

سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های شمعدانی عطری و ارزیابی خواص ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی آن

خلیل پورشمسیان*، شهاب اوجانی

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

چکیده: نانوذرات کاربرد قابل توجهی در زمینه‌های مختلف، از جمله تحقیقات ضد میکروبی، سرطان، سیستم‌های دارورسانی و زیست‌پزشکی دارند. در میان این موارد، نانوذرات نقره، از جمله نانوذرات پرکاربرد در حوزه نانوفناوری هستند. شمعدانی عطری از خانواده شمعدانی‌ها به دلیل استفاده سنتی خود به عنوان یک گیاه طعم‌دهنده، زینتی و دارویی مشهور است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ شمعدانی عطری و بررسی خواص ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی آن است. در این راستا، نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های شمعدانی عطری با روش مایکروویو سنتز شدند. از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش، پراش اشعه ایکس، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه و میکروسکوپ الکترونی عبوری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. سپس، فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی انجام شد. در ادامه نیز، فعالیت ضد اکسیدانی با روش سنجه مهار رادیکال‌های آزاد DPPH⁰ سنجیده شد. طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش، رزونانس پلاسمون سطحی را برای نانوذرات نقره سنتز شده در طول موج ۴۴۵ نانومتر نشان داد. طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه نشان داد که نانوذرات نقره با مولکول‌های زیستی، عامل‌دار شده‌اند. همچنین الگوی پراش اشعه ایکس پیک‌های براگ (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) ساختار بلوری مکعبی مرکز پر را تایید کرد. تصاویر میکروسکوپ عبوری ساختار کروی و اندازه نانوذرات نقره را ۴۰ تا ۱۰۰ نانومتر نشان دادند. نانوذرات نقره تهیه شده، فعالیت ضد باکتریایی قوی‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان دادند. همچنین درصد مهار رادیکال آزاد و مقدار IC₅₀ آن به ترتیب برابر با ۷۴/۸۶ ± ۰/۱٪ و ۰/۱۹ μg/mL گزارش گردید. بنابراین از این نانوذرات می‌توان در حوزه‌های پزشکی و داروسازی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: شمعدانی عطری، نانوذرات نقره، پراش اشعه ایکس، فعالیت ضد باکتریایی، DPPH⁰.

kshams49@gmail.com, K.pourshamsian@iau.ac.ir

باکتری‌های مقاوم به دارو، نیاز فوری به درمان‌های جایگزین مانند مواد نوآورانه برای مبارزه با بیماری‌های میکروبی را برجسته می‌کند [۲]. علاوه بر این، بیماری‌های مزمن اغلب به وسیله رادیکال‌های آزاد از گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شوند، مانند یون‌های پراکسید هیدروژن و سوپراکسید. ضد اکسیدان‌ها با اهدای الکترون یا هیدروژن به این رادیکال‌های مضر، از

۱- مقدمه

عفونت‌های باکتریایی همچنان یک نگرانی جهانی قابل توجه هستند. از طرفی نیز، افزایش میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تلاش‌ها برای توسعه درمان‌های مؤثر را پیچیده کرده و نیاز به راهکارهای جدید را ضروری ساخته است [۱]. ظهور

ماکرومولکول‌های زیستی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند و به جلوگیری از بیماری‌هایی مانند دیابت، سرطان و اختلالات عصبی کمک می‌کنند [۳]. اگرچه بدن ضد اکسیدان تولید می‌کند، اما منابع خارجی اغلب ضروری هستند. درمان‌های مبتنی بر نانوذرات و سامانه‌های ضد عفونی کننده، در سال‌های اخیر بسیار امیدبخش بوده‌اند. این مواد به دلیل برخورداری از خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصر به فرد، می‌توانند به طور قابل توجهی قابلیت‌های تشخیص و مداوا را ارتقا دهند [۴]. همزمان، پیدایش نانوفناوری (شامل دستکاری و ساخت مواد در ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) انقلابی را در پژوهش‌های علمی و نوآوری‌های زیستی ایجاد کرده است. در این مقیاس بسیار کوچک، مواد خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی استثنایی از خود نشان می‌دهند که آن‌ها را از معادل‌های حجمی خود متمایز می‌کند، که عمدتاً به دلیل نسبت سطح به حجم افزایش یافته و اثرات کوانتومی آن‌هاست [۵]. این ویژگی‌های متمایز نانوذرات، راه را برای استفاده از آن‌ها در طیف وسیعی از کاربردها، از جمله مواد ضد میکروبی، ضد اکسیدان‌ها، مواد مغناطیسی در مقیاس نانو، پوشش‌های محافظ سطح، عوامل تصفیه آب، اجزای حسگر زیستی، روش‌های درمان سرطان، سیستم‌های دارورسانی، فرمولاسیون‌های آرایشی، مواد کاتالیزگری و عناصر دستگاه‌های الکترونیکی هموار کرده است [۶، ۷]. فلزات نوآورانه مختلفی از جمله نقره، پلاتین، طلا، مس و پالادیوم برای تولید نانوذرات استفاده شده‌اند [۸]. فلز نقره به دلیل خواص شیمیایی، الکترونیکی، نوری و کاتالیزگری منحصر به فرد خود به طور گسترده در سنتز نانوذرات به کار گرفته شده است [۹]. سنتز نانوذرات نقره (Ag^0 -NPs) به دلیل ویژگی‌های استثنایی آن‌ها، مانند نسبت سطح به حجم بالا و توانایی برهمکنش زیستی، توجه زیادی از سوی محققان را به خود جلب کرده است [۱۰]. در نتیجه Ag^0 -NPs، به دلیل طیف وسیع کاربردهایشان، از جمله در تولید پوشش‌های ضد میکروبی [۱۱]، سیستم‌های دارورسانی [۱۲]، محصولات آرایشی و بهداشتی [۱۳]، صنایع غذایی [۱۴]، حوزه بهداشت محیط [۱۵] و کشاورزی [۱۶]، اهمیت بالایی دارند. این نانوذرات همان طور که در مطالعات انجام شده توسط راجپوت و همکاران [۱۷]، هاناچی و همکاران [۱۸] و مالک و همکاران [۱۹]

