نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی
دوره هجدهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۱،
پیاپی ۴۴ : ۵۰-۳۹

مقاله پژوهشی

# اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه گزنه *Urtica diorica* بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و سودوموناس آئروژینوزا

**امید زمانی[۱]، زهرا کشتمند*[۲] ،سید محمد مهدی حمدی[۳]**

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی ، گروه‌زیست‌شناسی ،واحدتهران‌مرکزی، دانشگاه‌آزاداسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار ،گروه‌زیست‌شناسی، واحدتهران‌مرکزی، دانشگاه‌آزاداسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار،گروه‌زیست‌شناسی، واحدتهران‌مرکزی، دانشگاه‌آزاداسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

**چکیده**

ترکیبات بیولوژیکی در مقیاس نانو که دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بی همتایی هستند، در سال‌های اخیر کارایی پیدا کرده اند. امروز به دلیل هزینه تولید و سازگاری با محیط زیست استفاده از عصاره جهت سنتز نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی خواص ضدمیکروبی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه( *Urtica dioica*) بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.در این مطالعه تجربی. ابتدا عصاره هیدروالکلی عصاره گزنه *Urtica dioica* تهیه شده سپس، با افزودن نمک نیترات نقره با غلظت ۱میلی مولار به عصاره، واکنش در دمای اتاق انجام و پس از تغییر رنگ محلول واکنش حاوی نانو ذرات نقره، خواص فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از SEM, XRD و UV-vis مورد مطالعه قرار گرفت. اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره با غلظت‌های مختلف با روش MIC ارزیابی شد. حداکثر جذب نانوذرات نقره در طول موج ۴۲۰ نانومتر ثبت گردید. میانگین قطر نانوذرات سنتز شده ۴۲/۵۸ نشان داده شد، نتایج آزمون ضدمیکروبی نشان داد نانوذرات نقره سنتز شده بر هر دو باکتری اثر مثبت دارد. غلظت MICنانوذرات برای *استافیلوکوکوس اورائوس* در۲۳/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری سودوموناس آئروژینوزوا ۱۱/۷۱میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داده شد.به نظر می‌رسد نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica*)، فعالیت ضد باکتریایی داشته و احتمالا می‌تواند به عنوان کاندیدضد میکروبی استفاده شود.

**کلمات کلیدی: نانو ذرات نقره، گیاه گزنه، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا***

*نویسنده مسئول: زهرا کشتمند

آدرس: گروه زیست‌شناسی ، واحدتهران‌مرکزی، دانشگاه‌آزاداسلامی، تهران، ایران.

پست الکترونیک: zkeshtmand2001@gmail.com

**مقدمه**

یکی از مشکلات عمده در سراسر دنیا عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها بوده و کنترل گسترش این عفونت‌ها به‌خصوص در مراکز درمانی یک چالش جدی است(۱۲). در سال‌های اخیر توجه به عفونت‌های بیمارستانی از اهمیت زیادی برخوردار است. عفونت‌های بیمارستانی منجر به افزایش مرگ‌ومیر، هزینه و طول مدت بستری بیماران در بیمارستان‌ها می‌شود و درمان عفونت باکتریایی هزینه زیادی را به بخش درمان کشور وارد می‌کند از این رو این عفونت‌ها از معضلات مطرح پزشکی درکشورهای توسعه یافته و نیز درحال توسعه است که از شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده آن‌ها می‌توان به *استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا* اشاره کرد(۲۸). کنترل عفونت و یا حتی تغییری کوچک ولی مؤثر در جهت کنترل عفونت ناشی از باکتری‌ها، می‌تواند از دیدگاه اقتصاد سلامت، بسیار مفید و مقرون‌به‌صرفه باشد(۳۰) .اگرچه با کشف آنتی بیوتیک‌ها و انجام واکسیناسیون، گام بزرگی درجهت مبارزه با بیماری-های عفونی برداشته شد، اما استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر موجب شده که این باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های متنوع از گروه‌های مختلف مقاوم شوند، به طوری که در حال حاضر وجود سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها، نیاز برای یافتن درمان‌های جدید را ایجاد کرده‌است(۲،۳۰).

از روش‌های پیشنهادی امروزی که مورد توجه قرار گرفته سنتز نانوذرات با استفاده از منابع طبیعی مانند گیاهان است و مطالعات گسترده ای در مورد استفاده از نانوذرات برای کنترل و درمان عوامل بیماری زا صورت گرفته است(۱۸).

