Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۵/ آذر و دی ۱۳۹۷/ ۵۸-۴۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر آنتی باکتریال نانو ذرات نقره ساخته شده با روش نانوفیتوسنتز به‌تنهایی و توام با کلرآمفنیکل

علی شفقت*

گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خلخال، خلخال، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/٤

چکیده:

زمینه و هدف: **نانوفیتوسنتز بخشی از دانش نانو بیوتکنولوژی محسوب می‌شود و عبارت است از تکنیک های بهره‌گیری از ترکیبات متابولیک ثانویه در گیاهان که به واسطه آن‌ها سنتز نانوذرات مختلف انجام می‌پذیرد. مقاومت میکروب ها در برابر آنتی بیوتیک های سنتزی معمولی امری اجتناب‌ناپذیر است. به منظور کاهش این مقاومت، از نانو ذرات موثر که می‌توانند اثر تقویتی روی آنتی بیوتیک ها ایجاد کنند، استفاده شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر تقویت‌کنندگی خصلت آنتی بیوتیکی داروی کلرآمفنیکل با بکار بردن نانوذرات نقره ساخته شده با روش نانوفیتوسنتز می‌باشد.**

روش بررسی: **نانو ذرات مکعبی شکل نقره با استفاده از روش نانوفیتوسنتز و بهره‌گیری از ترکیبات عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه بابونه تالشی سنتز شدند. برخی خواص فیزیکی، ویژگی‌های نوری و ساختار نانو ذرات سنتز شده، توسط تکنیک های FT-IR، UV/Vis، TEM، SEM و XRD مورد ارزیابی قرار گرفتند. فعالیت بیولوژیکی نانو ذرات نقره حاصل، به‌صورت جداگانه و مخلوط با کلرآمفنیکل در مقابل تعداد ٤ باکتری با متد معمول انتشار دیسک مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت.**

یافته‌ها: **نتایج نشان داد که بیش از ۷۵٪ نانوذرات نقره سنتز شده، دارای ساختار هندسی مکعبی می‌باشند. مطالعه بیولوژیکی نیز نشان داد که این ذرات نانو نقره، در برابر رشد باکتری ها فعالیت خوبی نشان می‌دهند و باعث تقویت اثر ضد میکروبی آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل می‌شوند.**

نتیجه‌گیری: **قدرت بازدارندگی رشد باکتری ها توسط نانوبلورهای نقره و اثر هم افزایی این نانوذرات در کنار آنتی بیوتیک ها، با ساختار نانو مکعب‌های نقره در ارتباط است. روش نانوفیتوسنتز برای ساخت نانو ذرات مختلف، از نظر اقتصادی مقرون به صرفه بوده و در مدت زمان اندکی انجام می‌گیرد. همچنین این روش مهمترین فرآیند سنتز سبز بوده و دوستدار طبیعت است که بدین ترتیب شرایط بهینه برای تولید نانوذرات را فراهم می‌سازد.**

واژه‌های کلیدی: **بابونه تالشی، نانوفیتوسنتز، ضد باکتری، نانو نقره، کلرآمفنیکل.**

مقدمه:

در دهه‌های اخیر موضوع نانو فناوری و استفاده از فرآورده‌های نانو ذرات مختلف در بخش‌های گوناگون صنایع، گسترش چشمگیری یافته است (۱). در این راستا نانو فناوری به حوزه‌های علوم پزشکی و دارویی ورود پیداکرده و در بخش‌های مختلف آن مانند پیشگیری، تشخیص و درمان مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات و گزارش های علمی در دسترس، حاکی از آن است که ویژگی‌ها و فعالیت‌های نانو ذرات با ابعاد، شکل هندسی و نوع آن‌ها ارتباط مستقیم دارد. بدین معنا که هر چه ابعاد و اندازه آن‌ها کوچک‌تر باشد، ویژگی‌ها و فعالیت‌های متنوع و شگفت انگیزتری از خودشان بروز می‌دهند. به همین دلیل امروزه متدهای تولید و سرعت کاربرد نانو مواد در شکل‌های گوناگون، مانند کروی، مکعبی، هرمی و سوزنی سریعاً گسترش

*نویسنده مسئول: خلخال- دانشگاه آزاد اسلامی خلخال- گروه شیمی- تلفن: ۰۴۵-۳۲۴۵۱۲۲۱، E-mail: shafaghata@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

پیدا کرده و در تمام ابعاد زندگی مانند صنایع الکتریکی، بهداشت و مبارزه با میکروب‌ها، تشخیص و درمان بیماری‌ها، داروسازی، ساخت وسایل، بیوسنسورها، کاتالیست ها، نساجی و تصفیه پساب ها مورد استفاده قرار گرفته است (۴-۲). از موارد کاربردهای مهم نانو نقره در جهان امروز، می‌توان به علوم پزشکی و مبارزه با میکروب‌ها اشاره نمود. در زمان های قدیم از فلزات مختلف و ترکیبات آن‌ها در فرآورده‌های دارویی استفاده شده است. در حالی که امروزه از نانو ذرات فلزی و ترکیبات آن‌ها برای این مقاصد و اهدافی مانند میکروب کش ها، حشره کش ها، مواد آرایشی- بهداشتی، ضد باکتری‌ها و داروهای متنوع با کاربردهای گوناگون استفاده می‌شود (۵). روش های تولید و کاربردهای متنوع بسیاری از نانو ذرات جدید سنتزی، در صنایع شیمیایی و داروسازی به‌عنوان یک روش کاملاً جدید به‌حساب می‌آیند. چنین نانو ذراتی به علت داشتن پتانسیل فوق‌العاده برای پاکسازی محیط زیست، تولیدات دارویی و فرآیند درمانی بخصوص، در بررسی‌های بیولوژیکی، علوم پزشکی و داروسازی دارای ارزش و کاربردهای زیادی هستند. به عنوان مثال، بعضی از آن‌ها توانایی این را دارد که در مدت کمتر از ۴ ساعت ۶۵۰ سلول سرطانی را نابود کنند (۸-۶).

