



Green production of silver nanoparticles from *Eryngium planum* and its antibacterial effect on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Zahra Khoshal^{*1}, Atoosa Vaziri², Raheleh Rahbarian²

1- MSc Student, Biological Department, Science Faculty, Payam-Noor University, Mashhad, Iran

2- Assistant Professor, Biological Department, Science Faculty, Payam-Noor University, Tehran, Iran

research place: Biological Department, Science Faculty, Payam-Noor University, Tehran, Iran

Article Info

Abstract

Article History:

received 04.08.2023

revised 06.20.2023

accepted 07.27.2023

online 07.27.2023

KeyWords:

Silver nanoparticle
Green synthesis
Eryngium pulegium
Antibacterial effect

*Corresponding author:

E-mail address

*zahra690117@gmail.com

ra_rahbarian@yahoo.com

a_vaziri@pnu.ac.ir

Introduction : The development of nanotechnology in the last decade has opened a new and unique window to science; Among them, silver nanoparticles are one of the most important types of nanoparticles due to their antimicrobial properties. There are different methods for producing silver nanoparticles by green synthesis. Using plant extracts to produce silver nanoparticles is a cheap and cost-effective method that does not harm the environment.

Aim: In this research, the phytochemistry of the plant and the production of silver nanoparticles using the leaves of (*Eryngium pulegium*) were studied. Also, the antibacterial effect of the resulting nanoparticles was investigated on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

Materials and methods: First, secondary metabolites including phenol, flavonoids, terpenoid and alkaloids were measured. Then, the amount of antioxidant activity of Chuchag (*Eryngium pulegium*) plant extract was measured by DPPH method and after confirming the presence of antioxidant property and high amount of secondary metabolites in the examined plant, the synthesis of silver nanoparticle was carried out by aqueous extract of Chuchag plant (*Eryngium pulegium*) and by spectrophotometry and SEM methods. TEM confirmed the presence of nanoparticles and determined the size and shape of nanoparticles. Then, the antibacterial property of the extract along with nanoparticles was evaluated on two species of bacteria, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Results: The analysis of secondary metabolites in (*Eryngium pulegium*) plant showed that the main and indicative compounds in (*Eryngium pulegium*) essential oil include terpenoids curcumin, gamma-3 carene, beta gorgonen, alpha guaiin, gamma cadinene, alpha terpinen, etc. The results of LC.MS of alkaloids showed that *Eryngium pulegium* has 4 alkaloid compounds in order of highest concentration, berbamine, coxoline, balochistin and fikamin. The results related to DPPH in (*Eryngium pulegium*) plant showed that as the concentration of (*Eryngium pulegium*) extract increased, its free radical inhibition percentage also increased, so it can be proved that *Eryngium pulegium* has free radical inhibitory properties. It also has antioxidant properties. Vis-UV spectroscopic analysis and the presence of a peak at 370 nm indicated the biosynthesis of these nanoparticles in (*Eryngium pulegium*) extract, and the SEM image determined the shape of the nanoparticles to be spherical and their average size around 20 nm. In the investigation of the antibacterial effect of nanoparticles biosynthesized with (*Eryngium pulegium*) extract against microbial bacteria, the nanoparticles showed a good antibacterial effect against the studied bacteria. In the MIC test on *Staphylococcus aureus* bacteria, the minimum inhibitory concentration in (*Eryngium pulegium*) solution was measured to be 15mM by 5. In the MIC test on *Escherichia coli* bacteria, the minimum inhibitory concentration (MIC) in 60 mM Chochag solution was measured as 0.78.

Conclusion: plant extracts play the role of regeneration and stabilization of nanoparticles due to their antioxidant properties and abundant secondary compounds. In this research, silver nanoparticles were well synthesized by aqueous extract of *Eryngium pulegium* and the synthesized nanoparticles showed good antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Cite this article: Khoshhal Z*, Vaziri A., Rahbarian R. Green production of silver nanoparticles from *Eryngium planum* and its antibacterial effect on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 17(4): 77-92

doi 10.30495/zisti.2023.1983554.1158

DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.4.1.7

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

تولید نانو ذرات نقره به روش سبز از گیاه چوچاق (*Eryngium planum*) و بررسی اثر ضد میکروبی آن
بر *اشرشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس*زهرا خوشحال^{۱*}، آتوسا وزیری^۲، راهله راهباریان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

مقدمه: گسترش فناوری نانو در دهه اخیر، دریچه جدید و منحصر به فردی را به روی علم گشوده است؛ که در بین آن‌ها، نانوذرات نقره با توجه به خاصیت ضدباکتری که دارا می‌باشند، جزء مهم‌ترین انواع ذرات نانو محسوب می‌شوند. برای تولید نانوذره نقره به روش سنتز سبز، روش‌های متفاوتی وجود دارد. استفاده از عصاره گیاهان برای تولید نانوذره نقره، روشی ارزان و مقرون به صرفه می‌باشد که به محیط زیست آسیبی نمی‌رساند.

هدف: در این پژوهش به بررسی ساختمان شیمیایی گیاه چوچاق و تولید نانوذره نقره با استفاده از برگ گیاه چوچاق (*Eryngium pulegium*) پرداخته شد. همچنین، اثر ضدباکتریایی نانوذره حاصل بر روی دو باکتری *اشرشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ابتدا متابولیت‌های ثانویه شامل فنول، فلاونوئیدها، ترپنوئید و آلکالوئیدها مورد سنجش قرار گرفتند. سپس، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه چوچاق با روش DPPH اندازه‌گیری شد و پس از تایید وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار بالای متابولیت‌های ثانویه در گیاه مورد بررسی، سنتز نانوذره نقره به وسیله عصاره آبی گیاه چوچاق انجام شد و با روش اسپکتروفوتومتری، SEM و TEM وجود نانوذره تایید و ابعاد و شکل نانوذره مشخص گردید. سپس، خاصیت ضدباکتریایی عصاره همراه با نانوذره بر روی دو گونه باکتری *اشرشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: آنالیز متابولیت‌های ثانویه در گیاه چوچاق نشان داد که ترکیبات اصلی ترپنوئیدی در عصاره چوچاق، شامل کورکومین، گاما ۳ کارن، بتا گورجونن، آلفا گوائین، گاما کادینن، آلفا ترپینن و ترکیبات آلکالوئیدی شامل برابین، کوکسولین، بالوجیستین و فیکامین است. نتایج DPPH در گیاه چوچاق نشان داد که افزایش غلظت عصاره چوچاق، درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد. بیشترین میزان مهارکنندگی به غلظت ۶۰ میلی‌مولار اختصاص یافت. آنالیز طیف‌سنجی Vis-UV و وجود پیک در ۳۷۰ نانومتر حاکی از سنتز زیستی این نانوذرات در عصاره چوچاق بود. شکل نانوذرات کروی و میانگین اندازه آنها را حدود ۲۰ نانومتر نشان داده شد. در بررسی اثر ضدباکتری نانوذرات بیوسنتز شده با عصاره چوچاق، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) محلول چوچاق ۶۰ میلی‌مولار روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر ۵ و حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) محلول چوچاق ۶۰ میلی‌مولار روی باکتری *اشرشیا کلای* برابر با ۰/۷۸ بود.

