

استفاده از عصاره بذر گیاه *Tribulus terrestris* به عنوان یک منبع زیستی در سنتز نانوذرات نقره و ارزیابی آثار آنتی باکتریال این نانوذرات

نوشین بیجاری^{*1}

1-استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول:

E-mail: n.bijari@semnan.ac.ir

پذیرش: 01402/10/24

دریافت: 1402/4/18

چکیده

روش‌های سبز به عنوان یک ابزار کم‌هزینه، زیست‌سازگار و بهینه برای سنتز نانوذرات شناخته شده‌اند. از آنجایی‌که روش‌های دیگری برای تولید نانوذرات وجود دارند، اما روش سنتز سبز به نحوی برتری و مزایای منحصر به فرد خود را به اثبات رسانده است و در نتیجه نیازی به استفاده از روش‌های پرهزینه، سمی، زمان‌بر و نامطلوب نیست. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از بذر خارخاسک *Tribulus terrestris* به عنوان روشی سبز در این پژوهش بررسی شد. خارخاسک جزء گیاهان دارویی است که در طب سنتی از آن برای درمان بیماری‌های عفونی مجاری ادراری، دفع سنگ کلیه، تسکین دردهای روماتیسمی، کاهش فشار خون و بهبود عملکرد کبد استفاده می‌شود. در این مطالعه سنتز سبز نانوذرات نقره با عصاره بذر و بررسی مورفولوژی، اندازه و خصوصیات ساختاری نانوذرات با استفاده از XRD، UV-visible، FT-IR و SEM انجام شد. آنالیز طیف‌سنجی UV-visible وجود پیک جذب در ناحیه 429 نانومتر (که نشان از سنتز نانوذرات نقره است) را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از پراش اشعه ایکس (XRD) نیز تشکیل ساختار کریستالی نانوذرات را تأیید کرد. نتایج قطر هاله عدم رشد برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس بیشتر از اشرشیاکولی مشاهده شد، به عبارتی اشرشیاکولی مقاومت بیشتری را در مقابل نانوذرات سنتز شده نشان داد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه خارخاسک می‌تواند به عنوان یک عامل آنتی‌باکتریال مناسب در برابر پاتوژن‌های بالینی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، سنتز سبز، ترکیب‌های فنولی، آنتی‌باکتریال.

1- مقدمه

فناوری نانو، قابلیت تولید و طراحی مواد با خواص جدید را در مقیاس 1 تا 100 نانومتر فراهم می‌کند. نانوذرات می‌توانند با توجه به اندازه، شکل و ترکیب مواد سازنده از یکدیگر متفاوت باشند و هرکدام ظرفیت بارگیری دارو، رهایش و ماندگاری خاصی دارند. نانوذرات از لحاظ تنوع ساختاری بسیار گسترده است و شامل درختسان‌ها، نانوسفرها، نانوکپسول‌ها، لیپوزوم‌ها، میسل‌ها، نانولوله‌ها، فولرن‌ها و پلیمرزوم‌ها می‌شود [1-3]. از نظر ماده تشکیل‌دهنده نانوذرات به دو دسته آلی و معدنی تقسیم می‌شوند. در نانوذرات آلی، مولکول‌های آلی به‌عنوان جزء اصلی سازنده نانوذره شناخته می‌شوند و در دسته معدنی، فلزات (مانند مس، روی، طلا و نظایر آنها) و عناصر معدنی نقش اصلی را در ساختار نانوذره دارند. لیپوزوم‌ها، دندیرم‌ها، نانولوله‌های کربنی، نانوذرات لیپیدی جامد، پلیمرها در دسته ذرات آلی قرار می‌گیرند و نانوذرات معدنی اغلب یک هسته مرکزی از جنس عناصر معدنی و فلزی دارند که به‌وسیله یک پوشش از جنس مواد آلی احاطه می‌شوند. این هسته‌ها خواص فلئوئورسنس، مغناطیسی و الکتریکی دارند [4-5]. روش‌های متنوعی برای سنتز نانوذرات وجود دارد. در حال حاضر، بسیاری از نانوذرات با استفاده از روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید می‌شوند، اما به دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی، نگرانی‌های زیادی در خصوص تأثیرات زیست‌محیطی آنها وجود دارد [6]. به دلیل کاربردهای پزشکی فراوان و اهمیت زیستی، تهیه نانوذرات همواره مورد توجه بوده است. با این حال، با توجه به احتمال باقی‌ماندن مقادیری از مواد واکنش‌دهنده و سمی در روش‌های شیمیایی تولید نانوذرات استفاده از نانوذرات تولیدشده در کاربردهای بیولوژیکی با چالش و محدودیت همراه است. از روش‌های تهیه نانوذرات می‌توان به روش‌های صنعتی مانند چگالش بخار، ساخت شیمیایی،

