

## تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تولیدشده توسط عصاره گیاه دارویی چویل

نویسندگان:

زهرا زارعی<sup>۱</sup>، دامون رزمجویی\*<sup>۲</sup>، جواد کریمی<sup>۳</sup>

۱- گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید اشرفی اصفهانی، اصفهان، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.1, Spring 2018

## چکیده:

**مقدمه:** نانو ذرات نقره با اثرات وابسته به اندازه ذره‌ای در علم پزشکی کاربردهای بسیاری دارند. سنتز نانو ذرات نقره به دلیل کاربردهای فراوان در شناسایی عوامل بیماری‌زا، درمان سرطان و داروسازی هدفمند، بسیار ارزشمند است. هدف از پژوهش حاضر تولید نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه چویل (*Ferulago angulata*) و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن می‌باشد.

**روش کار:** عصاره به‌دست‌آمده از گیاه چویل به مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در معرض محلول نیترات نقره ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف (۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) قرار گرفت. بعد از تغییر رنگ به سمت قهوه‌ای، با استفاده از تحلیل‌های UV-visible، DLS، SEM، TEM، XRD و FTIR وجود نانو ذرات نقره اثبات شد.

**یافته‌ها:** طیف‌سنجی UV-visible نشان داد که نانو ذرات نقره دارای پیک جذب در ۴۵۰ نانومتر بودند. با توجه به نتایج حاصل قطر متوسط نانو ذرات ۱۹ نانومتر با حدود اندازه ۳ تا ۶۲ نانومتر و به شکل کروی بودند. در نهایت، فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بررسی و اثبات شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاکی از کارکرد خوب این گیاه در سنتز نانو ذرات نقره است، بنابراین می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌های منتقل شده توسط باکتری در حوزه پزشکی مفید واقع شود.

**واژگان کلیدی:** بیوسنتز، نانو ذرات نقره، ضد باکتریایی، چویل

Pars J Med Sci 2018;16(1):24-34

## مقدمه:

باکتری‌ها از جمله عواملی هستند که باعث عفونت‌های بیمارستانی و بروز مشکلات بهداشتی می‌شوند. امروزه در سراسر جهان به سبب شیوع بیماری‌های عفونی به دلیل باکتری‌های بیماری‌زای مختلف و افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک، شرکت‌های داروسازی و محققان برای عوامل ضد باکتری جدید در حال جستجو هستند [۱]. از این رو، نانو ذرات نقره به‌عنوان عوامل آنتی باکتریال، آنتی‌ویروس و ضد فساد توسعه پیدا کرده‌اند [۲]. مزیت عمده استفاده از عصاره گیاهان برای سنتز نانو ذرات نقره در این است که به‌راحتی در دسترس، امن و در اکثر موارد غیر سمی بوده و همچنین به علت دارا بودن عوامل کاهنده متنوع، سریع‌تر از میکروب‌ها در سنتز یون‌های نقره عمل می‌کنند. گیاهان به علت سازگاری با محیط می‌توانند به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون این که آسیب‌های زیست‌محیطی داشته باشند [۳، ۴]. تاکنون تولید زیستی نانو ذرات به‌وسیله گیاهانی مانند *Dunaliella salina* [۵]، *Sargassum polycystum* [۶]، *Sambucus nigra L.* [۷]، *Terminalia chebula* [۸]، *Paniculata diospyros* [۹]، *Malva neglecta* [۱۰]، شبر ایران [۱۱] و بسیاری از دیگر گیاهان انجام گرفته است. نانو ذرات نقره در علم پزشکی برای درمان سوختگی، تولید مواد دندان‌پوشش‌های فلزی، اصلاح و تصفیه آب، گندزدا و مواد ضد عفونی‌کننده کاربرد دارند. نانو ذرات

باکتری‌ها از جمله عواملی هستند که باعث عفونت‌های بیمارستانی و بروز مشکلات بهداشتی می‌شوند. امروزه در سراسر جهان به سبب شیوع بیماری‌های عفونی به دلیل باکتری‌های بیماری‌زای مختلف و افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک، شرکت‌های داروسازی و محققان برای عوامل ضد باکتری جدید در حال جستجو هستند [۱]. از این رو، نانو ذرات نقره به‌عنوان عوامل آنتی باکتریال، آنتی‌ویروس و ضد فساد توسعه پیدا کرده‌اند [۲]. مزیت عمده استفاده از عصاره گیاهان برای سنتز نانو ذرات نقره در این است که به‌راحتی در دسترس، امن و در اکثر موارد غیر سمی بوده و همچنین به علت دارا بودن عوامل کاهنده متنوع، سریع‌تر از میکروب‌ها در سنتز یون‌های نقره عمل می‌کنند. گیاهان به علت سازگاری با محیط می‌توانند به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون این که آسیب‌های زیست‌محیطی داشته باشند [۳، ۴]. تاکنون تولید زیستی نانو ذرات به‌وسیله گیاهانی مانند *Dunaliella salina* [۵]، *Sargassum polycystum* [۶]، *Sambucus nigra L.* [۷]، *Terminalia chebula* [۸]، *Paniculata diospyros* [۹]، *Malva neglecta* [۱۰]، شبر ایران [۱۱] و بسیاری از دیگر گیاهان انجام گرفته است. نانو ذرات نقره در علم پزشکی برای درمان سوختگی، تولید مواد دندان‌پوشش‌های فلزی، اصلاح و تصفیه آب، گندزدا و مواد ضد عفونی‌کننده کاربرد دارند. نانو ذرات

\* نویسنده مسئول، نشانی: بهبهان، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان.