نتیجه‌گیری: عصاره گیاه چوچاق به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های ثانویه فراوان، نقش احیاءکنندگی و پایدارسازی نانوذرات را ایفاء می‌کند. در این پژوهش، نانوذرات نقره توسط عصاره آبی گیاه چوچاق (*Eryngium pulegium*) سنتز شده و فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی علیه باکتری *اشرشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد.

تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۲/۰۱/۱۹

بازنگری ۱۴۰۲/۰۳/۳۰

پذیرش ۱۴۰۲/۰۵/۰۵

نماینه ۱۴۰۲/۰۵/۰۵

کلمات کلیدی

نانوذره نقره

سنتز سبز

چوچاق

اثر ضد باکتریایی

* نویسنده مسؤل

*zahra690117@
gmail.comra_rahbarian@
yahoo.com

a_vaziri@pnu.ac.ir

شیوه آدرس‌دهی این مقاله: خوشحال ز، وزیری آ، راهباریان ر. تولید نانو ذرات نقره به روش سبز از گیاه چوچاق (*Eryngium planum*) و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر *اشرشیا کلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس*. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۱؛ ۱۷(۴): ۹۲-۷۷

doi 10.30495/zisti.2023.1983554.1158

DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.4.1.7

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا | **شاپا چاپی:** ۱۷۳۵-۴۲۲۶ | **شاپا الکترونیکی:** ۲۷۱۷-۴۵۹X | **نویسندگان:** © حق مؤلف

مقدمه:

امروزه تمایل به استفاده از مواد با ابعاد نانومتر در حال افزایش است. نانوذرات فلزات نجیب به دلیل خاصیت منحصر به فرد الکترونیک، کاتالیزوری و اپتیک آن شناخته شده است (۱). نانوذرات خواص متفاوتی در رشته‌های گوناگون از جمله مکانیک، اپتیک، علوم پزشکی، صنایع شیمیایی، الکترونیک، صنایع فضایی، تحویل ژن دارو، علوم انرژی، تجزیه، کاربرد الکتروشیمیایی و دستگاه‌های نوری غیرخطی دارند (۲). با توجه به پیشرفت صنعت نیاز به تولید ترکیبات نانو برای انواع مصارف تجاری و کاربردی با روش‌های شیمی سبز و سازگار با محیط زیست رو به افزایش است. خصوصیات قابل توجه نانوذرات نقره نظیر: تاثیر زیاد و سریع، غیر سمی بودن، پایداری زیاد، غیر حساسیت زا بودن، سازگاری با محیط زیست، مقاومت در برابر حرارت و عدم ایجاد یا افزایش مقاومت باکتریایی موجب شده به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها به شمار رود (۳). برای تولید و ذخیره نانوذرات فلزی در بافت یک گیاه، بایستی عناصر به شکل قابل دسترس در محیط رشد گیاه فراهم آیند. در فرآیند جذب ریشه‌ای، عناصر از عرض غشای سلولی ریشه عبور کرده و در گیاه جابه‌جا می‌شوند (۴). نقره یکی از تجاری‌ترین مواد نانو است. از جمله نقش عمیق و اصلی نقره در زمینه تشخیص حساسیت بیومولکولی، تجزیه و تحلیل، حس‌گرهای زیستی و پزشکی است که دارای اثرات ضد میکروبی قوی همراه با فعالیت‌های ضدقارچی و ضد التهابی است (۵). نانوذرات به واسطه اندازه خود خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی دارند که از آن جمله خاصیت ضدسرطانی آنها می‌باشد (۶). نانوذرات نقره به تدریج با تابش نور اکسید می‌شوند و به Ag تبدیل می‌شوند. یون‌های نقره در طی واکنش با غشای سلولی باکتری، پیوندهای سولفور-هیدروژن (SH) (در غشای سلولی باکتری را به پیوند سولفور-نقره (S-Ag) تبدیل می‌کنند. در این میان، نانوذرات نقره مانع تنفس متابولیسم سلولی از طریق سیستم انتقال الکترون می‌شوند و در نتیجه باعث تخریب

ساختمان باکتری می‌گردند (۷). گیاه چوچاق (*Eryngium planum*) از مهمترین گونه‌های جنس بوقتاق در شمال ایران است. گیاهی دو یا چند ساله، علفی از خانواده چتریان است که از سالیان دور مورد توجه بومیان منطقه شمال ایران قرار گرفته است (۸). در مرحله گل‌دهی و زایشی این گیاه، مردمان شمال از آن به عنوان سبزی و طعم‌دهنده غذا استفاده می‌کنند (۹). اسانس برگ گیاه چوچاق (*Eryngium pulegium*) شامل مشتقات فیتیل پروپانوئید، اورژنول، بنزالدهید و متیل ایزواورژنول است. مهمترین ترکیب اسانس چوچاق (*Eryngium pulegium*) شامل سزکویی‌ترین‌هایی نظیر آلفاکوپائن، بتاکاریوفیلین و اسپاتولنول است (۱۰). مهمترین مواد موثره عصاره چوچاق نظیر مونوترپن، پلی‌فنل و فلاونوئید از اندام‌های مختلف گونه‌های زولنگ، سرشاخه، ریشه و برگ‌های گیاه بوده و دارای عملکرد متفاوت آنتی‌اکسیدانی است (۱۱). برگ‌های چوچاق (*Eryngium pulegium*) نیز دارای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی و اشتها آور است و در طب سنتی برای درمان بواسیر، تسکین‌دهنده بیماری رماتیسم، تسکین‌دهنده دل درد، درمان سیاه سرفه، افزایش ترشح ادرار، عفونت‌های ادراری و از بین بردن سنگ کلیه استفاده می‌شود (۱). در مطالعات انجام شده بر روی این گیاه مشخص گردید عصاره برگ‌های این گیاه عملکرد آنتی‌اکسیدانی مناسبی داشته و نتایج نشان داد روش عصاره‌گیری، تاثیر مثبتی بر مهار رادیکال آزاد و DPPH و میزان عملکرد بهینه آنتی‌اکسیدانی آن دارد (۱۰). برگ‌های جوان بهاره و پاییزه آن، خصوصاً عصاره برگ‌های گیاه بهاره از عملکرد آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار است (۷). در مطالعات انجام شده بر روی گونه‌های چوچاق مشخص شد که ترکیبات پلی‌استرینی، فلاونوئیدی، ساپونینی، کومارینی و گلیکوزیدهای مونوترپنی در این گیاه عاملی اثرگذار در ایجاد اثرات درمانی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی در آن محسوب

فلانوئیدها هستند، عوامل قدرتمندی برای کاهش بار در سنتز نانوذرات نقره خواهند بود. بنابراین، امروزه استفاده از عصاره گیاهان در سنتز نانوذرات فلزی خصوصاً نقره مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (۱۳).

با مرور و بررسی پژوهش‌های گذشته در رابطه با نانوذرات نقره و همچنین خواص و ویژگی‌های گیاه چوچاق، هدف از این پژوهش، بررسی متابولیت‌های ثانویه گیاه چوچاق بومی ایران و ارزیابی قابلیت تولید نانوذره نقره به وسیله عصاره این گیاه و بررسی خاصیت ضد میکروبی آن می‌باشد.