فرایندهای حالت جامد، استفاده از سیالات فوق بحرانی، استفاده از امواج ماکروویو و فراصوت اشاره کرد. روش‌های صنعتی معایب زیادی مانند ایجاد آلودگی‌های محیطی و هزینه بالا در فرایند تولید دارند. بر این پایه امروزه روش‌های مبتنی بر استفاده از گیاهان و منابع زیستی برای تولید نانوذرات گسترش پیدا کرده است. این روش‌ها به دلیل سازگاری بالایی که با محیط‌زیست دارند، روش سبز نامیده می‌شوند. روش سنتز سبز به علت آلودگی‌ناداشتن یا آلودگی بسیار پایین، کم‌هزینه‌بودن و نیازناداشتن به تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده به‌طور ویژه در پژوهش‌ها به آن توجه می‌شود [7].

ساخت نانوذرات با روش سبز از سال 1990 مطرح شد [8]. ذرات نانو به دلیل خصوصیات منحصر به فرد نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی خود اهمیت دارند و از بین انواع آنها، نانوذرات فلزی از قبیل آهن، طلا، پلاتین و نقره کاربردهای بسیاری در داروسازی، پزشکی، مهندسی پزشکی و حوزه سلامت دارند [8-9]. در حوزه بیولوژی، نانوذرات طلا به‌عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین نانوذرات شناخته شده‌اند. با کنترل پراکندگی، ثبات و زیست‌سازگاری می‌توان از آنها در بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی بهره‌برداری کرد. استفاده از روش‌های سبز در سنتز نانوذرات طلا انقلابی بزرگ در این حوزه به شمار می‌رود، زیرا با استفاده از این روش‌ها نیاز به استفاده از مواد جانبی مانند سورفکتانت‌ها و تثبیت‌کننده‌ها کاهش پیدا می‌کند. این روش‌ها در بسیاری از کاربردهای پزشکی و بیولوژیکی از جمله تشخیص بیماری‌ها و درمان آنها، طراحی سیستم‌های دارورسانی هدفمند و تصویربرداری پزشکی استفاده می‌شوند. در سال‌های پیشین استفاده از قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و گیاهان برای ساخت نانو ذرات غیرسمی بسیار مورد توجه قرار گرفته است چرا که باعث صرفه‌جویی در مصرف انرژی و هزینه می‌شود. می‌توان گفت استفاده از گیاهان و محصولات گیاهی

رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون چربی و تعدیل عوامل التهابی نیز گزارش شده است. ساپونین‌ها ترکیب‌های شیمیایی هستند که در برخی گیاهان دارویی وجود دارند و خواص ضدالتهابی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدقارچی از خود نشان می‌دهند. بسته به منطقه جغرافیایی رشد گیاهان دارویی میزان ساپونین موجود در آنها متفاوت است. ترکیب‌های فروستانول، اسپیروستانول، ساپونین‌های تریکوژنین، نئوتریکوژنین، ژیتوژنین، نئوژیتوژنین، هکژنین، نئوهکژنین، دیوسژنین، کلروژنین و راسکوژنین به‌عنوان ساپونین‌های فعال گیاهان گزارش شدند که از نوع ساپونین‌های استروئیدی بوده و پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی هستند [17]. وجود ساپونین‌ها در عصاره خارخاسک علاوه بر خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی باعث خاصیت ضدسرطانی آن نیز شده است. ساپونین‌ها به دلیل تنوع ساختاری بالا با تداخل با مسیرهای سلولی مختلف اثر ضدتوموری را ایجاد می‌کنند [18]. عصاره اتانولی خارخاسک باعث کاهش بیان آنزیم‌های التهابی از قبیل سیکلواکسیژناز 2 (COX-2)، نیتریک سنتاز القایی و سیتوکاین‌های التهابی مختلف شامل IL4 و TNF- α می‌شود که در بسیاری از التهاب‌ها نقش دارد. استرس اکسیداتیو می‌تواند منجر به بیماری‌های التهابی مزمن شود. از طرفی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در پیشگیری و درمان بسیاری از این اختلال‌های التهابی مفید باشند. آلکالوئیدهای موجود در خارخاسک از نوع بتا کربولین، هارمان و نورهارمان می‌باشند. در میوه علاوه بر بتاکاربولین، تریبولوسترین نیز یافت می‌شود. در مطالعه‌های انجام شده نقش ضدانگلی هارمان و نورهارمان بر لشمینا اینفاتوم گزارش شده است [19-20]. تاکنون پژوهشی درباره ساخت نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر این گیاه (که غنی از ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدهاست) انجام نشده است بنابراین