از روش‌های متداول تولید نانوذرات، روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی را می‌توان نام برد(۱۹). افزایش آسیب‌ها و نگرانی‌های وارده به محیط زیستی طی فرآیندهای فیزیکوشیمیایی رایج سنتز نانوذرات، دانشمندان را به سوی تحقیق برای کشف روش‌های ساده، کم هزینه، بازده بالا، غیر سمی، سازگار با محیط زیست و دارای حداقل خطر برای سلامت انسان، سوق داده است(۲۹).

استفاده از گیاهان یا مشتقات آن‌ها برای تولید نانوساختارها، یک روش جدید و در راستای اصول شیمی سبز است این روش که سنتز سبز یا بیوسنتز نامیده می‌شود نسبت به روش‌های شیمیایی و فیزیکی دارای مزایای بسیار است(۱۷).

گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد، گزینه ای مناسب برای سنتز نانوذرات به روش زیستی هستند.در میان نانو مواد و نانوذرات، نانوذرات نقره به دلیل ویژگی‌های وابسته به اندازشان توجه ویژه ای را به خود جلب کرده اند که از جمله آن‌ها می‌توان به خواص نوری، شیمیایی، الکتریکی، کاتالیستی و ضد میکروبی آنها اشاره کرد، این نانوذرات کاربردهای فراوانی در علوم مختلف مانند پزشکی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی پیدا کرده و استفاده از آنها به عنوان ماده باکتری‌کش قدرتمند، رونق یافته است(۵،۶). مکانیسم میکروب‌کشی نقره از طریق حمله به زنجیره تنفسی و تقسیم سلولی و آزادسازی یون‌های نقره می‌باشد که در نهایت منجر به مرگ سلولی میکروب می‌شوند(۲۵).

بیوسنتز نانو ذرات نقره در مقایسه با سنتز آنتی بیوتیک‌ها هزینه پایینی دارد و این ترکیبات در مدت زمان طولانی کاملاً پایدار باقی می‌مانند. بعلاوه برخی از نانوذرات نقره می‌توانند شرایط سخت مثل استرلیزاسیون با دمای

بالا را تحمل کنند که تحت این شرایط آنتی بیوتیک‌های متداول غیرفعال می‌شوند(۱۴). به این منظور تلاش می‌شود از منابع طبیعی به ویژه گیاهان موجود در محیط زیست برای تولید نانوذرات استفاده شود. یکی از این گیاهان، گیاه گزنه (*Urtica diorica*) از تیره گزنه ایان با خواص درمانی فراوان در طب سنتی می‌باشد. در طب سنتی از گیاه گزنه برای درمان آلرژی،آرتروز، التهاب، خونریزی ناراحتی‌های دستگاه گوارش استفاده می‌شود. عصاره گزنه دارای ترکیباتی مانند پالمتیک اسید، لینولئیک اسید، فرولیک اسید، اسکوپلتین، سروتونین، سیتوسترول، کاروتنویید-ها، فلاونوییدها و غیره می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی و خاصیت آنتی اکسیدانتی می‌باشند(۴).

جستجوی مواد جدید با خاصیت ضد باکتری به منظور ممانعت از رشد باکتری‌ها بسیار ضروری می‌باشد. نانوذرات نقره، طلا و پلاتین فعالیت ضد باکتری چشمگیری از خود نشان می‌دهند. این خاصیت ناشی از اندازه بسیار ریز و نسبت سطح به حجم بالای این ذرات می‌باشد. بنابراین با توجه به فعالیت ضد باکتریایی بالای نانوذرات، می‌توان از آنها جهت بالا بردن سطح ایمنی در بسته‌بندی مواد غذایی و همچنین درساخت نسل جدیدی از داروهای ضد باکتری استفاده نمود(۱،۲۳).

گزارش‌های متعددی در رابطه با استفاده از ستنز زیستی نانوذرات نقره و فعالیت ضد میکروبی آنها از گیاهان وجود دارد.

Larayetanو همکاران۲۰۱۹اثر ضدمیکروبی نانو ذرات سنتز شده از عصاره برگ *Callistemon citrinus* را بر گروهی از باکتری‌ها مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد نانو ذرات سنتز شده از قسمت گل گیاه در غلظت ۲۲/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر بیشترین فعالیت بازدارندگی را علیه *اشرشیاکلی* و کمترین فعالیت بازدارندگی را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند(۱۱).

محمدی و همکارانش در سال ۲۰۱۸ با استفاده از عصاره گیاه مختلف نانوذرات نقره را سنتز کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات سنتز شده دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدسرطانی معنادار می-باشد(۱۳).

صالحی و همکارانش در سال۲۰۱۶ با استفاده از سنتز نانو ذرات نقره از عصاره گیاه *Artemisia marschalliana Sprengel* نشان دادند که نانوذرات سنتز شده دارای اندازه ای کمتر از ۵۰ نانومتر بوده و دارای اثرات ضدسرطانی و ضدمیکروبی است(۳).

