فلزی انجام می‌شود. احیای یون‌های فلزی توسط عصاره‌های گیاهی، سریع‌تر از هر سیستم زیستی دیگر صورت می‌گیرد و نانوذرات، فاقد ترکیبات مضر هستند [۵].

سنتز سبز با استفاده از عصاره گیاهان به عنوان روش بسیار ساده و دوست‌دار محیط‌زیست به عنوان یک جایگزین برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی آسان و مناسب از مزایای سنتز به روش‌های زیستی مطرح شده است. می‌توان به هزینه کمتر و اقتصادی بودن، سازگاری با محیط‌زیست و امکان تولید آسان در مقیاس بالا اشاره کرد [۶، ۷]. در این روش‌ها نیازی به استفاده از دما و فشار بالا نیست و همچنین نیازی به کشت سلول و مراحل از این قبیل نیست. به همین دلیل استفاده از عصاره گیاهان به عنوان منابع پایدار در دسترس جهت تهیه نانوذرات فلزی زیست

1. *Bunium persicum* Boiss  
 2. *Apiaceae*



### روش دیسک دیفیوژن

در این روش از هر باکتری با غلظت نیم مک‌فارلند، ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. برای هر باکتری، پلیت حاوی یک دیسک آغشته به ۶ میکرولیتر از سوسپانسیون نانوذرات اکسیدروی سنتز شده استفاده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد به عنوان شاخص خاصیت ضدباکتریایی نمونه‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. تمام آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام و نتایج ثبت شد.

### روش میکرو دیلوژن برات

برای این منظور، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۰/۷۸ تا ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات سنتز شده به روش سریال دیلوژن تهیه و به یک ردیف از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. سپس سوسپانسیون میکروبی از کشت ۲۴ ساعته که با نیم‌مک فارلند برابر شده بود، توسط محیط کشت مولر هینتون برات به میزان ۱/۱۰۰ جهت به دست آوردن غلظت  $1 \times 10^6$  cfu/ml رقیق شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک افزوده شد. در این بررسی، یک چاهک به عنوان کنترل منفی (شاهد نانوذرات و محیط کشت) حاوی نانوذرات و محیط کشت بدون سوسپانسیون میکروبی، یک چاهک به منظور کنترل مثبت (شاهد باکتری) حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی در نظر گرفته شد و حجم نهایی تمام چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر شد. در نهایت میکروپلیت‌ها روی شیکر (250 rpm) به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد تا مخلوط کاملاً یکنواخت شود. سپس میکروپلیت‌ها در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. بعد از این مدت، در مقایسه با ردیف کنترل، وجود کدورت حاکی از رشد باکتری و شفافیت نشان‌دهنده عدم رشد باکتری است. اولین چاهک یا پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ‌گونه رشد باکتری مشاهده نشد و فاقد کدورت بود، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شد. تمام مراحل برای ۶ سویه مورد بررسی با ۳ تکرار انجام شد.

### یافته‌ها

#### تغییر رنگ محلول سنتز شده

مشاهده تغییر رنگ تدریجی محلول واکنش به زرد، اولین مرحله در تأیید سنتز نانوذرات اکسیدروی است و در نهایت نانوذرات پس از سنتز به شکل پودری شیری رنگ درآمدند (تصویر شماره ۱).

با سانتریفیوژ سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد برای ۱۵ دقیقه از مخلوط جدا و درآون با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و در نهایت پودر سفیدرنگ حاصل جهت مطالعات بعدی در ویال‌های غیرقابل نفوذ نگهداری شدند [۱۱، ۱۲].

#### تعیین مشخصات نانوذرات اکسیدروی

برای تأیید ساختار و مورفولوژی نانوذرات تولید شده از تکنیک‌های مختلفی از جمله: میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری، پراش اشعه ایکس و زتاسایزر استفاده شد. از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۳</sup> برای مطالعه ساختار کریستالی، مورفولوژی و اندازه نانوذرات اکسیدروی استفاده شد. تحلیل طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس<sup>۴</sup> با دکتور ساخت شرکت آکسفورد انگلستان، برای تشخیص ترکیب عناصر موجود در نمونه در نقاط معینی از آن و با نقشه‌ای از توزیع عناصر باتوجه به سطح تصویربرداری شده استفاده شد. تحلیل طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس، ساختار شیمیایی و نوع گروه‌های عاملی نمونه‌ها را بررسی می‌کند. برای این تحلیل، ۵۰ میلی‌گرم از نمونه در محدوده موج  $4000\text{ cm}^{-1}$  تا  $400\text{ cm}^{-1}$  مطالعه شد.