می‌شود (۱۱). گیاهان حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کاندیدای مناسبی جهت تولید زیستی نانوذرات محسوب می‌گردند. Ghafouri (۲۰۱۵) به تولید زیستی و بررسی تولید نانوذرات نقره بوسیله عصاره آبی میوه گیاه فلوس و بررسی اثرات ضد میکروبی و جهش‌زایی نانوذرات تولید شده پرداخت و به این نتیجه رسید که عصاره آبی میوه گیاه فلوس خاصیت آنتی‌میکروبی بالایی دارد (۱۲). Gafari and Amini (۲۰۲۰) به بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه دارویی مریم نخودی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که عصاره گیاهانی که غنی از پلی‌فنیل‌هایی مانند

مواد و روش‌ها:

ماده گیاهی

سنج جرمی، ترکیبات موجود در عصاره گیاه چوچاق به دست آمد (۱۳).

گیاه چوچاق از مناطق شمالی کشور (استان گیلان) تهیه شد. این گونه گیاهی در بخش آزمایشگاهی دانشکده علوم پایه گیلان (رشت) توسط کارشناس گیاه شناسی، شناسایی و تایید شد.

اندازه‌گیری آلکالوئیدها

ابتدا عمل استخراج به روش خیساندن در اتانول ۹۶ درصد انجام شد و به عصاره اتانولی غلیظ، ۰/۰۳ اسید سولفوریک افزوده و در دمای محیط به هم زده شد. پس از حذف مواد رنگی و هیدروکربنی به وسیله اتروپتول، به فاز آبی اسیدی، در حمام آب یخ، آمونیاک غلیظ اضافه و به شدت به هم زده شد (۱۴). برای شناسایی ترکیبات آلکالوئیدی گیاه چوچاق توسط کروماتوگرافی جرمی مایع (LC/MS) از روش کروماتوگرافی مایع-جرمی استفاده شد. دستگاه LC/MS (شرکت شیمادزو، مدل Nexis GC ۲۰۳۰، ژاپن) به خاطر وجود ستون‌های حفره‌دار و متخلخل مواد را از درون مخلوط کرده و ذرات بزرگ‌تر را عبور داده، اما ذراتی که کوچک‌تر بودند، در همان محیط مدام چرخش کرده تا از دیواره عبور کنند. پس از جداسازی، عدد جرمی ماده مورد نظر و اجزای آن اندازه‌گیری شدند (۱۴).

آماده‌سازی عصاره چوچاق جهت اندازه‌گیری تریپنوئیدها

عصاره اتانولی گیاه چوچاق به روش خیساندن به دست آمد. در این روش پودر گیاه چوچاق با نسبت ۱:۱۲ با اتانول ۷۲ درصد در دمای اتاق مخلوط شد و نمونه به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر با دور ۱۳۲ rpm قرار گرفت و پس از آن با عبور مخلوط از کاغذ صافی، عصاره اتانولی حاصل گردید. سپس عمل تغلیظ عصاره انجام گرفت. قسمتی از عصاره اتانولی حاصل پس از تغلیظ، جهت شناسایی ترکیبات آن توسط روش گاز کروماتوگرافی جرمی (GC/MS) (دستگاه Shimadzu مدل Nexis ۲۰۳۰ GC-ساخت کشور ژاپن) آماده‌سازی شد. فاز هگزانی جهت تزریق به GC/MS برای جدا سازی قرار داده شد. با بررسی و مطالعه کروماتوگرام و طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه کروماتوگرافی گازی دارای طیف

اندازه‌گیری توتال فنول و توتال فلاونوئید

با جوشاندن ۲۰ گرم گیاه چوچاق در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب به مدت ۵ دقیقه، عصاره تهیه شد و عصاره در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محتوای فنلی کل (TPC) عصاره به روش کالریمتری تعیین شد. محتوای فنلی کل با مقایسه با منحنی کالیبراسیون استاندارد اسید گالیک ۲ تعیین شد. نتایج به عنوان میلی‌گرم معادل اسید گالیک (میلی‌گرم GAE) در هر گرم وزن خشک (گرم DW) ارائه شد (۱۵). سنجش فلاونوئیدها توسط روش کلرید آلومینیوم از طریق رنگ‌سنجی انجام شد (۱۶).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH

برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه چوچاق روش DPPH مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش DPPH ۰/۷ میلی‌لیتر از عصاره نمونه یا استاندارد (اسید اسکوربیک ۲) با غلظت‌های مختلف ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲۰، ۰/۲۵ و ۰/۳ mg/ml به همان حجم DPPH اضافه شد. مخلوط‌ها به شدت تکان داده شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در انکوبه در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفتند. جذب DPPH با متانول و DPPH بدون متانول با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV/Vis DU در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۶).

تهیه محلول‌ها

۵ گرم برگ پودر شده گیاه چوچاق توزین و داخل بشر ریخته شد و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه روی هیتر با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خارج شدن عصاره آبی با صافی ریز صاف شد و جهت انجام بقیه مراحل در یخچال نگهداری شد.

تهیه محلول نیترات نقره ۶۰ میلی‌مولار، ۳۰ میلی‌مولار و ۱۵ میلی‌مولار با استفاده از نیترات نقره (مرک آلمان) ساخته شد. دور همه بالن‌های حاوی نیترات نقره با فویل پوشانده شد تا از واکنش نقره جلوگیری شود. سپس ۵ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده گیاه چوچاق برداشته و درون فالکون ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد و به آن

۲۰ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره ۱۵ میلی‌مولار اضافه شد. محلول‌های ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار نیترات نقره، هرکدام جداگانه به دو فالکون حاوی ۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه چوچاق اضافه شد و اجازه داده شد تا هر سه فالکون به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد بماند. برای بررسی طیف جذبی گیاه چوچاق، مقداری از هرکدام از محلول‌ها برداشته شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (HACH مدل ۵۰۰ DR) در ناحیه طول موج ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر با در نظر گرفتن عصاره رقیق شده و آب مقطر به عنوان بلانک خوانده شد. عصاره گیاه چوچاق جهت تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی عبوری و ساختار آن توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل هیتاچی (S-۳۵۰۰C) آنالیز شد. میانگین اندازه ذرات و توزیع با استفاده از تجزیه و تحلیل ذرات (NICOMPTM۳۸۰) استفاده از تجزیه و تحلیل ذرات (ZLS) اندازه‌گیری شد.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی

باکتری‌های مورد مطالعه عامل ورم پستان تهیه شده از کلکسیون باکتری دانشکده دامپزشکی (باکتری‌های اشرشیاکلائی (*E. coli*) و استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) تهیه گردید. تهیه سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد مک فارلند: از پرگنه‌های کشت ۲۴ ساعته هر یک از سویه‌های باکتری مورد مطالعه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با لوپ برداشته و به سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید و کدورت باکتریایی آن به استاندارد مک فارلند شماره یک رسانده شد. از سوسپانسیون باکتریایی با تراکم 3×10^8 cfu/ml (معادل مک فارلند شماره یک) در زیر هود و در شرایط استریل، به مقدار 10^6 cfu/ml میکرولیتر (به هر یک از لوله‌های حاوی رقت‌های متوالی از باکتریوسین در محیط کشت تریپتیکاز سوی برات، اضافه گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگیه روش تعیین حداقل غلظت کشندگی (MIC و MBC)

پس از ۲۴ ساعت از انکوبه شدن باکتری‌ها در محیط آبگوشت رقیق شده با کدورت‌سنجی چشمی و اسپکتروفوتومتری، پایین‌ترین غلظتی که هیچ‌گونه کدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) تعیین شد. برای مشخص کردن حداقل غلظت کشندگی (MBC) از لوله MIC،

یک رقت بالاتر و یک رقت پایین‌تر با سمپلر مقدار ۱۰ میکرولیتر به محیط ژلوز خون‌دار اضافه و کشت سطحی داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه نگهداری و پس از آن کمترین رقتی که در آن هیچ‌گونه باکتری رشد نکرد، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی تعیین شد (۱۶).

