

## سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ علف هرز تاج خروس و بررسی اثر آنتی باکتریایی

یاسر نیک پرست<sup>۱</sup> - رضا قربانی<sup>۲\*</sup> - حسین احمدزاده<sup>۳</sup> - قربانعلی اسدی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۰۳

### چکیده

عصاره گیاهان به عنوان یک کاهنده گیاهی برای تولید سبز، آسان، غیرسمی و دوستدار محیط زیست نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفته است. در این مطالعه سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ علف هرز تاج خروس ریشه قرمز *Amaranthus retroflexus* به عنوان کاهنده و پایدار کننده در سنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفت. تأثیر پارامترهای مختلف از جمله اسیدیته مخلوط واکنش، زمان تماس، نسبت عصاره به محلول نیترات نقره بر روی سنتز نانوذرات نقره مورد مطالعه قرار گرفت. تشکیل نانوذرات در داخل محلول نیترات نقره در ابتدا با استفاده از طیف‌نگاری در دامنه طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌نگار UV-vis مورد تأیید قرار گرفت. مورفولوژی نانوذرات تشکیل شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد شکل نانوذرات کروی بوده و مونودیسپرس بوده و دامنه اندازه ذرات آن بین ۲ تا ۳۰ نانومتر بود. ساختار کریستالی نانوذرات به روش XRD مورد بررسی قرار گرفت و گروه‌های عاملی مسئول کاهش و پایداری نانوذرات نقره با استفاده از طیف‌سنجی FT-IR مورد ارزیابی قرار گرفت. حداکثر سنتز نانوذرات در نسبت حجمی (v/v) عصاره به محلول نیترات نقره ۰/۱، pH=۹ و مدت زمان واکنش ۲۴۰ دقیقه مشاهده شد. بعد از تولید نانوذرات نقره زیستی، خاصیت ضدباکتریایی آن بر روی برخی پاتوژن‌های مقاوم انسانی؛ *E. coli* (Migula 1895) و *Pseudomonas aeruginosa* (Schroter 1872) و همچنین پاتوژن‌های مقاوم گیاهی *Pseudomonas syringae* (Van Hall, 1904) و *Xanthomonas oryzae* (Ishiyama 1922) مورد مطالعه قرار گرفت و با باکتری کش سیپروفلوکسازین مقایسه شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گیاه تاج خروس گزینه مناسبی برای تولید نانوذرات نقره بوده و نانوذرات تولید شده به این روش دارای خواص آنتی‌باکتریایی هستند. نانوذرات تولید شده دارای شکل کروی بوده و میانگین اندازه آنها ۱۰/۷۴ نانومتر بود که با نتایج حاصل از آنالیز XRD همخوانی داشت. نتایج FTIR نشان داد که آلکالوئیدها و سایر ترکیبات ثانویه گیاه مسئول اصلی سنتز نانوذرات هستند. پارامترهای مختلف مورد مطالعه بر سنتز نانوذرات تأثیرگذار بودند. محیط‌های قلیایی برای سنتز نانوذرات مناسب تر بوده و درصد عصاره به نیترات نقره ۰/۱ بهترین کارایی را داشت. تأثیر زمان بعد از ۱ ساعت اختلاف معناداری نداشت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌باکتری، تولید زیستی، عصاره گیاهی، نانوذرات نقره

### مقدمه

با چندین روش مختلف فیزیکی و شیمیایی تولید شوند؛ با این وجود این روش‌ها چندان دوستدار محیط زیست نیستند (۳). بعلاوه، از آنجا که بکارگیری اصول شیمی سبز، در نانو تکنولوژی می‌تواند هم ایمنی و هم کارایی را تضمین کند، چنین رهیافت‌هایی ضروری به نظر می‌رسد (۴). سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهان بطور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است (۵ و ۶). زیست مولکول‌هایی که در گیاهان یافت می‌شوند کاهش یون‌های Ag<sup>+</sup> نیترات نقره به نانوذرات نقره را باعث می‌شوند.

این فرآیند کاهش خارج سلولی و سریع است که منجر به توسعه سنتز زیستی نانوذرات نقره شده است (۵). برخی از مهمترین ترکیبات فعالی موجود در عصاره گیاهان که مسئول کاهش یون‌های نقره

نانوذرات نقره از جمله مواد مهمی است که به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. این نانوذرات دارای خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصر به فردی هستند که از این جمله می‌توان به خواص آنتی‌باکتریایی آن اشاره کرد (۱ و ۲). این نانوذرات می‌توانند

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانش آموخته دکتری، استاد و دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

\*- نویسنده مسئول: (Email: Reza-ghorbani@um.ac.ir)

### تولید نانوذرات نقره

برای کاهیدن یون‌های نقره، عصاره گیاهی با نسبت‌های حجمی (v/v) مختلف به محلول نیترات نقره ۱ mM افزوده شد و در دمای اتاق بر روی استیرر به هم زده شد. مخلوط واکنش محلول آبی یون‌های نقره و عصاره برگ از بی رنگ به قرمز نزدیک به قهوه‌ای تغییر پیدا کرد. محلول نانوکلوئیدی نهایی سه بار متوالی در دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا مولکول‌های زیستی اضافی از کلوئید جدا شوند (۱۶). سپس قرص‌های حاصل در آون خلا خشک شدند. نانوذرات نقره خشک شده برای تعیین خواص و ویژگی‌های آنها خرد شده و نگهداری شدند.

