

اثر هم‌افزایی نانو ذرات نقره به همراه عصاره اتانولی اکالیپتوس

بر تعداد کولونی‌های قارچ آسپرژیلوس نیجر

دکتر نوشین نقش*^۱، دکتر منیر دودی^۲، صفورا سلیمانی^۳، سمیرا ترکان^۴

۱- دکتری فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان. ۲- استادیار گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان. ۳- کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم دانشگاه فرودسی مشهد. ۴- کارشناس گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان.

چکیده

زمینه و هدف: یکی از زمینه‌های کاربردی نانویوتکنولوژی استفاده از نانو ذرات نقره (Nanosilver particles) است. این نانو ذرات دارای خاصیت ضدباکتری و ضدقارچ می‌باشند و می‌توان از درمان‌های ترکیبی استفاده نمود. این مطالعه به منظور تعیین اثر هم‌افزایی نانو ذرات نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس در مهار رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی برای کشت قارچ آسپرژیلوس نیجر، از محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) استفاده شد. برای مقایسه اثر هم‌افزایی نانو ذرات نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس، پنج گروه آزمایش و یک گروه کنترل در نظر گرفته شد. به محیط کشت گروه اول نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm؛ گروه دوم نانو ذرات نقره با غلظت ۱۲/۵ ppm؛ گروه سوم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس؛ گروه چهارم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۱۲/۵ ppm و گروه پنجم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm اضافه شد و گروه کنترل آب مقطر دوبار تقطیر دریافت کرد. بعد از گذشت ۸ و ۲۴ روز تعداد کولونی‌ها در محیط‌های کشت مقایسه شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-15 و آزمون ANOVA تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تعداد کولونی‌های قارچ آسپرژیلوس نیجر ۸ روز بعد از تیمار از ۲۰۰ عدد در گروه کنترل به ۹۰، ۷۵، ۵۵ و ۴۳ به ترتیب در گروه نانو ذرات نقره به‌تنهایی در غلظت ۱۲/۵ ppm، گروه نانو ذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm، گروه نانو ذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس و گروه عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). تعداد کولونی‌های قارچ آسپرژیلوس نیجر ۲۴ روز بعد از تیمار از ۲۰۰ عدد در گروه کنترل به ۴۲، ۱۴ و ۲ به ترتیب در گروه‌های عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس، نانو ذرات نقره در غلظت ۱۲/۵ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس و نانو ذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که نانو ذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm به همراه عصاره اتانولی اکالیپتوس باعث کاهش تعداد کولونی‌های قارچ آسپرژیلوس نیجر می‌شود.

کلید واژه‌ها: نانو ذرات نقره، اکالیپتوس، آسپرژیلوس نیجر

* نویسنده مسؤول: دکتر نوشین نقش، پست الکترونیکی naghsh@iaufala.ac.ir و n_naghsh@yahoo.com

نشانی: فلاورجان، بلوار بسیج، بلوار دانشگاه، صندوق پستی ۸۴۵۱۵/۱۵۵، تلفن ۵-۳۱۲۰۱۳۴-۳۱۲۰۳۱۲، شماره ۳۱۳۲۶۰۱
وصول مقاله: ۹۰/۵/۲۲، اصلاح نهایی: ۹۰/۷/۱۰، پذیرش مقاله: ۹۰/۷/۱۷

مقدمه

خواهد شد (۱). مصرف مداوم و بی‌رویه ترکیبات دارویی سنتز شده باعث ایجاد پدیده مهم خودایمنی در باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌شود. با ایجاد این پدیده اثر داروها ضعیف و یا خنثی شده و در نهایت باعث افزایش مصرف و تمایل به استفاده از انواع قوی‌تر آنها می‌شود (۲). همچنین افزایش اثرات جانبی داروها منجر به ایجاد بیماری‌هایی می‌شود که از بیماری اولیه خطرناک‌تر است. راه‌حل

یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در علم مقابله با میکروارگانیزم‌هایی است که در طول زمان در مقابل داروهای شیمیایی موجود مقاوم شده‌اند. برای مقابله با این پدیده دو راهکار مهم مورد توجه است. راه اول، افزایش مقدار مصرفی دارو است که معایب خاص خود را دارد؛ به‌ویژه باعث افزایش خطر مواد شیمیایی، ایجاد عوارض جانبی و افزایش اثر مخرب آنها بر محیط زیست

جدیدتر، تعویض فرمولاسیون مواد ضد میکروبی و داروهای سنتز شده است. بدین صورت که می‌توان از درمان‌های ترکیبی (Combination therapy) استفاده نمود (۲).

باتوجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی به تحقیق در مورد گیاهان دارویی توجه فراوانی شده است (۴ و ۳). امروزه با شناخت دقیقی که در مورد اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی به دست آمده؛ مصرف آن در جهان روبه افزایش است. اکالیپتوس یکی از مهم‌ترین، شناخته‌شده‌ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی است که به دلیل فعالیت‌های بیولوژیکی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدویروسی در طب سنتی کاربرد دارد. اکالیپتوس از خانواده Myrtaceae درختی مرتفع با چوبی سخت و بادوام است. اکالیپتوس لته آبی یا درخت تب استرالیا، شناخته‌شده‌ترین گونه اکالیپتوس با مصارف پزشکی است. ساکنین اولیه استرالیا از برگ‌های اکالیپتوس برای درمان جراحات و پایین آوردن تب استفاده می‌کردند. برگ‌های اکالیپتوس دارای اکالیپتول (سینئول)، ترینئول، الکل‌های سسکوئینی، آلدهیدهای آلیفاتیک، الکل ایزوآمیل و تریپن‌ها می‌باشند. بعضی از این ترکیبات دارای خواص بیولوژیک متعدد از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتری و ضدقارچی می‌باشند (۶ و ۵).

نانو تکنولوژی به‌عنوان یکی از نمونه‌های پیشرفت در علم و تکنولوژی، کاربرد بسیاری در بخش بهداشت و درمان و در حوزه سلامت انسان یافته است. استفاده از فلزات در ابعاد نانو به منظور مصارف ضد میکروبی در تکنولوژی جدید نانو به میزان زیادی مورد توجه است. نانوذرات نقره (Nanosilver particles) یکی از دستاوردهای شگرف علمی از فناوری نانو بوده و پرکاربردترین ذرات پس از نانولوله‌های کربنی است که دارای مصارف ضد میکروبی بوده و در عرصه پزشکی کاربرد دارد (۷).

در فناوری نانو نقره (Nanosilver technology) موادی متشکل از یون‌های نقره به صورت کلئیدی در محلولی به شکل سوسپانسیون قرار دارند. یون‌های نقره به دلیل اندازه کوچک سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و اثر بیشتری بر محیط می‌گذارند (۸). خواص فیزیکی و شیمیایی نقره زمانی که به ابعاد نانو تبدیل می‌شود؛ از جمله اندازه، شکل و مساحت سطحی تغییر می‌کند که به افزایش خاصیت ضد میکروبی آن می‌انجامد.

علت اثرات مہاری نانوذرات نقره را می‌توان به قطر کم یون‌های نقره نسبت داد. به طوری که سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و اثر بیشتری بر غشای سلول‌ها می‌گذارند. از طرفی مکانیسم مولکولی ایجاد شده توسط نانوذرات نقره را می‌توان به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال نسبت داد. بدین صورت نقره با اکسید کردن اتم اکسیژن، یون اکسیژن و با هیدرولیز کردن آب،

یون OH- را تولید می‌کند که هر دو از بنیان‌های فعال و از قوی‌ترین عاملین ضد میکروبی می‌باشند. این رادیکال‌های آزاد با حمله کردن به ارگانل‌های داخل سلولی قارچ می‌توانند باعث مرگ برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) سلول‌های زنده گردند (۹ و ۱۰).