نتایج:

اندکی پس از افزودن محلول‌های نیترات نقره به عصاره گیاه چوچاق، رنگ محلول‌ها تیره‌تر شدند، اما بعد از ۲۴ ساعت این تیرگی بیشتر شده و رسوب سیاه رنگ نانوذره در ته فالكونها به وضوح مشاهده شد. پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت، محلول حاوی غلظت ۶۰ میلی‌مولار نیترات نقره بیشترین رسوب را داد و تیره‌تر شد.

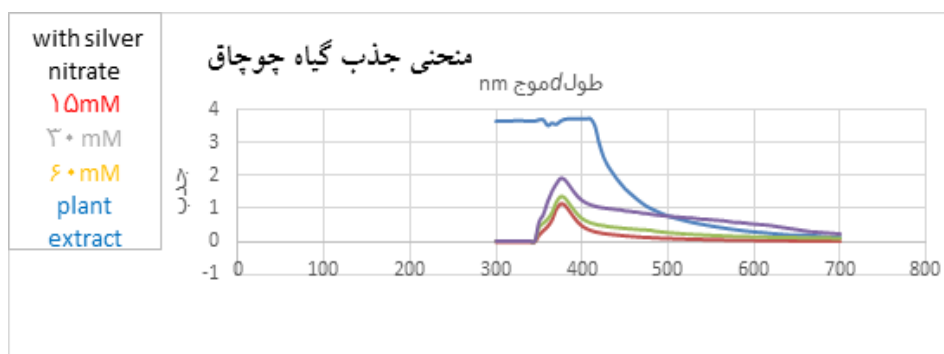


شکل ۱ - مخلوط عصاره گیاهی چوچاق و نیترات نقره (۱۰-۳۰-۶۰ میلی مولار).

برجستگی پیک قرمز در ناحیه حدود ۳۷۰ نانومتر مربوط به تشکیل نانوذرات نقره است. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، جذب مربوط به عصاره‌های گیاه چوچاق به همراه نیترات نقره ۱۰-۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار با جذب عصاره چوچاق قبل از افزودن نیترات نقره مقایسه شده است. پس از افزودن نیترات نقره پیک جذب به حدود ۳۷۰ نانومتر رسیده است که این جذب مربوط به تشکیل نانوذره نقره می‌باشد.

نتایج بخش متابولیت ثانویه

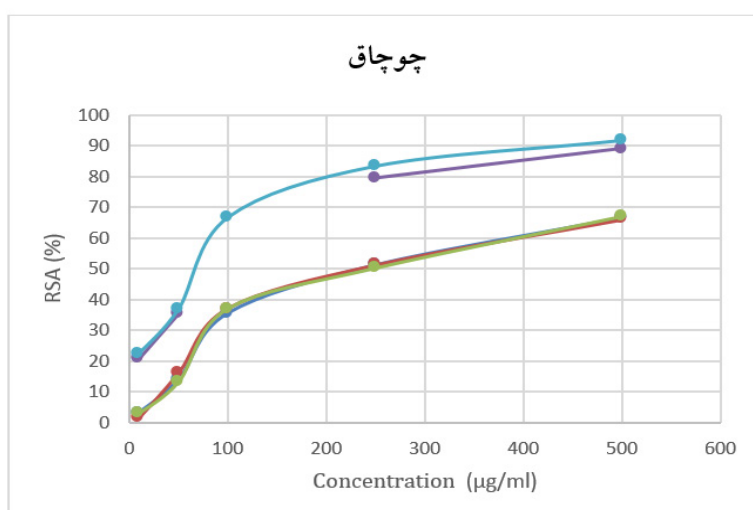
همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، غلظت کل فلاونوئید و کل فنول در گیاه چوچاق مورد بررسی قرار گرفته شد. در بخش نتایج مربوط به DPPH در گیاه چوچاق با توجه به نمودار ۲، با افزایش غلظت عصاره چوچاق درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد افزایش پیدا کرد. پس می‌توان گفت که گیاه چوچاق به این دلیل که خاصیت مهارتی خوبی دارد، دارای توانایی آنتی‌اکسیدانی بالقوه‌ای می‌باشد.



نمودار ۱ - منحنی جذب گیاه چوچاق. منحنی آبی قبل و بعد از افزودن نیترات نقره.

جدول ۱ - نتایج کل فنول و فلاونوئید در گیاه چوچاق

Total flavonoid content (μg of QE/g of dry weight)	Total phenol content (mg GAE/g dry weigh)
۱۴۸۴/۵۵	۵۶/۱۶۱
Stdev: ۷/۶	۶۹/۳