### بهینه‌سازی سنتز نانوذرات نقره

تولید زیستی نانوذرات نقره از نظر تأثیر پارامترهای مختلف بر واکنش مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نسبت‌های حجمی (v/v) عصاره گیاهی به نیترات نقره (۱mM) در اندازه‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ مورد بررسی قرار گرفت. بازه‌های زمانی ۱۰، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ دقیقه و دامنه pH بین ۵ تا ۱۰ جهت مشاهده اثر زمان و pH مورد مطالعه قرار گرفت.

### تعیین خصوصیات نانوذرات تولید شده

کاهش یون‌های نقره  $Ag^+$  در محلول واکنش با انجام اندازه‌گیری طیف جذب UV محلول با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری UV-vis در طیف طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد مشاهده قرار گرفت. بعد از افزودن عصاره برگ به محلول نیترات نقره با نسبت‌های حجمی مختلف، تغییر رنگ محلول از بی رنگ به زرد کم رنگ و سپس به قرمز مایل به قهوه‌ای مشاهده شد. بنابراین جذب مخلوط واکنش در دامنه pH ۵ تا ۱۰ و نسبت‌های حجمی بین ۰/۰۵ تا ۰/۶ در بازه‌های مختلف زمانی برای بررسی تشکیل نانوذرات نقره مشاهده شد. طیف جذب نوری در طول موج ۴۳۰ نانومتر پیک نشان داد. تغییرات سطح زیر پیک به عنوان شاخصی از سنتز نانوذرات نقره مورد مطالعه قرار گرفت (۱، ۲ و ۳).

### آنالیز XRD

روش پراش اشعه X برای مطالعه ماهیت فلزی نانوذرات تولید شده استفاده شد. بعد از کاهش زیستی، محلول نانوذرات نقره حاصل شده با انجام سانتریفیوژ در دور ۸۰۰۰ برای مدت ۵ دقیقه و سپس انحلال مجدد پلیت حاصل شده در ۱۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه استریل شده و انجام و سانتریفیوژ برای ۳ مرتبه خالص‌سازی شده و پلیت حاصل در آون خلا به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. سپس ساختار و

هستند عوامل آنتی‌اکسیدانی محلول در آب مانند اسید آسکوربیک، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات ثانویه همچون کتون‌ها و آلدئیدها شامل می‌شوند (۵). چندین مکانیسم برای توصیف چگونگی تولید نانوذرات نقره با استفاده عصاره گیاهی ارائه شده است. به عنوان مثال یون‌های تک ظرفیتی نقره در ابتدا توسط گروه -OH- ترکیبات فعال عصاره برگ کاهیده می‌شود و سپس این گروه‌ها خود به گروه‌های کربونیل اکسید می‌شوند. برگ سبز بسیاری از گیاهان دارای مقادیر قابل توجهی از مواد آلی همچون اکسالیک اسید، تانیک اسید و غیره می‌باشند که دارای توانایی ایفای نقش عامل کاهنده می‌باشند (۷).

در سال‌های اخیر، توجه دانشمندان به خواص آنتی‌باکتریایی نانوذرات نقره جلب شده است (۸ و ۹). ترکیبات نقره تک ظرفیتی برای دهه‌های متوالی به عنوان درمان عفونت‌های باکتریایی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گرفته است و مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که نانوذرات نقره نیز این خواص را دارا هستند. و همچنین نشان داده شده است که سمیت نانوذرات نقره برای میکروارگانیسم به مراتب بیش از سلول‌های انسانی است. به دلیل نسبت سطح به حجم بالاتر نانوذرات نسبت به نقره فلزی به صورت توده خواص ضدباکتریایی نانوذرات نقره به مراتب بیشتر است. منابع بسیاری به خواص آنتی‌باکتریایی نانوذرات نقره اشاره داشته‌اند (۲، ۹ و ۱۱).