برای تعیین ترکیب شیمیایی، شناسایی فازها و تعیین سایز کریستالی نانوذرات سنتز شده، نمونه تهیه شده تحت آنالیز پراش پرتو ایکس<sup>۵</sup> قرار گرفت. پراش اشعه ایکس، امکان شناخت نوع ساختار کریستالوگرافی نانوذرات را فراهم می‌کند. در این بررسی، نانوذره سنتز شده با پوشش CuKa و زاویه  $2\theta$  در محدوده صفر تا ۱۰۰ درجه ارزیابی شد. برای بررسی اندازه میانگین قطر نانوذرات سنتز شده از دستگاه زتاسایزر<sup>۶</sup> ساخت شرکت مال‌ورن<sup>۷</sup> استفاده شد که به خوبی قادر به اندازه‌گیری سایز ذرات است.

#### تعیین خاصیت ضدباکتریایی

بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده به روش دیسک دیفیوژن و میکرو دیلوژن برات انجام شد. سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه انتروکوکوس فیکالیس<sup>۸</sup>، استفیلوکوکوس اورئوس<sup>۹</sup>، باسیلوس سوبتیلیس<sup>۱۰</sup>، سودوموناس آئروژینوزا<sup>۱۱</sup>، اشرشیا کلی<sup>۱۲</sup>، سالمونلا تیفی موروم<sup>۱۳</sup> (تهیه شده از کلکسیون میکروبی ایران) بودند.

3. (SIGMA VP-500, ZEISS) (SEM)
4. Energy Dispersive Spectroscopy (EDS)
5. Pro, Panalitical X'Pert (XRD)
6. Zetasizer Nano S90
7. Malvern
8. Enterococcus Faecalis ATCC 51299
9. Staphylococcus Aureus ATCC6536
10. Bacillus Subtills ATCC 6633
11. Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27853
12. Escherichia coli ATCC 25923
13. Salmonella Typhimurium ATCC 14028



تصویر ۱. رنگ زرد محلول نشانه سنتز نانوذرات ZnO

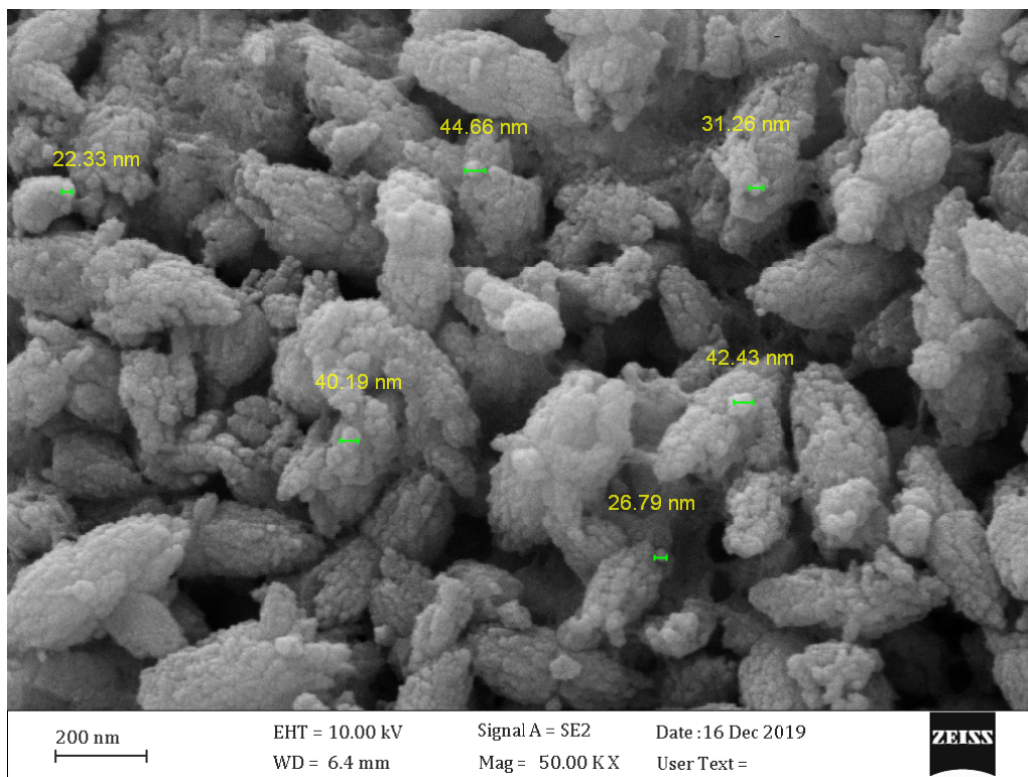
نانوذرات ZnO در تصویر شماره ۳ مربوط به بررسی عناصر تشکیل‌دهنده و خلوص محصول است. پیک‌های نشان‌داده‌شده بیان‌گر وجود تنها عناصر روی، اکسیژن و طلا در ساختار آن است. طلای به کار برده‌شده مربوط به آماده‌سازی نمونه برای تحلیل طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس و پوشش‌دهی پودر اکسیدروی بر روی نوارچسب‌های طلا برای انجام تحلیل‌های مربوطه است (تصویر شماره ۳). مقدار عنصر روی موجود در نانوذرات سنتز شده ۸۳/۱ درصد و اکسیژن ۱۶/۹ درصد بود و نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده خالص است و اثری از ناخالصی عناصر دیگر وجود ندارد.

#### میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱۴</sup>

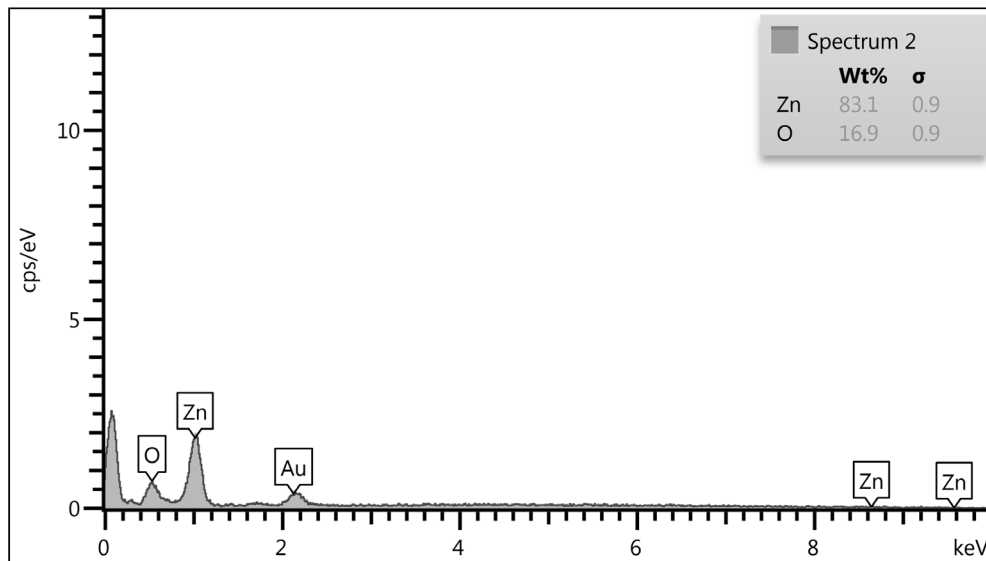
ویژگی‌های سطحی و سایز نانوذرات ZnO با میکروسکوپ الکترونی عبوری نشر میدان FE-SEM مجهز به آشکارساز تفکیک انرژی پرتو X مورد مطالعه قرار گرفت.

همان‌طور که در تصویر شماره ۲ مشاهده می‌شود نانوذرات با بزرگ‌نمایی ۵۰ KX برابر نشان داده شده است و به شکل کروی تا چندوجهی هستند. پروفایل طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس

#### 14. Scanning Electron Microscope



تصویر ۲. تحلیل FE-SEM



مجله  
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۳. تحلیل طیفسنجی پراش انرژی پرتو ایکس

بسیار قوی و پر شدت هستند و به ترتیب به صفحات بلوری (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳)، (۱۱۲) و ZnO (۲۰۱) با بلورینگی بالا نسبت داده می شود. همان طور که در تصویر شماره ۵ مشاهده می شود نانوذرات به دست آمده دارای ساختار کریستالی تک فاز بوده و هیچ پیکی مربوط به ناخالصی مشاهده نمی شود.