استفاده از فناوری نانو و کاربرد نانو ذرات در فرمولاسیون اسانس ها، پایداری آن‌ها را افزایش داده و علاوه بر این، سبب کاهش سمیت و عوارض جانبی احتمالی حاصل از آن‌ها شده است (۹). این ترکیبات در بهداشت محیط زیست نیز کاربرد موثری دارند که با هدف مقابله با آلاینده‌های خاک، آب‌وهوا مورد استفاده قرار می‌گیرند. محققین دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد در یک مطالعه ایزوترم جذب نشان دادند که پوست بادام فعال شده با نانو ذرات آهن مغناطیسی موجب حذف نیترات از محیط‌های آبی می‌شود (۱۰). یکی از روش‌های ساخت نانو ذرات، روش نانوفیتوسنتز است که در آن با بهره‌گیری از فرآیند احیای بیولوژیکی و با استفاده از مواد فعال زیستی تحت عنوان متابولیت های ثانویه گیاهی، واکنش تولید نانو ذرات مورد نظر انجام می‌گیرد. برخلاف روش‌های شیمیایی و فیزیکی معمول، این روش نیازمند حلال‌ها و مواد سمی، زمان طولانی، استفاده از انرژی، دما و فشار بالا و هزینه‌های زیاد نمی‌باشد (۱۱). در نحوه تأثیر و تعیین فعالیت ضد باکتری نانو ذرات نقره، اندازه ذرات مورد استفاده یکی از فاکتورهای بسیار مهم واجتناب ناپذیر می باشد. مطالعات اخیر در این مورد حاکی از این است که نانو ذرات نقره با دیواره سلولی و اعضای سیتوپلاسمی باکتری‌ها وارد واکنش شده و با ایجاد شکاف و از طریق پاره نمودن دیواره سلولی به داخل آن نفوذ می‌کند و سرانجام آن‌ها را از بین می‌برد (۱۲). با استفاده از عصاره آلوئه ورا، نانو ذرات نقره به شکل هندسی کروی با ابعاد ۱۵/۵ نانومتر سنتز گردیده است. در این روش، با افزودن آمونیاک به مخلوط واکنش کاهش یون‌های نقره (Ag^+) به نانو نقره در اثر تشکیل یک کمپلکس محلول، تسهیل می‌گردد (۱۳). فعالیت ضد باکتریایی ترکیب نانو ذرات نقره/ گیاه به دست آمده از برگ‌های دو گونه گیاهی با نام‌های علمی *اوسیموم سانکتوم* و *ویتکس نگوندا*، در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، ویبریو کلرا، *پروتئوس ولگاریس* و *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آزمایش در غلظت‌های مختلف گزارش شده است (۱۴).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره حاصل شده با عصاره برگ‌های هردو گیاه، بهتر از فعالیت برگ‌های گیاهان بکار رفته است. همچنین نانو ذرات نقره تولید شده با گونه *اوسیموم سانکتوم* دارای فعالیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به نانو ذرات نقره حاصل از *ویتکس نگوندا* می‌باشد. نانوکمپوزیت نقره و تیتانیا که با روش نانوفیتوسنتز ساخته شده است، این توانایی را دارد که به‌آسانی با تخریب و دریدن دیواره ی سلولی باکتری *اشریشیاکلی*، موجب نابودی آن‌ها گردد (۱۵). بررسی‌های دیگر نشان می‌دهند که در مجموع، فعالیت ضد باکتری و ضد ویروسی نانو ذرات، یون ها و ترکیبات نقره

www.SID.ir

Archive of SID

بستگی به شکل هندسی و اندازه نانو ذرات دارد که این عوامل نیز در قدرت تخریب و نابودی آن‌ها دخالت مستقیم دارند (۱۷،۱۶). البته نباید فراموش نمود که در کنار این منافع، احتمال آسیب رساندن نانو ذرات به بافت های بدن موجودات زنده نیز وجود دارد (۱۹،۱۸).

از آنجایی که در اغلب مطالعات مربوط به بررسی ضد باکتریایی نانوکامپوزیت ها از *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سابتیلیس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* به‌عنوان مدل های شناخته شده استفاده شده و همچنین به دلیل اینکه مخصوصاً *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ازجمله باکتری های خطرناک و بیماریزا هستند در این پژوهش نیز از این میکروارگانیسم‌ها استفاده شده است. قابل ذکر است که باکتری های مذکور از عوامل مهم در ایجاد عفونت ها بوده و موجب بیماری هایی نظیر زرد زخم، عفونت‌های پوستی، کورک، دمل، آندوکاردیت، آبسه‌های مغزی و مننژیت می‌شوند (۲۰). موضوع مقاوم شدن باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک ها و مبارزه با آن‌ها در چنین شرایطی، همواره یکی از مشکلات جدی پیشروی بشر بوده است. با عنایت به این مسئله و بررسی‌های انجام گرفته، نانو ذرات با فعالیت بیولوژیکی، قادرند به‌عنوان مواد مناسب با حساسیت بالا به‌منظور نابود کردن و یا مهار نمودن رشد و تکثیر باکتری‌ها و ویروس‌ها بکار روند (۲۱).

برای شرح فعالیت بیولوژیکی این دسته از نانو مواد و به‌ویژه نانو ذرات فلزی، یک ساز و کار علمی و قابل پذیرش به این صورت می‌تواند بیان شود که آن‌ها به دلیل داشتن بارهای سطحی (عمدتاً از نوع مثبت) و نسبت سطح به حجم خودشان، قادرند با پروتئین‌ها، آنزیم ها و دی ان ای- میکروارگانیسم‌ها یک نوع تعادل الکترونی بین عوامل الکترون دهنده یا گروه‌هایی مانند الکل‌ها، آمین ها، آمیدها، کربوکسیلات ها، تیول ها، اندول ها و ایمیدازول (که عمدتاً دارای بارهای جزیی منفی هستند) برقرار نموده و بدین ترتیب موجب غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها شوند، هرچند که سیستم ایمنی بدن موجود زنده نیز باید مورد توجه قرار گیرد (۲۳،۲۲).

در تحقیق حاضر، با توجه به موضوع مقاوم شدن باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها و سایر موارد مطرح شده، ساخت نانو ذرات نقره با فن نانوفیتوسنتز با بهره‌گیری از عصاره بابونه تالشی انجام گرفت. از کلرآمفنیکل به‌عنوان شاهد استفاده شد و در ادامه، اثر تقویت فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره بر خواص آنتی‌بیوتیکی کلرآمفنیکل مورد ارزیابی قرار گرفت. در آینده نزدیک می‌توان با بکارگیری نانو ذرات سنتز شده با این روش و اثر هم افزایی این نانو ذرات، در صنایع داروسازی، آرایشی بهداشتی، محیط زیست، بسته‌بندی، حمل‌ونقل و نگهداری مواد غذایی در خصوص مبارزه با باکتری‌های خطرناک و بیماریزا بهره‌برداری نمود.

روش بررسی:

در مطالعه حاضر، کلیه مواد اولیه شامل نیترات نقره $AgNO_3$ و متانول با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان، آب دیونیزه از شرکت مجللی و عصاره تهیه شده از نمونه گونه گیاهی بابونه تالشی با نام علمی *Anthemis talyschensis*، مورد استفاده قرار گرفته است. اندام‌های هوایی گونه گیاهی بابونه تالشی (*A. talyschensis*)، از ارتفاعات منطقه الماس جاده خلخال به اسالم واقع در استان اردبیل جمع‌آوری گردید (تصویر شماره ۱- ب) و با آب سرد شستشو داده شد. سپس در آون تحت دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. آنگاه محصول خشک شده توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل و در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد در فریزر تا مراحل بعدی آزمایش نگهداری شد.

عملیات عصاره گیری در دستگاه سوکسوله با حلال متانول انجام شد. به این ترتیب که ۳۰ گرم از پودر گیاه آماده شده را به همراه ۳۰۰ میلی لیتر متانول

www.SID.ir

Archive of SID

در بالن دستگاه ریخته و عملیات استخراج به مدت ۲ ساعت ادامه پیدا کرد. برای سنتز نانو ذرات نقره، به شرح زیر اقدام گردید. ابتدا عصاره حاصل از گیاه را تغلیظ و حلال آن را کاملاً تبخیر و ۴ گرم عصاره خشک به دست آمد. ۳ گرم از عصاره خام حاصل را به کمک کمی گرم کردن در بن ماری، در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل نموده و مخلوط را روی یک همزن مغناطیسی قرار می‌دهیم تا به مدت یک ساعت به هم زده شود. هم زمان با این عملیات، در یک بالن حجم سنجی، ۱۰۰ میلی لیتر از محلول نیترات نقره ۰/۵ مولار تازه تهیه شد. محلول آبی عصاره را صاف کرده و سپس هردو محلول را در یک ارلن، با هم مخلوط و آن را روی یک همزن مغناطیسی قرار داده تا به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق به هم زده شود. پس از گذشت حدود ۵ دقیقه از فرآیند به هم زدن، رفته رفته تغییر رنگ مشاهده می‌شود. این تغییر رنگ نشان دهنده انجام واکنش است که مبین کاهش یون‌های Ag^{+} به Ag° و در حقیقت تبدیل به نانو ذرات نقره می‌باشد. پس از گذشت مدت زمان پیش بینی شده، مخلوط حاوی نانو ذرات نقره با دستگاه سانتریفیوژ با قدرت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۰/۵ ساعت، خالص‌سازی شد.