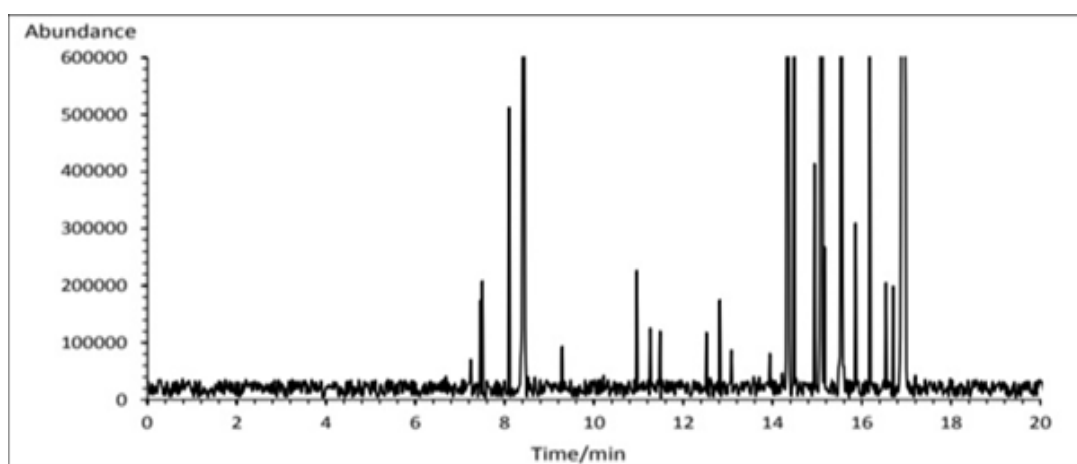


آبی تیره تکرار اول
قرمز تکرار دوم
سبز تکرار سوم
بنفش ویتامین ث
آبی روشن TBHQ

نمودار ۲ - نتایج DPPH مربوط به گیاه چوچاق

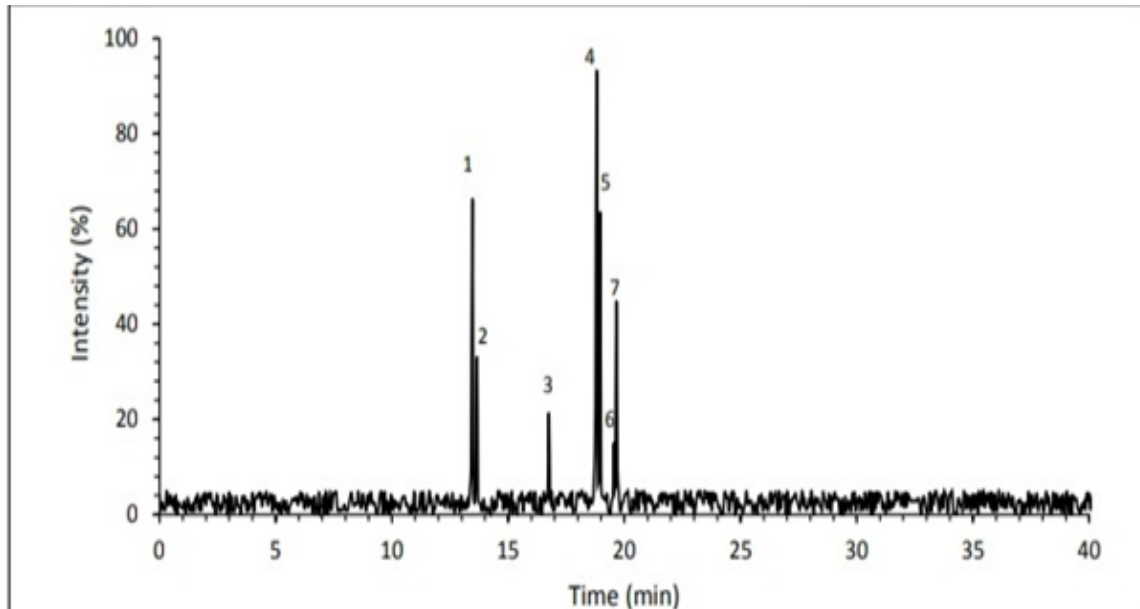
جدول ۲ - نتایج مربوط به DPPH در گیاه چوچاق

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	۱۰	۵۰	۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰
DPPH	۱۶/۳	۱۳/۹۸	۳۵/۵۶	۵۱/۲۴	۶۶/۶۶
vitamin C	۲۰/۷۲	۳۵/۳	۶۴/۴۹	۷۹/۴۸	۸۹/۰۸
TBHQ	۲۲/۴۳	۳۶/۸۸	۶۶/۷۵	۸۳/۴۶	۹۱/۸۵



Peak IDs	RT (min)	Concentration (%)
1. α -Pinene	1. 6.60	1. 0.853331
2. β -Pinene	2. 7.24	2. 0.69628
3. Myrcene	3. 7.50	3. 0.359388
4. 3-Octanol	4. 7.73	4. 2.339987
5. 1,8-Cineole	5. 8.52	5. 0.486177
6. Limonene	6. 8.62	6. 0.731325
7. Linalool	7. 9.30	7. 0.318141
8. Menthone	8. 9.69	8. 27.50394
9. iso-Menthone	9. 9.81	9. 3.092921
10. (E)-iso-Pulegone	10. 10.04	10. 4.271041
11. α -Terpineol	11. 10.95	11. 0.704226
12. (Z)-Pulegone oxide	12. 11.22	12. 0.635671
13. Pulegone	13. 12.01	13. 53.88369
14. Piperitone	14. 12.26	14. 0.912359
15. Piperitenone	15. 14.15	15. 2.055102
16. Germacrene-D	16. 15.78	16. 0.377424
17. β -Ionone	17. 15.86	17. 0.314829
18. Caryophyllene oxide	18. 17.21	18. 0.464165

نمودار ۳ - نتایج مربوط به GC-MS ترپنوئیدها در گیاه چوچاق



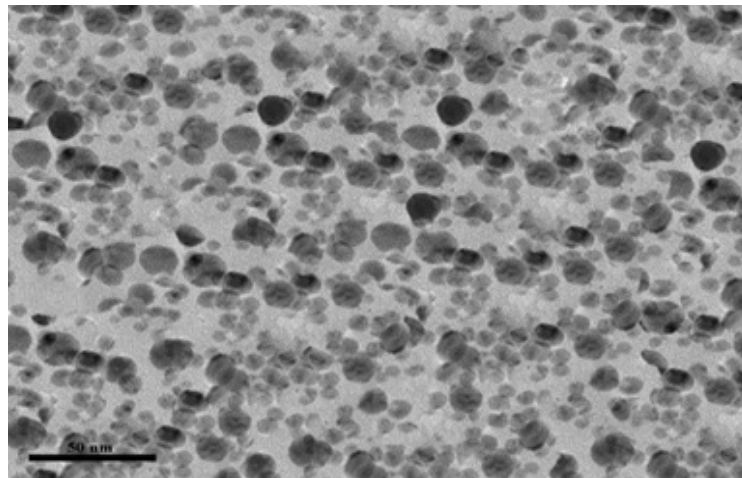
Peak IDs	RT (min)	Recovery (%)	Nominal con. (ng/ml)	Measured con. (ng/ml)
1. Cocculine	1. 13.46	1. 96	1. 38	1. 38.16211
2. (+)-12-O-methylricordatine	2. 13.66	2. 95	2. 23	2. 23.39711
3. Tubocurarine	3. 16.75	3. 98	3. 18	3. 18.17156
4. Berbamine	4. 18.8	4. 94	4. 50	4. 50.15869
5. Pycnamine	5. 18.95	5. 100	5. 37	5. 36.93436
6. Isotetrandrine	6. 19.55	6. 95	6. 15	6. 15.34898
7. Tetrandrine	7. 19.65	7. 93	7. 28	7. 28.61979

نمودار ۴ - نتایج مربوط به LC-MS آلکالوئیدها در گیاه چوچاق

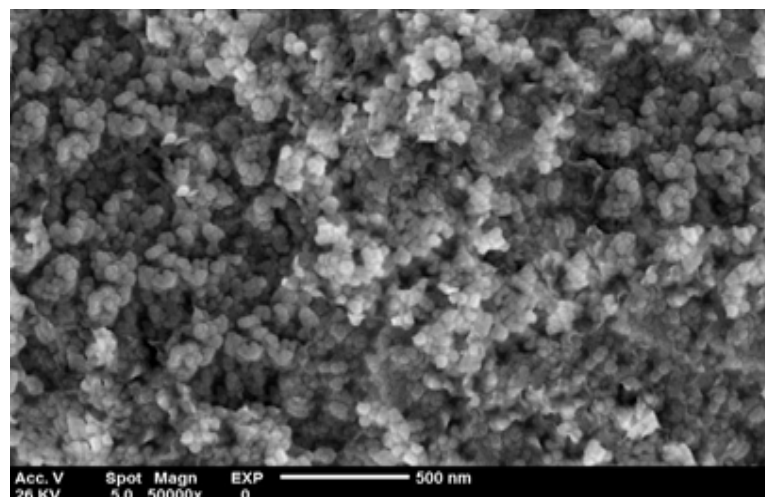
ترپینن و ... می‌باشد. با توجه به نمودار ۴ نتایج LC-MS آلکالوئیدها نشان می‌دهد که گیاه چوچاق دارای ۴ ترکیب آلکالوئیدی به ترتیب بیشترین غلظت، برتامین، کوکسولین، بالوچیستین و فیکامین است.

