

سنتز، تعیین ساختار و بررسی ویژگی‌های ضدباکتریایی نانومیله‌های روی (II) اکسید و بسپار کوئوردیناسیونی آن به‌عنوان پیش‌ماده در ابعاد نانو و توده

آرزو کمالی^۱، الهام رضوان نژاد^۲ و زهره رشیدی رنجبر^{۳*}

۱- کارشناس ارشد نانوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- استادیار بیوتکنولوژی دامی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی ماهان، کرمان، ایران

۳- استادیار شیمی معدنی، بخش شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

دریافت: خرداد ۱۳۹۵، بازنگری: آذر ۱۳۹۵، پذیرش: بهمن ۱۳۹۵

چکیده: در این کار پژوهشی، بسپار کوئوردیناسیونی $[Zn(3-bpdh)Cl_2]_n(1)$ با لیگاند "۵،۳-بیس (۳-پیریدیل)-۴،۳-دی‌آز-۴،۲-هگزادی‌ان 3-bpdh=" در ابعاد توده و نانو سنتز و با طیف‌سنجی فرسرخ (IR) و رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) شناسایی شد. نانوساختارهای بسپار کوئوردیناسیونی (۱) با استفاده از امواج فراصوت و به روش سونوشیمی تهیه و اندازه و ریخت ذرات آن با میکروسکوپ الکترونی روشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. سپس از این نانوساختارها به‌عنوان پیش‌ماده برای تهیه نانومیله‌های روی (II) اکسید به روش گرماکافت استفاده شد. با استفاده از الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) و تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM)، نانومیله‌های ZnO شناسایی و قطر آن‌ها تخمین زده شد. همچنین، ویژگی‌های ضدباکتریایی لیگاند، بسپار کوئوردیناسیونی در مقیاس نانو و توده و نانومیله‌های روی (II) اکسید بر باکتری باسیلوس آلوی، عامل بیماری لوک اروپایی زنبورعسل، بررسی شد. مطالعات حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC)، اثرات ضدباکتری به نسبت خوبی از این ترکیبات را بر روی باکتری باسیلوس آلوی در مقایسه با استانداردهای دارویی نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: امواج فراصوت، گرماکافت، ضدباکتریایی، نانوذرات، روی (II) اکسید

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها و به‌کارگیری آن‌ها در درمان بیماری‌ها، باکتری‌ها همواره بر اساس قانون انتخاب طبیعی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند [۱].

با گسترش نانو فناوری در دهه‌ی گذشته، فرصت‌های طلایی برای کشف اثرات ضدباکتریایی نانوذرات به‌ویژه نانوذرات با پایه

به‌موازات توسعه سریع زندگی بشر، کنترل اثرات مضر ریزاندامگان‌ها به امری غیرقابل اجتناب تبدیل شده است. بایستی به این نکته توجه شود که رشد سریع و کنترل نشده ریزاندامگان‌ها می‌تواند منجر به بروز مشکلات جدی شود. از زمان عرضه

1. Microorganism

باکتری باسیلوس آلوی^۲ عامل بیماری لوک اروپایی زنبورعسل انجام نگرفته است و برای نخستین بار در این پروژه مورد بررسی قرار گرفت.

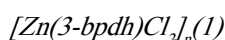
بخش تجربی

سنتز لیگاند 3-bpdh

برای سنتز این لیگاند به بالنی که حاوی ۲۰ تا ۳۰ میلی لیتر محلول اتانولی از هیدرازین منوهیدرات (۱/۵۳ ml) است، ۲۰ تا ۳۰ میلی لیتر محلول اتانولی متیل-۳-پیریدیل کتون (۵ ml) قطره قطره افزوده می‌شود. پس از پایان کار به سرعت سه قطره فرمیک اسید افزوده و در بالن با پارافیلیم محکم بسته می‌شود. محلول ۳ تا ۵ ساعت در دمای اتاق هم‌زده می‌شود. سپس محتویات بالن به داخل یک بشر ریخته می‌شود تا در زیر هود حلال آن تبخیر شود و رسوب نهایی که لیگاند مورد نظر است به دست آید (رنگ: زرد، نقطه ذوب = ۱۰۵°C).

IR(selected bands; in cm⁻¹): 617(w), 1047(w), 1196(w), 1293(w), 1365(s), 1422(vs), 1494(s), 1570(vs), 1592(s), 2925(w) and 3455(w).