محصول جمع‌آوری شده ابتدا به‌وسیله اتانول و سپس با استون شستشو داده شد و پس از خشک‌کردن در یک شیشه ساعت، برای آزمایش‌های بعدی آماده گردید. عمل طیف سنجی طیف نور مرئی/ فرابنفش از مخلوط واکنش در طول موج ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری مدل پرکین المر- لامبدا ۲۵ تهیه شد. طیف‌های مرئی- فرابنفش در طول موج فوق به دست آمد. از سل‌های جنس کوارتز برای نمونه‌ها و آب دیونیزه به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. کاهش یون‌های Ag^{+} به نقره فلزی با استفاده از اندازه‌گیری طیف UV/Vis و تغییر رنگ مخلوط واکنش مشاهده و رصد گردید. سیگنال رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) در طول موج ۴۷۰-۴۲۰ نانومتر مشاهده شد که نشانگر طیف نانو نقره و تشکیل آن است.

جهت شناسایی بیومولکول های احتمالی که مسئولیت کاهش یون‌های نقره به نانو نقره را بر عهده دارند، از طیف سنجی زیر قرمز بهره برداری شد. این تکنیک کمک می‌کند که بتوانیم عوامل گروه‌های شیمیایی موجود در عصاره بکار رفته در عملیات نانوفیتوسنتز را مورد تجزیه و تحلیل بیشتر قرار دهیم. از محلول عصاره اولیه نیز، قبل و بعد از فرآیند نانوفیتوسنتز، طیف‌های زیر قرمز IR با استفاده از دستگاه طیف سنج زیر قرمز مدل Bruker Tensor 27 تهیه شد. از پودر نانو نقره به دست آمده در مرحله قبل، جهت تهیه تصاویر میکروسکوپی TEM و SEM و طیف XRD استفاده شد. برای مشاهده نانو ذرات تشکیل شده در این بررسی، تصاویر SEM همراه با آنالیز EDX با استفاده از سیستم LEO 1430VP تهیه شد.

اندازه، شکل و ریخت شناسی نانو ذرات نقره حاصل شده با استفاده از دستگاه TEM که دارای مشخصات Philips GM-30 بود، تعیین شد. تصاویر میکروسکوپی فوق به‌منظور تعیین شکل و اندازه نانو ذرات نقره حاصل و چگونگی توزیع آن‌ها تهیه و مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور قطره‌های بسیار کوچکی از نمونه حاوی نانو نقره بر روی کربن پوشیده شده از گرید مسی در شبکه دستگاه به‌صورت یک فیلم باریک قرار داده می‌شود. محلول اضافی را با استفاده از کاغذ نمگیر خشک کرده و سپس فیلم تشکیل شده در شبکه با استفاده از لامپ جیوه به مدت ۵ دقیقه خشکانده می‌شود. جهت مشاهده ساختار بلوری و محاسبه ابعاد نانو ذرات تهیه شده، از روش پراش اشعه ایکس XRD استفاده گردید که دارای مشخصات BRUKER, B8ADVANCE با ولتاژ ۴۰ کیلوولت، شدت جریان ۳۰ میلی آمپر و تشعشع Cu Kα با λ=1.54Å بود.

با استفاده از دستگاه فوق طیف‌های مربوطه، ساختار بلوری نانو ذرات نقره تولید شده در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفت و اندازه این نانو ذرات نیز محاسبه گردید. نمونه‌های مورد آزمایش با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

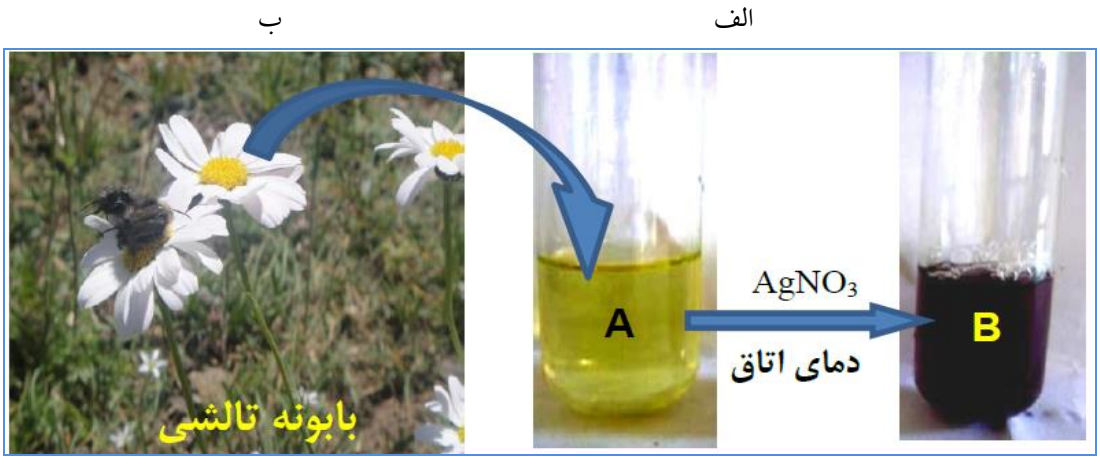
سانتریفیوژ مکرر حاصل شد و به‌صورت پودر درآمد و با استفاده از دستگاه در ولتاژ ۴۰ کیلوولت مورد بررسی قرار گرفت و شدت پراش تحت زاویه ۲θ و در فاصله ۹۰-۱۰ درجه انجام پذیرفت.

بررسی فعالیت ضد باکتری نانو ذرات نقره تهیه شده در این تحقیق، با استفاده از روش اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در برابر نانو نقره و مخلوط آن با آنتی‌بیوتیک کلرآمفنیکل در کنار کلرآمفنیکل خالص به‌عنوان مرجع استاندارد مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. سویه‌های استاندارد بکار رفته در این بررسی، عبارتند از: باکتری های *اشریشیاکلی* (ATCC 25922)، *باسیلوس سابتیلیس* (ATCC 9372)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923) و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (ATCC 12228). برای تعیین فعالیت ضد میکروبی نمونه‌های مورد آزمایش، دیسک های استریل شده به قطر ۶ میلی متر که با ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌ها آغشته و اشباع شده بودند، بکار رفتند. این دیسک ها به همراه نمونه شاهد در پلیت هایی که در آن‌ها سویه های باکتری در محیط مولر- هینتون آگار کشت شده بودند، قرار داده شدند.

پلیت های آماده شده در گرمخانه در دمای ثابت ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از گذشت این مدت زمان، قطر هاله عدم رشد اطراف هر یک از دیسک ها، اندازه‌گیری شد و با نمونه شاهد (کلرآمفنیکل) مورد مقایسه قرار گرفت. این کار پژوهشی دارای کد اخلاق IR/IAU/KH/1395/1/5 از موسسه محل انجام تحقیق می‌باشد.

یافته‌ها:

مواد موجود در عصاره به دست آمده از بابونه تالشی موجب می‌شوند تا یون های نقره به نانو ذرات نقره تبدیل شوند که این پدیده با ایجاد تغییر رنگ محلول و تبدیل آن به قهوه‌ای تیره قابل مشاهده است (تصویر شماره ۱). نانو ذرات نقره تشکیل شده، به کمک آنالیز طیف مرئی- فرابنفش به اثبات می‌رسد. در دهه اخیر گزارش‌های فراوانی راجع به عوامل کاهنده و پایدارکننده نانو ذرات نقره در منابع علمی انتشار یافته است که حاکی از دخالت متابولیسم‌های ثانویه موجود در گیاهان بخصوص در انجام این قبیل واکنش‌ها می‌باشد. مشتقاتی از ترکیبات آنتراکینون، لاکتون، کومارین، زانتون، فلاونوئیدوپلی فنولیک به عنوان مواد مؤثر در کاهش نانو ذرات فلزی نقش کلیدی دارند که در مورد نانو نقره، آن‌ها با انتقال الکترون به یون های Ag^{+} موجب تشکیل نانو ذرات نقره می‌شوند (۲۶-۲۴).