افزایش مقاومت جدید باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها یک مشکل اساسی در حوزه سلامتی می‌باشد. از آنجایی که نانوذرات نقره خواص ضدباکتری، ضد قارچ و ضد ویروس‌ها و پروتوزوئرها را دارا می باشد می‌توان با استفاده از مقدار اندکی از این مواد به نتایج بسیار خوبی دست یافت.از این رو هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده ازعصاره گیاه گزنه(*Urtica diorica*) بر *استافیلوکوکوس اورائوس* و *سودوموناس آئروژینوزا می باشد.*

## مواد و روش کار

### تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه(*Urtica diorica*)

گیاه گزنه(*Urtica diorica*) از بانک گیاهی مرکز دخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. برای تهیه عصاره ابتدا گیاه در سایه کاملا خشک و سپس توسط دستگاه آسیاب برقی کاملا پودر گردیده و درون ظروف شیشه‌ای نگهداری شد. به دنبال آن از پودر گیاهی برای عصاره‌گیری به روش ماسریشن استفاده شد. عصاره‌گیری به مدت ۱۲ ساعت صورت گرفت و

در پایان حلال به وسیله روتاری( Rv10 digital،آلمان) حذف گردید. عصاره تهیه شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان سنتز نانوذرات نقره نگهداری شد(۴).

## سنتز نانو ذرات نقره از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه(*Urtica diorica*)

برای سنتز نانوذرات نقره از روش رسوب‌گذاری با احیای یون‌های نقره توسط عصاره استفاده شد. نانوذرات نقره با افزودن ۵ میلی‌لیتر عصاره گزنه به نیترات نقره(مرک، آلمان) با غلظت۱میلی‌مولار در دمای اتاق و دور همزن ۳۰ دور در دقیقه سنتز شد. بعد از گذشت دو ساعت از زمان واکنش، سه مرتبه شستشوی رسوب با آب مقطر انجام گرفت. تمام مراحل شستشو با دور rpm ۱۳۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانترفیوژ گردید. درنهایت شستشوی انتهایی با اتانول انجام شد و محصول در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد طی ۲ ساعت قرار گرفت. ایجاد تغییر رنگ به قهوه‌ای و کدر شدن، اولین نشانه از ساخته شدن نانوذرات بود(۸).

## آنالیز طیف سنجی مرئی-فرابنفش

جهت تثبیت وجود نانو ذرات نقره، طیف جذبی نانو ذرات نقره تولید شده توسط دستگاه اسپکتوفتومتر تهیه شد. جهت انجام این کار، در زمان‌های مختلف نمونه-گیری انجام و قبل از خشک شدن نمونه در محدوده ۴۲۰ تا ۴۵۰ نانومتر جذب نمونه قرائت شد. این محدوده طول موج مربوط به عنصر نقره است و بسته به شکل و اندازه نانو ذرات در طیف وسیعی نوسان مشاهد شد(۸).

## تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات نقره

به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی و تایید اندازه نانوذرات نقره، نمونه پودر نانوذرات به‌مدت ۱۵ دقیقه اولتراسونیک شده و روی گرید دارای فیلم کربنی قرار داده شد. پس از خشک شدن گرید بدون حرارت و در مجاورت هوای اتاق، با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی گذاره (کشور ساخت آلمان Zeiss100 KV ،مدلLeo 906 ) با ولتاژ شتاب دهنده ۱۲۰کیلووات تصویربرداری شد. به‌منظور تایید اندازه نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره و مطالعه نقطه به نقطه، جهت بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات پس از پوشش‌دهی با طلا در ولتاژ زیر ۳۰کیلووات و تحت فشار خلاء ( $10^{-5}$تور )با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل XL30 شرکت فیلیپس ساخت کشور ژاپن مورد مطالعه قرار گرفت(۱۰).

آنالیز XRD نانوذرات با استفاده از دستگاه پراش پرتو ایکس مدل (Germany, Advanced D8-Bruker) انجام شد(۱۰).

## تهیه باکتری‌ها

جهت بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتزشده از گیاه گزنه، سویه‌های باکتری استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC33591)و *سودوموناس آنروژینوزا* (PTCC 20853) از مرکز ذخایر ژنتیکی ایران تهیه شد.

## بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از پلیت ۹۶خانه استریل و روش میکرودایلوشن براث استفاده شد. جهت انجام این آزمون ابتدا غلظت‌های سریالی از نانو ذرات نقره(۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۱۲۵ ، ۳/۱۲، ۱/۶۵) تهیه شد و سپس از هر غلظت به میزان۱۰۰ میکرولیتر به داخل خانه‌های میکروپلیت ریخته و پس از آن ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند به هر خانه میکروپلیت اضافه شد. محیط کشت بدون تلقیح باکتری به عنوان شاهد منفی و محیط کشت

همراه با باکتری و بدون تلقیح نانو ذرات به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. در ادامه میکروپلیت در دمای۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از گرمخانه‌گذاری ۱۰ میکرولیتر از محلول تری فنیل تترازولیوم کلراید با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به خانه‌های میکروپلیت افزوده شد. اولین چاهکی که هیچگونه رشد باکتری در آن مشاهده نشد(تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی مشاهده نشد) به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد(۶).

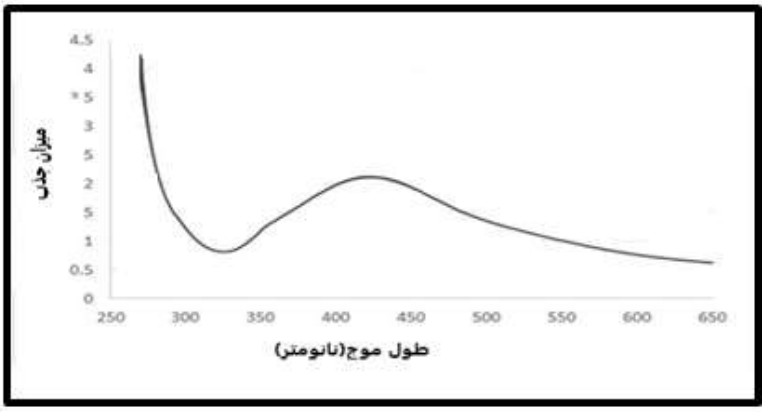
## تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از نرم افزار SPSS نسخه۲۳ و آنالیز واریانس یک-طرفه جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار و سطح معنی‌داری در آزمون‌ها کمتر از ۰/۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

بررسی بیوسنتز نانو ذرات نقره و طیف سنجی مرئی - فرابنفش احیای یون‌های نقره به نانو ذرات نقره با تغییر رنگ محلول و طیف سنجی انجام شد. تغییر رنگ محلول پس از اضافه شدن محلول نیترات نقره به عصاره گیاهی از سبز پر رنگ به سبز متمایل به قهوه ای نشان-دهنده احیای نیترات نقره و تشکیل نانو ذرات نقره در محلول می‌باشد. شکل۱، تایید سنتز نانو ذرات نقره با تغییر رنگ محلول را نشان داده است. در این مطالعه احیای زیستی یون نقره به نانو ذرات نقره توسط طیف سنجی مرئی- فرابنفش و پس از رقت سازی نمونه با آب دیونیزه کنترل شد. پیک جذبی نانو ذرات نقره حدوداً در طول موج ۴۲۰ نانومتر می‌باشد که بسته به شرایط و سایز ذرات، محل پیک جذبی تغییر می‌کند. طیف مرئی- فرابنفش نانو ذرات سنتز شده در شکل ۲، نشان داده شده است(۸).

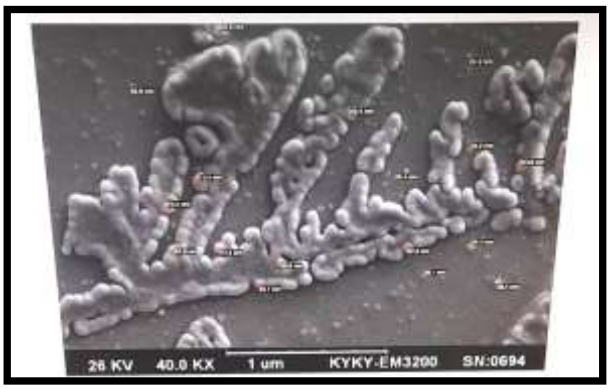
**شکل ۱ .تغییر رنگ محلول‌های واکنش قبل از تولید شدن نانوذرات نقره (چپ) و پس از تولید شدن نانوذرات (راست)**




**شکل ۲ -طیف سنجی vis-UV نانو ذرات سنتز شده از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه *(Urtica diorica)***

## نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی

نتایج به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان می‌دهد که ذرات ایجاد شده دارای شکل هم محور و کروی می‌باشد. نانوذرت نقره سنتز شده دارای اندازه با میانگین ۴۲/۵۸ نانومتر می‌باشد(شکل۳).