سنتز بسیار کوئوردیناسیونی روی (II) به صورت توده



به منظور تهیه بسیار کوئوردیناسیونی (۱)، نمک ZnCl₂ به همراه NaClO₄ که به عنوان نمک حاوی یون خارجی استفاده می‌شود در متانول حل و به لیگاند حل شده در متانول به صورت قطره قطره افزوده می‌شود. محلول به دست آمده صاف و بلورهای تشکیل شده با روش تبخیر تدریجی تهیه و در نهایت جداسازی می‌شود. (رنگ: زرد، نقطه ذوب □ ۴۰۰°C)

IR(selected bands; in cm⁻¹): 615(w), 1061(w), 1198(w), 1300(w), 1367(s), 1420(vs), 1494(s), 1570(vs), 1579(s), 2926(w) and 3071(w).¹H-NMR (DMSO, δ): 9.1(s, 2H); 8.6(d, 2H); 8.3(d, 2H); 7.5(d, 2H); 2.3(s, 6H) ppm.

فلزی ایجاد شده است [۲]. بسیاری از نانوذرات در غلظت‌های بسیار کم، باکتری‌ها را از بین می‌برند. نانوذرات به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیادی که دارند و لذا تماس بیشتر با فضای بیرونی سلول‌ها، اثرات ضدباکتری خوبی را نشان می‌دهند. سازوکار^۱ اصلی تأثیر نانوذرات بر روی باکتری‌ها از طریق آسیب به DNA و تخریب دیواره سلولی آن‌هاست [۳ تا ۴]. پژوهش‌های زیادی در زمینه ویژگی‌های ضد میکروبی نانوذرات آهن اکسید، نقره، کلسیم کرنات، تیتانیم دیاکسید، کروم اکسید و ... انجام گرفته است و هر کدام اثر ویژه‌ای در برابر باکتری‌ها از خود نشان داده‌اند. دانشمندان بر این باورند که می‌توان از این نانوذرات به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کرد [۵]. در پژوهش‌های انجام گرفته بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نتایج به دست آمده حاکی از وجود ویژگی ضد میکروبی نانوذرات روی (II) اکسید است که هم‌اکنون در بسیاری از کشورها در مقیاس صنعتی استفاده می‌شود [۶ تا ۸]. سازوکار عمل این ترکیب شبیه سایر نانوذرات است ولی بیشتر از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می‌کند [۷].

از آنجایی که ویژگی ضدباکتریایی در بسپارهای کوئوردیناسیونی نیز مشاهده شده است؛ انتظار می‌رود سنتز این بسپارها در ابعاد نانومتری باعث بهبود این ویژگی گشته و کاربرد این ترکیبات را در صنایع گوناگون بهبود بخشد. بسپارهای کوئوردیناسیونی در مقیاس نانو با روش‌ها و شرایط متفاوت مانند میکروویو، سونوشیمی، مدولاسیون کوئوردیناسیونی، آب گرمایی/حلال گرمایی و غیره سنتز می‌شوند [۸ تا ۹]. با کاهش اندازه بسپارهای کوئوردیناسیونی از یک توده پودری به ساختارهایی در ابعاد نانو، ویژگی‌ها و کاربردهای آن‌ها نیز بهبود می‌یابد.

لذا در این کار ما بر آن شمیم ساختارهای توده و نانو از یک بسپار کوئوردیناسیونی روی (II) و نانوذرات روی (II) اکسید به دست آمده از آن را سنتز و ویژگی‌های ضدباکتریایی هر کدام از آن‌ها را مورد مطالعه قرار دهیم. بررسی ویژگی ضدباکتریایی روی (II) اکسید و به طور کلی بسپارهای کوئوردیناسیونی تاکنون روی

1. Mechanism 2. Bacillus alvei

باکتری افزوده شد. مقدار مشخصی از ماده ضد باکتری در یک میلی لیتر حلال حل و سپس به لوله آزمایش اول افزوده و مخلوط شد. از لوله اول یک میلی لیتر از کل حجم لوله برداشته و به لوله دوم منتقل شد و این کار تا لوله دهم تکرار شد. به این صورت غلظت‌ها برای هر کدام از لوله‌ها به تدریج دو برابر رقیق شدند، سپس لوله‌ها در گرم‌خانه °C ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی، نخستین شفافیت پیش از کداری است.