نشان داده شده است، به واسطه دارا بودن خواص چشم‌گیر ضد میکروبی، ضد اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد التهابی، به شکل گسترده‌ای در کاربردهای زیست‌پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در نتیجه، سنتز Ag^0 -NPs به یک حوزه تحقیقاتی جذاب و سریع تبدیل شده است. محققان روش‌های مختلفی را برای سنتز Ag^0 -NPs، از جمله رویکردهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی، توسعه داده‌اند [۲۰]. با این حال، هر دو روش فیزیکی و شیمیایی محدودیت‌های قابل توجهی دارند. روش‌های فیزیکی معمولاً به دما، فشار و انرژی بالا نیاز دارند؛ شامل تجهیزات گران‌قیمت هستند؛ و اغلب زمان‌بر هستند [۲۱]. مشابه روش‌های فیزیکی، رویکردهای شیمیایی برای سنتز نانوذرات، معایب متعددی از جمله سمیت، آسیب‌های زیست‌محیطی، هزینه‌های بالا و تولید محصولات جانبی مضر را ارائه می‌دهند [۲۲]. در مقابل، روش‌های سنتز سبز رویکرد پایدارتری ارائه می‌دهند. این روش‌ها با سادگی، مقرون‌به‌صرفه بودن، سمیت کم، سازگاری با محیط زیست، حداقل نیاز به انرژی و کاهش انتشار مواد مضر به محیط زیست مشخص می‌شوند [۲۳]، در نتیجه، علاقه علمی به سمت سنتز سبز Ag^0 -NPs با استفاده از عصاره‌های خام از قسمت‌های مختلف گیاه مانند برگ‌ها [۲۴]، دانه‌ها [۲۵]، گل‌ها [۲۶]، میوه‌ها [۲۷]، جلبک‌ها [۲۸] و همچنین میکروارگانیسم‌ها [۲۹] تغییر یافته است. این عصاره‌ها حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی (متابولیت‌های ثانویه) هستند [۳۰] که نقش مهمی در کاهش یون‌های فلزی در طول واکنش‌های اکسایش-کاهش دارند و تولید Ag^0 -NPs را با تبدیل Ag^+ به Ag^0 تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، این عصاره‌ها به عنوان عوامل پوشش‌دهنده و تثبیت‌کننده برای Ag^0 -NPs سنتز شده به روش سبز عمل می‌کنند [۳۱]. در سال‌های اخیر، سنتز سبز Ag^0 -NPs با بهره‌گیری از عصاره‌های گیاهی، به دلیل مزایایی مانند سهولت اجرا، غیرسمی بودن، مقرون‌به‌صرفه بودن و دسترسی آسان، توجه بسیاری از پژوهشگران و محققان را به خود جلب کرده است [۳۲]. در میان روش‌های سنتز سبز، رویکردهای مبتنی بر گیاه بر روش‌های میکروبی و جلبکی که شامل فرآیندهای پیچیده‌ای هستند که به محیط کشت گران‌قیمت نیاز دارند و مستعد آلودگی هستند، ترجیح داده می‌شوند [۳۳]. در نتیجه، محققان فناوری نانو به طور فزاینده‌ای برای سنتز Ag^0 -NPs به گیاهان و محصولات

¹ Ag Nanoparticles

۲۰۲۴ با استفاده از عصاره‌های ریشه، ساقه و برگ گیاه *P. radens* که نوع خاصی از شمعدانی است، توانستند نانوذرات نقره را با اندازه ای در محدوده ۴۰ تا ۶۰ نانومتر و به شکل بلوری سنتز کنند. این نانوذرات اثرات ضد سرطانی فوق‌العاده‌ای بر روی رده‌های سلولی سرطان سینه (MCF7)، دهانه رحم و ریه نشان دادند؛ به طوری که نانوذرات حاصل از عصاره برگ با شاخص IC₅₀ معادل ۴۹/۷۱±۱/۵۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیشترین کارایی را در مهار سلول‌های سرطانی داشت. همچنین این مطالعه تایید کرد که نانوذرات سنتز شده بر روی سلول‌های معمولی (HEK-293) سمیت کمی داشته و پتانسیل بالایی برای استفاده در درمان‌های نوین ضد سرطان دارند [۳۹]. با بررسی مطالعات مذکور، مشخص می‌شود که گونه‌های مختلف جنس شمعدانی به دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی غنی، پتانسیل بالایی در سنتز سبز نانوذرات با ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیستی متنوع دارند. در حالی که پژوهش‌های پیشین عمدتاً بر عصاره‌های آبی یا اتانولی ریشه و برگ گونه‌هایی نظیر *P. sidoides* و *P. radens* جهت بررسی خواص ضد قارچی و ضد سرطانی تمرکز داشته‌اند، لزوم بررسی دقیق‌تر پتانسیل سایر گونه‌ها و استفاده از حلال‌های بهینه برای استخراج حداکثری عوامل کاهنده و تثبیت‌کننده همچنان احساس می‌شود. بنابراین، با توجه به توانمندی‌های اثبات شده این جنس گیاهی و به منظور تکمیل مطالعات گذشته، این پژوهش با هدف انجام سنتز سازگار با محیط زیست نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های گیاه *P. graveolens* به عنوان عوامل کاهنده، پوشش دهنده و یا تثبیت کننده و ارزیابی فعالیت‌های ضد اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها در برابر سویه‌های باکتریایی منتخب، انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- بخش تجربی

مواد آزمایشگاهی و حلال‌های مورد نیاز در این پژوهش از شرکت سیگماآلدریج آلمان خریداری شدند.