قارچ اسپرژیلوس نیجر اثرات بیماری‌زایی در انسان دارد. این قارچ در ایجاد اوتیت گوش خارجی موثر است. همچنین در ایجاد اندوفتالمیت که نوعی بیماری نادر است و در موارد تزریق نامناسب دارویی، اندوکاردیت و در افراد با عضو پیوندی به وجود می‌آید؛ نقش دارد. مهم‌ترین علائم این بیماری اختلال در بینایی، درد چشم و تجمع چرک در قسمت قدامی چشم بیمار است و به دنبال تلقیح ترومایی یا انتشار خونی آغاز می‌شود (۷ و ۸).

مطالعات متعددی برای شناخت مکانیسم‌های ضد میکروبی نانوذرات نقره و همچنین اکالیپتوس انجام شد؛ اما بیشتر بررسی‌ها روی اثر ضدباکتریایی و ضدویروسی نانوذرات نقره بوده و کمتر به اثرات ضدقارچی آن توجه شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس در مهار رشد قارچ اسپرژیلوس نیجر انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد. برای تهیه نمونه‌های اصلی قارچ، یک ویال قارچ اسپرژیلوس نیجر از انستیتو پاستور تهران خریداری شد.

برای کشت قارچ اسپرژیلوس نیجر، از محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) استفاده شد. به میزان ۳۹ گرم از پودر محیط کشت مزبور با ترازوی دیجیتال به دقت توزین شد. سپس مقدار مزبور توسط بالن ژوژه ۱۰۰۰ میلی‌لیتری با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم رسانده شد. برای استریل نمودن مواد مزبور، محیط کشت، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، در فشار ۱۵ اتمسفر در اتوکلاو قرار داده شد. سپس محیط کشت در ارلن‌های حاوی درپوش فیلتردار در درجه حرارت آزمایشگاه قرار گرفته و خنک شدند. سپس ۲۵ سی‌سی محیط در مجاورت شعله به هر پلیت یک‌بار مصرف افزوده شد. برای تلقیح قارچ در محیط کشت، ابتدا لوپ بر روی شعله استریل گشت و بعد از خنک شدن لوپ، قارچ در مجاورت شعله به میزان یک لوپ به محیط کشت افزوده گردید (۹ و ۸). پس از آن تعداد هاگ‌های موجود به وسیله لام نوبار شمارش شد. تعداد هاگ مورد نظر برای مرحله بعدی ۲۰۰ عدد بود.

برگ‌های گیاه اکالیپتوس به صورت خشک شده از آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان تهیه شد. برگ‌ها تمیز و سپس با آسیاب برقی پودر شدند. از دستگاه سوکسیله در تهیه

غلظت ۵۰ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس کاهش آماری معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). این میزان در گروه‌های نانوذرات نقره به تنهایی در غلظت ۵۰ ppm (۱۵۵ عدد) و نانوذرات نقره تنها در غلظت ۱۲/۵ ppm (۱۳۵ عدد) از نظر آماری معنی دار نبود.

بحث

در این مطالعه ترکیب نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm به همراه عصاره اتانولی اکالیپتوس بیشترین اثرات مهاری را روی قارچ اسپرژیلوس نیجر نشان داد.

در مطالعه Rai و همکاران اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره بررسی و نتیجه گیری شد که قطر، اندازه، شکل و غلظت نانوذرات و روش تهیه نانوذرات در اثرات سیتوتوکسیک آنها مؤثر است (۱۲).

در مطالعه Sriram و همکاران نانوذرات نقره توانستند آنزیم‌های کاسپازی به خصوص Caspase3 را در سلول‌ها فعال نموده و سبب ایجاد مرگ برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) آنها شوند (۱۳).

نانوذرات نقره می‌توانند جایگزین مناسبی برای مواد ضدقارچ مرسوم باشند (۳ و ۱۳).