ترکیبات شیمیایی اسانس چوچاق توسط GC-MS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ترکیبات اصلی و شاخص ترپنوئیدی در اسانس چوچاق همانطور که در نمودار ۳ مشخص گردید، شامل ترپنوئیدهای کورکومین، گاما کارن، بتا گورجونن، آلفا گوائین، گاما کادینن، آلفا

نتایج مربوط به میکروسکوپ الکترونی TEM در گیاه چوچاق به منظور بررسی تعیین خصوصیات ذرات شامل شکل، اندازه و میزان توزیع ذرات صورت گرفت. شکل ۲ مربوط به سنتز سبز نانوذرات نقره در عصاره برگ گیاه چوچاق تیمار شده با غلظت ۶۰ میلی‌مولار نیترات نقره می‌باشد. تصویر با بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ و ولتاژ ۸۰ کیلوولت مورد بررسی قرار گرفت. تصاویر ناشی از میکروسکوپ الکترونی عبوری مربوط به نانوذرات سنتز شده از گیاه چوچاق نشان می‌دهد که اندازه نانوذرات حدود ۱۵ تا ۲۰ نانومتر بوده و نانوذرات حاصل ذرات اکثراً کروی می‌باشند.



شکل ۳ - تصویر نانوذرات نقره حاصل از گیاه چوچاق با میکروسکوپ الکترونی TEM.



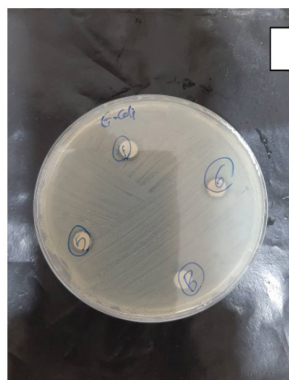
شکل ۴ - تصویر نانوذرات نقره حاصل از گیاه چوچاق با میکروسکوپ الکترونی SEM

محیط کشت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) بزرگترین هاله را ایجاد کرده است. با اندازه‌گیری قطر هاله به وجود آمده از آزمون چاهک در محیط کشت باکتری‌اشرشیاکلای که در جدول ۴ نشان داده شده است، مشخص شد که بزرگترین هاله به وجود آمده با قطر ۱۲ mm مربوط به محلول گیاه چوچاق ۳۰ میلی‌مولار می‌باشد، اما در محیط کشت دو باکتری که محلول گیاه چوچاق اضافه نشد (شاهد)، هاله‌ای به وجود نیامد.

در پایان این مرحله با توجه به نتایج تغییر رنگ ظاهری و طیف‌سنجی جذبی، TEM و SEM و همچنین بررسی متابولیت‌های ثانویه از جمله توتال فنول، توتال فلاونوئید، DPPH، GC-MS، ترپنوئیدها، LC-MS آلکالوئیدها، سنتز زیستی سبز نانوذره نقره و تشکیل نانوذرات نقره، تایید می‌گردد. بنابراین، می‌توان از عصاره حاصل به منظور بررسی خاصیت ضدباکتریایی استفاده کرد. در روش آزمون چاهک، با اندازه‌گیری هاله به وجود آمده مشخص شد که محلول گیاه چوچاق (*Eryngium pulegium*) ۶۰ میلی‌مولار با ایجاد یک هاله با قطر ۸ mm در

جدول ۳ - آزمون چاهک در مواجهه با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) و باکتری اشرشیاکلای (*E. coli*) برای محلول‌های ۱۵-۳۰-۶۰ میلی‌مولار

نام باکتری	نام نمونه	قطر هاله بر حسب میلی‌متر
اشرشیاکلای	گیاه چوچاق ۳۰ میلی‌مولار	۱۲
اشرشیاکلای	گیاه چوچاق ۶۰ میلی‌مولار	۱۱
اشرشیاکلای	گیاه چوچاق ۱۵ میلی‌مولار	۱۱
اشرشیاکلای	بلانک (نمونه)	R
استافیلوکوکوس اورئوس	گیاه چوچاق ۳۰ میلی‌مولار	۶
استافیلوکوکوس اورئوس	گیاه چوچاق ۶۰ میلی‌مولار	۸
استافیلوکوکوس اورئوس	گیاه چوچاق ۱۵ میلی‌مولار	۶
استافیلوکوکوس اورئوس	بلانک (نمونه)	R



شکل ۵ - تصاویر مربوط به تست دیسک دیفیوژن در باکتری اشرشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس. الف) هاله به وجود آمده از محلول‌های ۱۵-۳۰-۶۰ میلی‌مولار گیاه چوچاق در مواجهه با باکتری اشرشیاکلای، ب) هاله به وجود آمده از محلول‌های ۱۵-۳۰-۶۰ میلی‌مولار گیاه چوچاق در مواجهه با باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

جدول ۴ - نتایج آزمون دیسک دیفیوژن در مواجهه با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلائی* برای محلول های ۱۵-۳۰-۶۰ میلی مولار گیاه چوچاق

نام باکتری	نام نمونه	قطر هاله بر حسب میلی متر
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۳۰ میلی مولار	۱۲
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۶۰ میلی مولار	۱۲
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۱۵ میلی مولار	۱۱
<i>اشرشیا کلائی</i>	بلانک (نمونه)	R
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۳۰ میلی مولار	۸
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۶۰ میلی مولار	۶
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۱۵ میلی مولار	۸
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	بلانک (نمونه)	R

جدول ۵ - نتایج آزمون میکرو دایلوژن در مواجهه با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلائی* برای محلول های ۱۵، ۳۰ و ۶۰ میلی مولار گیاه چوچاق

نام باکتری	نام نمونه	قطر هاله بر حسب میلی متر
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۳۰ میلی مولار	۱۲/۵
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۶۰ میلی مولار	۰/۷۸
<i>اشرشیا کلائی</i>	گیاه چوچاق ۱۵ میلی مولار	۳/۱۲
<i>اشرشیا کلائی</i>	بلانک (نمونه)	R
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۳۰ میلی مولار	۱۲/۵
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۶۰ میلی مولار	۵
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	گیاه چوچاق ۱۵ میلی مولار	۱۲/۵
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	بلانک (نمونه)	R

نتیجه تست MIC اثر گیاه چوچاق بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*S. aureus*) و *اشرشیا کلائی* (*E. coli*) نشان داد حداقل غلظت ممانعت کنندگی در محلول چوچاق ۶۰ میلی مولار بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر $10 \mu\text{l/ml}$ و حداقل غلظت ممانعت کنندگی در محلول چوچاق ۶۰ میلی مولار در باکتری *اشرشیا کلائی* برابر با $0.78 \mu\text{l/ml}$ می باشد (جدول ۵).