در بین باکتری‌های مختلف برخی از باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و این مسئله به یک چالش جدی بدل شده است (۱۲ و ۱۳). این مسئله به همراه مقاومت‌های چندگانه دانشمندان را واداشته است تا عوامل ضدباکتری جدید و مؤثری بیابند، که مقاومتی برای آنها وجود نداشته باشد و در همین حال از نظر اقتصادی قابل توجیه باشند (۱۴). بر این اساس در این مطالعه نانوذرات نقره با روشی دوستدار محیط زیست و سبز با استفاده از یکی از علف‌های هرز بسیار مهاجم در سطح جهان به نام تاج خروس ریشه قرمز تولید شد و خواص آنتی‌باکتریایی آن بر روی برخی از سویه‌های مقاوم باکتریایی مورد مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

#### آماده‌سازی عصاره آبی

نمونه‌های برگ تاج خروس جمع‌آوری شده توسط آب دی‌یونیزه سه بار شستشو شدند تا گرد و غبار آن پاک شوند. سپس برگ‌های تازه به قطعات کوچک بریده شدند و خرد شدند. ۵ گرم از برگ‌های خرد شده به ارلن حاوی ۱۰۰ ml آب دی‌یونیزه در دمای جوش اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه بر روی همزن به هم زده شد. سپس مخلوط واکنش با استفاده از فیلتر کاغذی واتمن شماره ۱ صاف شد. عصاره باقی مانده برای ادامه واکنش در دمای ۴ درجه ذخیره شد (۱۵).

## نتایج و بحث

### طیف‌سنجی UV

بعد از افزودن عصاره گیاه به محلول نیترات نقره، تغییر رنگ کامل محلول واکنش بعد از دو ساعت حاصل شد و در طی واکنش محلول از زرد کم رنگ به قهوه‌ای تیره تبدیل شد. برای کنترل و اطمینان از تولید نانوذرات نقره، پیک جذبی نانوذرات در فواصل زمانی مشخص با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش مرئی در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۹۰۰ نانومتر، اندازه‌گیری شد. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، جذب نانوذرات در طول موج ۴۱۰ nm آشکار شد که نشان دهنده سنتز نانوذرات نقره می‌باشد. محلول کنترل هیچ پیکی در بازه ۳۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر نشان نداد. در تیمارهای مختلف آزمایش شدت جذب نمونه‌ها اندازه‌گیری شده و به عنوان شاخصی از تولید نانوذرات در نظر گرفته شد.

### الگوی پراش اشعه X (XRD)

الگوی پراش اشعه X نانوذرات سنتز شده (شکل ۲) پس از شستشو و حذف مواد زائد، نشان داد که نانوذرات از جنس نقره فلزی (Ag<sub>0</sub>) بودند. پیک‌های مشخصی در زاویه‌های ۳۸، ۴۴/۳، ۶۴/۴ و ۷۷/۴ درجه حاصل شد.

### مورفولوژی نانوذرات تولید شده

برای مطالعه مورفولوژی نانوذرات تولید شده، تکنیک عکس برداری میکروسکوپی TEM جهت مشخص کردن اندازه و شکل نانوذرات استفاده شد. تصویر میکروگراف (شکل ۳) نشان داد که شکل نانوذرات تقریباً کروی و از نظر اندازه تقریباً هموزن هستند. دامنه اندازه نانوذرات بین ۴ تا ۴۰ نانومتر بود و میانگین اندازه نانوذرات ۱۰/۷۴ نانومتر محاسبه شد که با میانگین اندازه حاصل از محاسبات XRD همخوانی داشت.

### مطالعات FTIR نانوذرات

آنالیز طیف‌سنجی FTIR برای شناسایی مولکول‌های زیستی مسئول به عنوان عامل پوشش دهنده نانوذرات سنتز شده انجام شد. نمونه نانوذرات در شکل ۴ نشان داده شده است. در این طیف، پیک‌هایی در موقعیت‌های ۳۳۵۹-۳۳۹۸ (مربوط به پیوندهای NH<sub>2</sub>، آمیدها)، ۲۹۲۲-۲۹۲۴ (مربوط به پیوندهای CH<sub>2</sub>، آلکان‌ها)، ۱۶۳۲-۱۶۳۸ (مربوط به آمینواسیدهای دارای گروه‌های NH<sub>2</sub>، پیوند آمین نوع I)، ۱۴۱۵-۱۴۰۱ (به دلیل تغییر شکل C-H، کتون‌ها و استرها)، ۱۱۵۴-۱۱۴۷ (مربوط به ارتعاش اسکلتی دی متیل) و ۱۰۲۱-۱۰۱۹ (مربوط به پیوندهای کششی P-O (۴)). این داده‌ها نشان می‌دهد که گروه‌های آمیدها، کربوکسیل، آمینی و بقایای آمینو اسیدهای حاضر در

ترکیب نانوذرات حاصل شده با استفاده از XRD آنالیز شد.

### آنالیز FTIR

برای تعیین عوامل گیاهی مؤثر در کاهش یون‌های نقره، از آنالیز FTIR (Thermo Nicolet; AVATAR 370) استفاده شد. پودر خشک شده نانوذرات تولید شده و همینطور پودر عصاره برگ همراه با KBr پلیت شده و با استفاده از دستگاه مورد بررسی قرار گرفت.

### تعیین شکل، توزیع و اندازه ذرات

برای تعیین شکل و اندازه نانوذرات تولید شده، تصویربرداری میکروسکوپی الکترونی TEM انجام شد. بعد از انحلال نانوذرات تولید شده در آب دیونیزه، یک قطره از محلول نانوذره نقره بر روی گریدهای کربنی پوشیده شده با مس قرار داده شد. به نمونه قرار گرفته روی گریدهای کربنی TEM، اجازه داده شد تا خشک شود. سپس شکل و اندازه ذرات مورد بررسی قرار گرفت و توزیع اندازه ذرات با استفاده از دستگاه Particle sizer انجام شد.