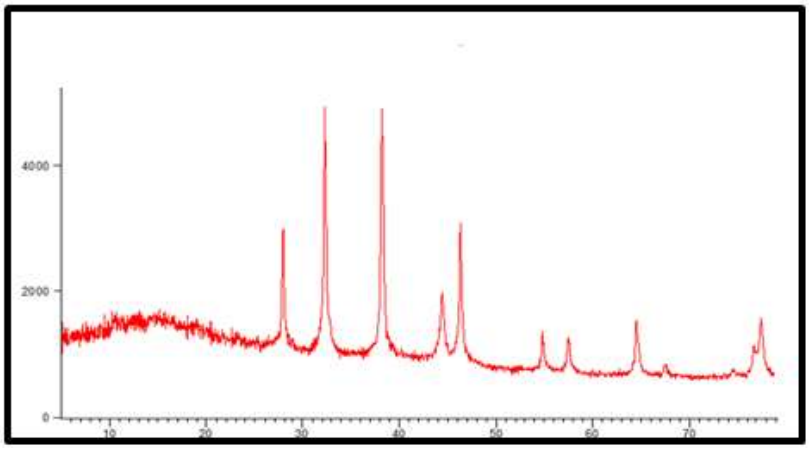



**شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) روبشی نانو ذرات نقره سنتز شده.**

## بررسی پراش پرتو ایکس

### مطالعه XRD

بر اساس شکل ۴، الگوی پراش اشعه ایکس(xrd)، اندیس‌های میلر در سطوح ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۰۲ و ۳۱۱ بوده و به‌ترتیب مربوط به زاویه‌های ۳۷/۵، ۴۴/۳، ۶۴/۹۹، ۷۸/۸ بوده که وجود نانوکریستال‌های نقره را ثابت می‌کند. هم‌چنین نتایج نشان داد که اکثر نانوذرات شکل کروی داشتند و ۴ پیک جذبی در آن‌ها تشخیص داده شد (۱۸).




**شکل ۴. نتایج پراش پرتو ایکس برای نمونه بیوسنتز نانو ذرات نقره سنتز شده.**

## نتایج بررسی فعالیت ضد باکترایی نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره هیدروالکی گیاه گزنه

نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدباکتریایی سوسپانسیون نانوذرات نقره بر باکتری‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* با روش MIC حداقل غلظت مهار رشد نانو ذرات نقره را، برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۱/۷۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۲۳/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش داد.

## بحث

گیاهان دارویی به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه با ارزش و خواص دارویی فراوان مورد توجه ویژه محققین قرار دارند. طی سال‌های گذشته تحقیقات بسیاری روی جنبه‌های مختلف این گیاهان صورت گرفته است. یکی از مواردی که مورد توجه قرار گرفته اثرات درمانی و تأثیرات قابل توجه نانوذرات سنتز شده گیاهان دارویی است(۷).

اساس تولید نانوذره، احیای نمک نیترات نقره توسط عصاره گیاهی و خنثی شدن بار الکتریکی آن است. خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره در پروژه‌های تحقیقاتی زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است که دلایل متنوعی برای این پدیده ذکر شده است(۱۷).

حمله به سطح غشای باکتری از طریق تعامل با پروتئین‌های حاوی گوگرد، اختلال در نفوذپذیری و تنفس سلول و در نتیجه مرگ سلولی، مهار آنزیم‌های تنفسی سلول‌های باکتری با ترکیب شدن با گروه تیول و همچنین بازداشتن سلول از همانندسازی DNA و در نتیجه جلوگیری از تولیدمثل از جمله دلایلی هستند که برای خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره ذکر شده است(۱۶).

تاکنون با استفاده از عصاره گیاهان متعددی مبادرت به تولید نانوذرات مختلف شده است. مکانیزم قطعی تشکیل نانوذرات، طی سنتز سبز هنوز مشخص نشده است. با این وجود اعتقاد برخی از محققین بر این است که سطح فعال مولکول‌های ترپنوئیدی باعث احیاء یون‌های فلزی و تثبیت نانوذرات سنتز شده می‌شوند. احتمالاً این مولکول‌ها همراه و یا بدون عامل احیاءکننده دیگر (قندها) در این فرآیند موثر هستند. ترپنوئیدها گروه بزرگ و متنوعی از متابولیت‌ها هستند که از واحدهای ساختمانی پنج کربنی ایزوپرنی ساخته شده‌اند و انواع متفاوتی دارند. از آنجائی‌که این مواد

بیشترین گروه از محصولات طبیعی هستند که تقریبا در همه موجودات زنده وجود دارند بنابراین احتمال می‌رود که بسیاری از عصاره‌های گیاهی به علت وجود ترپنوئیدها و احیاء قندها در آنها می‌توانند در سنتز نانوذرات فلزی مورد استفاده قرار گیرند(۱۳).

Ahluwaliaو همکاران در سال ۲۰۱۸ سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه *سارتری پانیکولاتا* و فعالیت ضدمیکروبی آن را بر *استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیال پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا* را نشان دادند(۱۲).