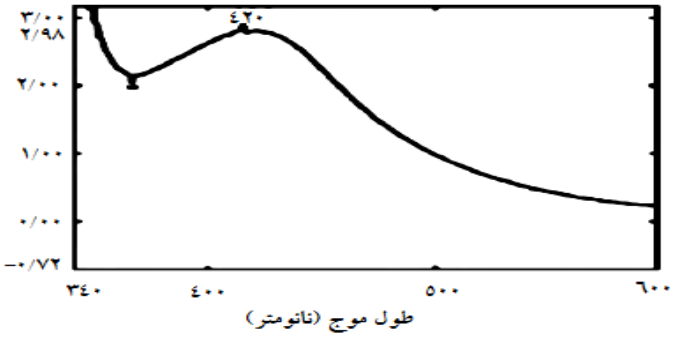
تصویر شماره ۱: تغییر رنگ محلول عصاره

(A): رنگ محلول قبل از واکنش با نیترات نقره، (B): رنگ محلول پس از واکنش با نیترات نقره.

www.SID.ir

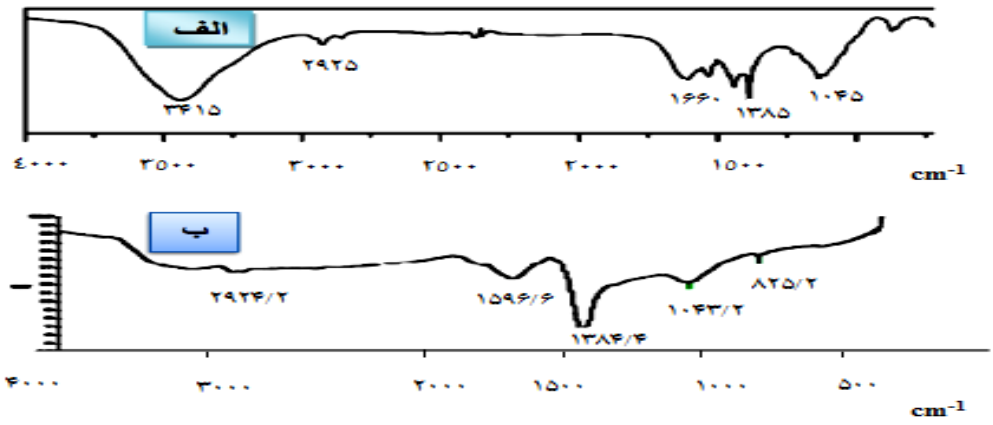
Archive of SID

در بررسی طیف مرئی- فرابنفش حاصل از نمونه مورد آزمایش، یک پیک جذبی قوی در حوالی ۴۲۰ نانومتر مشاهده می‌شود. این پیک جذبی مربوط به تولید نانو ذرات نقره است (تصویر شماره ۲). باند وسیع پیک جذبی گویای پراکندگی زیاد و یکنواخت و همچنین عدم تجمع نانو ذرات نقره می‌باشد (۲۷). نانو ذرات نقره به دست آمده، دارای پیک جذبی قوی و ثابتی است که به واسطه رزونانس پلاسمون سطحی قوی در طول موج ۴۵۰ ظاهر می‌شود. این پیک ها شواهدی هستند که به‌وضوح حکایت از کاهش یون‌های Ag^+ و تشکیل نانو نقره را دارد.



تصویر شماره ۲: پیک جذبی مرئی/ فرابنفش نانو ذرات نقره حاصل از فرآیند نانوفیتوسنتز با عصاره الکلی بابونه تالشی

طیف زیر قرمز (IR) محلول عصاره گیاه بابونه تالشی قبل از واکنش با محلول نیترات نقره، به صورت خالص (تصویر شماره ۳- الف) و محلول حاوی نانو ذرات نقره تولید شده پس از واکنش با نیترات نقره (تصویر شماره ۳- ب) در گستره ۵۰۰ تا ۴۰۰۰ (cm^{-1}) تهیه شد. همانطور که در طیف زیر قرمز در تصویر شماره ۳ ملاحظه می‌شود، تفاوت‌هایی در سیگنال‌های دو طیف الف و ب دیده می شود. مهمترین باندهای فلاونوئیدی در IR وجود باند پهن در ۳۴۰۰ تا ۳۴۵۰ (cm^{-1}) مربوط به گروه‌های هیدروکسیل (OH) فنولیک و همچنین باند مشخص گروه کربونیل و باندهای کششی آروماتیکی می‌باشد که در تصویر شماره ۳- الف این باندها قابل ملاحظه هستند. در حالی که این باندها در تصویر شماره ۳- ب مشاهده نمی‌شوند و یا دچار تغییرات کلی شده اند. از این تغییرات می‌توان چنین نتیجه گرفت که این عوامل در واکنش با یون های Ag^+ موجود در محلول مشارکت داشته و عامل کاهنده آن به نانو نقره می‌باشند.



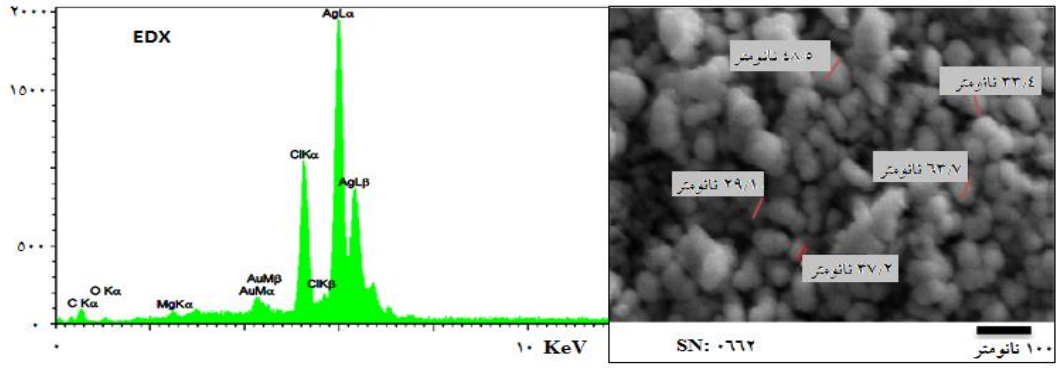
تصویر شماره ۳: طیف زیر قرمز حاصل از عصاره بابونه تالشی

الف: قبل از واکنش و ب: بعد از واکنش با یون های Ag^+

www.SID.ir

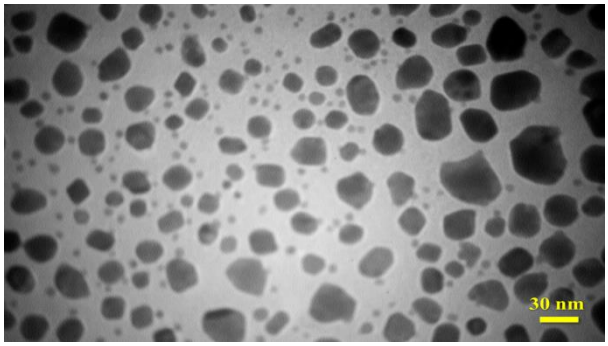
Archive of SID

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) به دست آمده از پودر نانو ذرات نقره، از نظر شکل ظاهری و مورفولوژی سطح نمونه، مورد مطالعه قرار گرفت (تصویر شماره ۴). این تصاویر نشان می‌دهند که نانو ذرات نقره به صورت نانوبلورک های مکعبی با اندازه قطر یکنواخت حدود ۳۰ تا ۵۰ نانومتر در یک سطح یکنواخت پخش شده‌اند. در این شکل به وضوح دیده می شودکه برخی از ذرات نانو نقره توسط لایه های ثانویه‌ای پوشانده شده اند. این لایه ها را می‌توان به همان ترکیبات متابولیت ثانویه موجود در عصاره گیاه نسبت داد که محصولات آن‌ها پس از واکنش، می‌توانند به عنوان بستری مناسب، بخشی از سطح نانو ذرات نقره را در برگیرند.