### انجام مطالعات ضد باکتریایی

گونه باکتریایی *Pseudomonas aeruginosa* به باکتری نمونه جهت مطالعات ضد باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت. روش رقت سازی سرمی مضاعف<sup>۱</sup> در محیط کشت NB (Qlab Canada) به کار گرفته شد. ۱۰۰ μl از سوسپانسیون باکتری به ۷۰۰ μl از محیط کشت دارای نانوذرات نقره منتقل شد تا به غلظت نهایی ۱ CFU ml<sup>-1</sup> برسد. سپس ۲۰۰ μl از هر سوسپانسیون تلقیح شده به هر یک از خانه‌های یک میکروتیت پلیت ۹۶ خانه در سه تکرار منتقل شد و در دمای ۳۷°C در شیکر انکوباتور (۱۲۰ rpm) انکوبه شد. رشد کشت‌ها با اندازه‌گیری معیار چگالی نوری<sup>۲</sup> در طول موج ۶۳۰ nm (OD630) توسط دستگاه میکروپلیت ریدر (Biotech ELX 800) بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، مورد بررسی قرار گرفت. رشد سوسپانسیون باکتریایی در حضور نانوذرات نقره با رشد سلول‌های باکتریایی در غیاب نانوذرات (کنترل مثبت) مقایسه شد. پایین‌ترین غلظت نانوذرات نقره‌ای که رشد را پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون بازداشت، به عنوان MIC نانوذرات نقره برای باکتری‌های مورد آزمایش<sup>۳</sup> نظر گرفته شد. برای اجتناب از تداخل نوری در محیط کشت بدلیل خصوصیات پراکنده‌کنندگی نور نانوذرات محیط کشت مشابه فاقد باکتری و دارای غلظت‌های مشابه از نانوذرات نیز انکوبه شدند.

۱- رقت‌های سرمی مضاعف

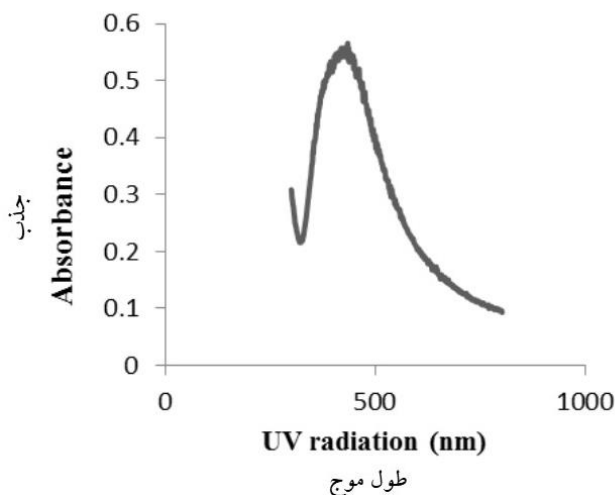
2- Optical density value

عصاره برگ در سنتز نانوذرات نقره نقش دارند.

به افزایش تدریجی طیف جذبی همراه با افزایش شدت رنگ محلول واکنش منجر شد. آنالیز واکنش در دوره‌های زمانی مختلف آشکار ساخت که بیشترین سنتز نانوذرات نقره در زمان ۲۴۰ دقیقه بود. همچنین نتایج جذب اتمی نشان داد که شدت جذب با افزایش زمان واکنش کاهش یافت، که تأیید کننده کاهش یون‌ها نقره در محلول واکنش است.

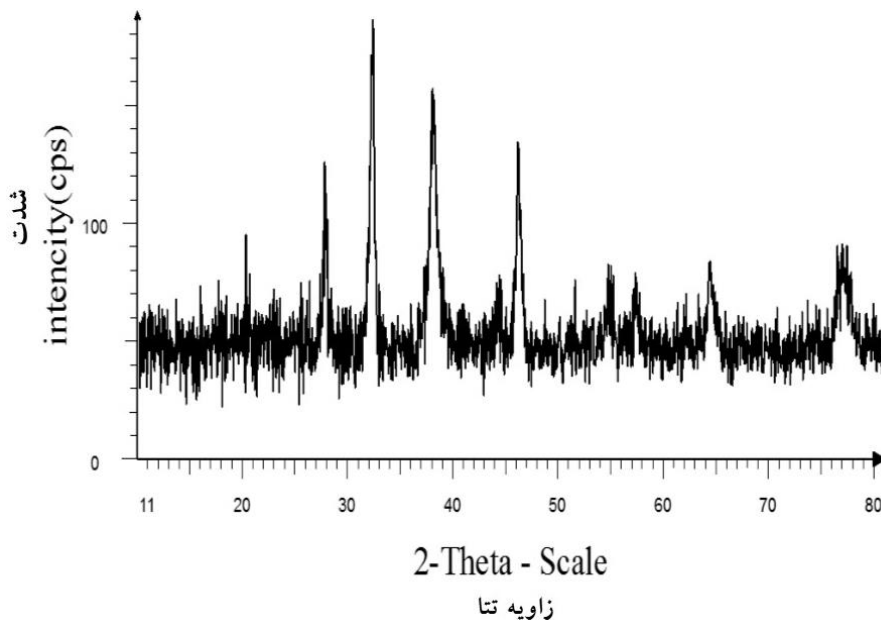
#### اثر زمان تماس بر روی سنتز نانوذرات نقره