جانبی آن‌ها روی می‌آورند. در این میان، گیاه شمعدانی عطری از خانواده شمعدانی‌آبه دلیل استفاده سنتی خود به عنوان یک گیاه طعم‌دهنده، زینتی و دارویی مشهور است [۳۴]. برگ‌های شمعدانی عطری از نظر اتنوفارماکولوژیکی به عنوان یک عامل التیام‌بخش زخم، قابض، ضد دیابت، محرک سیستم ایمنی و تسکین دهنده درد استفاده شده‌اند [۳۵]. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی بر روی گونه‌های مختلف جنس شمعدانی عطری انجام شده که به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود. محمدلو و همکاران در سال ۲۰۱۷ در طی پژوهشی که داشتند، با استفاده از روش هیدروترمال و بهره‌گیری از عصاره آبی برگ گیاه شمعدانی توانستند نانوذرات نقره را با اندازه متوسط ۲۹ نانومتر و به شکل کروی سنتز کنند. این نانوذرات اثرات ضد قارچی قابل توجهی بر روی قارچ بیماری‌زای کاندیدا آلبیکس نشان دادند [۳۶]. گتشی و همکاران در سال ۲۰۱۹ در طی پژوهشی با استفاده از عصاره اتانولی ریشه گیاه دارویی *P. sidoides* که نوع خاصی از شمعدانی است، توانستند نانوذرات نقره را با اندازه‌ای در محدوده ۱۱ تا ۹۰ نانومتر و به شکل کروی و بیضی سنتز کنند. این نانوذرات بر روی باکتری‌های گرم مثبت مانند استرپتوکوکوس پنومونیه و باسیلوس سرئوس و باکتری‌های گرم منفی (مانند اشیریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و موراکسلا کاتارالیس) اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی نشان دادند که در تمامی موارد عملکرد آن‌ها قوی‌تر از عصاره خالص گیاه بود [۳۷]. ترمن و همکاران در سال ۲۰۲۴ در طی مطالعه‌ای که داشتند، با استفاده از روش سبز به کمک ریزموج و با بهره‌گیری از عصاره ریشه گیاه *P. sidoides* موفق شدند نانوذرات نقره را با اندازه متوسط ۱۷/۱ نانومتر و به شکل تقریباً کروی سنتز کنند. این نانوذرات بر روی باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری‌های گرم منفی مانند اشیریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و گونه مقاوم به دارو کلبسیلا پنومونیه اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی داشتند که بسیار قوی‌تر از عصاره خالص گیاه عمل کردند. همچنین این پژوهش نشان داد که نانوذرات سنتز شده دارای پایداری بالا و زیست‌سازگاری مناسب هستند که پتانسیل بالایی را برای کاربردهای درمانی و مقابله با باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فراهم می‌کند [۳۸]. هماوتی و همکاران در سال

¹ *Pelargonium graveolens* L'Hér

² Geraniaceae

۲-۲- نمونه‌های میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در پژوهش

مشخصات میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این پژوهش که از مرکز کلکسیون‌های میکروبی صنعتی ایران تهیه شدند در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. فهرست سوش‌های باکتریایی مورد استفاده در این پژوهش.

ردیف	میکروارگانیسم‌ها	طبقه‌بندی	کد سوش
۱	استافیلوکوکوس اورئوس	گرم مثبت	ATCC 29737
۲	اشریشیاکلی	گرم منفی	ATCC 25922

۲-۳- مشخصات منطقه برداشت نمونه گیاهی

چشمه وقف امامزادگان شهسوران از مناطق شهرستان کاشان در استان اصفهان است. این منطقه در جاده میمه - کاشان بین جاده معدن و جاده شهسواران قرار دارد. مشخصات منطقه مورد پژوهش در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. مشخصات جغرافیایی منطقه برداشت نمونه گیاهی.

مختصات جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
N° 33 43' 31.36" E° 51 31' 39.62"	۲۱۸۰

۲-۴- تهیه ماده خام گیاهان مورد پژوهش

گیاه *P. graveolens* از منطقه مذکور جمع‌آوری و توسط متخصص گیاه‌شناس شناسایی شد. تصویر گیاه در شکل ۱ ارائه شده است. پس از شناسایی و تعیین نام علمی گیاه، تحت نظارت گروه تحقیقاتی جناب آقای دکتر خلیل پورشمسیان با انتقال نمونه‌های جمع‌آوری شده به دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تنکابن،



شکل ۱. گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens* L'Hér.).

نسبت به جدا کردن اندام‌های دارویی (برگ‌ها) آن اقدام و خشک کردن آن‌ها در شرایط سایه و دمای محیط به انجام رسید. سپس برگ‌های خشک شده به وسیله دستگاه آسیاب برقی (Moulinex مدل AR1066Q) پودر شد تا سطح تماس بیشتری با حلال مربوطه داشته باشد.

۲-۵- تهیه عصاره هیدروآتانولی گیاه با استفاده از روش ریزموج

مقدار ۲۰ گرم از پودر آسیاب شده گیاه به همراه ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال (بانسبت آب مقطر ۱۵: ۸۵ اتانول) داخل ارلن اضافه گردید و سپس دهانه آن پوشانده شد. بدین منظور، ظرف حاوی پودر گیاه و حلال، در مدت زمان معین در دستگاه ریزموج (Samsung مدل GE280S) با توان ۱۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. پس از صاف کردن عصاره بدست آمده به کمک کاغذ واتمن شماره ۱، به وسیله دستگاه روتاری (Efficient مدل Laborota 4001) تغلیظ گردید. عصاره خشک گیاهی توزین شده و تا پیش از انجام آزمایش‌ها، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال (Samsung مدل RT790 Baew) نگهداری شد.