بحث

به وضوح نشان داد، تولید رادیکال‌های آزاد، به طور قابل توجهی به غلظت و فعالیت مهار DPPH مربوط می‌باشد و هر چقدر غلظت بیشتر شود، خاصیت ضد باکتری آن نیز افزایش پیدا خواهد کرد (۱۳).

در پژوهش حاضر، افزودن عصاره بذر گیاه چوچاق به محلول نیترات نقره به تغییر رنگ محلول از شفاف به زرد تیره به دلیل تولید نانوذرات نقره انجامید. این تغییر رنگ ناشی از تحریک ارتعاشات پلاسمون سطحی با نانوذرات می‌باشد. همچنین، مشخص شده است که طیف‌سنجی جذب UV-Vis می‌تواند برای بررسی شکل و اندازه نانوذرات فلزی استفاده شود. در تمام روش‌های سنتز، از شواهد مهم تشکیل ذرات نقره در مقیاس نانو، وجود نوار جذبی پهنی در ناحیه‌ی ۳۸۰ - ۴۵۰ نانومتر است. در واقع نقره در مقیاس نانو ویژگی‌های خاص نوری از خود نشان می‌دهد که دلیل ایجاد این پیک، برانگیختگی دسته‌جمعی الکترون‌های آزاد در ذرات ریز است. طبق تئوری Mye از برهم‌کنش نور با الکترون‌های ذرات ریز فلزی یک نوار جذبی به دست می‌آید که شکل و شدت آن به اندازه‌ی ذرات و چگونگی یکنواختی آن‌ها وابسته است. در پژوهش حاضر، سه غلظت از نیترات نقره (۱۵-۳۰-۶۰ میلی‌مولار) به عصاره‌های گیاه چوچاق افزوده شد. با افزایش غلظت نیترات نقره به ۶۰ میلی‌مولار، رسوب بیشتری در ته شیشه تشکیل شد و رنگ محلول به قهوه‌ای تیره تبدیل شد. همان‌طور که Huang و همکاران (۲۰۰۷) نیز ثابت کردند، افزایش در مقدار جذب با افزایش در عصاره، نشان‌دهنده تولید بالاتری از نانوذرات نقره است که ناشی از حضور ماکرومولکول‌های زیستی بیشتر برای کاهش یون‌های نقره در دوزهای بالاتر است (۱۴). در نتیجه بالاترین غلظت نیترات نقره، بیشترین غلظت از AgNPs را به دنبال داشته است که با نتایج گزارش شده تقریباً برابر است.

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری که از بافت گیاه چوچاق تیمار شده تهیه شد، حضور ذرات در محدوده نانومتر با یکنواختی شکل و سایز مناسب (حدود ۲۰ نانومتر) را ارائه داد. در عکس‌های

در پژوهش حاضر ابتدا مقدار و نوع ترکیبات آلدئیدی و ترپنوئیدی و همچنین خاصیت مهارکنندگی گیاه چوچاق (*Eryngium pulegium*) توسط شاخص DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس با توجه به نتایج حاصل مشخص گردید که عصاره گیاه چوچاق دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی می‌باشد. بنابراین، می‌تواند کاندیدای مناسبی برای تولید نانوذره نقره به شمار بیاید. بررسی فیتوشیمیایی عصاره گیاه نشان داد که ترکیبات اصلی و شاخص ترپنوئیدی در اسانس چوچاق شامل کورکومین، گاما ۳ کارن، بتا گورجونن، آلفا گوائینن، گاما کادینن، آلفا ترپینن و... می‌باشد. همچنین، گیاه چوچاق دارای ۴ ترکیب آلکالوئیدی به ترتیب با بالاترین غلظت شامل، برامین، کوکسولین، بالوچیسستین و فیکامین است.

با توجه به نتایج پژوهشگران گذشته که وجود ترکیبات ترپنوئیدی و آلدئیدی به دلیل ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا در عصاره گیاهان را دلیل مناسبی برای توانایی تشکیل نانوذرات نقره عنوان نموده‌اند، بنابراین گیاه چوچاق نیز کاندیدای مناسبی جهت سنتز نانوذره نقره می‌باشد (۲). در این رابطه Adhami (۲۰۱۳) نیز در تحقیق خود در رابطه با گیاه نعنا به این نتایج رسید که در ترکیبات اصلی این گونه، میزان بالای از ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی وجود دارد و دارای درصد قابل توجهی اکسیژن است، بنابراین خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و می‌تواند خاصیت ضدباکتریایی نیز داشته باشد (۱). بنابراین، می‌توان مدعی بود گیاه چوچاق با داشتن ترکیبات ترپنوئیدی و آلدئیدی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی دارد.

در رابطه با DPPH از نمودار ۲ می‌توان تحلیل نمود که هر چقدر غلظت نمونه‌های چوچاق افزایش پیدا کرد، توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد آن هم افزایش پیدا کرده است. بنابراین، با افزایش غلظت عصاره، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چوچاق افزایش یافته است. ترکیبات فنولی زیاد موجود در گیاه چوچاق باعث ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه سبب مهار رادیکال‌های آزاد موجود می‌شود. مطالعات انجام شده توسط Sridhar (۲۰۰۷) نیز در سنجش DPPH

اما مکانیسم دقیق این فرآیند بطور کامل درک نشده است. بطور خلاصه رایج‌ترین مکانیسم برای اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره عبارت از این است که نانوذرات نقره از طریق آزاد کردن نقره بصورت یونی و غیرفعال کردن گروه‌های تیول موجود در آنزیم‌ها که باعث غیرفعال کردن آنزیم‌های باکتریایی می‌شوند، یون‌های نقره آزاد شده همانندسازی DNA باکتری را مهار می‌کنند و منجر به آسیب سیتوپلاسم سلولی می‌شوند و در نهایت مرگ سلول باکتریایی را به همراه دارند. افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات باعث افزایش سطح اتصال نانوذرات به سلول باکتری می‌شود و افزایش میزان انتشار یون‌های نقره به باکتری و در نتیجه بهبود اثر ضدباکتریایی نقره می‌شود (۱۸). Long و همکاران در سال ۲۰۱۷ مکانیسم ضدباکتریایی نانوذرات نقره را علیه باکتری اشریشیاکلی به عنوان یک موجود مدل گزارش کردند. نتایج نشان داد که پس از دو ساعت از تیمار باکتری با صد میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات نقره نشت پروتئین و قند از سلول باکتری مشاهده شد. همچنین آنالیز پروتئومیکس نشان داد که حتی پس از مدت زمان کوتاه تیمار باکتری با نانوذره نقره تغییر در بیان یک سری از پروتئین‌های شوک حرارتی و پروتئین‌های پوششی سلول باکتری مشاهده شد (۱۹). بنابراین این ذرات می‌توانند به درون غشا وارد شده و منجر به تخریب غشای باکتری شوند. همچنین نانوذرات نقره می‌تواند باعث کاهش چشمگیر در پتاسیم درون سلول شود. در نتیجه نانوذره نقره سطح ATP را کاهش می‌دهد. هدف مولکولی احتمالی نانوذره نقره گروه‌های تیول پروتئین می‌تواند باشد (به‌ویژه آنزیم‌های تنفسی) همچنین جایگاه عملکرد نانوذره نقره بخش فسفولیپید غشای سلول باکتری است (۱۹).