نتیجه‌ها و بحث

برای سنتز بسیار کوئوردیناسیونی (۱) از لیگاند بی‌پیریدیلی 3-bpdh و نمک ZnCl₂ به همراه NaClO₄ (به‌عنوان نمک حاوی یون خارجی) استفاده شد. نقطه ذوب لیگاند سنتز شده در حدود °C ۱۰۵ مشاهده شد، اما بسیار کوئوردیناسیونی در هر دو اندازه نانو و توده تا دمای °C ۴۰۰ ذوب نشد و این موضوع نشان‌دهنده پایداری گرمایی بالای این ترکیبات بسیاری است. نانوساختارهای بسیار کوئوردیناسیونی (۱) با امواج فراصوت و به روش سونوشیمی تهیه شدند و سپس از این پیش‌ماده نانوساختاری برای تهیه نانومپله‌های روی (II) اکسید با روش گرماکافت استفاده شد.

بسیار کوئوردیناسیونی (۱) در حالت توده با طیف‌سنجی IR و NMR و نانوساختارهای آن نیز با استفاده از طیف‌سنجی IR شناسایی شدند. با مقایسه طیف‌های IR مربوط به دو اندازه نانو و توده همان‌طور که در شکل ۱ قابل مشاهده است؛ داده‌های مربوط به اندازه نانو با داده‌های طیفی به دست آمده از ترکیب (۱) در شکل توده دارای تطابق به نسبت خوبی است. در این طیف‌ها، نوارهای به نسبت ضعیفی در گستره ۲۹۱۴ تا ۳۱۶۴ cm⁻¹ مشاهده می‌شود که مربوط به ارتعاشات پیوندهای C-H حلقه‌های آروماتیک است. نوارهای جذبی با شدت قابل مشاهده در گستره ۱۳۰۰ تا ۱۶۱۲ cm⁻¹ مربوط به ارتعاشات حلقه پیریدینی لیگاند 3-bpdh است. همچنین، نوار پهن مربوط به

سنتز نانو بسیار کوئوردیناسیونی [Zn(3-bpdh)Cl₂]_n

برای سنتز نانوساختار از این بسیار کوئوردیناسیونی افزودن فلز به محلول لیگاند با همان مقادیر گفته شده در بخش قبل در حمام فراصوت انجام می‌گیرد و در نهایت فراورده به دست آمده صاف و رسوب جمع‌آوری می‌شود. (رنگ: زرد، نقطه ذوب °C ۴۰۰)
IR(selected bands; in cm⁻¹): 615(w), 1063(w), 1196(w), 1293(w), 1320(s), 1422(vs), 1429(s), 1570(vs), 1613(s), 2927(w)and 3071(w).

سنتز روی (II) اکسید در ابعاد نانو

نانوذرات روی (II) اکسید از ترکیب نانوسپارهای کوئوردیناسیونی [Zn(3-bpdh)Cl₂]_n با روش گرماکافت تهیه شدند. در این روش، پودر به دست آمده از نانوساختارهای بسیار کوئوردیناسیونی (۱) تحت تأثیر گرمای مستقیم، داخل کوره و در دمای °C ۷۰۰ به مدت ۲ ساعت قرار گرفت.

فعالیت میکروبی

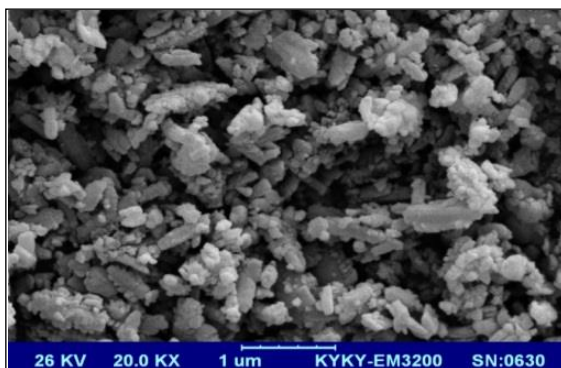
در محیط کشت نوترینت برات NB^۱، باکتری باسیلوس آلوی عامل بیماری لوک اروپایی زنبورعسل فعال، سپس درون گرم‌خانه^۲ در دمای °C ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. بعد از فعال شدن، باکتری بر روی محیط نوترینت آگار^۳ انتقال داده شد. بر روی این محیط چاهک‌های حاوی ماده ضدباکتری را ایجاد کرده و این پلیت‌ها درون گرم‌خانه در دمای °C ۳۷ و به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. از روی هاله ایجاد شده، عدم رشد باکتری بررسی شد به این صورت که بر اساس قطر هاله ایجاد شده، مقدار ویژگی ضد باکتریایی هر کدام از ترکیبات موردنظر مشخص شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC^۴)