در مطالعه Kaur و همکاران اکالیپتوس اثرات ضدقارچی بر روی سه نوع قارچ *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum* و *Heminthosporium oryzae* نشان داد (۱۴). همچنین در مطالعه Yu-Chang و همکاران اکالیپتوس بر روی قارچ اسپرژیلوس نیجر اثرات ضدقارچی داشت (۱۵). مقایسه نتایج دو مطالعه فوق‌الذکر (۱۴ و ۱۵) و مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ترکیب اکالیپتوس و نانوذرات نقره اثرات ضد قارچی قوی‌تری را نشان می‌دهند.

مکانیسم اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره روی قارچ اسپرژیلوس نیجر به دلیل ایجاد استرس اکسیداتیو و فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدان سلولی است که منجر به افزایش گلوکاتایون، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود. به‌طور کلی مکانیسم‌های اختصاصی برای اثرات ضدقارچی نانوذرات نقره در مورد همه قارچ‌ها صدق می‌کند (۱۱ و ۱۶).

با توجه به اثبات اثرات نقره بر روی مرگ سلول‌های لنفاوی سرطانی؛ احتمالاً در تحقیق حاضر نیز این نانوذرات با مکانیسم مشابهی با آزادسازی رادیکال‌های آزاد ناشی از نانوذرات نقره به سلول‌های قارچ حمله نموده و باعث دگرگون‌سازی میکروارگانیسم به وسیله تبدیل پیوندهای SH به S-Ag شده‌اند. در این مکانیسم نانوذرات نقره به مرور زمان یون‌های نقره از خود ساطع می‌کنند. این یون‌ها طی واکنش جانشینی، باندهای SH را در جداره میکروارگانیسم به باندهای S-Ag تبدیل می‌کنند که نتیجه واکنش از بین رفتن میکروارگانیسم است (۱۲ و ۱۳).

از جمله خصوصیات مهم نانوذرات نقره می‌توان اثر بسیار زیاد، غیر محرک بودن برای بدن، غیر حساسیت‌زایی، قابلیت تحمل شرایط

عصاره اتانولی این گیاه استفاده شد. بدین صورت که به میزان ۴۰ گرم از پودر ساییده شده این گیاه در کاغذ صافی استوانه‌ای شکل قرار داده شد و ۲۰۰ سی‌سی اتانول خالص به بالن ژوژه دستگاه افزوده گشت. محتویات فوق به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس از عصاره ۱۰۰ درصد باقیمانده یک سی‌سی به محیط‌های حاوی کشت قارچ افزوده شد.

نانوذرات نقره با قطر متوسط ۴/۵ نانومتر، از شرکت نانو نصب پارس تهران خریداری شدند. سپس با توجه به مطالعه Jain و همکاران (۱۱) پیرامون غلظت ضدقارچی نانوذرات نقره (با قطر نانوذرات متفاوت)؛ نانوذرات نقره با غلظت‌های ۱۲/۵ ppm و ۵۰ ppm به میزان یک سی‌سی به محیط کشت افزوده شدند.

در محیط کشت این مطالعه پنج گروه آزمایش و یک گروه کنترل تعریف شدند. به محیط کشت گروه اول نانوذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm؛ گروه دوم نانوذرات نقره با غلظت ۱۲/۵ ppm؛ گروه سوم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس؛ گروه چهارم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانوذرات نقره با غلظت ۱۲/۵ ppm؛ گروه پنجم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانوذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm اضافه شد و گروه کنترل آب مقطر دوبار تقطیر دریافت کرد.