تحلیل طیفسنجی مادون قرمز تبدیل فوریه<sup>۱۵</sup> تحلیل ساختار نانوذرات با استفاده از طیف بینی FTIR در محدوده های ۴۰۰ تا ۴۰۰۰  $\text{cm}^{-1}$  بررسی شد. در طیف های مادون قرمز هر پیک نشان دهنده میزان جذب در عدد موجی متناظر با آن

15. Fourier transform infrared spectroscopic analysis

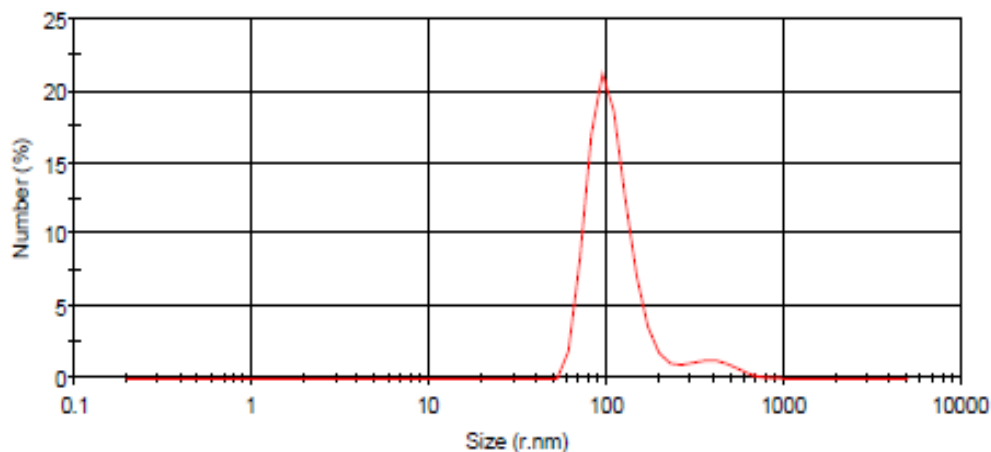
#### اندازه میانگین قطر نانوذرات

دستگاه آنالیز زتا سائزر به منظور اندازه گیری قطر نانوذرات در زاویه بازپراکنشی ۹۰ درجه به کار برده می شود و مبتنی بر روش تفرق دینامیکی نور است. این آنالیز نشان می دهد میانگین اندازه نانوذرات ۱۰۰ نانومتر است (تصویر شماره ۴).

#### پراش اشعه ایکس

در آنالیز پراش اشعه ایکس نانوذره با پوشش Cu در محدوده صفر تا ۱۰۰ درجه اندازه گیری شد. پیک های پراش در تصویر شماره ۵ در زوایای پراش ۳۱/۸°، ۳۴/۵°، ۳۶/۳°، ۴۷/۶°، ۵۶/۵°، ۶۲/۹°، ۶۷/۹° و ۶۹/۱°