تصویر شماره ۴: تصویر SEM (سمت راست) و EDX (سمت چپ) مربوط به نانوبلورهای مکعبی نقره

با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، ساختار فیزیکی و شکل ظاهری نانو ذرات نقره تهیه شده در شرایط بهینه آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. در رابطه با ویژگی‌های نانو ذرات سنتز شده، اطلاعات مفیدی در مورد اشکال هندسی آن‌ها به دست آمد. تصاویر جالب به دست آمده از این تکنیک، در تعیین ابعاد، شکل و اندازه نانو ذرات نقره بکار رفت. همانطور که در تصویر شماره ۵ نانو ذرات تولید شده در این تحقیق مشاهده می‌شود، می‌توان دریافت که با توجه به اندازه ذرات داده شده و تعداد آن‌ها، اولاً ذرات تولید شده در مقیاس نانو بوده و تخمین زده می‌شود بیش از ۷۵٪ ذرات به طور یکنواخت پخش شده‌اند و ثانیاً دارای اشکال کریستالی مکعبی در ابعاد ۲۵ تا ۶۰ نانومتر و اندازه متوسط آن‌ها حدود ۳۰ نانومتر می‌باشد (تصویر شماره ۵). علاوه بر این در تصویر TEM ملاحظه می شود که میان برخی از ذرات اندکی درهم‌آمیختگی وجود دارد که این موضوع دو دلیل دارد. دلیل اول اینکه درصد کمی از ترکیب گیاهی موجود در عصاره بکار رفته، در فرآیند واکنش سنتزی مشارکت داشته است و بقیه آن‌ها دست نخورده باقیمانده است. علت دوم این است که تشکیل دانه های دوقلو در مرحله هسته سازی و تشکیل کریستال نانو ذرات اتفاق افتاده است.

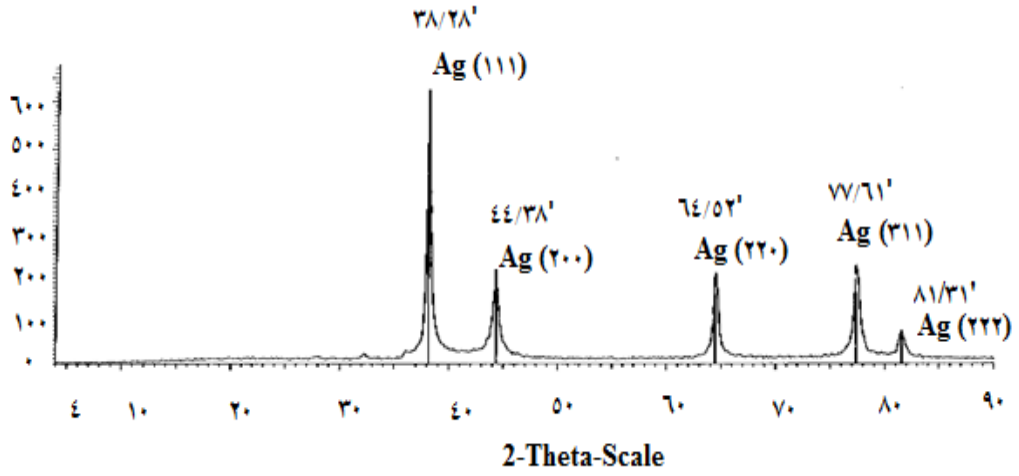


تصویر شماره ۵: نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و تصویر نانوبلورک های مکعبی نقره

www.SID.ir

Archive of SID

برای یافتن اندازه‌ها و ابعاد دقیق و ساختار کریستالی نانو ذرات تولید شده، از تکنیک عکسبرداری با پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده گردید. تصویر شماره ۶ نتایج حاصل از این روش را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل تصاویر و اطلاعات حاصل از نانو ذرات نقره حاکی از این است که تعداد ۵ پیک با شدت‌های مختلف در مقیاس ۲θ به ترتیب برابر ۳۸,۲۸؛ ۴۴,۳۸؛ ۶۴,۵۲؛ ۷۷,۶۱ و ۸۱,۳۱ درجه که صرفاً به نقره اختصاص دارند، تأیید می‌گردد (۲۸). مجموعاً تعداد ۵ سیگنال معین پراش ملاحظه شده فوق، بالاتر از ۳۷ درجه در طیف XRD نمونه به ترتیب به بازتاب‌های (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۲۲۲) بلورهای نقره مربوط می‌شوند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که شکل‌گیری بلورهای نقره با ساختار مکعب با وجوه مرکز پر (fcc) با پارامتر شبکه ۴/۰۸۶ آنگستروم می‌باشند. با توجه به شدت پیک ها و مقایسه آن‌ها درمی‌یابیم که پیک (۱۱۱) از سایر پیک‌ها شدیدتر و قوی‌تر است، بنابراین می‌توان چنین اظهار نظر کرد که صفحات بلورک‌های تشکیل شده، در جهت (۱۱۱) زیادتر بوده و در نتیجه سمت‌گیری ترجیحی صفحات (۱۱۱) عمود بر سطح می‌باشد. همچنین الگوی پراش در تصویر شماره ۶ نشان می‌دهد که محصول نانو ذرات نقره به دست آمده از احیای یون های نقره توسط عصاره گونه گیاهی بابونه تالشی ازدرجه خلوص بالایی برخوردار است. این موضوع مهم نشان دهنده به‌کارگیری شرایط بهینه در عملیات تبدیل یون های Ag^{+} به نانو ذرات Ag° می‌باشد.



تصویر شماره ۶: طیف پراش پرتو X (XRD) نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره گونه گیاهی بابونه تالشی

برای محاسبه اندازه نانو ذرات نقره حاصل شده، از فرمول دبای- شرر (Debye-Scherrer) و پهنای پیک در نصف ارتفاع پیک (FWHM)، استفاده کرده و اندازه تقریبی آن‌ها را به دست می آوریم. برای افزایش در دقت معادله فوق، بایستی محاسبه روی چند سیگنال بدست آمده در طیف XRD اعمال گردد تا میانگینی از اندازه ذرات به‌طور دقیق‌تر به دست آید.