در هر گروه ۴ پلیت در ۶ تکرار مستقل بررسی شدند. تعداد تکرار کلی نمونه‌های قارچ به صورت تصادفی در شش گروه مورد مطالعه ۲۴ تکرار بود. بعد از گذشت ۸ و ۲۴ روز تغییرات مورفولوژیک، قطر و تعداد کولونی‌ها در پلیت‌های آزمایش با پلیت کنترل مقایسه شد (۳ و ۴).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-15 و آزمون ANOVA با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

تعداد کولونی‌های قارچ اسپرژیلوس نیجر ۸ روز بعد از تیمار از ۲۰۰ عدد در گروه کنترل به ۹۰، ۷۵، ۵۵ و ۴۳ به ترتیب در گروه نانوذرات نقره به تنهایی در غلظت ۱۲/۵ ppm، گروه نانوذرات نقره به تنهایی در غلظت ۵۰ ppm، گروه نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس و گروه عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس کاهش معنی داری یافت ($P < 0/05$). این کاهش (۱۴۴ عدد) در گروه نانوذرات نقره در غلظت ۱۲/۵ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس معنی دار نبود.

تعداد کولونی‌های قارچ اسپرژیلوس نیجر ۲۴ روز بعد از تیمار از ۲۰۰ عدد در گروه کنترل به ۴۲، ۱۴ و ۲ به ترتیب در گروه‌های عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس، نانوذرات نقره در غلظت ۱۲/۵ ppm همراه با عصاره اتانولی اکالیپتوس و نانوذرات نقره در

مختلف و پایداری زیاد، سازگاری با محیط زیست، مقاومت در برابر حرارت، عدم ایجاد و افزایش مقاومت و سازگاری میکروارگانیزم را نام برد.

با توجه به خواص ضدقارچی نانوذرات نقره در ابعاد و اشکال گوناگون و عدم اطلاع دقیق از اثر اختصاصی آنها بر قارچ آسپرژیلوس نیجر، انجام آزمون‌های دقیق برای پیگیری این اثرات ضروری به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی غلظت‌های استفاده شده در این مطالعه در شرایط *in vitro* برای درمان بیماری‌های قارچی منتقل شده توسط آسپرژیلوس در حیوانات و پس از آن در انسان مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm به همراه عصاره اتانولی اکالیپتوس باعث کاهش تعداد کولونی‌های قارچ آسپرژیلوس نیجر می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۲۸۶۸-۳۰۱) دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بود و با حمایت مالی معاونت پژوهشی آن دانشگاه انجام شد. بدین وسیله از همه کارکنان آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به‌خصوص خانم دکتر رامش منجمی سپاسگزاری می‌نمایم.

References

- Bhainsa KC, D'Souza SF. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2006 Feb;47(2):160-4.
- Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv*. 2009 Jan-Feb; 27(1):76-83.
- Paux E, Carocha V, Marques C, Mendes de Sousa A, Borrhallo N, et al. Transcript profiling of *Eucalyptus* xylem genes during tension wood formation. *New Phytol*. 2005 Jul;167(1):89-100.
- Bhainsa KC, D'Souza SF. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2006 Feb;47(2):160-4.
- Paux E, Tamasloukht M, Ladouce N, Sivadon P, Grima-Pettenati J. Identification of genes preferentially expressed during wood formation in *Eucalyptus*. *Plant Mol Biol*. 2004 May; 55(2):263-80.
- Brenes A, Roura E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim Feed Sci Tech*. 2010 Jun; 158(1): 1-14.
- Takenaka S, Karg E, Roth C, Schulz H, Ziesenis A, Heinzmann U, et al. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect*. 2001 Aug; 109(4):547-51.
- Geho DH, Jones CD, Petricoin EF, Liotta LA. Nanoparticles: potential biomarker harvesters. *Curr Opin Chem Biol*. 2006 Feb;10(1):56-61.
- Geho DH, Jones CD, Petricoin EF, Liotta LA. Nanoparticles: potential biomarker harvesters. *Curr Opin Chem Biol*. 2006 Feb; 10(1):56-61.
- Nakagawa Y, Shimazu K, Ebihara M, Nakagawa K. *Aspergillus niger* pneumonia with fatal pulmonary oxalosis. *J Infect Chemother*. 1999 Jun;5(2):97-100.
- Jain J, Arora S, Rajwade JM, Omray P, Khandelwal S, Paknikar KM. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol Pharm*. 2009 Sep-Oct; 6(5):1388-401.
- Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv*. 2009 Jan-Feb;27(1):76-83.
- Sriram MI, Barath S, Kanth M, Kalishwaralal K, Gurunathan S. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. *Int J Nanomedicine*. 2010; 5:753-62.
- Kaur S, Singh HP, Batish DR, Kumar Kohli R. Chemical characterization, antioxidant and antifungal activity of essential oil from *Eucalyptus tereticornis*. *J Med Plants Res*. 2011; 5(19): 4788-93.
- Yu-Chang S, Chen-Lung H, Eugene I-Chen W, Shang-Tsen Ch. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four eucalypts. *Taiwan J For Sci*. 2006; 21(1):49-61.
- Hsu YL, Hou MF, Tsai EM, Kuo PL. Tricetin, a Dietary Flavonoid, Induces Apoptosis through the Reactive Oxygen Species/c-Jun NH(2)-Terminal Kinase Pathway in Human Liver Cancer Cells. *J Agric Food Chem*. 2010 Nov 10. [Epub ahead of print]