۲-۶- ارزیابی ترکیبات فیتوشیمیایی (روش کمی)

۲-۶-۱- سنجش مقدار فنول کل به روش رنگ-سنجی فولین - سیوکالتیو

به منظور تعیین محتوای کل ترکیبات فنولی، از روش رنگ‌سنجی فولین - سیوکالتیو استفاده گردید. برای این کار، محلولی از عصاره با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شد. مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر از این عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین - سیوکالتیو (۰/۲ نرمال) مخلوط شد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات به آن افزوده گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، میزان جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Rayleigh مدل 1601) در برابر شاهد اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم عصاره گزارش گردید [۴۰].

۲-۶-۲- سنجش مقدار فلاونوئید کل به روش رنگ-سنجی آلومینیوم کلراید

محتوای کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره نیز با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید ارزیابی شد. ابتدا به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد اضافه شد. در مرحله بعد، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس جذب نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Rayleigh مدل 1601) در مقابل شاهد قرائت شد. مقادیر فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه و بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد [۴۱].

۲-۶-۳- تعیین خواص ضد اکسیدانی به روش DPPH⁰

فعالیت ضد اکسیدانی از طریق اندازه‌گیری ظرفیت مهار رادیکالی DPPH⁰ مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH⁰ به ۱ میلی‌لیتر از نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Rayleigh مدل 1601) در طول موج ۵۱۷ نانومتر با شاهد متانول قرائت گردید. همچنین، از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد [۴۲]. در نهایت، مقدار به دام‌اندازی رادیکال DPPH⁰ با معادله ۱ محاسبه شد.

$$RSA = (A_B - A_S) / A_B \times 100 \quad (1)$$

که در آن A_B ، میزان جذب نوری کنترل منفی، A_S ، میزان جذب نوری نمونه‌های مورد آزمایش و RSA ، درصد مهار رادیکال DPPH⁰ می‌باشد.

فعالیت ضد اکسیدانی معمولاً با شاخص IC₅₀ بیان می‌شود؛ IC₅₀ نشان‌دهنده غلظتی از نمونه است که می‌تواند ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد را مهار کند.

۲-۶-۴- سویه‌های باکتریایی و شرایط رشد

در این پژوهش سویه‌های باکتری‌های استاندارد عامل ایجاد کننده عفونت‌های زخم‌های پوستی و ادراری انتخاب گردید که شامل یک باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، یک باکتری گرم منفی اشریشیاکلی است. این سویه‌ها از سازمان پژوهش‌های علمی و فناوری ایران تهیه شد. سپس برای بررسی خواص ضدباکتریایی، سویه‌های باکتری ابتدا در محیط کشت آگار مغذی کشت داده شده و بعد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه داده شدند.

۲-۶-۵- روش انتشار در چاهک آگار

آزمایش به روش انتشار در چاهک آگار و مطابق با استانداردهای CLSI انجام گرفت. پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار تهیه و چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر در آن‌ها ایجاد شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (با کدورت نیم مک‌فارلند) به طور یکنواخت روی سطح محیط کشت داده شد. نمونه‌ها در دی‌متیل سولفوکسید حل شده تا به غلظت ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برسند و سپس ۱۰ میکرولیتر (معادل ۶۰۰ میکروگرم) از نمونه داخل چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و فعالیت ضدباکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد تعیین گردید. در این آزمایش، دیسک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکسید به عنوان کنترل منفی استفاده شدند. در نهایت، قطر هاله عدم رشد بر حسب میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید [۴۳].

۲-۷-۲- فیتوستنز نانوذرات نقره

۲-۷-۲-۱- سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآتانولی

محلول ۱ - مطابق با بخش ۲-۵ از عصاره هیدروآتانولی تهیه شده به روش ریزموج استفاده می‌شود.

محلول ۲ - محلول نقره نیترات ۰/۱ میلی مولار تهیه شد.

در ادامه، مقادیر مشخصی از محلول‌های ۱ و ۲ با یکدیگر مخلوط شدند و برای کامل شدن واکنش، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای

از آن است که مقدار ترکیبات فنولی موجود در عصاره مورد مطالعه، به طور قابل توجهی بیشتر از ترکیبات فلاونوئیدی آن است.

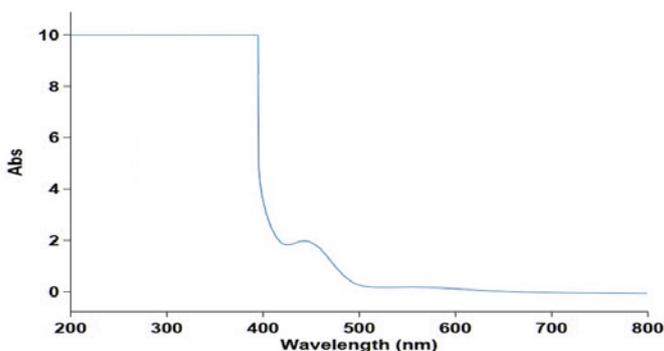
جدول ۳. مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*

مقدار کل ترکیبات فنولی (mg GAE/g)	مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی (mg QUE/g)
۱۸۵/۴۹±۳	۶۹/۲۸±۲

۲-۳-۲- مشخصه‌یابی نانوذرات نقره سنتز شده

۳-۲-۱- بررسی طیف‌سنجی مرئی - ماوراء بنفش

در این پژوهش نظارت بر فرآیند احیا زیستی یون نقره به Ag-NPs به وسیله روش طیف‌سنجی مرئی - ماوراء بنفش انجام شد. در این روش از طیف‌سنجی، زمانی که اندازه ذرات به مرتبه نانومتر می‌رسند، جذب مشاهده می‌شود که منشأ آن تشدید پلاسمون سطحی است. بر این اساس، مطابق با شکل ۲ پیک جذب ناشی از پلاسمون سطحی Ag-NPs حداکثر پیکی در طول موج ۴۴۵ نانومتر را نشان می‌دهد.