معادله دبای- شرر: $d(nm) = K.\lambda / \beta . Cos\,\theta$

در این معادله d اندازه نانو ذرات بر حسب نانومتر، K عدد ثابت برابر ۰/۹ ؛ λ طول موج پراش اشعه X و برابر با ۰/۱۵۴ نانومتر (برابر با ۱/۵۴ آنگستروم)، β پهنای پیک در نصف ارتفاع بر حسب رادیان و θ زاویه پراش بر حسب درجه می باشند. با توجه به این اطلاعات و محاسبات انجام شده در زاویه پراش 38° (۲θ= 38°) و پهنای حدود ۰/۵ درجه، اندازه نانو ذرات نقره در حدود ۳۴ نانومتر تعیین شد. این اندازه با مقدار مشاهده شده در تصاویر SEM و TEM

www.SID.ir

Archive of SID

مطابقت کامل دارد. مطالعه خواص و فعالیت‌های بیولوژیکی نانوبلورهای نقره و نتایج حاصل از آن، به این ترتیب انجام گرفت که تغییرات رخ داده در هر یک از نمونه‌ها پس از سپری شدن مدت زمان پیش‌بینی شده یعنی ۲۴ ساعت از نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور، ثبت گردید. اثرات ضد باکتری نانو ذرات نقره به دست آمده در این روش، در مقایسه با کلرآمفنیکل با روش انتشار دیسک و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های ۶ میلی متری در محیط آگار مولر- هینتون مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول شماره ۱). نتایج حاصل در جدول شماره ۱ گردآوری شد. همانطور که در این جدول نشان داده شده است، اثر بازدارندگی مخلوط ۵۰:۵۰ از نانو ذرات نقره با کلرآمفنیکل، نسبت به نانو ذرات نقره خالص و نمونه شاهد آزمایشی (کلرآمفنیکل خالص) در مقابل رشد سویه های باکتری مورد بررسی در این آزمایش، بیشتر می‌باشند.

جدول شماره ۱: مقایسه فعالیت ضدباکتری نانو ذرات نقره تهیه شده با کلرآمفنیکل و مخلوط آن با کلرآمفنیکل

		قطر هاله عدم رشد باکتری (میلی متر)			
ردیف	باکتری های بررسی شده	عصاره خالص	نانو ذرات نقره	کلرآمفنیکل (شاهد)	نانونقره + کلرآمفنیکل
۱	*اشریشیاکلی* (ATCC ۲۵۹۲۲)	۹	۱۹	۱۸	۲٤
۲	*باسیلوس سابتیلیس* (ATCC ۹۳۷۲)	۱۱	۱۲	۱۹	۲۰
۳	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (ATCC ۱۲۲۲۸)	۱۵	۱۸	۲۱	۲۳
٤	*استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۲۵۹۲۳)	۱۲	۱٤	۲۲	۲۵

یافته‌های حاصل از بررسی فعالیت ضد باکتری مخلوطی ۵۰:۵۰ از نانو نقره و داروی آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل در برابر سویه های مورد آزمایش، حکایت از یک نوع اثر سینرژیست مثبت را دارد؛ یعنی اینکه مخلوط نانوبلورهای نقره و آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل در کنار هم اثر هم‌افزایی و تقویتی بسیار خوبی در برابر هر ۴ مورد باکتری مورد آزمایش از خود نشان می‌دهند. باکتری *اشریشیاکلی* در برابر عصاره خالص، حساسیت بسیار کمی از خود نشان می‌دهد (۹ میلی متر). در حالی که در برابر مخلوطی از دو ترکیب آزمایشی، مقاومت نشان نمی دهد و قطر هاله عدم رشد آن بسیار زیاد است (۲۴ میلی متر). همانطور که یافته‌های حاصل از آزمایش در جدول شماره ۱ نشان می‌دهد، حساسیت باکتری *اشریشیاکلی* در برابر نانو نقره بیشتر از آنتی بیوتیک (به ترتیب ۱۹ و ۱۸ میلی متر) بوده و نشان می‌دهد که این باکتری گرم منفی در برابر مخلوط نانو نقره و آنتی بیوتیک حساسیت به مراتب بیشتری نشان می‌دهد (۲۴ میلی متر) و به میزان ۶ واحد تقویت و حساس‌تر شده است. عصاره خالص بابونه تالشی در برابر فعالیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، قطر هاله عدم رشد ۱۲ میلی متر، در برابر نانو نقره ۱۴ میلی متر و در مقابل آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل ۲۲ میلی متر ایجاد می‌کند. این در حالی است که مخلوط نانو نقره با آنتی‌بیوتیک در برابر همان باکتری، به رقم ۲۵ میلی متر افزایش یافته است که ۳ واحد نسبت به آنتی بیوتیک و ۱۱ واحد نسبت به نانو نقره تقویت شده است. سایر موارد مطرح شده در جدول، تقریباً مشابه همین روند بوده و این نتایج نشان می‌دهند که با بکار بردن نانو ذرات نقره به همراه آنتی بیوتیک‌ها، میزان حساسیت باکتری ها در برابر مخلوط آزمایشی، افزایش می‌یابد. لذا تقویت قدرت

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل توسط نانو نقره می‌تواند یکی از موارد کاربردهای جدید و مهم نانو نقره برای این منظور باشد.

بحث:

در این کار تحقیقی، ترکیبات موجود در عصاره متانولی گونه گیاهی بابونه تاشی با نام علمی *Anthemis talyschensis* به عنوان فاکتورهای احیاکننده یون های نقره (Ag^+) در یک فرآیند اختصاصی به نام نانوفیتوسنتز برای سنتز نانو ذرات نقره مورد استفاده قرار گرفت. این تکنیک به دو دلیل اصلی دارای اهمیت است. اول اینکه یک روش سریع، ارزان، زیست سازگار و بسیار ساده بوده و لذا از هر نظر و به خصوص از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است. دوم اینکه در این فرآیند، شرایط فیزیکی و محیطی واکنش به آسانس قابل کنترل است و در نتیجه نانو ذراتی یکنواخت با بلورک‌های مکعبی (با درصد کمی کروی) ساخته می‌شوند که از نظر فعالیت بیولوژیکی که در ادامه همین مبحث خواهیم دید، بسیار با ارزش و منحصر به فرد هستند. نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گونه گیاهی بابونه تالشی با فرآیند نانوفیتوسنتز تهیه شد. اندازه، شکل و برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها توسط میکروسکوپ های الکترونی روبشی و انتقالی (SEM و TEM) تعیین شد. ساختار بلوری آن ها نیز توسط پراش اشعه ایکس (XRD) مشخص گردید.

اثر تقویتی ضد باکتری نانو ذرات حاصل، با آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل بر روی تعدادی باکتری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که اولاً نانو ذرات تولید شده، اغلب دارای ساختار هندسی مکعبی در ابعاد ۳۰ الی ۵۰ نانومتر هستند و ثانیاً ضمن داشتن اثرات ضد باکتری به صورت انفرادی، موجب تقویت اثر ضد باکتری داروی آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل، هنگام مخلوط با آن، می‌گردد. این اثر هم‌افزایی مثبت بین دو ترکیب موجب افزایش حساسیت باکتری ها و لذا کاهش مقاومت آن‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها می شود. یکی از عوامل ایجاد این توانش در نانو ذرات و افزایش قدرت ضد باکتری آن ها را می‌توان به شکل هندسی نانو ذرات نسبت داد؛ یعنی نانو ذرات نقره با ابعاد مکعبی دارای لبه‌ها و گوشه‌های تیز و برنده بوده و لذا اثر برندگی و دریدن دیواره باکتری ها برای آن ها آسان تر و سریع تر اتفاق می‌افتد. تصویر TEM وجود بیش از ۷۵٪ نانو ذرات با شکل بلوری مکعبی را نشان می‌دهد؛ بنابراین ساخت نانو ذرات نقره با چنین ویژگی‌هایی به روش نانوفیتوسنتز در شرایط بهینه و قابل کنترل انجام می‌گیرد. در سال های اخیر، اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تهیه شده با استفاده از عصاره یک گونه قارچ به نام *کریفونکتریا* (Cryphonectria) و با ابعاد ۷۰-۳۰ نانومتر، به صورت انفرادی و در مخلوط با آنتی بیوتیک استرپتومایسین بر روی تعدادی از باکتری ها مورد بررسی قرار گرفته و اثرات تقویتی و هم‌افزایی نانو ذرات نقره بر آنتی بیوتیک فوق نشان داده شده است (۲۹).