در ده لوله آزمایش سترون^۵، یک میلی لیتر از محیط کشت مایع نوترینت برات ریخته شد. سپس در هر کدام از لوله‌ها مقدار ۱۰۰ μl

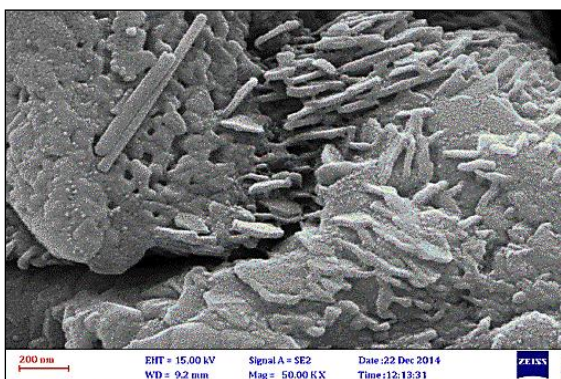
1. Nutrient broth 2. Incubator 3. Nutrient agar 4. Minimum inhibitory concentration 5. Sterile

تصاویر SEM (شکل ۳) نانوساختارهای به‌دست آمده از بسیار کوئوردیناسیونی (۱) سنتز شده به روش سونوشیمی را نشان می‌دهد. اندازه این نانوساختارها بین ۶۰ تا ۹۰ نانومتر تخمین زده شده است.



شکل ۳ تصویر SEM ترکیب نانوساختار (۱)

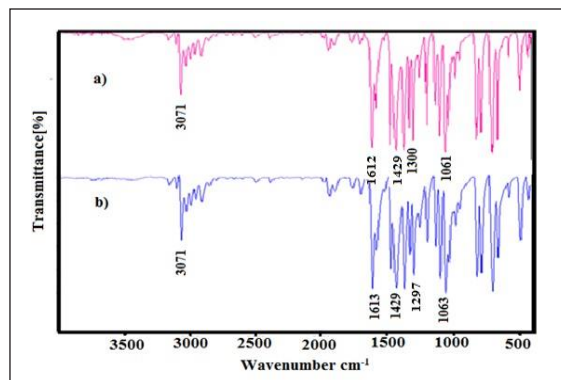
نانوساختارهای به‌دست آمده از روی (II) اکسید به روش گرماکافت گرمایی به‌صورت نانومیله‌هایی هستند که ریخت یکدستی دارند و همچنین قطر میله‌ها بین ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر تخمین زده شده است (شکل ۴).



شکل ۴ تصویر SEM مربوط به نانومیله‌های روی (II) اکسید

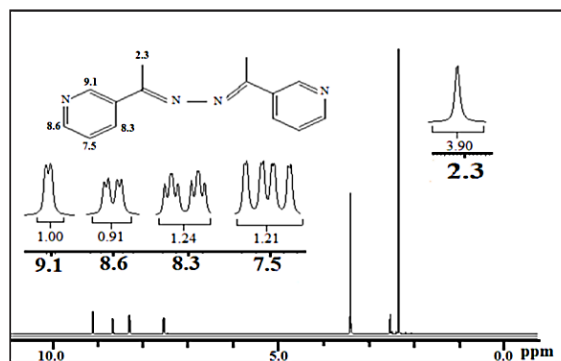
الگوی XRD مربوط به فراورده به‌دست آمده از روش گرماکافت در شکل ۵ ارائه شده است. با توجه به این الگوی XRD و مطابقت فاز فراورده به‌دست آمده با فاز روی (II) اکسید موجود در بانک‌های اطلاعاتی XRD جداسازی روی (II) اکسید

ارتعاشات پیوندهای هیدروژنی O-H از مولکول‌های آب در 3504 cm^{-1} ظاهر شده‌اند.