شکل ۲. طیف‌سنجی مرئی - ماوراء بنفش Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. Graveolens*

۳-۲-۲- بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز-تبدیل فوریه

طیف مربوط به مادون قرمز تبدیل فوریه، عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens* قبل و بعد از انجام واکنش با نقره نیترات در شکل ۳ نشان داده شده است. مقایسه این دو طیف

اتاق سانتیفریوژ شد تا Ag-NPs رسوب کنند. زمانی که مقادیر مشخصی از عصاره با مقادیر مشخصی از نقره نیترات در دمای محیط با یکدیگر ترکیب شدند، Ag-NPs تشکیل می‌شوند [۴۴].

۲-۷-۲- مشخصه‌یابی نانوذرات نقره

شناسایی Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*، با کمک روش‌های طیف‌سنجی مرئی - فرابنفش (UV-Vis)، طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR)، پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) انجام شد [۴۵-۴۷].

۲-۷-۳- بررسی خواص زیستی نانوذرات نقره

مطابق با بخش‌های ۲-۶-۳ و ۲-۶-۵ فعالیت ضد اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens* مورد ارزیابی قرار گرفت [۴۸-۵۰].

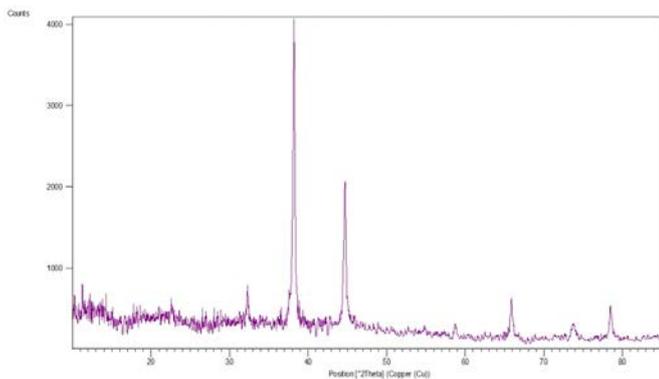
۲-۸- محاسبات آماری

داده‌های بدست‌آمده از این پژوهش حاصل سه بار تکرار آزمایش بوده و به صورت (میانگین ± انحراف معیار) گزارش شده‌اند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی مقادیر فنول و فلاونوئید کل عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*

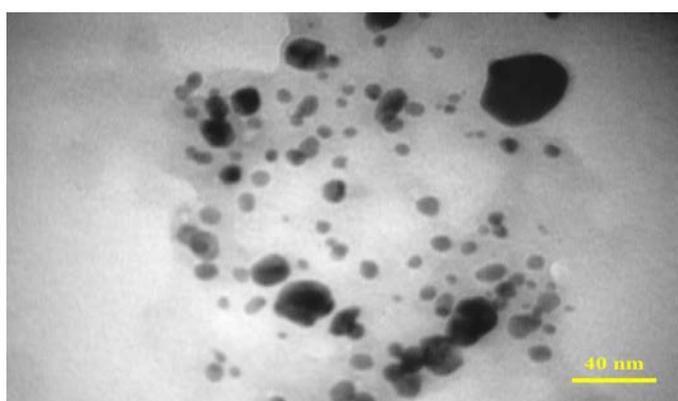
با توجه به جدول ۳ نتایج نشان داد که مقدار کل ترکیبات فنولی در عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*، بر اساس معادله خط منحنی استاندارد گالیک اسید، برابر با $49/185 \pm 3$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (با سطح معناداری ۰.۵٪) محاسبه شد. همچنین، مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی این عصاره بر اساس معادله خط منحنی استاندارد کوئرستین، برابر با $28/69 \pm 2$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید ($P < 0.05$). این یافته‌ها حاکی



شکل ۴. الگوی پراش پرتو اشعه ایکس Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*

۳-۲-۳- بررسی میکروسکوپ الکترونی عبوری

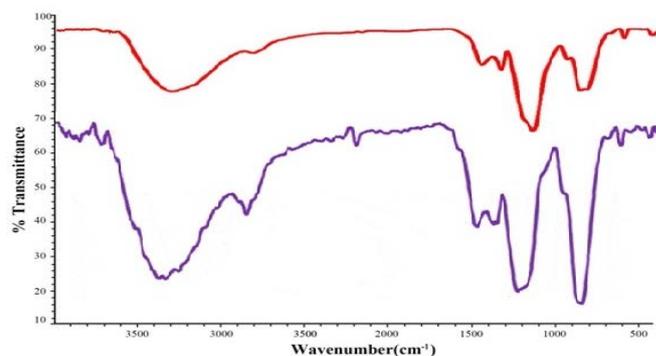
تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری به طور خاص برای تعیین شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده به کار می‌روند. شکل ۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری بدست آمده سنتز نانوذرات را با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens* نشان می‌دهد که ساختار نانوذرات کروی است و اندازه نانوذرات ۴۰ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. همچنین میانگین اندازه ذرات 70 ± 15 نانومتر گزارش گردید که با نتایج بخش پراش اشعه ایکس مطابقت دارد. شایان ذکر است که هاله ابرمانندی که در تصاویر حول نانوذرات مشاهده می‌شود، بافت گیاهی است که در سایر روش‌های سنتز نانوذرات مشاهده نمی‌شود.