واکنش بین یون‌ها نقره  $Ag^+$  و ترکیبات کاهنده موجود در عصاره برگ در طی ۲۴۰ دقیقه مورد مشاهده قرار گرفت. شکل ۵، طیف UV-vis نانوذرات نقره در زمان‌های مختلف بعد از افزودن عصاره برگ *A. retroflexu* را نشان می‌دهد. افزایش زمان واکنش



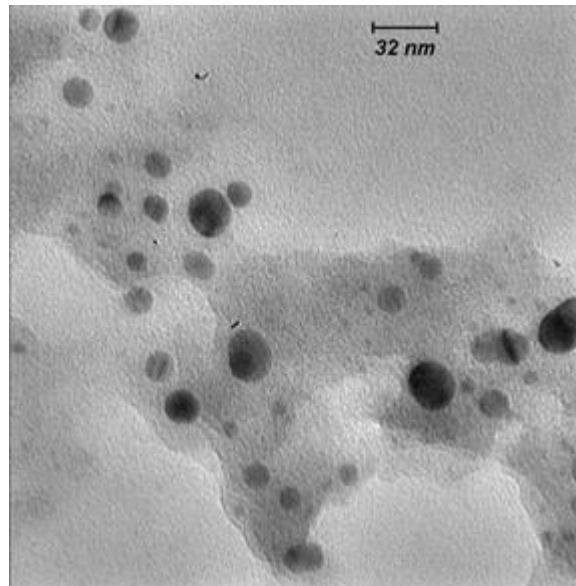
شکل ۱- طیف جذبی نانوذرات نقره در دامنه ۳۰۰ تا ۸۰۰

Figure 1- The absorption spectrum of silver nanoparticles in the range of 300 to 800

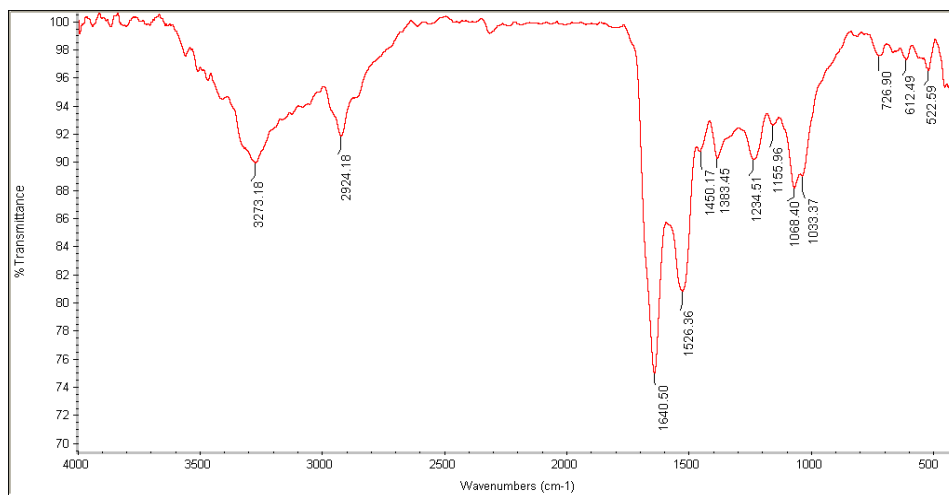


شکل ۲- الگوی پراش اشعه X نانوذرات سنتز شده

Figure 2- X-ray diffraction patterns of synthesized nanoparticles



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ TEM نانوذرات سنتز شده  
Figure 3- TEM microscope graph of synthesized nanoparticles