غریب وند و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش دادند که عصاره برگ گیاه شیشه‌شور قادر به سنتز نانو ذرات نقره می‌باشد و نانو ذرات سنتزی فعالیت ضدمیکروبی مناسبی بر سویه‌های بیماریزا در شرایط برون تنی از خود نشان می‌دهند(۲۴).

کرمیان و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثر ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده از عصاره آبی زیره سبز بر باکتری-های *باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا* را به روش انتشار در دیسک مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد، نانو ذرات نقره سنتز شده فعالیت ضدمیکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم منفی داشتند و باکتری‌های گرم مثبت در برابر نانو ذرات نقره مقاومت نشان داده و مقاوم‌ترین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود(۱). نتایج یافته‌های مطالعه حاضر نیز با پژوهش‌های قبلی همخوانی داشت.

نانوذرات به علت نسبت سطح به حجم بیشتر و جذب راحت‌تر، سمی‌تر هستند. علاوه بر این پتانسیل آزادسازی یون نقره نیز با کاهش اندازه نانوذرات نقره افزایش یافت. نانوذرات نقره به دلیل اندازه کوچک‌تر، سطح تماس بیشتری با محیط و میکروارگانیسم‌ها پیدا می‌کنند، که این امر منجر به افزایش فعالیت بیولوژیک و شیمیایی آنها و در نتیجه تاثیر بیشتر بر غشای سلول می‌شود(۲،۲۷). مکانیسم‌های دیگر عمل نقره را به برهم‌کنش آن با ترکیبات گروه تیول موجود در آنزیم‌های تنفسی سلول‌های باکتریایی ارتباط می‌دهند. نقره به دیواره سلولی و غشاء سلول باکتری متصل شده و فرآیند تنفس را مهار می‌کند(۷). تمایل زیاد نقره به گوگرد و فسفر کلید اصلی خواص ضدباکتری آن است. گوگرد و فسفر به وفور در سراسر غشای سلولی باکتری یافت می‌شوند. نانوذرات نقره با پروتئین‌های حاوی سولفور در داخل یا خارج از غشای سلولی واکنش می‌دهند که این به نوبه خود بر زنده ماندن سلول‌ها تاثیر گذار است(۳). نتایج کارهای تحقیقاتی مختلف نشان می‌دهد، تغییر مورفولوژی غشا باکتریایی و افزایش نفوذپذیری نانوذرات نقره به درون سلول، منجر به مرگ سلول می‌گردد. هم‌چنین نانوذرات نقره می‌توانند باعث تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های باکتریایی شده که سبب تخریب DNA در آن‌ها می‌شود(۲۷،۲۲).

## نتیجه گیری

در این تحقیق امکان تولید نانوذرات نقره بوسیله عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه و اثر ضد باکتری آن مطالعه شد. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، نانوذرات تولید شده اندازه قابل قبولی داشته و همچنین فعالیت ضد میکروبی موثری را نشان دادند. این ذرات باعث مهاررشد هردو نوع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شدند بطوری‌که باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* حساسیت بیشتری از باکتری گرم مثبت بر *استافیلوکوکوس اورئوس را* نشان داد.

براساس نتایج حاصل، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه بدون نیاز به مواد اولیه گران قیمت قابلیت تولید در مقیاس صنعتی را دارد. با توجه به خاصیت ضد میکروبی این ذرات روی سویه‌های مورد آزمایش احتمالا بتوان از آنها به‌عنوان ماده ضدعفونی کننده موثر برای استریل کردن محیط بیمارستان و گندزدایی پسماندهای بیمارستانی استفاده نمود اگر چه نتایج حاصل نیازمند مطالعات دقیق‌تر می باشد.

## تقدیر وتشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی درمقطع کارشناسی ارشد می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی اجرا شده است.

## تعارض در منافع وجود ندارد.

## منابع

1.Ahluwalia ,V.,Elumalai , S.,Kumar, V., Kumar, S., Sangwa, R. S. (2018).Nano silver particle synthesis using Swertia paniculata herbal extract and its antimicrobial activity. *Microbial* P*athogenesis*,**114**:402-408.

2.Barkat ,M.A., Harshita, Beg ,S., Nai,m M.J., Pottoo, F.H., Singh, S.P., Ahmad, F.J. (2018).Current progress in synthesis, characterization and applications of silver nanoparticles: precepts and prospects. *Recent Patents* on Anti-Infective *Drug Discovery* ,**13**:53-69.

3.Escárcega-González, C.E., Garza-Cervantes, J.A., Vázquez-Rodríguez, A., Montelongo-Peralta L.Z., Treviño-González, M.T., Díaz Barriga Castro, E. (2018).In vivo antimicrobial activity of silver nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using Acacia rigidula as a reducing and capping agent. *International Journal* of *Nanomedicine*, **13**:2349-2363.