شکل ۵. تصویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی عبوری Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. Graveolens*

۳-۲-۵- بررسی خواص ضد اکسیدانی به روش DPPH^o

توان عصاره عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens* در سنتز نانوذرات نقره را نشان می‌دهد. همان طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، پیک‌هایی مربوط به گروه‌های عاملی فعال در نواحی مختلف وجود دارند که بیانگر این است که نانوذرات نقره به وسیله مواد موثره (متابولیت‌های ثانویه) موجود در عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens* عامل‌دار شده‌اند (رنگ قرمز: Ag-NPs و رنگ بنفش: عصاره هیدروآتانولی). در واقع این تغییرات در پیک‌ها نشان‌دهنده مشارکت متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و غیره است که در فرآیند کاهش یون‌های نقره و سپس عمل کردن به عنوان عامل پوشش‌دهنده برای جلوگیری از تجمع Ag-NPs نقش دارند.



شکل ۳. طیف‌سنجی مادون قرمز- تبدیل فوریه Ag-NPs سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. Graveolens* (قرمز) و عصاره اتانولی برگ‌های *P. Graveolens* (بنفش).

۳-۳-۲- بررسی الگوی پراش پرتو اشعه ایکس

برای اطمینان از سنتز Ag-NPs با استفاده از عصاره هیدروآتانولی برگ‌های *P. graveolens*، ساختار نانوذرات با دستگاه پراش پرتو ایکس مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به شکل ۴ حضور پیک‌های ظاهر شده مربوط به صفحات کریستالی از قبیل (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) در نمونه سنتز شده مشاهده می‌شود که با الگوی پراش پرتوی ایکس کتابخانه دستگاه پراش پرتوی ایکس فاز مربوط به نقره مطابقت دارد. شایان توجه است که در الگوی پراش پرتو ایکس، پیک‌های اضافی مربوط به فازهای آمورف و همین‌طور ناخالصی‌هایی می‌باشد که در بافت گیاه وجود داشته است.

بدین منظور، حرف a مربوط به Ag-NPs است که بیشترین هاله عدم رشد (بیشترین اثر) را داشته و حرف b نیز مربوط به کنترل مثبت (آنتی‌بیوتیک جنتامایسین) است و در نهایت حرف c که مربوط به عصاره می باشد کمترین اثر را داشته است.

۴- نتیجه گیری

پژوهش حاضر با موفقیت روشی سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروآنانولی برگ‌های *P. graveolens* ارائه می‌دهد که نیاز به مواد شیمیایی سمی و پرهزینه را مرتفع می‌سازد. همچنین نتایج مشخصه‌یابی نشان داد که نانوذرات سنتز شده دارای ساختار مکعبی مرکز پر (FCC) و با شکل تقریباً کروی با اندازه ۴۰ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که با موفقیت با استفاده از مواد موثره موجود در عصاره گیاه عامل‌دار و تثبیت شده‌اند. مهم‌تر این که، ارزیابی‌های زیستی، برتری نانوذرات نقره سنتز شده با IC_{50} برابر ۰/۱۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به عصاره خام با IC_{50} برابر ۰/۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر را در فعالیت ضد اکسیدانی مهار رادیکال ($DPPH^0$) و علاوه بر این فعالیت ضد باکتریایی قوی‌تر به ویژه در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد پژوهش از قبیل استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی نسبت به آنتی‌بیوتیک کنترل مثبت (جنتامایسین) تایید کرد. در مجموع نتایج حاکی از این است که روش سنتز سبز با استفاده از عصاره هیدروآنانولی برگ‌های *P. graveolens* نه تنها یک مسیر عملی برای تولید Ag-NPs فراهم می‌کند، بلکه می‌تواند محصولاتی با پتانسیل کاربردی بالا در صنایع دارویی و پزشکی به عنوان عوامل ضد میکروبی و ضد اکسیدانی مؤثر را ایجاد کند.

مراجع

1. T.G. Amabye, Nat. Prod. Chem. Res. 3 (6), 198 (2015).
2. G. Nigussie, M. Alemu, F. Ibrahim, Y. Werede, M. Tegegn, S. Neway, M.E. Annisa, Int. J. Second. Metab. 8 (2), 136–151 (2021).

نتایج خواص ضد اکسیدانی به روش $DPPH^0$ بر اساس معادله خط منحنی استاندارد ($Y=44/42 X, R^2=0/998$) محاسبه شد. در این سنجش از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید که مقدار IC_{50} آن ۰/۱۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید. از این رو، جدول ۴ نتایج درصد مهار رادیکال آزاد و مقدار IC_{50} مربوط به عصاره هیدروآنانولی برگ‌های *P. graveolens* و Ag-NPs سنتز شده با استفاده از آن به ترتیب (۵۱/۲۵ ± ۰/۳) و (۷۴/۰ ± ۸۶/۱) میکروگرم بر میلی‌لیتر با سطح معناداری ۵٪ تعیین و محاسبه گردید ($P<0.05$).

جدول ۴. درصد مهار رادیکال آزاد و مقدار IC_{50} .

نمونه	مهار رادیکال آزاد (%)	IC_{50} (μg/ml)
عصاره هیدروآنانولی	۵۱/۲۵ ± ۰/۳	۰/۴۵
نانوذرات نقره	۷۴/۰ ± ۸۶/۱	۰/۱۹

۳-۲-۶- بررسی فعالیت ضد باکتریایی به روش دیسک دیفیوژن

سنجش فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروآنانولی برگ‌های *P. graveolens* و Ag-NPs سنتز شده با استفاده از آن، مطابق با دستورالعمل موجود در بخش تجربی انجام شد. از این رو جدول ۵، قطر هاله عدم رشد را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده فعالیت ضد باکتریایی قوی‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان دادند، در حالی که عصاره خالص ضعیف‌تر از آنتی‌بیوتیک مذکور بود. مطابق با جدول ۵ حروف متفاوت a، b و c در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0.05$) بر اساس آزمون چند دامنه ای Duncan's می باشد.