Original Paper

The synergic effect of alcoholic eucalyptus and nanosilver on colony count of *Aspergillus Niger*

Naghsh N (PhD)*¹, Doudi M (PhD)², Soleymani S (MSc)³, Torkan S (BA)⁴

¹Assistant Professor, PhD in Animal Biology, Department of Biology, Islamic Azad University Falavarjan Branch, Isfahan, Iran. ²Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University Falavarjan Branch, Isfahan, Iran. ³MSc in Biochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. ⁴Department of Biology, Islamic Azad University Falavarjan Branch, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Nanosilver particles are one of functional nanotechnology filed. These nanoparticles have antibacterial and antifungal characteritic. Combination therapy is one of new and specific method for therapy of diseases in medicine and pharmacology. Some plants are useful in growth inhibition of *Aspergillus Niger*. This study was done to evaluate the synergic effect of alcoholic eucalyptus and nanosilver on colony count of *Aspergillus Niger*.

Materials and Methods: In this laboratory study PAN were cultured in PDA medium. Five experimental and one control group were designed for the comparison of synergic effect of alcoholic eucalyptus and nanosilver, nanosilver 50ppm, nanosilver 12.5ppm, eucalyptus ethanolic extract 100%, eucalyptus ethanolic extract 100% mixed with nanosilver 12.5ppm, eucalyptus ethanolic extract mixed with 50ppm, and double distilled water were given to group 1, 2, 3, 4, 5 and control group respectively. Morphological, diameter, and colony numbers in various culture media were compared subsequently. The repeated number of *Aspergillus Niger* were 24, and they were chosen randomly. Data were analyzed using SPSS-15 and ANOVA test.

Results: The *Aspergillus niger* colony were reduced 8 days following treatment from 200 colony in control group to 90, 75, 55 and 43 in nanosilver group in 12.5 ppm, nanosilver group in 50 ppm, nanosilver group in 50 ppm mixed with eucalyptus ethanolic extract and finally eucalyptus ethanolic extract group, respectivley (P<0.05). The colony count 24 day following treatment were reduced from 200 colony in control group to 42, 14 and 2 in eucalyptus ethanolic extract group, nanosilver group in 12.5 ppm mixed with eucalyptus ethanolic extract and finally nanosilver group in 50 ppm mixed with eucalyptus ethanolic extract, respectivley (P<0.05).

Conclusion: This study showed that nanosilver with 50 ppm concentration mixed with eucalyptus ethanolic extract have synergic effect on reducing the *Aspergillus niger* growth rate.

Keywords: Nanosilver, Eucalyptus ethanol extract, *Aspergillus niger*

* Corresponding Author: Naghsh N (PhD), E-mail: naghsh@iaufala.ac.ir & n_naghsh@yahoo.com

Received 13 Aug 2011

Revised 2 Oct 2011

Accepted 9 Oct 2011