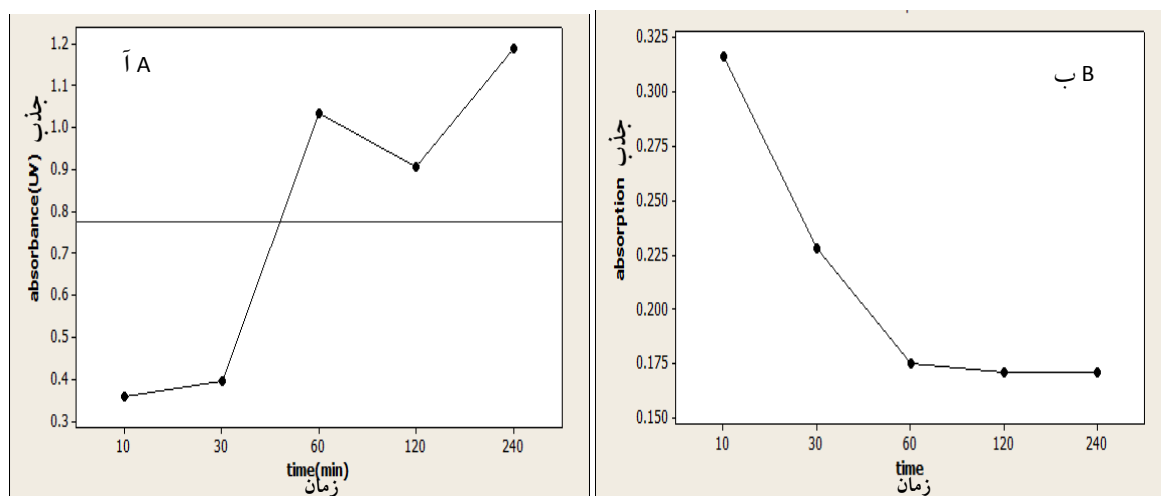


شکل ۴- طیف FTIR نانوذرات نقره سنتز شده  
Figure 4- FTIR Spectrum of Synthesized Silver Nanoparticles

شدن یک عامل کاهنده، واکنش کاهش یون نقره ( $Ag^+$ ) به نقره فلزی ( $Ag^0$ ) در سطح کلونیدهای موجود در سیستم اتفاق می‌افتد. نتایج سایر مطالعات تشکیل ذرات کوچکتر در pH های بالاتر را نشان داده‌اند. همچنین در برخی مطالعات اشاره شده است که وجود یک محیط بازی برای استفاده مؤثر از یک ترکیب کاهنده فعال مورد نیاز است. خلیل و همکاران (۲۰۱۳) بیان کرد که جذب از pH تا ۸ افزایش یافت و بعد از آن کاهش یافت.

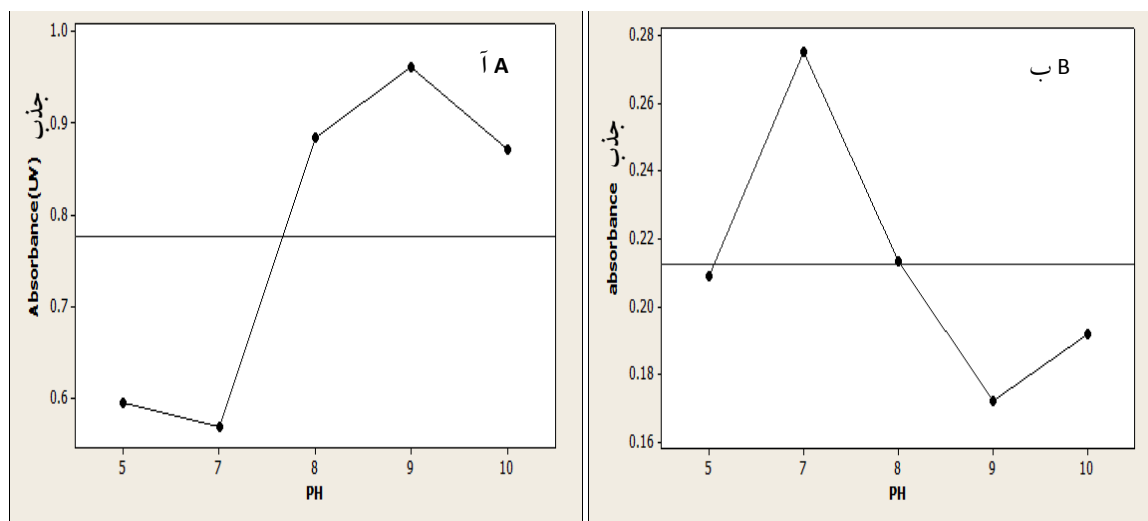
#### اثر pH بر روی سنتز نانوذرات

برای بررسی تأثیر pH، pH محلول حاوی نیترات نقره و عصاره برگ با استفاده از اسید هیدروکلریک و هیدروکسید سدیم در بازه ۲ تا ۱۱ تنظیم شد. نتایج طیف‌سنجی UV-vis و جذب اتمی نشان داد که حداکثر تولید زیستی نانوذرات نقره در pH=۹ انجام گرفت (شکل ۶) شکل و اندازه تولید شده با استفاده از گیاهان می‌تواند با تغییر pH کنترل شود. پیشتر مطالعات نشان داده که تولید زیستی نانوذرات در pH های بازی بهتر و بیشتر انجام می‌گیرد. هنگامی که محلول نیترات نقره با محلول NaOH ترکیب می‌شود، در ابتدا اکسید نقره خالص ( $Ag_2O$ ) تشکیل شده و رسوب می‌کند و در صورت افزوده



شکل ۵- تأثیر زمان بر روی سنتز نانوذرات نقره؛ «آ» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی فرابنفش و مرئی و «ب» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی جذب اتمی

Figure 5- The effect of time on the synthesis of silver nanoparticles; (A) measured UV-vis absorbance (B) absorption measured by the atomic absorption spectrometry