پست الکترونیک: d.razmjoue@bkatu.ac.ir &amp; d.razmjoue@gmail.com

تلفن تماس: ۰۹۱۷۷۱۷۵۰۲۹

پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۳۱

اصلاح: ۱۳۹۷/۲/۱۸

دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۹

به نانو ذرات نقره با تغییر رنگ محلول‌ها و طیف‌سنجی بررسی و نمونه‌ها در ۴ روز متوالی، هر ۲۴ ساعت یک‌بار توسط بازرسی چشمی و دستگاه اسپکتروفوتومتر تجزیه‌وتحلیل و بهترین زمان برای تشکیل نانو ذرات نقره شناسایی شد [۱۵].

### تعیین مشخصات نانو ذرات نقره:

پس از تکمیل فرآیند سنتز نانو ذرات نقره، به‌منظور تغلیظ نانو ذرات بیوسنتز شده، محلول کلئیدی نانو ذرات با دور ۱۴۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس محلول رویی دور ریخته شد. به‌منظور شستشو و پراکنده کردن نانو ذرات ته‌نشین شده، با اضافه کردن اتانول، عمل سانتریفیوژ ۳ بار تکرار شد. پس از عمل سانتریفیوژ، سوسپانسیون باقی‌مانده بر روی ویفر سیلیکونی نشاندند و نمونه خشک‌شده برای تحلیل‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت [۱۶]. برای تعیین توزیع اندازه نانو ذرات از دستگاه DLS مدل VASCO/CORDOUAN TECHNOLOGIES، آنالیز SEM از دستگاه مدل EM3200 مونتاز شده توسط شرکت KYKY کشور چین، آنالیز TEM از دستگاه مدل CM10 ساخت شرکت PHILIPS آلمان، آنالیز XRD از دستگاه مدل FTIR D8ADVANCED ساخت شرکت Bruker آمریکا و آنالیز FTIR از دستگاه مدل Spectrum RXI ساخت شرکت Perkin Elmer آمریکا استفاده شد.

### بررسی خاصیت آنتی باکتریال نانو ذرات نقره:

غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره (۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تولیدشده برای بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال نانو ذرات نقره تهیه شد. باکتری‌های استاندارد Staphylococcus aureus (ATCC 6538)، Bacillus cereus (ATCC 6633)، Escherichia coli (ATCC 25299) و Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027) از دانشکده زیست دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند. پودر مولر هینتون آگار ۳۸ گرم در لیتر را در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و اتوکلاو می‌شود. در نهایت به روش دیسک کاغذی خاصیت آنتی‌باکتریایی نانو ذرات نقره را در غلظت‌های ۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بررسی شد [۱۷]. به‌منظور بررسی‌های آماری از آزمون تجزیه واریانس استفاده شد. جداول نیز به کمک نرم‌افزار Excel رسم شدند و کلیه بررسی‌های آماری به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

### یافته‌ها:

با اضافه کردن غلظت‌های مختلف نیترات نقره به عصاره گیاه چویل، واکنش کاهش و تبدیل  $Ag^+$  به  $Ag^0$  پس از گذشت ۲۴ ساعت در تمام نمونه‌ها انجام شد و باگذشت زمان رنگ نمونه‌ها تیره‌تر شده و از قهوه‌ای روشن به قهوه‌ای تیره تغییر رنگ دادند (شکل ۱). نتایج سنجش چگالی نوری نشان داد که حداکثر میزان

نقره‌ای که به روش زیستی تولید می‌شوند دارای خصوصیتی همچون میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا هستند. باوجود اینکه اثرات ضد میکروبی نقره روی باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها به‌خوبی شناخته شده است، اما سازوکار و روش اثر نقره روی انواع میکروب‌ها هنوز ناشناخته است. اثرات ضد باکتری نانو ذرات نقره از نقره بسیار بیشتر بوده و این امر به علت نسبت بالای سطح به حجم در نانو ذرات نقره است که موجب بالا رفتن تأثیر نانو ذرات نقره روی باکتری‌ها می‌شود [۱۲]. گیاه چویل بانام علمی *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. گیاهی بسیار معطر است از خانواده چتریان (Apiaceae) است. این گیاه دارای حدود سی‌وپنج گونه در سراسر دنیا می‌باشد که تعداد هفت گونه از آن در ایران رویش دارد [۱۳]. این گیاه که بومی ایران و خاص منطقه غرب است از دیرباز به‌صورت سنتی با افزودن به مواد لبنی و روغن، علاوه بر ایجاد طعم بسیار مطبوع، از فساد آن‌ها نیز جلوگیری می‌کند [۱۴]. با توجه به خواص دارویی گیاه مذکور و اهمیت نانو ذرات نقره تولیدشده توسط گیاهان، این تحقیق بر آن است تا با الگوگیری مناسب، بتواند در مسیر رسیدن به روش‌های کم‌خطر و مطلوب‌تر در تهیه نانو ذرات نقره زیستی و در جهت چشم‌اندازهای جهانی گام بردارد. هدف این پژوهش بررسی پتانسیل عصاره گیاه چویل در تولید نانو ذرات نقره و همچنین بررسی اثر ضد باکتریایی نانو ذرات تولیدشده علیه چهار باکتری استفیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا است.