جدول ۵. فعالیت ضد باکتریایی به روش دیسک دیفیوژن (قطر هاله عدم رشد).

استافیلوکوکوس اورئوس (mm)	اشریشیاکلی (mm)	
۲۹ ± ۰/۵ ^a	۲۳ ± ۰/۳ ^a	نانوذرات نقره
۲۷ ± ۰/۰ ^b	۲۰ ± ۰/۰ ^b	آنتی‌بیوتیک جنتامایسین
۱۸ ± ۰/۱ ^c	۱۵ ± ۰/۳ ^c	عصاره هیدروآنانولی

- L. Gomez-Gomez, E. Niza, *Molecules* 26 (15), 4696 (2021).
14. A.K. Biswal, P.K. Misra, *Mater. Chem. Phys.* 250, 123014 (2020).
15. S. Dawadi, S. Katuwal, A. Gupta, U. Lamichhane, R. Thapa, S. Jaisi, G. Lamichhane, D.P. Bhattarai, N. Parajuli, *J. Nanomater.* 2021 (1), 6687290 (2021).
16. M. Tariq, K.N. Mohammad, B. Ahmed, M.A. Siddiqui, J. Lee, *Molecules* 27 (15), 4754 (2022).
17. S. Rajput, D. Kumar, V. Agrawal, *Plant Cell Rep.* 39, 921–939 (2020).
18. P. Hanachi, Z. Gharari, H. Sadeghinia, T.R. Walker, *J. Mol. Struct.* 1265, 133325 (2022).
19. M. Malik, M.A. Iqbal, Y. Iqbal, M. Malik, S. Bakhsh, S. Irfan, R. Ahmad, P.V. Pham, *Inorg. Chem. Commun.* 145, 109980 (2022).
20. K. Selvam, C. Sudhakar, A.R. Prasath, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 57, 103094 (2024).
21. H.M. Abuzeid, C.M. Julien, L. Zhu, A.M. Hashem, *Crystals* 13 (11), 1576 (2023).
22. P.K. Dikshit, J. Kumar, A.K. Das, S. Sadhu, S. Sharma, S. Singh, P.K. Gupta, B.S. Kim, *Catalysts* 11 (8), 902 (2021).
23. J.A. Kumar, T. Krithiga, S. Manigandan, S. Sathish, A.A. Renita, P. Prakash, B.N. Prasad, T.P. Kumar, M. Rajasimman, A. Hosseini-Bandegharai, D. Prabu, *J. Clean. Prod.* 324, 129198 (2021).
24. K.T. Tadele, T.O. Abire, T.Y. Feyisa, *J. Nanomed.* 4, 1040 (2021).
25. D. Gupta, A. Boora, A. Thakur, T.K. Gupta, *Environ. Res.* 231, 116316 (2023).
3. N. Fareed, S. Nisa, Y. Bibi, A. Fareed, W. Ahmed, M. Sabir, S. Alam, A. Sajjad, S. Kumar, M. Hussain, A. Syed, *J. King Saud. Univ. Sci.* 35 (2), 102477 (2023).
4. H. Fongang, A.T. Mbaveng, V. Kuete, *Adv. Bot. Res.* 106, 1–20 (2023).
5. R.D. Prasad, P.D. Sarvalkar, N. Prasad, R.S. Prasad, R.B. Prasad, R.R. Prasad, S. Prasad, B. Gour, S.U. Barade, R.N. Deshmukh, B.G. Karhu, *ES Food Agrofor.* (2024).
6. D. Suhag, P. Thakur, A. Thakur, in *Integrative Nanomaterials and Their Applications*, ed. By D. Suhag, A. Thakur (Elsevier, 2023), pp. 1–17.
7. C. Sudhakar, M. Poonkothai, T. Selvankumar, K. Selvam, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 33 (14), 11434–11445 (2022).
8. K. Selvam, C. Sudhakar, B. Senthilkumar, V. Sakthivel, A. Ragu Prasath, V. Sangameswaran, *Waste Biomass Valoriz.* (2024).
9. S. Hemmati, A. Rashtiani, M.M. Zangeneh, P. Mohammadi, A. Zangeneh, H. Veisi, *Polyhedron* 158, 8–14 (2019).
10. D. Sharma, S.S. Gulati, N. Sharma, A. Chaudhary, *Emergent Mater.* 5 (6), 1649–1678 (2022).
11. N. Konappa, A.C. Udayashankar, N. Dhamodaran, S. Krishnamurthy, S. Jagannath, F. Uzma, C.K. Pradeep, S. De Britto, S. Chowdappa, S. Jogaiah, *Biomolecules* 11 (4), 535 (2021).
12. A.R. Gul, F. Shaheen, R. Rafique, J. Bal, S. Waseem, T.J. Park, *Chem. Eng. J.* 407, 127202 (2021).
13. M. Mondéjar-Lopez, A.J. Lopez-Jiménez, M. Abad-Jorda, A. Rubio-Moraga, O. Ahrazem,