مطالعات Prabhu و همکاران در زمینه فعالیت ضد باکتریایی ترکیب نانو ذرات نقره/ گیاه که از برگ های دو گونه گیاهی با نام های علمی *اوسیموم سانکتوم* و *ویتکس نگوندا* به دست آمده بود، در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ویبریو کلرا*، *پروتئوس ولگاریس* و *سودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آزمایش در غلظت های مختلف نشان دادکه نانو ذرات نقره حاصل شده با عصاره برگ های هردو گیاه دارای فعالیت ضد باکتریایی خوبی بوده و در مقایسه با فعالیت ضد باکتریایی عصاره برگ های دو گیاه مذکور عملکرد بهتری دارد. همچنین نانو ذرات نقره تولید شده با گونه *اوسیموم سانکتوم* دارای فعالیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به نانو ذرات نقره حاصل از *ویتکس نگوندا* می‌باشد (۱۴).

با توجه به این موضوع مهم که یکی از عوامل مؤثر در فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات بکار رفته، شکل و اندازه آن هاست، لذا می توان چنین استنباط نمود که در مقایسه نتایج کار ما با داده های مذکور،

www.SID.ir

Archive of SID

اثر هم‌افزایی بیشتری در داده های حاصل از آزمایش ما دیده می شود؛ زیرا بیش از ۷۵٪ نانو ذرات نقره ساخته شده توسط عصاره بابونه تالشی، دارای بلورهای مکعبی با متوسط اندازه ۳۰ نانومتر هستند. مطالعه دیگری نشان می‌دهد که اندرکنش‌های متعددی میان نانو ذرات و بیومولکول های میکروارگانیسم ها اتفاق می‌افتد (۳۰). یکی از این موارد وجود اختلاف بار و دوقطبی های متفاوت میان نانو ذرات و بیومولکول ها است که سبب اتصال آن ها به یکدیگر و به دنبال آن شروع فعالیت نانوذره در سطح سلول شده و موجب از بین رفتن آن می گردد.

ایجاد پدیده اکسیداسیون در بیومولکول های سطح بیرونی میکروارگانیسم ها از جمله باکتری ها نیز اتفاق افتاده و بدین ترتیب سبب نابودی آن‌ها می‌شود. همچنین نانو ذرات نقره موجب می‌شود که اتصال سلول های باکتری و به دنبال آن تشکیل بیوفیلم دچار تأخیر شده و به کندی انجام گیرد. در نتیجه، این عمل مانع از تثبیت و تکثیر باکتری ها می شود. این مواد موجب می‌شوند که اجزای ممانعت کننده موجود در غشاء خارجی باکتری ها که سبب آزاد شدن تصاعدی مولکول هایی نظیر لیپو پلی ساکاریدها و پورین ها از غشاء سیتوپلاسمی می شود، از هم گسسته شوند (۳۱).

مطالعات دیگری در این زمینه نشان می‌دهند که تغییرات ایجاد شده در ساختار پوسته و دیواره سلول های باکتری هنگام واکنش با نانو ذرات نقره، درنتیجه اندرکنش اشاره شده در بالا و نفوذ ذرات نانونقره از طریق پوسته خارجی میکروارگانیسم ها و به دنبال آن تجمع نمودن در درون آن‌ها اتفاق می‌افتد که سرانجام سبب از بین رفتن باکتری می شوند (۳۲)؛ بنابراین می‌توان این موضوع را به این صورت توضیح داد که ذرات نانوکریستال با ساختار بلوری مکعبی برخلاف شکل کروی، دارای اضلاع و گوشه‌هایی با لبه‌های تیز و برنده می باشند که همین موضوع علاوه بر سایر فاکتورهای عملکردی موجود در این زمینه، کارآیی آن‌ها را افزایش می‌دهد. لذا با بکار بردن روش سنتز بیولوژیکی که از عصاره گیاهان نیز بهره‌گیری می‌شود، دستیابی به نانو ذرات نقره با چنین ویژگی‌هایی با شکل و ابعاد منحصر به فرد از هر نظر با ارزش است. با عنایت به نتایج ارائه شده در جدول شماره ۱ و مقایسه آن ها، به این واقعیت می‌رسیم که نانوبلورهای نقره سنتز شده با بکار بردن عصاره بابونه تالشی، به دلیل داشتن ویژگی‌ها و شرایط مخصوص به خود از جمله ابعاد کوچک، یکنواخت و مهم تر از همه شکل مکعبی مناسب، دارای فعالیت بیولوژیکی بسیار خوبی بوده و یکی از نتایج خوب به دست آمده این است که اثر آنتی بیوتیکی کلرآمفنیکل را نیز تقویت می‌نماید.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه، ذرات نانو نقره با بهره‌گیری از روش نانوفیتوسنتز توسط عصاره گونه گیاهی بابونه تالشی، ساخته شد و ویژگی‌های مواد حاصل، با تکنیک های UV/Vis، FT-IR، SEM، TEM و XRD مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین با هدف دستیابی به نانو ذراتی با فعالیت بیولوژیکی مناسب و تقویت‌کننده اثر ضد باکتریایی کلرآمفنیکل را داشته باشد، ارزیابی گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که نانو ذرات نقره تهیه شده با این روش، اولاً بسیار ایمن و مقرون به صرفه از نظر اقتصادی بوده و کنترل شرایط تولید، اندازه آن ها در ابعاد کوچک‌تر مخصوصاً کنترل شکل نانو ذرات سنتز شده بسیار دقیق و ارزان‌تر از سایر روش های معمول می‌باشد. ثانیاً نانو ذرات نقره ساخته شده در این روش، دارای بلورک‌های مکعبی شکل بوده و با عنایت به چگونگی اثر و مکانیسم اندرکنش آن‌ها با میکروارگانیسم ها که توضیح داده شد، هنگام بکار بردن آن ها با آنتی بیوتیک کلرآمفنیکل موجب تقویت قدرت ضد میکروبی آن می‌گردد. این هم‌افزایی مثبت میان سایرنانو ذرات با آنتی بیوتیک های مختلف نیز می تواند مورد ارزیابی قرار گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر و قدردانی:

مراتب قدردانی خود را از ریاست محترم دانشگاه و مسئول محترم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و سایر بزرگوارانی که در انجام این تحقیق که مستخرج از طرح تحقیقاتی به شماره ۵۹۲۶۷/ پ می‌باشد، از هر گونه مساعدتی دریغ نورزیدند، اعلام می‌داریم.