شکل ۱ طیف IR ترکیب (۱) در حالت توده (a) و در ابعاد نانو (b)

در طیف $^1\text{HNMR}$ (شکل ۲) یک نوار تک شاخه در δ برابر با ۹٫۱ ppm و یک نوار دو شاخه در δ برابر با ۸٫۶ ppm و یک نوار دو شاخه در δ برابر با ۸٫۳ ppm و یک نوار دو شاخه-دو شاخه در δ برابر با ۷٫۵ ppm که مربوط به CH‌های حلقه آروماتیکی لیگاند 3-bpdh هستند؛ مشاهده می‌شود. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود؛ تمام این نوارها از طریق شکافتگی از راه دور به شاخه‌های ریزتر شکافته شده‌اند. نواری که در ناحیه آلیفاتیک مشاهده می‌شود مربوط به پروتون‌های گروه‌های متیل لیگاند است ($\delta=2,3$).



شکل ۲ طیف $^1\text{HNMR}$ (حلال DMSO) از بسیار کوئوردیناسیونی (۱)

تصاویر ظروف مربوط به بررسی ویژگی ضدباکتریایی بر باکتری باسیلوس آلوی (RITCC 2384) در شکل ۷ نشان داده شده است. ملاک ارزیابی ویژگی ضدباکتریایی، اندازه قطر هاله ایجاد شده حول ماده ضدباکتری مورد بررسی است که این اندازه نیز ناشی از عدم رشد باکتری است.

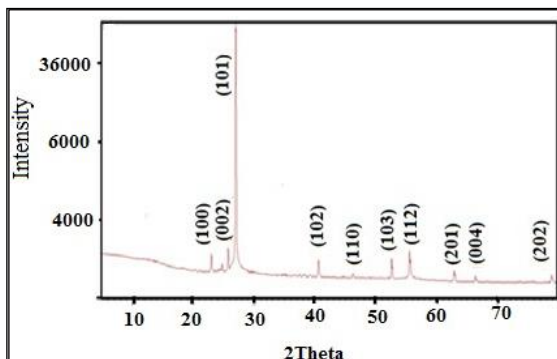
باسیلوس آلوی یک باکتری گرم مثبت، متحرک، اسپوردار و مولد بیماری لوک اروپایی^۲ است. این بیماری، یک بیماری مهم در صنعت زنبورداری است. این باکتری در برابر شرایط نامساعد محیط بسیار مقاوم بوده و قادر است سالیان سال در محیط زنبورستانها به صورت نهفته باقی بماند و به محض آماده شدن شرایط، رشد کرده و ضایعاتی را در زنبورعسل ایجاد کند [۱۱]. در حال حاضر آنتی بیوتیک‌های متعددی علیه بیماری لوک اروپایی زنبورعسل استفاده می‌شود ولی با توجه به عدم تأثیر آنها روی اسپور باکتری مذکور، درمان قطعی بیماری صورت نمی‌گیرد. از طرف دیگر چون باقیمانده مواد دارویی در فراورده‌های زنبورعسل خطراتی برای مصرف‌کنندگان ایجاد می‌کند؛ لذا بایستی در پی یافتن راه‌ها و مواد دارویی مؤثر و کم‌خطر برای سلامتی انسان و زنبورعسل بود.



شکل ۷ پلیت حاوی نانوسپار کوئوردیناسیونی (F)، نانوذرات ZnO (E) و

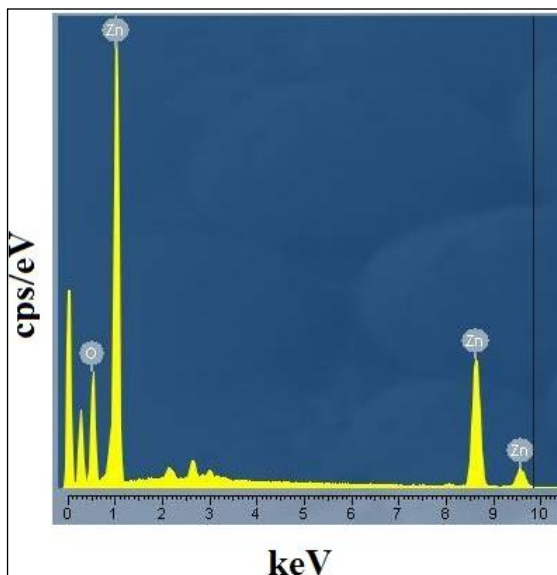
سپار کوئوردیناسیونی در حالت توده (D)

از پیش‌ماده نانوساختارهای بسیاری اولیه آن تأیید می‌شود. اندازه متوسط دانه‌ها را می‌توان بر اساس رابطه شرر^۱ ($D = k\lambda / \beta \cos\theta$) به دست آورد که در آن D اندازه ذرات برحسب نانومتر، λ طول موج پرتو ایکس برحسب نانومتر، β پهنای بلندترین پیک در نصف ارتفاع برحسب رادیان، θ زاویه پراش بلندترین پیک برحسب درجه است. بر اساس این رابطه قطر نانوساختارهای روی (II) اکسید برابر با ۳۹ nm محاسبه شده است.