به‌دست‌آمده ذرات دارای اشکال با غالبیت کروی بودند. اطلاعاتی که توسط Bali و همکاران (۲۰۱۶) منتشر شد، نشان می‌دهد توانایی تجمع یون‌های فلزی به‌طور مشخص در بین گونه‌های گیاهی متفاوت است. به‌طور کلی در بین تمامی گونه‌ها، مقدار جذب به غلظت فلز اولیه و زمان در معرض بودن مرتبط است (۵).

نتایج این مطالعه در مورد حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره حاوی نانوذره بر روی دو باکتری مورد مطالعه، حاکی از این موضوع است که نانوذره حاصل از گیاه چوچاق دارای اثر بازدارندگی رشد و اثر کشندگی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* بود. در تست MIC پایین بودن مقدار MIC نشان‌دهنده قدرت ضدباکتریایی بیشتر است. غلظت ۶۰ میلی‌مولار محلول چوچاق حاوی نانوذره خاصیت ضدباکتریایی قوی‌تری بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد. همچنین، غلظت ۱۵ میلی‌مولار گیاه چوچاق از نظر خاصیت ضدباکتریایی تفاوت معنی‌داری با غلظت ۳۰ میلی‌مولار نشان نداد و همچنین خاصیت ضدباکتریایی بیشتری نسبت به غلظت ۶۰ میلی‌مولار نشان داد. نتایج بخش ضد باکتری از جمله تست دیسک دیفیوژن، آزمون چاهک و MIC نیز ثابت کننده این ادعا است که نانوذرات به وجود آمده از گیاه چوچاق اثر مهاری روی رشد باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند.

در سال‌های اخیر اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه اوتاری و همکاران نانوذرات نقره به روش سنتز زیستی از محلول رویی باکتری اکتینوباکتر رودوکوکوس با میانگین اندازه ۳۰ نانومتر تولید شد، نانوذرات مذکور دارای اثر مهارکنندگی بر روی رشد باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بود، قطر هاله عدم رشد برای این باکتری‌ها به ترتیب ۲۱، ۲۰ و ۱۹ میلی‌متر بود (۱۷).

اگرچه مقالات متعدد روش‌های مختلفی را برای توضیح عملکرد ضد باکتریایی نانوذرات نقره پیشنهاد داده‌اند

نتیجه گیری

در پژوهش حاضر کاهش یون‌های نقره به اتم نقره با استفاده از متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره گیاه چوچاق از جمله تربنوتیدها و آلدهیدها انجام شد و در نهایت نانوذره نقره با استفاده از این عصاره تهیه و سنتز شد. همچنین، خاصیت ضدباکتریایی عصاره گیاهی حاوی نانوذره با انجام تست دیسک دیفیوژن، آزمون چاهک و MIC نیز تایید گردید. بنابراین، می‌توان گفت که نانوذرات به وجود آمده از گیاه چوچاق اثر مهاری بر رشد باکتری‌های *شرشیاکلای* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند.

تشکر و قدردانی

از کلیه محققان و نویسندگان مقالات استفاده شده در نگارش این مقاله پژوهشی متواضعانه تشکر می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تعارض منافی وجود ندارد.

References

1. Adhami Y. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Taftan Area by means of gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of Medicinal Plants Research*, 2013, 7: 3003-3007. **DOI: 10.5897/JMPR12.1270**
2. Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *J Adv Res*. 2016, 7(1):17-28. **https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007**
3. Safai Javan R, Jafari P, Mahdavi Ortakand M. Optimizing the green synthesis of silver nanoparticles using the aqueous extract of black cumin fruit by the Taguchi method. *Iranian Journal of Biological Science*. 2015, 11(3)
4. Ahmed S, Saifullah, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of radiation research and applied sciences*. 2016, 9(1):1-7.
5. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*. 2011, 13(10):2638-50
6. Ahmadzadeh N, Asghari Moghadam N, Kashtmand Z*. The effect of silver nanoparticles synthesized from the hydroalcoholic extract of *nervosa digitalis* on the expression of CDH1, Bcl2, Bax and P53 genes in cervical cancer cell line. *Iranian Journal of Biological Science*. 1401; 17(1) 19-30. **Doi: 3.3.1.17.1401.173 54226.1.1001.20**
7. Saeedi, M. and Morteza Semnani, K.. Effect of the essential oil of *Eryngium caeruleum* on percutaneous absorption of piroxicam through ratskin. 2008, 11(5): 485-495. **DOI:10.1080/0972060X.2008.10643657**
8. Singh P, Kim YJ, Zhang D, Yang DC. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*. 2016, 34(7):588-99. **doi: 10.1016/j.tibtech.2016.02.006.**
9. Sridhar K, Charles AL. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*. 2019,1; 275: 41-9. **doi: 10.1016/j.foodchem**
10. Kupeli, E, Kartal, M, Aslan, S and Yesilada, E. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal Ethnopharmacol*. 2006, 107:32-37. **doi: 10.1016/j.jep.2006.02.005.**
11. Ghafouri S. M. Biological production and investigation of the production of silver nanoparticles by the aqueous extract of *Cassia fistula* fruit and investigation of the antimicrobial and mutagenic effects of the produced nanoparticles, master's thesis, Payam Noor University. Tehran province 2015. **DOI:10.1088/2043-6254/aa92bb.** (persian)
12. Amini A, Jafari A. Investigating the Antimicrobial Effect of Silver Nanoparticles Synthesized with Maryam Nakhodi Medicinal Plant Extract, Master's Thesis, Shahid Beheshti University, Faculty of Human Sciences. 2020. (persian)
13. Atrkhani S. Biogenic synthesis of silver/ zinc oxide / graphene oxide nanocomposite by using *Mentha longifolia* extract and investigation of its effects on secondary metabolites, growth and physiology of *Mentha longifolia*. *Phytochemistry group of Tabriz university*. 2019. **doi: 10.1021/acsomega.1c07365.** (persian)
14. Panacek A, Kvítek L, Pucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, Sharma VK, Nevecna T, Zboril R. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem B*. 2006.110(33):16248-53. **doi: 10.1021/jp063826h.**
15. Huang J, Li Q, Sun D, Lu Y, Su Y, Yang X, Wang H, Wang Y, Shao W, He N, Hong J. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*. 2007.18(10):105104. **DOI :10.1088/0957-4484/18/10/105104**
17. Naghsh N, Mashayekh AM, Khodadadi S. Effects of silver nanoparticle on lactate dehydrogenase activity and histological changes of heart tissue in male wistar rats. *Fasa Univ Med Sci*. 2013, 2(4):303-7
18. Asghari A, Naghsh N, Madani M. In vitro comparison of antifungal effect of silver nanoparticle on *Candida* producer of vulvovaginal candidiasis. *Iran J Med Microbiol*. 2015,9(3):23-30(Persian)
19. Long YM, Hu LG, Yan XT, Zhao XC, Zhou QF, Cai Y, et al. Surface ligand controls silver ion release of nanosilver and its antibacterial activity against *Escherichia coli*. *Int J Nanomedicine*. 2017, 12:3193-06. **doi: 10.2147/IJN.S132327.**