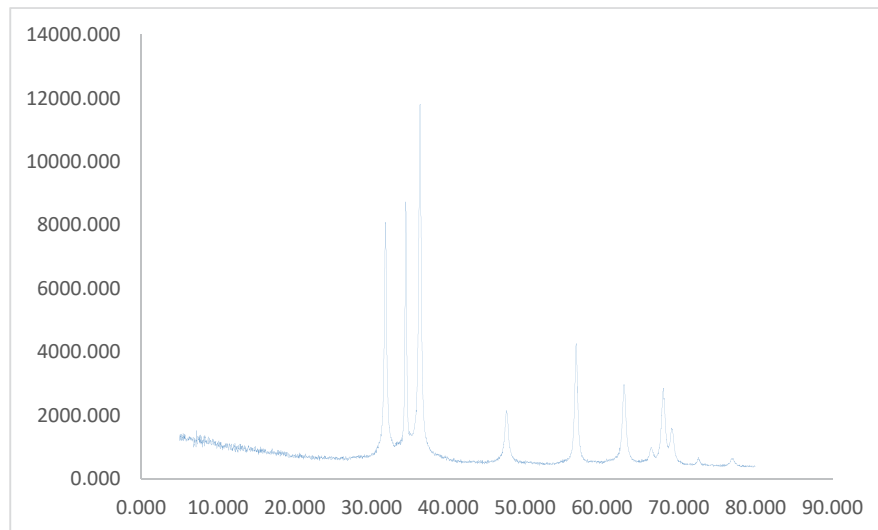
Size Distribution by Number



مجله  
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۴. تحلیل Zetasizer



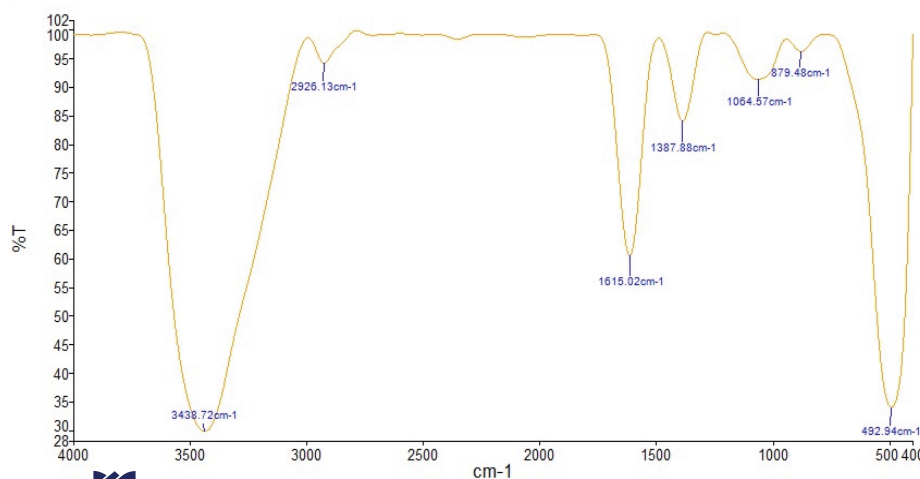


تصویر ۵. تحلیل طیف پراش اشعه ایکس

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با بیشترین قطر هاله عدم رشد (۳۰ میلی‌متر) را در برابر نانوذرات اکسیدروی، حساس‌ترین باکتری در برابر نانوذرات بود و باکتری سودوموناس آرتروژینوزا با کمترین قطر هاله عدم رشد (۱۵ میلی‌متر) مقاوم‌ترین باکتری در برابر نانوذرات سنتز شده بود (جدول شماره ۱).

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی به روش میکروداپلوشن براث، MIC نانوذرات اکسیدروی برای باکتری‌های مورد بررسی بین ۳/۱۲۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و روی همه باکتری‌ها، مؤثر گزارش شد. باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی، سالمونلا تیفیموریوم و پسودوموناس آرتروژینوزا نسبت به سایر باکتری‌های مورد مطالعه مقاومت بیشتری نسبت به نانوذره اکسیدروی نشان دادند (جدول شماره ۱).

است و توسط یک پیوند شیمیایی مشخص ایجاد می‌شود. این مطالعه طیف‌سنجی تأیید کرد که نانوذرات ZnO دارای توانایی اتصال قوی هستند. در تصویر شماره ۶، پیک‌های ظاهر شده در اعداد موجی  $1064.57\text{ cm}^{-1}$ ،  $879.48\text{ cm}^{-1}$ ،  $492\text{ cm}^{-1}$ ،  $3438\text{ cm}^{-1}$ ،  $2926\text{ cm}^{-1}$  و  $1615\text{ cm}^{-1}$  در طیف FTIR نانوذرات ZnO سنتز شده به روش سبز مشاهده شد که در ارتعاش کششی مربوط به ZnO در محدوده  $492\text{ cm}^{-1}$  یک پیک قوی وجود دارد که ارتعاشات مربوط به پیوند اکسیژن-فلز (Zn-O) را نشان می‌دهد. پیک مشاهده شده در  $3438\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی OH است که به دلیل وجود این گروه‌ها روی نانوذرات سنتز شده است.



تصویر ۶. تحلیل طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

جدول ۱. نتایج قطر هاله عدم رشد و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد در نانوذرات اکسیدروی سنتز شده

انواع باکتری	سویه‌های باکتریایی	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	میکروگرم بر میلی‌لیتر
باکتری‌های گرم مثبت	انتروکوکوس فیکالیس	۲۸	۶/۲۵
	استافیلوکوکوس اورئوس	۳۰	۳/۱۲۵
	باسیلوس سوبتیلیس	۲۵	۶/۲۵
باکتری‌های گرم منفی	سودوموناس آئروژینوزا	۱۵	۲۵
	اشرشیا کلی	۲۰	۱۲/۵
	سالمونلا تیفی موریوم	۲۰	۱۲/۵