4. Esmaili, S., Hosseini, Doust, R. (2019).Synergistic effect of silver nanoparticles (AgNPs) and gentamicin against clinical isolates of P. aeruginosa. *Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch*, **29**: 64-70.

5.Ghadimi Asiabar, F., Mirzaie ,A., Arasteh ,J. (2019).Antibacterial and cytotoxicity of synthesized silver nanoparticles using Erica carnea extract on breast cancer cell line (MCF-7) and analysis of its apoptotic effects. *Razi Journal of Medical Sciences* , **26**:84-94.

6.Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh, behbahani B., Noshad, M.( 2019).In vitro Determination of Chemical Compounds and Antibacterial Activity of Lavandula Essential oil against some Pathogenic Microorganisms. *Journal* of *Ilam University* of *Medical Sciences*, **27**:77 -89.

7.Jadou, A., Al-Shahwany ,A.W. (2018).Biogenic synthesis and characterization of silver nanoparticles using some medical plants and evaluation of their antibacterial and toxicity potential. *Journal of* AO*AC International*, 1**01**:1905-1912.

8.Javan Bakht Dalir, S., Djahaniani, H., Nabati ,F., Hekmati, M.( 2020).Characterization and the evaluation of antimicrobial activities of silver nanoparticles biosynthesized from Carya illinoinensis leaf extract. *Heliyon*, **6**: e03624.

9.Karamian , R., Kamalnejade, J. (2019).Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous seed extract of Cuminum cyminum L. and evaluation of their biological activities. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, **10**:128-141.

10. Larayetan, R.,Ojemaye M.O., Okoh, O.O., Okoh, A.I. (2019).Silver

nanoparticles mediated by Callistemon citrinus extracts and their antimalaria, antitrypanosoma and antibacterial efficacy. *Journal* of *Molecular Liquids*, **273**:615-625.

11. Maghsoudy, N., Aberoomand –Azar, P., Tehrani ,M.S., Husain ,S.W., Larijani ,K. (2019).Biosynthesis of Ag and Fe nanoparticles using Erodium cicutarium; study, optimization, and modeling of the antibacterial properties using response surface methodology. *Journal* of *Nanostructure* in *Chemistry*, **9**:203 –216.
12. Makhfian, M., Pishgar, E. (2019).Inhibitory effect of Stevia and Rosa extracts against bacterial Quarom sensing. *Studies* in *Medical Sciences*, **30**:443 -453.
13. Mohammed, A.E., Al-Qahtani, A., Al-Mutairi, A., Al-Shamri, B., Aabed, K.F. (2018). Antibacterial and cytotoxic potential of biosynthesized silver nanoparticles by some plant extracts. *Journal* of Nanomaterials *(Basel)*, **8**:36-42.
14. Moradi, P, Amini, K. (2017).Extraction and identification of urtica diocia L extract and its antibacterial and antifungal propertied. *Journal of* Mazandaran *University of Medical Sciences*, **27**: 74-85.
15. Moulaie, S., Mirzaie, A., Aliasgari, E. (2018).Antibacterial and anticancer activities of silver nanoparticles fabricated by the Artemisia scoparia extract against lung cancer cell line (A549). *Feyz*, **22**: 487-496.
16. Safari, B., Monadi ,A. (2020).Comparative study on the effects of silver nanoparticles and methanolic extracts of Calendula officinalis on pathogenic bacteria Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa under laboratory conditions. *Journal of Sabzevar Medical University*, **27**:163 –171.
17. Moghadami, F., Hosseini, R. (2020).Effect of iron and silver nanoparticles on coenzyme Q10 production by Gluconobacter japonicus FM10. *Iranian Journal of Microbiology* , **12**:592 -600
18. Panacek, A., Kvitek, L., Smekalova, M., Vecerova, R., Kolar, M., Roderova, M., Dyčka F, Šebela M, Prucek R, Tomanec O, Zbořil R. (2018).Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nature Nanotechnology*, **13**: 65-71.
19. Patil ,M.P., Kim, G.D. (2017).Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology* ,**101**:79-92.
20. Pirtarighat, S.,Ghannadnia, M., Baghshahi, S. (2019).Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of Salvia spinosa grown in vitro and their antibacterial activity assessment. *Nature Nanotechnology*, **9**: 1-9.
21. Quintero-Quiroz, C., Acevedo, N., Zapata-Giraldo, J., Botero, L.( 2019).Optimization of Silver Nanoparticle Synthesis by Chemical Reduction and Evaluation of its Antimicrobial and Toxic *Activity.Biomaterials Research*, **23**:1 -5.
22. Salehi ,S., Sadat Shandiz ,S.A., Ghanbar ,F., Darvish ,M.R., Shafiee Ardestani, M., Mirzaie, A., Jafari, M(2016)Phytosynthesis of silver nanoparticles using Artemisia marschalliana Sprengel aerial partextract a nd assessment oftheir antioxidant, anticancerand anti bacterial properties. *International Journal* of *Nanomedicine*, **11**:1835–1846.
23. Sajadian, M., Teimouri, M.( 2020).Effects of synthesized iron oxide nanoparticles from Ziziphora

clinopodioides on expression of the efflux pump genes of Staphylococcus aureus. *Komesh,* **22**: 542 -549.