شکل ۵ الگوی XRD روی (II) اکسید

همچنین آنالیز EDAX وجود عنصر روی و اکسیژن را در این ساختار نشان می‌دهد (شکل ۶).



شکل ۶ تصویر حاصل از آنالیز EDAX

1. Scherrer

2. European foulbrood

داده‌های (جدول ۱) فعالیت ضدباکتریایی لیگاند، بسیار کوئوردیناسیونی در حالت توده و در مقیاس نانو، نانوذرات روی (II) اکسید، پنی‌سیلین و سولفامتاکسازول (SXT) به‌عنوان استاندارد دارویی را نشان می‌دهند. این نتایج نشان می‌دهند که لیگاند فعالیت ضدباکتریایی کمتری در مقایسه با استانداردهای دارویی و بسیار کوئوردیناسیونی علیه باکتری باسیلوس آلوی دارد. افزایش ویژگی ضدباکتریایی بسیار کوئوردیناسیونی (I) در مقایسه با لیگاند را می‌توان به وجود بار مثبت یون مرکزی روی (II) نسبت داد. از طرفی به‌خاطر پیوند مکان‌های کوئوردینه شونده نیتروژن لیگاند به اتم مرکزی، بارالکتیکی در کل مجموعه کمپلکس پخش شده و موجب افزایش طبیعت چربی‌دوستی کمپلکس نهایی خواهد شد. لذا، یک چنین کمپلکس چربی‌دوستی بهتر می‌تواند در غشای باکتری نفوذ کرده و به‌عنوان یک عامل ضد میکروب عمل کند. همین موضوع در مورد کمپلکس کادمیم (II) در کاری مشابه قابل مشاهده است [۱۲] که توانسته است فعالیت ضد میکروبی یکسانی با ترکیب (I) داشته باشد. تنها مزیت ترکیب تهیه شده از یون‌های روی (II) در این کار نسبت به کادمیم (II)، سمیت کم آن و اثرات جانبی کمتر بر سلول‌های زنده و سالم است. همچنین، بسیار کوئوردیناسیونی در مقیاس نانو در مقایسه با این بسیار در حالت توده فعالیت ضدباکتریایی بهتری نشان می‌دهد که به‌احتمال به‌دلیل کاهش اندازه ذرات آن است.

داده‌های حاصل از MIC (جدول ۲) نشان می‌دهد همه ترکیبات مورد مطالعه علیه باکتری باسیلوس آلوی مؤثرند ولی بسیار کوئوردیناسیونی در مقیاس نانو همان‌طور که انتظار می‌رود؛ فعالیت بیشتری در مقایسه با بسیار کوئوردیناسیونی در حالت توده دارد. مطالعات زیادی در زمینه ویژگی ضدباکتریایی نانوذرات فلزی بر روی انواع متفاوت باکتری‌های گرم مثبت و منفی انجام شده است. از جمله نی‌پور و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که فلزات روی و نقره دارای ویژگی ضدباکتریایی بر روی باکتری‌های پاتوژن سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس هستند [۱۳]. سازوکار عمل روی (II) اکسید، شبیه سایر ترکیبات حاوی فلز است که اغلب از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می‌کنند. با توجه به این ویژگی نانوذرات روی (II) اکسید به‌عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با باکتری‌های گرم مثبت و منفی تا به حال مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴]. احتمال می‌رود که یون‌های آزاد شده فلزی با گروه‌های تیول SH و پروتئین‌های سطحی سلول‌های باکتری واکنش می‌دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشای سلول‌های باکتری عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره سلول را به عهده دارند نانولوله‌های روی (II) اکسید با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال شدن و نفوذناپذیری غشاء شده و با کاهش تراوایی آن، در نهایت باعث مرگ سلول می‌شوند.