## بحث

روش بیولوژیک سنتز سبز نسبت به سایر روش‌های شیمیایی دارای مزیت‌هایی است که می‌توان به مقرون به صرفه بودن، افزایش مقدار تولید در سنتزهای با میزان بالا و دوست‌دار محیط‌زیست بودن اشاره کرد [۱۲]. سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی باعث حذف روش مشکل‌نگهداری کشت سلولی و کوتاهی زمان واکنش می‌شود. در این روش، مراحل سنتز کوتاه‌تر بوده و مزایایی نظیر کنترل بیشتر روی مراحل سنتز و پایداری بیشتر نانوذره را به همراه دارد [۱۳]. بسیاری از گیاهان حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ترکیبات فنلی و کاروتینوئیدها هستند که احیاناً مناسبی برای سنتز نانوذرات محسوب می‌شوند [۱۴، ۱۵].

در تحقیق حاضر، برای اولین بار از عصاره میوه گیاه زیره کرمانی، به‌عنوان یکی از گیاهان بومی ایران، برای سنتز نانوذرات اکسیدروی حاوی ترکیباتی از جمله کومین آلدهید، گاماترپینن، پاراسایمن [۹، ۱۰] است و می‌تواند به‌عنوان عامل احیاکننده نانوذرات به‌خوبی مورد استفاده قرار گیرد. نانوذرات اکسیدروی سنتز شده قطر میانگین ۱۰۰ نانومتر و شکل کروی تا چندوجهی داشتند که در تصویر میکروسکوپ الکترونی FE-SEM به‌صورت دوکی شکل تجمع یافته بودند. در مطالعه‌ای که توسط فخار و همکاران در سال ۲۰۱۹ برای سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی از عصاره آبی گیاه برگ‌بو<sup>۱۶</sup> صورت گرفت و نتایج پتانسیل *L.nobilis* را برای سنتز نانوذرات به روش ساده، سریع و دوست‌دار محیط‌زیست تأیید کرد [۱۶].

کریمی و همکاران در سال ۲۰۱۸، مطالعه‌ای انجام دادند که در این مطالعه، سنتز نانوذرات اکسیدروی با استفاده از عصاره

گیاه خوراکی- دارویی بن‌سرخ<sup>۱۷</sup> به‌روش سبز انجام شد. اندازه و مورفولوژی سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد و مشخص گردید که شکل ذرات چندوجهی، گرد، و اندازه متوسط آن‌ها در حدود ۳۰ نانومتر است [۱۷].

اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به روش دیسک دیفیوژن و میکروداپلوشن برآت بررسی شد. بیشترین اثر ضد میکروبی نانوذرات علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله عدم رشد ۳۰ میلی‌متر و MIC ۳/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد و کمترین اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم منفی *پسودوموناس آئروژینوزا* با قطر هاله عدم رشد ۱۵ میلی‌متر و MIC ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. به‌طور کلی باکتری‌های گرم منفی، مقاومت بیشتری نسبت به نانوذره اکسیدروی نشان دادند.

تاکنون مطالعات زیادی در زمینه اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسیدروی انجام شده است؛ از جمله مطالعه جهان‌پیمای ثابت و همکاران در سال ۲۰۲۲ اثرات ضد میکروبی و ضدسرطانی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط عصاره گیاه *آویشن شیرازی*<sup>۱۸</sup> را بررسی کردند. نتایج نشان داد نانوذرات ZnO با اندازه ۳۵ تا ۹۵ نانومتر در اجتماعات ستاره‌ای شکل سنتز شدند و MIC نانوذرات اکسیدروی علیه باکتری‌های مورد مطالعه بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد [۱۸]. رفیعی و همکاران که در سال ۲۰۱۸ با استفاده از استات‌روی و عصاره برگ گیاه<sup>۱۹</sup> نانوذرات اکسیدروی را سنتز کردند. سایز نانوذرات سنتز شده در محدوده ۳۰ تا ۵۰ نانومتر قرار داشت. این نانوذرات روی باکتری‌های اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس اثر ضد میکروبی قابل توجهی نشان دادند [۱۹].