## روش کار:

### سنتز نانو ذرات نقره از عصاره گیاه:

در این مطالعه، گیاه چویل در مرحله گلدهی از بخش دشمن زیاری شهرستان ممسنی در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. به‌منظور آماده‌سازی عصاره گیاه، ۱۵ گرم از نمونه خشک و پودر شده گیاه را برداشته، بعداز آن ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آب/ اتانول به نسبت ۷۰/۳۰ (V/V) به آن اضافه و به مدت ۴۸ ساعت عصاره در دمای اتاق نگهداری شد و پس‌از آن با کاغذ صافی با منافذ ۲۵ میکرونی و فیلتر ۰/۴ صاف شد. برای تهیه محلول یک‌دهم مولار، ۰/۸۴۹ گرم نیترات نقره ( $AgNO_3$ ) را در ۵۰ میلی-لیتر آب مقطر حل کرده و به‌عنوان محلول ذخیره از آن استفاده شد. غلظت‌های مختلف از محلول نیترات نقره (۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) با غلظت ثابتی از عصاره گیاه (۲۰۰ میکرو لیتر) ترکیب و یک نمونه شاهد، بدون تیمار با نیترات نقره تهیه شد. با توجه به این‌که غلظت کل محلول‌ها ۴ میلی‌لیتر تنظیم شده بود، در نهایت با اضافه کردن مقدار لازم از اتانول به نمونه‌های آماده‌شده محلول نهایی به دست آمد. احیای کامل یون‌های  $Ag^+$

### تیمار باکتری‌ها توسط نانو ذرات نقره:

برای تعیین تأثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره حاصل از گیاه چویل بر رشد باکتری‌ها به‌طور جداگانه و در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل آماری انجام و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. شکل ۴ نشان می‌دهد که قطر هاله تشکیل شده در باکتری‌های با غلظت‌های مشابه نانو ذرات نقره، تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشت، این در حالی است که با افزایش غلظت نانو ذرات نقره، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره حاصل از گیاه چویل بر روی رشد باکتری‌ها تأثیر معناداری در سطح ۱٪ داشت (جدول ۱).

نتایج آزمون دانکن نشان‌دهنده آن است که هر چه غلظت نانو ذرات نقره حاصل از گیاه بیشتر بوده قطر هاله عدم رشد نیز بزرگ‌تر است، به‌گونه‌ای که غلظت ۴۰ بیشترین و غلظت ۵ کمترین قطر هاله عدم رشد را داشته است، این در حالی است که بین غلظت ۵ و ۱۰ تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. در هر ستون آن دسته از میانگین‌ها که حروف مشترک دارند با یکدیگر تفاوت معنادار آماری ندارند، حرف A نشان‌دهنده بالاترین مقدار میانگین قطر هاله می‌باشد (جدول ۲ و نمودار ۵).

جذب محلول‌های حاوی نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه چویل در ۴۵۰ نانومتر بوده و شدت جذب با افزایش غلظت  $AgNO_3$  افزایش می‌یابد (نمودار ۱).

### مورفولوژی و اندازه نانو ذرات نقره:

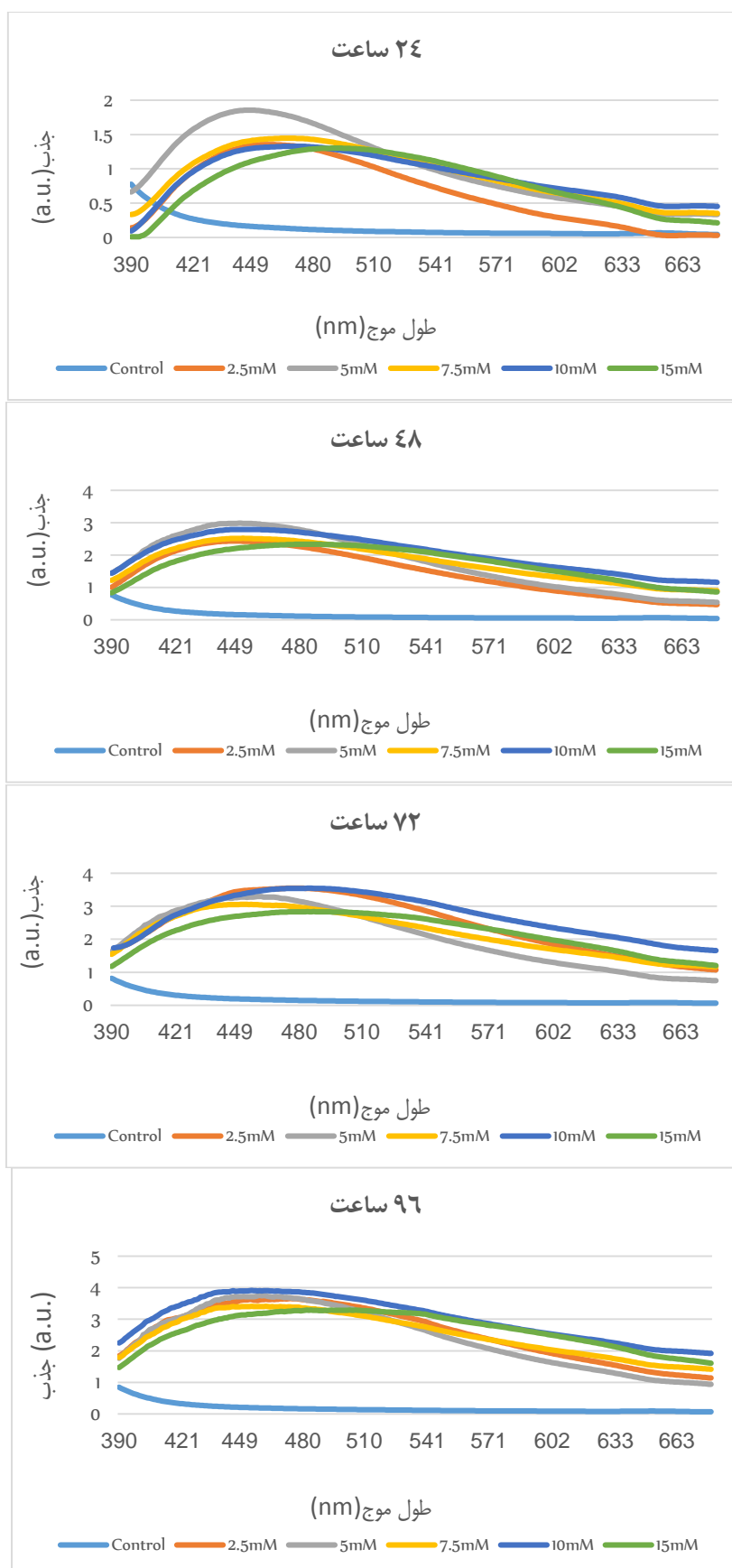
با توجه به نتایج آنالیزهای DLS، SEM، TEM، مشخص شد که نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه چویل به شکل کروی و دارای قطر متوسط ۱۹ نانومتر بودند که ذرات ۳ تا ۶۲ نانومتر نیز در آن‌ها مشاهده شد (نمودار ۲، شکل ۲ و ۳).