24. Sanchooli, N., Saidi, S., Khandan, H., Sanchooli, E.( 2019).In vitro antibacterial effects of silver nanoparticles synthesized using Verbena officinalis leaf extract on Yersinia ruckeri, Vibrio cholera and Listeria monocytogenes.*Iranian Journal of Microbiology*,**10**:400-408.

25. Sosani Gharibvand, Z.,Alizadeh Behbahani, B.,Noshad, M., Jooyandeh, H. (2022).Green synthesis of silver nanoparticles using Callistemon citrinus leaf extract and evaluation of its antibacterial activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science,* **18**:151-163.

26. Tolouietabar, H., Hatamnia, A.A.(2017). Investigation of antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from Scrophularia striata fruit extract.*Journal of Cell & Tissue*, **8**:206-214.

27. Ullah Khan, S., Saleh ,T.A., Wahab, A., Khan ,M.H.U., Khan ,D., Ullah Khan, W., A , Kamal , Ullah Khan F , Fahad Sh. (2018).Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. *International Journal* of *Nanomedicine*, **13**:733-762.

28. Wypij, M., Czarnecka, J., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., Golinska, P. (2018).Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from Streptomyces xinghaiensis OF1 strain. *World Journal of Microbiology* & *Biotechnology,* **34**: 23.

29. Xu ,C., Akakuru, O., Zheng, J., Wu, A. (2019).Applications of Iron Oxide - Based Magnetic Nanoparticles in the Diagnosis and Treatment of Bacterial Infections. *Frontiers* in *Bioengineering* and *Biotechnology,* **7**: 1-15.

30. Zeynali –Aghdam, S., Minaeian, S., Sadeghpour, Karimi, M., Tabatabaee, Bafroee ,A. (2019).The Antibacterial Effects of the Mixture of Silver Nanoparticles With the Shallot and Nettle Alcoholic Extracts. *Journal* of *Applied* Biotechnology *Reports,* **6**:158 -164.

31. Zhang, W., Xiao ,B., Fang, T. (2018).Chemical transformation of silver nanoparticles in aquatic environments: Mechanism, morphology and toxicity. *Chemosphere*, **191**: 324-334.

*Journal of Veterinary Microbiology, Volume 18, Issue 1,*
*Spring & Summer 2022*

# Antimicrobial effect of silver particles synthesized from hydro alcoholic extract of *Urtica dioica* on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

***Omid Zamani[1] , Zahra Keshtmand[2*], Seyed Mohammad Mehdi Hamdi[3]***
*1.Master student of Microbiology, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
*2.Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
*3. Associate Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
*Received: 11 October2022* *Accepted: 3 January2023*

***Abstract***
*Nano-scale biological compounds that have unique physical and chemical properties have become effective in recent years. Today, due to the cost of production and compatibility with the environment, the use of extract in the synthesis of nanoparticles has received attention. The present study was conducted with the aim of investigating the antimicrobial properties of silver nanoparticles synthesized from the hydroalcoholic extract of Urtica dioica on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa.In this experimental study. First, the hydroalcoholic extract of Urtica dioica nettle extract was prepared, then, by adding silver nitrate salt with a concentration of 1 mM to the extract, the reaction was carried out at room temperature and after the color change of the reaction solution containing nanoparticles, the physical and chemical properties of silver nanoparticles synthesized using From SEM, XRD and UV-vis was studied. Antimicrobial effect of silver nanoparticles with different concentrations was evaluated by MIC method.The maximum absorption of silver nanoparticles was recorded at a wavelength of 420 nm. The average diameter of the synthesized nanoparticles was 42.58 the results of the antimicrobial test showed that the synthesized silver nanoparticles have a positive effect on both bacteria. The MIC concentration of nanoparticles for Staphylococcus aureus was 23.4 µg/ml and for Pseudomonas aeruginosa 11.71 µg/ml.It seems that silver nanoparticles synthesized with the hydroalcoholic extract of Urtica dioica have antibacterial activity and can probably be used as an antimicrobial candidate.*

***Keywords: Silver nanoparticles, Urtica dioica, Staphylococcus aureus ,Pseudomonas aeruginosa***

**Corresponding author: Zahra Keshtmand*
*Address: Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
*E. mail: zkeshtmand2001@gmail.com*