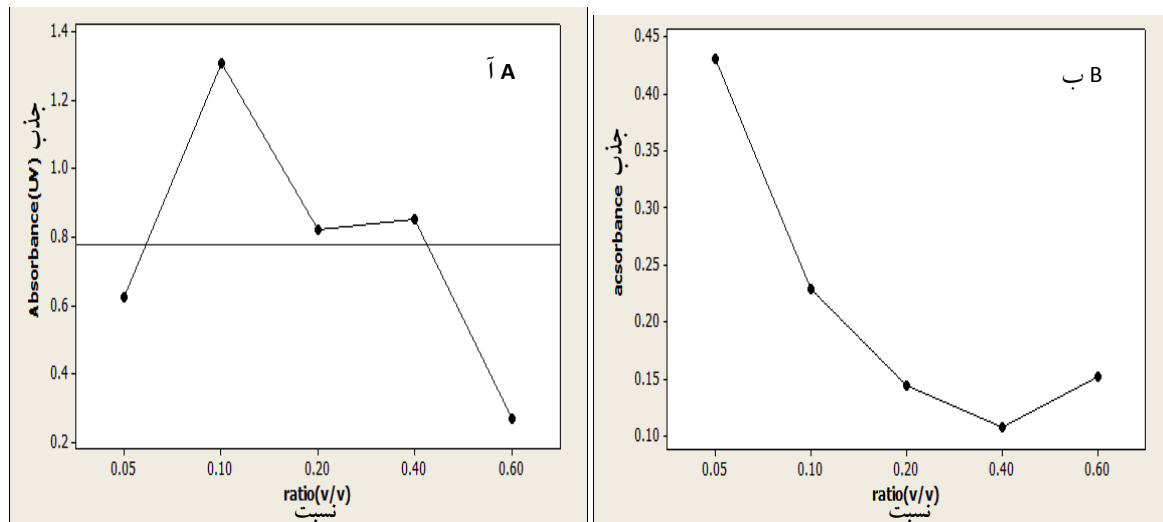


شکل ۶- تأثیر pH بر روی سنتز نانوذرات نقره؛ «آ» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی فرابنفش و مرئی و «ب» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی جذب اتمی

Figure 6- The effect of pH on the synthesis of silver nanoparticles; (A) measured UV-vis absorbance (B) absorption measured by the atomic absorption spectrometry

واکنش شده و دلیل این امر می‌تواند به ترسیب یون‌های نقره در داخل باقی مانده عصاره باشد. سایر مطالعات نیز نشان داده‌اند که غلظت نیترات نقره در تشکیل نانوذرات نقره نقش دارد (۵). بررسی جذب عصاره برگ بدون نیترات نقره به عنوان کنترل انجام شد و هیچ طیف جذبی مشاهده نشد.

**اثر نسبت عصاره به نیترات نقره در سنتز نانوذرات**  
 نتایج نشان داد که افزایش نسبت عصاره برگ گیاه به نیترات نقره از ۰/۰۵ تا ۰/۱ باعث افزایش شدت جذب شد (شکل ۷). حداکثر پیک جذبی در نسبت ۰/۱ مشاهده شد و کاهش جذب بعد از این نسبت مشاهده شد. نتایج آنالیز جذب اتمی داد که افزایش نسبت حجمی عصاره به نیترات نقره منجر به کاهش یون نقره در محلول



شکل ۷- تأثیر نسبت عصاره به نیترات نقره بر روی سنتز نانوذرات نقره؛ «ا» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی فرابنفش و مرئی و «ب» میزان جذب اندازه گیری شده توسط دستگاه طیفسنجی جذب تمی

Figure 7- The effect of extract to silver nitrate ratio on the synthesis of silver nanoparticles; (A) measured UV-vis absorbance (B) absorption measured by the atomic absorption spectrometry

باکتری‌های مورد آزمایش نشان نداد.

### نتیجه گیری

طبق نتایج به دست آمده، نانوذرات نقره می‌توانند با استفاده از عصاره گیاه تاج خروس ریشه قرمز به عنوان ماده کاهنده تولید شوند. بر اساس نتایج TEM، شکل نانوذرات کروی بوده و از نظر اندازه و توزیع ذره‌ای، بیشترین درصد فراوانی را بین ۱۰ تا ۳۰ نانومتر نشان می‌دهند. از آنجا که روش سنتز شیمیایی نسبت به سایر روش‌های تولید نانوذرات، ساده، کم هزینه و سازگار با محیط زیست می‌باشند و در کنار آن استفاده از گیاه تاج خروس برای تولید این نانوذرات که از جمله علف‌های هرز سمج بوده که به آسانی و وفور قابل تولید است، این روش برای تولید نانوذرات نقره قابل توصیه است.

کاربرد نانوذرات نقره در غلظت ۱۲ μg/ml، زنده‌مانی سلول‌های باکتری *P. aeruginosa* را در مقایسه با کنترل بعد ۲۴ ساعت انکوباسیون به طور معناداری کاهش داد. بنابراین نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی می‌تواند به دلیل خواص آنتی‌باکتریایی آن در زمینه‌های پزشکی کاربرد داشته باشد.