بر اساس نمودار ۳، اندیس‌های میلر در سطوح (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) که به ترتیب مربوط به زاویه‌های ۳۸، ۴۴/۹، ۶۴ و ۷۷/۲ درجه هستند، وجود نانو کریستال‌های نقره را در نمونه حاصل از عصاره گیاه چویل ثابت می‌کنند.

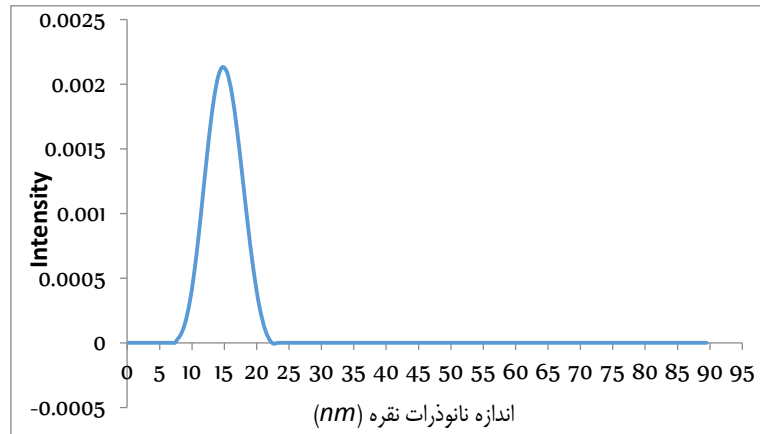
طیف FTIR نانو ذرات نقره تولیدشده از عصاره گیاه چویل دارای پیک‌های مشخصی در محدوده  $3421/71 \text{ cm}^{-1}$  که مربوط به پیوند کششی O-H و نشان‌دهنده فنول‌ها،  $3050/43$  که نشان‌دهنده حلقه آروماتیک پیوند کششی C-H،  $2922/59$  که نشان‌دهنده پیوند کششی نامتقارن  $CH_2$ ،  $2857/14$  که نشان‌دهنده کششی متقارن  $CH_2$ ،  $1589/30$  که نشان‌دهنده حلقه آروماتیک C-C و  $1425/71$  که نشان‌دهنده پیوند C-O بودند. وجود پیک در عددی موج  $1263/45$  پیوند کششی C-O و  $1080/21$  حلقه فنولی C=O و  $813/61$  و  $670/53$  پیوند CH را نشان می‌دهند (نمودار ۴).



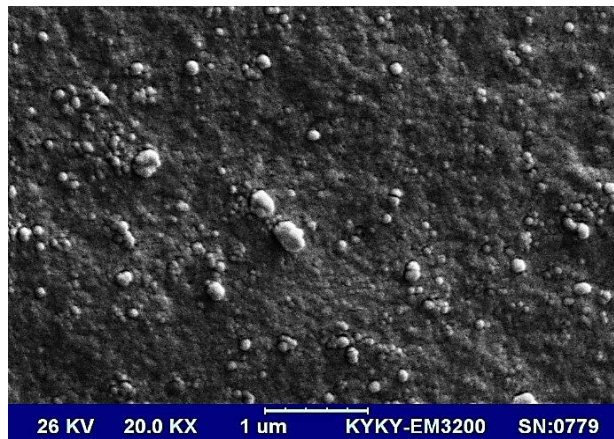
شکل ۱: تغییر در رنگ محلول‌ها که نشانه‌ای از تشکیل نانو ذرات نقره است. محلول‌ها به ترتیب از بالا به پایین در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از شروع انجام واکنش هستند. F نشان‌دهنده گیاه چویل و اعداد ۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۵ نشان‌دهنده غلظت محلول نیترات نقره می‌باشد.