جدول ۱ میانگین قطر هاله عدم رشد باسیلوس آلوی برای نمونه‌ها

لیگاند	بسیار کوئوردیناسیونی		نانومیل‌های ZnO	پنی‌سیلین	سولفامتاکسازول (SXT)	نمونه
	در حالت توده	در مقیاس نانو				
۱۲	۱۴	۱۶	۱۲	۴۰	۳۴	میانگین قطر هاله عدم رشد (mm)

جدول ۲ مقدار MIC نمونه‌ها علیه باکتری باسیلوس آلوی

لیگاند	بسیار کوئوردیناسیونی		نانومیل‌های ZnO	نمونه
	در حالت توده	در مقیاس نانو		
۱۲/۵	۳/۱۲۵	۰/۱۹۹۲	۰/۰۴۹۲	MIC (mg/ml)

مقیاس نانو، فعالیت ضدباکتریایی بیشتری در مقایسه با حالت توده نشان داده است. برای توضیح این تفاوت می‌توان به کاهش اندازه ذرات اشاره کرد که طی آن نسبت سطح به حجم افزایش یافته و با ازدیاد سطح تماس ماده با سلول‌های باکتری، ویژگی‌های ضدباکتریایی آن نیز بهبود می‌یابد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید باهنر کرمان صمیمانه سپاسگزارند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اسپار کوئوردیناسیونی $[Zn(3-bpdh)Cl_2]_n$ (1) در حالت توده و نانو و همچنین نانوذرات روی (II) اکسید تهیه و ویژگی‌های ضدباکتریایی آن‌ها بر باکتری باسیلوس آلی عامل بیماری لوک اروپایی زنبورعسل بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که اسپار کوئوردیناسیونی (1) فعالیت ضدباکتریایی بهتری را نسبت به لیگاند و روی (II) اکسید در بین ترکیبات آزمایش شده دارد که دلیل آن می‌تواند وجود هم‌زمان لیگاند آلی و عنصر فلزی در ساختار این ترکیب باشد. از طرفی، اسپار کوئوردیناسیونی (1) در

مراجع

- [1] Wilson, R.; Dowling, R.B.; Thorax 53, 213-219, 1998.
- [2] Khaleel Basha, S.; Vijaya Lakshmi, K.; Sugantha Kumari, V.; Sens Biosensing Res. 10, 34-40, 2016.
- [3] Shankar, S.H.; Rhim, J.W.; Carbohydr. Polym. 163, 137-145, 2017.
- [4] Chuansheng, C.H.; Weiwei, Y.; Tiangui, L.; Shiyi, C.; Yuenhong, T.; Sol. Energ. Mat. Sol. Cells 160, 43-53, 2017.
- [5] Murali, M.; Mahendra, C.; Hushan, N.; Rajashekar, N.; Sudarshana, M.S.; Raveesha, K.A.; Amruthesh, K.N.; Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 179, 104-109, 2017.
- [6] Handy, R.D.; Kammer, F.V.; Lead, J.R.; Hasselov, M.; Owen, R.; Crane, M.; Ecotoxicology 17, 287-314, 2008.
- [7] Ostrowski, A.D.; Martin, T.; Conti, J.; Hurt, I.; Harthorn, B.H.; J. Nanopart. Res. 11, 251-257, 2009.
- [8] Youssef, A.M.; Int. J. Biol. Macromolec. 97, 561-567, 2017.
- [9] Aboutorabi, L.; Morsali, A.; Inorg. Chim. Acta 363, 2506-2514, 2010.
- [10] Han, Y.; Wang, Ch.; Zheng, Z.; Sun, J.; Nie, K.; Zuo, J.; Zhang, J.; J. Solid State Chem. 227, 87-91, 2015.
- [11] Forsgren, E.; J. Invertebr. Pathol. 103, S5-S9, 2010.
- [12] Kamali A.; Rashidi Ranjbar Z.; Rezvan Nejad E.; Nanochem. Res. 1(2), 81-87, 2016.
- [13] Nabipour, Y.; Rostamzad, A.; Ahmadyasbchin, S.; Sci. J. of Ilam Uni. of Med. Sci. (SJIUMS) 23, 173-181, 2015.
- [14] Wang, H.; Wick, R.L.; Xing, B.; Environ. Pollut. 157, 1171-1177, 2009.