17. *Allium Jesdianum*  
18. *Zataria Multiflora*  
19. *Eucalyptus Melliodora*

16. *Laurus Nobilis*

### مشارکت نویسندگان

ایده و طراحی مطالعه: معصومه مهدوی اورتاکنند؛ جمع‌آوری داده‌ها: مریم بختی و پریسا شیشه‌ساز؛ تحلیل و تفسیر داده‌ها: معصومه مهدوی اورتاکنند و فهیمه باغبانی آرائی؛ نگارش مقاله: معصومه مهدوی اورتاکنند؛ همه نویسندگان نتایج را بررسی و نسخه نهایی مقاله را تأیید کردند.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نظر نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

رافی شارما و همکاران در سال ۲۰۱۶، اثر نانوذرات اکسیدروی علیه تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله کلبسیلا پونومونیه، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، باسیلوس سوبتیلیس را بررسی و مشاهده کردند که نانوذرات تأثیر کمتری بر باکتری‌های گرم منفی دارند [۲۰].

نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر همپوشانی دارد و نشان می‌دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نانوذرات اکسیدروی حساس‌تر هستند. همچنین اختلاف در شکل و اندازه نانوذرات اکسیدروی سنتز شده در مطالعات مختلف می‌تواند به عواملی چون غلظت عامل احیاکننده، فرایند واکنش، فرایند خنک‌سازی و تبلور و نوع گیاه مورد استفاده و ترکیبات موجود در عصاره گیاهی مرتبط دانست که از موضوعات جالب در مطالعات نانومواد است [۲۱].

از مهم‌ترین مکانیسم‌های اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسیدروی می‌توان به القای استرس اکسیداتیو به دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال، واکنش این رادیکال‌های اکسیژن فعال با دی‌ان‌ای، پروتئین‌ها و لیپیدها و در نتیجه، مرگ سلولی اشاره کرد. همچنین نانوذره اکسیدروی باعث از بین رفتن آرایش غشا به دلیل تجمع نانوذرات در غشای باکتری و تجمع آن‌ها درون سلول، آزاد شدن یون‌های Zn که با اتصال به غشای میکروارگانیسم‌ها، سبب اعمال اثر ضد میکروبی می‌شوند [۲۲].

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، روش ساده و قابل قبول سنتز سبز نانوذرات اکسید با استفاده از عصاره گیاه زیره کرمانی به‌عنوان عامل احیاکننده انجام گرفت. نتایج مطالعه حاضر کارایی عصاره گیاهی زیره کرمانی که بومی ایران است، در سنتز نانوذرات اکسیدروی را به‌خوبی نشان داد. نانوذرات سنتز شده از شکل و اندازه مناسبی برخوردار بودند. همچنین اثرات ضدباکتریایی این نانوذرات بر باکتری‌های مورد مطالعه تأیید شد. به این ترتیب، گیاه زیره کرمانی می‌تواند به‌عنوان یک کاندیدای مناسب جهت سنتز نانوذرات مورد توجه قرار گیرد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی‌ارشد در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا است. مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا بوده و شناسه مصوبه اخلاق در پژوهش آن IR.IAU.VARAMIN.REC.1399.023 است.

#### حامی مالی

این مقاله هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانی‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