منابع:

1. McNeil SE. Nanotechnology for the biologist. J Leukoc Biol. 2005; 78(3): 585-94.
2. Hu T-L, Hwa J-Z, Chang W-F, Wu JJ. Anti-bacterial study using nano silver-doped high density polyethylene pipe. Sustain Environ Res. 2012; 22(3): 153-8.
3. Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AV. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. Colloids Surf B Biointerfaces. 2012; 94: 143-50.
4. Selvam S, Rajiv Gandhi R, Suresh J, Gowri S, Ravikumar S, Sundrarajan M. Antibacterial effect of novel synthesized sulfated beta-cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO_2 and Ag nanoparticles coating. Int J Pharm. 2012; 434(1-2): 366-74.
5. Nabipour YS, Rostamzad A. Comparing the antimicrobial effects of silver and copper nanoparticles against pathogenic and resistant bacteria of *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Cumhuriyet Sci J. 2015; 36(3): 2541-6.
6. Kakavandi B, Rezaei Kalantary R, Jonidi Jafari A, Esrafily A, Gholizadeh A, Azari A. Efficiency of powder activated carbon magnetized by Fe_3O_4 nanoparticles for amoxicillin removal from aqueous solutions: Equilibrium and kinetic studies of adsorption process. Iran J Health Environ. 2014; 7(1): 21-34.
7. Akhtari J, Abastabar M, Abediankenari S. Application of Nanocarriers in Immunogenicity against Diseases. J Mazandaran Univ Med Sci. 2015; 24(121): 431-45.
8. Shi F, Zhao JH, Liu Y, Wang Z, Zhang YT, Feng NP. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with frankincense and myrrh oil. Int J Nanomedicine. 2012; 7: 2033-43.
9. Valipour S, Ebrahimzadeh MA, Mobini GHR, Akhtari J. The use of nanoparticles in the formulation of essential oils. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 18(6): 159-76.
10. Arbabi M, Hemati S, Raygan S, Sedehi M, Khodabakhshi A, Fadaei A. Evaluation of almond shells magnetized by iron nano-particles for nitrate removal from aqueous solution: Study of adsorption isotherm. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(6): 92-102.
11. Navaladian S, Viswanathan B, Viswanath RP, Varadarajan TK. Thermal decomposition as route for silver nanoparticles. Nanoscale Res Lett. 2007; 2: 44-8.
12. Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. Biotechnol Prog. 2006; 22(2): 577-83.
13. Chamakura K, Perez-Ballestero R, Luo Z, Bashir S, Liu J. Comparison of bactericidal activities of silver nanoparticles with common chemical disinfectants. Colloids Surf B Biointerfaces. 2011; 84(1): 88-96.
14. Prabhu N, Divya TR, Yamuna GK, Ayisha SS, Joseph PID. Synthesis of silver phyto nanoparticles and their antibacterial efficacy. Dig J Nanomater Bios. 2010; 5(1): 185-9.
15. Medina-Ramirez I, Luo Z, Bashir S, Mernaugh R, Liu JL. Facile design and nanostructural evaluation of silver-modified titania used as disinfectant. Dalton Trans. 2011; 40(5): 1047-54.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Magana SM, Quintana P, Aguilar DH, Toledo JA, Angeles-Chavez C, Cortes MA, et al. Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver. J Mol Catal A Chem. 2008; 281: 192-9.
17. Nithya R, Ragunathan R. Synthesis of silver nanoparticle using Pleurotus sajorcaju and its antimicrobial study. Dig. J Nanomater Biostruct. 2009; 4: 623-9.
18. Mohammadi S, Hoshmandi Z, Setorki M. The effect of Fe2NiO4 and Fe_4NiO_4Zn nanoparticles on hepatic, renal and spleen tissues in male wistar rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(3): 52-64.
19. Akhtar MJ, Ahamed M, Kumar S, Khan MM, Ahmad J, Alrokayan SA. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. Int J Nanomedicine. 2012; 7: 845-57.
20. Karpenko IL, Sorokoumova GM, Sumarukova IG, Gaydukevich SK, Zaretskaya MA, Efremenkova OV, et al. Development of liposomal forms of modified pyrimidine nucleosides and investigation of their antibacterial properties. Antibiot Khimioter. 2016; 61(11-12): 9-15.
21. Fortner JD, Lyon DY, Sayes CM, Boyd AM, Falkner JC, Hotze EM, et al. C60 in water: Nanocrystal formation and microbial response. Environ Sci Technol. 2005; 39(11): 4307-16.
22. Jones GL, Muller CT, O'Reilly M, Stickler DJ. Effect of triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(2): 266-72.
23. Luo YH, Chang LW, Lin P. Metal-based nanoparticles and the immune system: Activation, inflammation, and potential applications. Biomed Res Int. 2015; 2015.
24. Akhavan M, Shafaghat A, Salimi F. Novel acetylated chalcone and biflavonoid glycosides from *Trigonosciadiumbrachytaenium* (Boiss.) Alava. Nat Prod Res. 2013; 27(22): 2111-7.
25. Akhavan M, Jahangiri S, Shafaghat A. Studies on the antioxidant and antimicrobial activity and flavonoid derivatives from the fruit of *Trigonosciadiumbrachytaenium* (Boiss.) Alava. Indust crops prod. 2015; 63: 114-8.
26. Kasthuri J, Veerapandian S, Rajendiran N. Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent. Colloids Surf B Biointerfaces. 2009; 6(8): 55–60.
27. Zargar M, Hamid AA, Bakar FA, Shamsudin MN, Shameli K, Jahanshiri F, et al. Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. Molecules. 2011; 16(8): 6667-76.
28. Shameli K, Ahmad MB, Zargar M, Yunus WM, Rustaiyan A, Ibrahim NA. Synthesis of silver nanoparticles in montmorillonite and their antibacterial behavior. Int J Nanomedicine. 2011; 6: 581-90.
29. Dar MA, Ingle A, Rai M. Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. evaluated singly and in combination with antibiotics. Nanomedicine. 2013; 9(1): 105-10.
30. Schrand AM, Rahman MF, Hussain SM, Schlager JJ, Smith DA, Syed AF. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. Wiley interdisciplinary reviews: Nanomed and Nanobiotechnolog. 2010; 2(5): 544-68.
31. Martel S. Method and system for controlling micro-objects or micro-particle. United States Patent US 20100215785. 2005, Appl. 11/145, 2007.
32. Dibrov P, Dzioba J, Gosink KK, Hase CC. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag(+) in Vibrio cholerae. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(8): 2668-70.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(5): 45-58.

Original article

Investigation the antibacterial effect of silver nanoparticles made by nanophytosynthesis alone and in combination with chloramphenicol

Shafaghat A*
Dept. of Chemistry, Khalkhal Branch, Islamic Azad University, Khalkhal, I.R. Iran.
Received: 2/Oct/2017 Accepted: 24/Jan/2018

Background and aims: Nanophytosynthesis is a part of nanobiotechnology science and it is the use of plant secondary metabolic compounds through which the synthesis of different nanoparticles is carried out. The resistance of microbes to conventional synthetic antibiotics is inevitable. To reduce this resistance, effective nanoparticles that can have an antibiotic enhancement effect have been used. The aim of this study was to investigate the effect of enhancing the antibiotic properties of chloramphenicol using nanoparticles made by nanophytosynthesis.
Methods: The cubic nanocrystallites of silver were synthesized by nanophytosynthesis method with utilization of the aerial part of *Anthemis talyschensis* methanolic extract. The structure and optical properties were investigated by FT-IR, UV/Vis, TEM, SEM and XRD. Antibacterial activity of synthesized silver nanocrystallites as separately and in combined with chloramphenicol against four bacterial species were studied according to the disk diffusion method.
Results: The results showed that more than 75% of the synthesized silver nano particles have a cubic structure. The biological study showed that these nanoparticles have a good activity against growth of bacteria and enhances the antibacterial effect of chloramphenicol as antibiotic.
Conclusion: Increasing the inhibition of bacterial growth by these nanocrystals was associated with the silver nano cubic structure. Also, nanophytosynthesis method for different nanoparticle preparation is an economical and green synthesis method, and it is in the adjustment of nature which it provides an optimal condition for production of nanoparticles.

Keywords: **Nanophytosynthesis, Antibacterial, Nano silver, Chloramphenicol, *Anthemis talyschensis.***

Cite this article as: Shafaghat A. Investigation the antibacterial effect of silver nanoparticles made by nanophytosynthesis alone and in combination with chloramphenicol. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(5): 45-58.

*Corresponding author:
Chemistry Dept., Khalkhal Branch, Islamic Azad University, Khalkhal, I.R. Iran. Tel: 00984532451221, E-mail: shafaghata@yahoo.com

www.SID.ir