38. R.P.I. Tormena, M.M.S. Santos, A.O. Silva, F.M. Félix, J.A. Chaker, D.O. Freire, S.E. Moya, I.C.R. Silva, M.H. Sousa, *RSC Adv.*, 14(30), 22035-22043. (2024).
39. R.V. Hemavathy, R. Kattupalli, V. Sridevi, H.T. Hamzah, K.S.N.V. Prasad, P.R. Yaashikaa, *Mater. Lett.*, 372, 137075 (2024).
40. A. Asgharian, S. Ojani, *J. Phytochem. Biochem.* 1 (1), 1–5 (2017).
41. S. Ojani, N. Montazeri, M. Mohammadi Zeydi, M. Ghane, *Iran. J. Biol. Sci.* 18, 49–62 (2023). (In Persian)
42. S. Ojani, N. Montazeri, M.M. Mohammadi Zeydi, M. Ghane, *NCMBJ* 14 (56), 83–9 (2024).
43. S. Ojani, Evaluation of Antibacterial Effect and Toxicity of Synthesized Selenium Nanoparticles using *Polylophium involucreatum* (Pall.) Boiss. Seed Hydroalcoholic Extract on K562 & 8305 C Cancer Cell Lines, Ph.D. Thesis. (Islamic Azad University, Tonekabon Branch, 2024). (In Persian)
44. S. Ojani, Quantitative and qualitative study of the essential oil and alcoholic extract of the *Polylophium involucreatum* (Pall.) Boiss. harvested in the highlands of Ramsar using microwave irradiation and its use to synthesis of silver nanoparticles, M.Sc. Thesis. (Islamic Azad University, Tonekabon Branch, 2015). (In Persian)
45. B. Azari, A. Pourahmad, B. Sadeghi, M. Mokhtary, *J. Coord. Chem.*, 76(2), 219-231 (2023).
46. M. Pourjafari, M. Ghane, H. Kaboosi, B. Sadeghi, A. Rezaei, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 18(4), 1196-1204 (2022).
47. B. Sadeghi, R.A.R. Vahdati, *Appl. Surf. Sci.*, 258(8), 3415-3419 (2012).
26. W.W. Melkamu, L.T. Bitew, *Heliyon* 7 (11), e08459 (2021).
27. P. Kanniah, P. Chelliah, J.R. Thangapandi, G. Gnanadhas, V. Mahendran, M. Robert, *Int. J. Biol. Macromol.* 189, 18–33 (2021).
28. S. Ojani, F. Gholamreza Fahimi, M. Mohammadi, M. Pashaei, *J. Nat. Environ.*, 78, 87 (2025).
29. R. Kaliammal, G. Parvathy, G. Maheshwaran, K. Velsankar, V.K. Devi, M. Krishnakumar, S. Sudhahar, *Adv. Powder Technol.* 32 (11), 4408–4419 (2021).
30. K. Pourshamsian, S. Ojani, *Planta Med.* 82 (5), 62 (2016).
31. D. Chugh, V.S. Viswamalya, B. Das, *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 19 (1), 126 (2021).
32. S. Ojani, N. Montazeri, M. Mohammadi Zeydi, M. Ghane, *Pharm. Chem. J.*, 58(11), 1659-1668 (2025).
33. N.N. Saifuddin, S.N. Matussin, Q. Fariduddin, M.M. Khan, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 47(8), 1119-1137 (2024).
34. A.H.A. Kamel, H. Meriem, F. Abdelkader, K. Trop. *J. Nat. Prod. Res.* 6, 1547–1569 (2022).
35. R. Gevrenova, G. Zengin, V. Balabanova, A. Szakiel, D. Zheleva-Dimitrova, *Plants (Basel)* 13 (18), 2612 (2024).
36. M. Mohammadlou, H. Jafarizadeh-Malmiri, H. Maghsoudi, *Green Process. Synth.*, 6(1), 31-42 (2017).
37. M. Kgatshe, O.S. Aremu, L. Katata-Seru, R. Gopane, *J. Nanomater.*, 2019(1), 3501234 (2019).

48. A. Nazemi, M. Hashemi, M.R. Khataminejad, K. Pourshamsian, Med. Sci. J. Islamic Azad Univ. Tehran Med. Branch. (2005).
49. K. Pourshamsian, N. Montazeri, Z. Barami, Asian J. Chem., 24, 3019 (2012).
50. A. Nasrollahi, KH. Pourshamsian, P. Mansourkiaee, Int. J. Nano Dimens., 191 (2011)



Synthesis of Ag-NPs using the hydroethanolic extract of *pelargonium graveolens* L'Hèr. leaves and the evaluation of its antioxidant and antibacterial activities

Khalil Pourshmasian*, Shahab Ojani

Department of Chemistry, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Abstract: Nanoparticles have significant applications in various fields, including antimicrobial research, cancer, drug delivery systems, and biomedical applications. Among these, silver nanoparticles (Ag-NPs) are among the most widely used nanoparticles in the field of nanotechnology. *Pelargonium graveolens* L'Hèr. from the family (Geraniaceae) is famous for its traditional use as a flavoring, ornamental, and medicinal plant. Therefore, the aim of the present study was to synthesize Ag-NPs using hydroethanolic extract of *P. graveolens* leaves and investigate its antioxidant and antibacterial properties. In this regard, Ag-NPs were synthesized using hydroethanolic extract of *P. graveolens* leaves by microwave method. Ultraviolet-visible UV-Vis spectroscopy, X-ray diffraction, Fourier-transform infrared spectroscopy, and transmission electron microscopy were employed for analysis. Subsequently, the antibacterial activity of the synthesized Ag-NPs was evaluated against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Next, the antioxidant activity was measured using the DPPH⁰ free radical scavenging assay. UV-Vis spectroscopy showed surface plasmon resonance for the synthesized Ag-NPs at a wavelength of 445 nm. Fourier transform infrared spectroscopy showed that the Ag-NPs were functionalized with biomolecules. The X-ray diffraction pattern of Bragg peaks (111), (200), (220) and (311) confirmed the face-centered cubic crystal structure. Transmission microscope images revealed a spherical structure and a size of 40 to 100 nm for the Ag-NPs. The Ag-NPs exhibited stronger antibacterial activity compared to the antibiotic Gentamicin. Additionally, the free radical inhibition percentage and its IC₅₀ value were reported as 74.86 ± 0.1% and 0.19 µg/mL, respectively. Consequently, these nanoparticles can be utilized in the fields of medicine and pharmacy.

Keywords: *Pelargonium graveolens* L'Hèr., Silver nanoparticles, X-ray diffraction, Antibacterial activity, DPPH⁰.