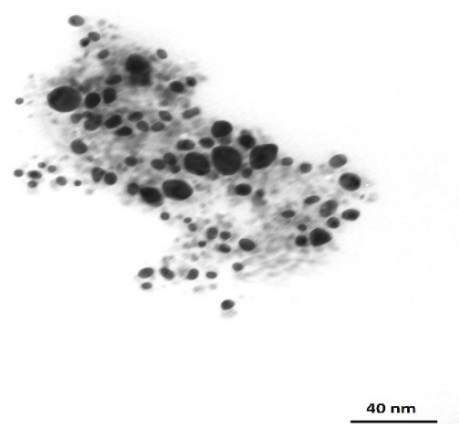
نمودار ۱: طیف جذب UV-vis برای غلظت‌های مختلف  $\text{AgNO}_3$  (۰، ۲٫۵، ۵، ۷٫۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) در ۴ روز متوالی (به ترتیب از بالا به پایین در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت)



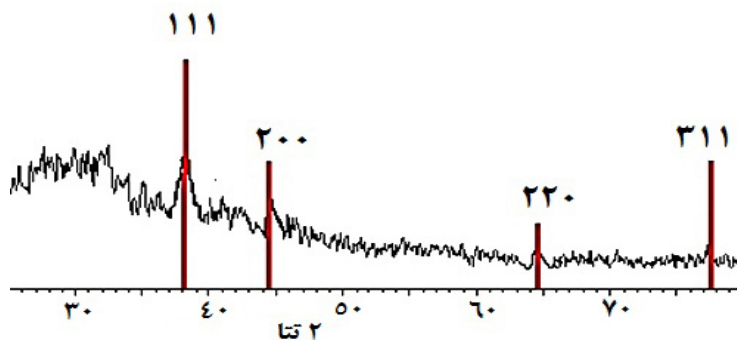
نمودار ۲: نمودار توزیع اندازه نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه چویل



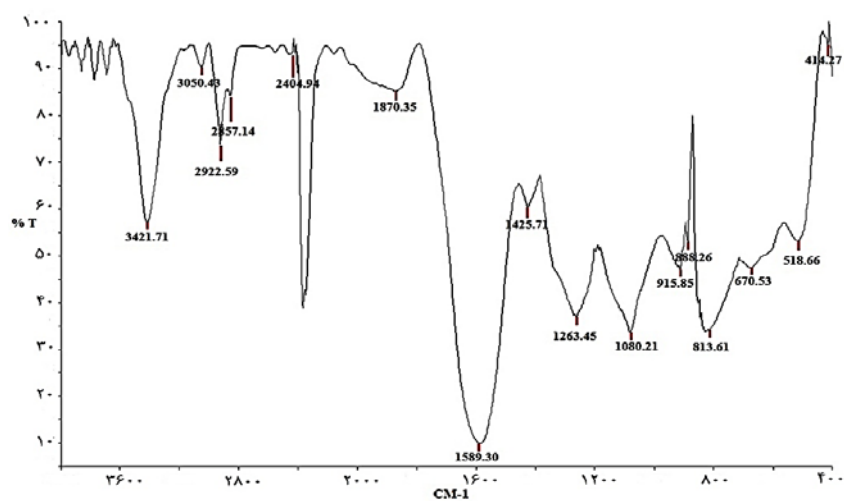
شکل ۲: تصویر SEM نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه چویل



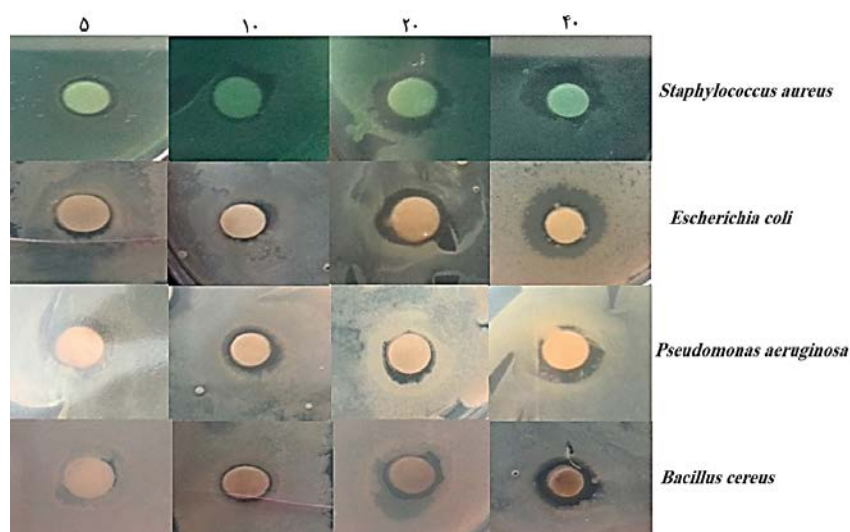
شکل ۳: تصویر TEM نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه چویل



نمودار ۳: طیف XRD نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه *F. angulata*



نمودار ۴: طیف FTIR نانو ذرات نقره حاصل از عصاره گیاه *F. angulata*



شکل ۴: تصاویر هاله ایجادشده اطراف نانو ذرات نقره نسبت به ۴ نوع باکتری آزمایش شده (منظور از اعداد بالا غلظت‌های نانو ذرات نقره برحسب میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.)