### اثرات ضدباکتریایی نانوذرات

اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره بر باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* که یک پاتوژن انسانی مقاوم به دارو است مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت‌های مختلفی از نانوذرات نقره بین ۴۰۰ تا ۱/۵۶ μg/ml همراه با سلول‌های باکتری در محیط کشت مایع انکوبه شد. رشد سلول‌های باکتریایی در حضور نانوذرات نقره با رشد سلول‌های باکتری در غیاب نانوذرات (کنترل مثبت) مقایسه شد. درصد بازدارندگی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره ارزیابی شد و MIC گونه باکتریایی اندازه‌گیری شد. رشد سلول‌های باکتریایی در غلظت ۱۲/۵ μg/ml نانوذرات نقره متوقف شد و این غلظت به عنوان MIC در نظر گرفته شد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد از جمله سیپروفلوکسازین و سفتازیدیم مقایسه شد. MIC آنتی‌باکتری سیپروفلوکسازین برای پاتوژن‌های مورد مطالعه ۱/۲۵ μg/ml بود که نسبت به نانوذرات نقره فعالیت ضدباکتریایی بیشتری داشت. در مقابل، تنها بازدارندگی ۵۰ درصدی رشد باکتریایی در غلظت ۲۵۶ μg/ml از سفتازیدیم مشاهده شد. بنابراین، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره بر روی باکتری *P. aeruginosa* قوی‌تر از سفتازیدیم بود. عصاره برگ تاج خروس ریشه قرمز به تنهایی هیچ‌گونه فعالیت ضدباکتریایی روی

### منابع

- 1- Khalil M.M., Ismail E.H., El-Baghdady K.Z., and Mohamed D. 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), pp.1131-1139.
- 2- Le Ouay B., and Stellacci F. 2015. Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight. *Nano Today*, 10(3), pp.339-354.

- 3- Majdalawieh A., Kanan M.C., El-Kadri O., and Kanan S.M. 2014. Recent advances in gold and silver nanoparticles: synthesis and applications. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 14(7), pp.4757-4780.
- 4- Mulvihill M.J., Beach E.S., Zimmerman J.B., and Anastas P.T. 2011. Green chemistry and green engineering: a framework for sustainable technology development. *Annual review of environment and resources*, 36, pp.271-293.
- 5- Duhan J.S., and Gahlawat S.K. 2014. Biogenesis of nanoparticles: a review. *African Journal of Biotechnology*, 13(28).
- 6- Poulouse S., Panda T., Nair P.P., and Theodore T. 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 14(2), pp.2038-2049.
- 7- Barua S., Konwarh R., Bhattacharya S.S., Das P., Devi K.S.P., Maiti T.K., Mandal M., and Karak N. 2013. Non-hazardous anticancerous and antibacterial colloidal 'green' silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, pp.37-42.
- 8- Pérez-Díaz M.A., Boegli L., James G., Velasquillo C., Sanchez-Sanchez R., Martinez-Martinez R.E., Martínez-Castañón G.A., and Martinez-Gutierrez F. 2015. Silver nanoparticles with antimicrobial activities against *Streptococcus mutans* and their cytotoxic effect. *Materials Science and Engineering: C*, 55, pp.360-366.
- 9- Rai M., Yadav A., and Gade A. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, 27(1), pp.76-83.
- 10- Ip M., Lui S.L., Poon V.K., Lung I., and Burd A. 2006. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison. *Journal of medical microbiology*, 55(1), pp.59-63.
- 11- Rawani A., Ghosh A., and Chandra G. 2013. Mosquito larvicidal and antimicrobial activity of synthesized nano-crystalline silver particles using leaves and green berry extract of *Solanum nigrum* L. (Solanaceae: Solanales). *Acta tropica*, 128(3), pp.613-622.
- 12- Watkins R.R., and Bonomo R.A. 2016. Overview: global and local impact of antibiotic resistance. *Infectious Disease Clinics*, 30(2), pp.313-322.
- 13- Bos J., Zhang Q., Vyawahare S., Rogers E., Rosenberg S.M., and Austin R.H. 2015. Emergence of antibiotic resistance from multinucleated bacterial filaments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(1), pp.178-183.
- 14- Berendonk T.U., Manaia C.M., Merlin C., Fatta-Kassinos D., Cytryn E., Walsh F., Bürgmann H., Sørum H., Norström M., Pons M.N., and Kreuzinger N. 2015. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), p.310.
- 15- Singhal G., Bhavesh R., Kasariya K., Sharma A.R., and Singh R.P. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(7), pp.2981-2988.
- 16- Nazeruddin G.M., Prasad N.R., Waghmare S.R., Garadkar K.M., and Mulla I.S. 2014. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Azadirachta indica* leaf extract and its anti-microbial activity. *Journal of Alloys and Compounds*, 583, pp.272-277.