## References

- [1] Pal S, Mondal S, Maity J, Mukherjee R. Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract: Investigation of photocatalytic and antibacterial activity. *Int J Nanosci Nanotechnol*. 2018; 14(2):111-9. [\[Link\]](#)
- [2] Behzad F, Naghib SM, Tabatabaei SN, Zare Y, Rhee KY. An overview of the plant-mediated green synthesis of noble metal nanoparticles for antibacterial applications. *J Ind Eng Chem*. 2021; 94:92-104. [\[DOI:10.1016/j.jiec.2020.12.005\]](#)
- [3] Mohammadbeigi P, Sodagar M, Mazandarani M, Hoseini SS. [An investigation of antibacterial activity of zno nanoparticle on streptococcus iniae and escheria coli (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J*. 2016; 10(5):55-63. [\[Link\]](#)
- [4] Behzad J, Sani AM. Antimicrobial effect of nanofluid including zinc oxide (ZnO) nanoparticle and *trachyspermum copticum* essential oils on food borne pathogens. *Biotechnol Ind J* 2016; 12(6): 1-9. [\[Link\]](#)
- [5] Jadoun S, Arif R, Jangid NK, Meena RK. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: A review. *Environ Chem Lett*. 2021; 19(1):355-74. [\[DOI:10.1007/s10311-020-01074-x\]](#)
- [6] Mahdavi-Ourtakand M, Jafari P, Safaeijavan R. Antibacterial activity of biosynthesized silver nanoparticles from fruit extracts of *Bunium persicum* Boiss. *Int J Bio-Inorg Hybr Nanomater*. 2017; 6(4): 245-251. [\[Link\]](#)
- [7] Singh J, Dutta T, Kim KH, Rawat M, Samddar P, Kumar P. 'Green'synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *J nanobiotechnology*. 2018; 16(1):1-24. [\[DOI:10.1186/s12951-018-0408-4\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [8] Bandeira M, Giovanela M, Roesch-Ely M, Devine DM, da Silva Crespo J. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chem Pharm*. 2020; 15: 100223. [\[DOI:10.1016/j.scp.2020.100223\]](#)
- [9] Taherkhani P, Noori N, Akhondzadeh Basti A, Gandomi H, Alimohammadi M. [Antimicrobial effects of kermanian black cumin (*bunium persicum* boiss.) essential oil in gouda cheese matrix (Persian)]. *J. Med. Plants*. 2015; 14(54):76-85. [\[Link\]](#)
- [10] Shahsavari N, Barzegar M, Sahari MA, Naghdibadi H. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods Hum Nutr*. 2008; 63(4):183-8. [\[DOI:10.1007/s11130-008-0091-y\]](#) [\[PMID\]](#)
- [11] Sharmila G, Thirumarimurugan M, Muthukumaran C. Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract: Characterization and evaluation of its antioxidant, bactericidal and anticancer activities. *Microchemical J*. 2019; 1(145):578-87. [\[DOI:10.1016/j.microc.2018.11.022\]](#)
- [12] Abdelkhalik A, Al-Askar AA. Green synthesized ZnO nanoparticles mediated by *Mentha spicata* extract induce plant systemic resistance against Tobacco mosaic virus. *Appl Sci*. 2020; 23:10(15):5054. [\[DOI:10.3390/app10155054\]](#)
- [13] Selim YA, Azb MA, Ragab I, HM Abd El-Azim M. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of *Deverra tortuosa* and their cytotoxic activities. *Sci Rep*. 2020; 10(1):3445. [\[DOI:10.1038/s41598-020-60541-1\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [14] Roy A, Bulut O, Some S, Mandal AK, Yilmaz MD. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC Adv*. 2019; 9(5):2673-702. [\[DOI:10.1039/C8RA08982E\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [15] Marslin G, Siram K, Maqbool Q, Selvakesavan RK, Kruszka D, Kachlicki P, et al. Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles. *Materials*. 2018; 11(6):940. [\[DOI:10.3390/ma11060940\]](#) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)
- [16] Fakhari S, Jamzad M and Kabiri Fard H. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2019; 12(1):19-24. [\[DOI:10.1080/17518253.2018.1547925\]](#)
- [17] Karimi N, Behbahani M, Mirzahosseini H, Dini G, Razmjou A. [Green synthesis of ZnO nanoparticles using extract of edible and medicinal plant (*Allium jesdianum*) (Persian)]. *Razi J Med Sci*. 2018; 25(9):1-7. [\[Link\]](#)
- [18] Jahan peymay sabet B, Mahdavi-Ourtakand M, Baghbani-Arani F. [Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Zataria multiflora* extract and evaluation of its antimicrobial, cytotoxic and apoptotic effects on HT-29 cell line (Persian)]. *Koomesh*. 2022; 24 (3):388-96. [\[Link\]](#)
- [19] Rafiee B, Ghani S, Sadeghi D, Ahsani M. [Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus mellidora leaf extract and evaluation of its antimicrobial effects (Persian)]. *J Babol Uni Med Sci*. 2018; 20(10):28-35. [\[Link\]](#)
- [20] Sharma N, Jandaik S, Kumar S. Synergistic activity of doped zinc oxide nanoparticles with antibiotics: ciprofloxacin, ampicillin, fluconazole and amphotericin B against pathogenic microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2016; 88:1689-98. [\[DOI:10.1590/0001-3765201620150713\]](#) [\[PMID\]](#)
- [21] Li X L, Zhang F Q, Ma C, Deng Y, Wang Z F, Elingarami S, et al. Controllable synthesis of ZnO with various morphologies by hydrothermal method. *J Nanosci. Nanotechno*. 2012; 12(3): 2028-36. [\[DOI:10.1166/jnn.2012.5177\]](#) [\[PMID\]](#)
- [22] Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, de Aberasturi DJ, de Larramendi IR, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*. 2012; (10): 499-511. [\[DOI:10.1016/j.tibtech.2012.06.004\]](#) [\[PMID\]](#)