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌ها

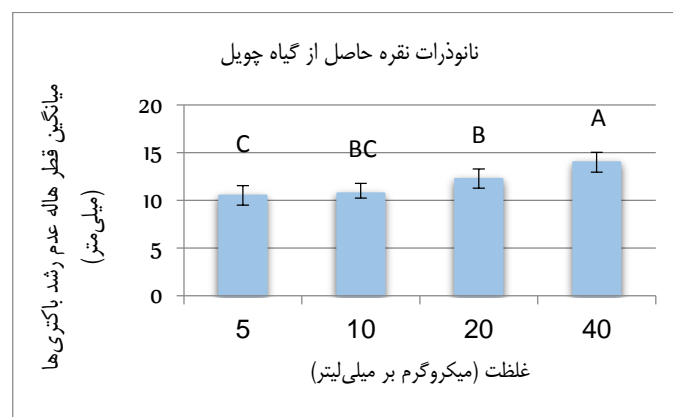
سطح معناداری	F مقدار	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	اثر غلظت
**۰۰۱/۰*	۱۰	۱۰/۴۱	۳	۳۱/۲۵	اثر غلظت
		۱/۰۴	۱۲	۱۲/۵۰	خطا
			۱۵	۴۳/۷۵	کل

\*\*معناداری در سطح ۱ درصد

جدول ۲: جدول مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌ها

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	نانو ذرات نقره حاصل از گیاه چویل	
	میانگین قطر هاله (میلی‌متر)	انحراف معیار
۵	۱۰/۵	۱
۱۰	۱۰/۷۵	۰/۵
۲۰	۱۲/۲۵	۰/۹۵
۴۰	۱۴	۱/۰۴

حروف A, B, BC و C کلاس‌بندی بر اساس آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد.



نمودار ۵: مقایسه غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره حاصل از گیاه چویل بر روی قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها (حروف A, B, BC و C کلاس‌بندی بر اساس آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد).

## بحث:

گزارش‌ها حاکی از آن است که با افزایش میزان عصاره، مقدار ترکیبات کاهنده و پایدارکننده نظیر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ترپنوئیدی در محلول افزایش یافته و میزان یون بیشتری را در معرض کاهش قرار می‌دهند [۱۸]. همچنین با افزایش میزان عصاره، علاوه بر افزایش در میزان نانو ذرات سنتز شده و میزان جذب، نانو ذراتی مطلوب‌تر با اندازه کوچک‌تر تولید می‌شوند [۱۹]. در نتیجه میزان ۲۰۰ میکرو لیتر از عصاره به‌عنوان حجم بهینه انتخاب شد. با افزایش غلظت یون فلزی، جذب خوانده‌شده افزایش می‌یابد و این افزایش غلظت و افزایش جذب، نشان‌دهنده افزایش سرعت واکنش و تولید نانو ذرات بیشتر است [۱۵]. علاوه بر این، با افزایش میزان جذب، افزایش کمی در اندازه نانو ذرات

سنتز شده ایجاد خواهد شد که می‌تواند به دلیل چسبیدن نانو ذرات به یکدیگر باشد [۲۰]. در نتیجه غلظت ۵ میلی‌مولار از یون نقره به‌عنوان غلظت مناسب انتخاب شد. نانو ذراتی که پایدار هستند با گذر زمان تغییر چشمگیری در میزان جذب آن‌ها مشاهده نمی‌شود، اما در برخی از نانو ذرات مشاهده شده که این پدیده به علت چسبندگی نانو ذرات به هم باعث کاهش در مقدار جذب و پهن‌شدگی طیف‌ها می‌شود [۲۱]. در نتیجه زمان ۲۴ ساعت، بهترین زمان مناسب برای سنتز نانو ذرات در نظر گرفته شد. تغییر رنگ مشاهده‌شده از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره در عصاره گیاه، یک نشانه واضح از تشکیل نانو ذرات نقره در محلول واکنش بود، که این تغییر رنگ ناشی از ارتعاشات پلاسمون سطحی در نانو ذرات

[۲۸]. خاصیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره در مطالعات زیادی بررسی شده و به اثبات رسیده است. نتایج حاصل از تحقیقات راشید و همکاران [۲۹]، ویلاس و همکاران [۳۰]، سومان و ری [۳۱] نشان داد که نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاهان مورد مطالعه آن‌ها دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی در برابر باکتری‌ها است. با توجه به مطالعات فوق می‌توان نتیجه گرفت که در میان روش‌های تولید نانو ذرات، روش تولید زیستی روشی پاک، ارزان، کم‌خطر و سازگار با محیط زیست محسوب می‌شود. نانو ذرات نقره‌ای که با این روش تولید می‌شوند به علت عدم به کارگیری مواد شیمیایی خطرناک پتانسیل این را دارند تا در صنایع مرتبط با سلامت انسان مانند بهداشت و درمان مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به اثبات فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره پیشنهاد می‌شود به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده مؤثر در زمینه‌های مختلف جهت پیشگیری از آلودگی و انتشار عوامل عفونت و همچنین استریل نمودن محیط‌های اتاق عمل به کار رود.

### نتیجه‌گیری:

به طور کلی نتایج این پژوهش پتانسیل بالای گیاه چویل را در احیای یون‌های فلزی و سنتز نانو ذرات فلزی نشان می‌دهد و می‌توان بیان کرد که این گیاه منبع بالقوه تولید نانو ذرات است. همچنین این نکته را به اثبات می‌رساند که استفاده از گیاهان به عنوان یک روش زیستی سریع و ارزان می‌تواند جایگزین روش‌های فیزیکی و شیمیایی در سنتز نانو ذرات فلزی قرار گیرد. علاوه بر این، می‌توان گفت که گیاه دارویی چویل علاوه بر نقش دارویی ویژه‌ای که دارد، می‌تواند برای تولید نانو ذرات نقره در مصارف پزشکی و داروسازی استفاده شود.

### تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مصوب در مقطع کارشناسی ارشد است. بدین وسیله از مسئولین محترم آزمایشگاه زیست‌شناسی و بیولوژی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان که در اجرای این پژوهش همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### تعارض و منافع:

هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

ذرات است [۲۲]. با توجه به این که نانو ذرات نقره بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر جذب دارند، طیف UV-visible نشان می‌دهد که مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی برای نانو ذرات نقره حاصل در ۴۵۰ نانومتر رخ داده است. الگوی XRD نانو ذرات نقره حاصل از گیاه چویل پیک‌هایی در سطوح (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) را نشان می‌دهد که تأییدی بر وجود نانو کریستال‌های نقره است. برخی از پژوهشگران همچون ورما و ماهاتا [۲۳] و مورالس - لوکی و همکاران [۲۴] وجود این پیک‌ها را در نمودار XRD نانو ذرات نقره سنتز شده در مطالعات خود گزارش دادند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. طیف FTIR نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه نشان داد که گروه عاملی OH- که مشخص کننده ترکیبات فنولی موجود در گیاهان است باعث احیای یون نقره و سنتز نانو ذرات نقره شده است. نانو ذراتی که با استفاده از عصاره گیاهان سنتز می‌شوند، معمولاً با لایه‌ای از مواد آلی پوشانده می‌شوند که این لایه می‌تواند نقش حفاظتی در پایداری نانو ذرات داشته باشد [۲۵]. نتایج به دست آمده از نمودار FTIR همسو با برخی نتایج حاصل از مطالعات کالانگی و همکاران [۲۶] و مولداوان و همکاران [۷] است. این محققان نیز وجود گروه‌های عاملی O-H را در مطالعات خود اثبات کردند. فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره تولید شده با مشاهده و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های حاوی محلول نانو ذرات نقره برای تمامی میکروارگانیسم‌های *S. aureus*، *E. coli* و *p. aeruginosa* به اثبات رسید و مشخص شد که میزان تأثیر نانو ذرات نقره در باکتری‌های مختلف، اختلاف معناداری نداشته و این فعالیت وابسته به میزان غلظت محلول نانو ذرات نقره به کار برده شده می‌باشد. نتایج جابین و همکاران [۲۷] در بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره تولید شده به وسیله گیاه پایایا بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مشابه با نتایج تحقیق حاضر است. این محققین نیز اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره را بر روی هر دو باکتری گرم مثبت و منفی یکسان ارزیابی کردند و این اثر را به تأثیر نانو ذرات نقره بر روی دیواره و غشای باکتری‌ها نسبت دادند. بسیاری از منابع نشان داده‌اند که اثر مرگ‌بار نانو ذرات نقره به دلیل عمل هم‌زمان روی دیواره، توانایی نفوذ به غشاء سیتوپلاسمی و اثر بر زنجیره تنفس سلولی، RNA و DNA است که این ساختارها در باکتری‌های گرم مثبت و منفی یکسان است. بنابراین، خواص ضد باکتریایی نانو ذرات نقره برای هر دو گروه از باکتری‌ها تا حدودی یکسان است



## References:

- Manonmani V, Juliet V. Biosynthesis of Ag nanoparticles for the detection of pathogenic bacteria in food. *Int Conf Innov Manag Serv IPEDR* 2011;14:307-311.
- Vaidyanathan R, Kalishwaralal K, Gopalram S, et al. RETRACTED: Nanosilver—The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnol Adv* 2009;27(6):924-37.
- Wang Y, He X, Wang K, et al. Barbated Skullcup herb extract-mediated biosynthesis of gold nanoparticles and its primary application in electrochemistry. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2009; 73(1):75-9.
- Ahmad N, Sharma S, Alam MK, et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010; 81(1):81-6.
- Singh AK, Tiwari R, Kumar V, et al. Photo-induced biosynthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Dunaliella salina* and their anticancer potential. *J Photochem Photobiol B* 2017; 166:202-11.
- Palanisamy S, Rajasekar P, Vijayaprasath G, et al. A green route to synthesis silver nanoparticles using *Sargassum polycystum* and its antioxidant and cytotoxic effects: an in vitro analysis. *Mater Lett* 2017; 189:196-200.
- Moldovan B, David L, Achim M, et al. A green approach to phytomediated synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus nigra* L. fruits extract and their antioxidant activity. *J Mol Liquids* 2016;221:271-8.
- Espenti CS, Rao KK, Rao KM. Bio-synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* leaf extract and evaluation of its antimicrobial potential. *Mater Lett* 2016;174:129-33.
- Rao NH, Lakshmidivi N, Pammi SV, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using methanolic root extracts of *Diospyros paniculata* and their antimicrobial activities. *Mater Sci Eng C* 2016;62:553-7.
- Beyrami Miavaghi M, Pourakbar L. Phytosynthesis of silver nanoparticles by medicinal plant *Malva neglecta*. *Qom Univ Med Sci J* 2016;10(3):38-44.
- Khatami M, Soltaninejad M, Kaikavoosi K. Biosynthesis of gold nanoparticles using persian clover seed extracts. *Qom Univ Med Sci J* 2016;10(2):23-30.
- Kaviya S, Santhanalakshmi J, Viswanathan B, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus *sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2011; 79(3):594-98.
- Mozaffarian V. *Iranian Culture Names*. Farhang-e-Moosere Publishing; 1997: Tehran. (Persian)
- Loliger J. "Natural antioxidants". *Lipid technol* 1991; 3: 58-61.
- Rodríguez-León E, Iñiguez-Palomares R, Navarro RE, et al. Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts). *Nanoscale res lett* 2013;8(1):318.
- Mohasseli T, Poursidi Sh. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of sesame seeds. *Biotechnol Tarbiat Modares Univ* 2015; 6 (1): 10-20. (Persian)
- Shafa'i F, Poursidi Sh, Ataei A. "Investigating the Possibility of Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Determination of Its Specifications in Dandelion and Castor Plants and its Antibacterial Properties". Kerman: Ministry of Science, Research and Technology - Shahid Bahonar University of Kerman - Faculty of Agriculture; 2014.
- Dwivedi AD, Gopal K. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids Surf A Physicochemical Engin Aspects* 2010; 369(1):27-33.
- Dubey SP, Lahtinen M, Sillanpää M. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochem* 2010; 45(7): 1065-71.
- Vinod VT, Saravanan P, Sreedhar B, et al. A facile synthesis and characterization of Ag, Au and Pt nanoparticles using a natural hydrocolloid gum kondagogu (*Cochlospermum gossypium*). *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011; 83(2):291-8.
- Zakeri M, Fasihi J. Synthesis of gold nanoparticles using biomass of wheat and investigation of effective parameters. *Iran J Chem Chem Eng* 2011; 30(2): 35-41. (In Persian)
- Inbakandan D, Venkatesan R, Khan SA. Biosynthesis of gold nanoparticles utilizing marine sponge *Acanthella elongata* (Dendy, 1905). *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010;81(2):634-9.
- Verma A, Mehata MS. Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *J radiation Research applied sci* 2016;9(1):109-15.
- Morales-Luckie RA, Lopezfuentes-Ruiz AA, Olea-Mejía OF, et al. Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extracts of *Heterotheca inuloides* as reducing agent and natural fibers as templates: *Agave lechuguilla* and silk. *Materials Sci Eng C* 2016;69:429-36.
- Shankar SS, Rai A, Ahmad A, et al. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J Colloid Interface Sci* 2004; 275(2):496-502.
- Kalangi SK, Dayakar A, Gangappa D, et al. Biocompatible silver nanoparticles reduced from *Anethum graveolens* leaf extract augments the antileishmanial efficacy of miltefosine. *Exp parasitol* 2016; 170:184-92.
- Jain D, Daima KH, Kachhwaha S, et al. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities. *Dig J Nanomat Biostruct* 2009; 4(3):723-27.
- Klasen HJ. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns* 2000; 26(2), 131-138.
- Rashid MI, Mujawar LH, Rehan ZA, et al. One-step synthesis of silver nanoparticles using *Phoenix dactylifera* leaves extract and their enhanced bactericidal activity. *J Mol Liquids* 2016; 223(2016), 1114-1122.
- Vilas V, Philip D, Mathew J. Biosynthesis of Au and Au/Ag alloy nanoparticles using *Coleus aromaticus* essential oil and evaluation of their catalytic, antibacterial and antiradical activities. *J Mol Liquids* 2016 Sep 30;221:179-89.

31. Soman S, Ray JG. Silver nanoparticles synthesized using aqueous leaf extract of *Ziziphus oenoplia* (L.)

Mill: Characterization and assessment of antibacterial activity. *J Photochem Photobiol B* 2016; 163:391-402.

## Biosynthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles produced by *ferulago angulata* extract

Zahra Zarei <sup>1</sup>, Damoun Razmjoue <sup>1\*</sup>, Javad Karimi <sup>2,3</sup>

Received: 2018/9/01

Revised: 2018/8/05

Accepted: 2018/21/05

1. Dept of Range and Watershed Management, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran
2. Dept of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Ashrafi Esfahani University, Isfahan, Iran
3. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.1, Spring 2018

Pars J Med Sci 2018;16(1):24-34

### *Abstract:*

#### **Introduction:**

Silver nanoparticles have a wide range of applications in medical sciences, which are size-dependent. Synthesis of silver nanoparticles is valuable due to their numerous applications in detection of pathogens, cancer therapy and targeted drug delivery. The purpose of this research was to produce silver nanoparticles by the extract of aerial parts of *Ferulago angulata* and to check antimicrobial activity of nanoparticles.

#### **Materials and Methods:**

To this end, the extract of *Ferulago angulata* was exposed to silver nitrate solution of 0.1 molar at different concentrations (2.5, 5, 7.5, 10 and 15 mM) for 24, 48, 72 and 96 hours. After the color changed to brown, the present of silver nanoparticles was confirmed using UV-visible, DLS, SEM, TEM, XRD and FTIR analyses.

#### **Results:**

The UV-visible spectroscopy showed that silver nanoparticles had an absorption peak at 450 nm. The particles had a mean diameter of 19 nm, a size of 3 to 62 nm, and spherical shape. Finally, the antimicrobial activity of silver nanoparticles was investigated and confirmed against the *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **Conclusion:**

The results show this plant has a good functioning for the synthesis of silver nanoparticles. Therefore, it can be used for treating many diseases transmitted by bacteria.

**Keywords:** Biosynthesis, Silver Nanoparticles, Antibacterial, *Ferulago Angulata*

\* Corresponding author Email: d.razmjoue@gmail.com & d.razmjoue@bkatu.ac.ir