به‌عنوان منابع پایدار و تجدیدپذیر در سنتز نانوذرات نسبت به سایر روش‌ها سودآور است. افزون بر آن، استفاده از این روش‌ها می‌تواند به کاهش آلودگی‌ها و آثار زیست‌محیطی مرتبط با روش‌های شیمیایی سنتز نانوذرات کمک کند [7]. در صنعت پزشکی، نانوذرات نقره به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی مؤثر در درمان انواع بیماری‌ها استفاده می‌شوند. از کاربردهای دیگر نانوذرات نقره پوشش‌دهی محصولات پزشکی، تصفیه آب، حفظ مواد غذایی، خاصیت ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی آنها است [10-12]. استفاده از گیاهان برای سنتز نانوذرات نقره به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی توجه شده است، به‌طوری‌که کاربردهای وسیعی در زمینه‌های کشاورزی، صنایع و پزشکی فراهم شده است. خواص آنتی‌باکتریال بسیاری از گیاهان دارویی بررسی شده است، به‌طوری‌که می‌توان از ترکیب‌های شناسایی شده در آنها برای درمان بیماری‌های مختلف عفونی و نیز به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی استفاده کرد [13]. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که ترکیب‌های فنولی در گیاهان دارویی براساس ساختار شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خود به‌طور مؤثری می‌توانند به‌عنوان عوامل آنتی‌باکتریال عمل کنند. بالابودن مقادیر ترکیب‌های فنولی در عصاره گیاه باعث افزایش خواص آنتی‌باکتریال آن بر ضد عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شود. این ترکیب‌ها با ایجاد تداخل در غشا و دیواره سلولی باکتری‌ها نقش ضدباکتریایی خود را انجام می‌دهند [14]. گیاه خارخاسک (*Tribulus terrestris*) فلاونوئیدها، استروئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین‌ها، تانن، رزین، اسیدهای آمینه آسپاراتات و گلوتامات، عناصر معدنی مانند پتاسیم، نیترات، فسفر، آهن، سدیم، کلسیم [15] گوگرد و کلر دارد [16]. علاوه بر خواص ضد میکروبی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی خارخاسک، نقش آن در مهار سیکلواکسیژنازها، پاکسازی

دستگاه اسپکتروفوتومتر جذبی مرئی - فرابنفش (مدل Spectrophotometer (Shimadzu 1080 در محدوده طول موجی 660-350nm بررسی شد [21].

3-2 مطالعه‌های X-Ray Diffraction (XRD)

روش پراش اشعه X برای مطالعه کریستالوگرافی ساختاری از یک نمونه خشک‌شده استفاده شد. بعد از احیای زیستی، محلول نانوذرات نقره در 5000 g برای مدت 10 دقیقه سانتیفریوژ شد. رسوب حاصل‌شده در 5 میلی‌لیتر آب دیونیزه حل و دوباره سانتیفریوژ انجام شد. برای اطمینان از خالص‌سازی این مرحله سه بار تکرار شد و در نهایت رسوب حاصل زیر هود به مدت 36 ساعت خشک شد. سپس ساختار و ترکیب نانوذرات حاصل‌شده با استفاده از XRD (مدل Shimadzu 7000) آنالیز شد [22، 23].

4-2 مطالعه‌های طیف‌سنجی مادون قرمز FTIR

برای بررسی جذب مواد در ناحیه فرسرخ از روش طیف سنجی مادون قرمز کمک گرفته شد. طیف‌سنجی مادون قرمز، روشی برای شناسایی مولکول‌ها و به‌خصوص گروه‌های عاملی مولکول‌ها است. طیف‌سنجی FT-IR به‌وسیله دستگاه طیف‌سنج Perkin-Elmer انجام و داده‌ها در دامنه $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ جمع‌آوری شدند. دستگاه به‌منظور بررسی سیگنال‌های پس‌زمینه به‌وسیله یک نمونه خالص از پتاسیم برماید کالیبره و سپس اسکن نمونه‌ها انجام شد [24].

2-5 میکروسکوپ SEM

خصوصیات مورفولوژیکی نانوذرات نقره سنتز‌شده، به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. در این طرح 100 میکرولیتر از نانوذره سنتز‌شده روی صفحه‌هایی از جنس پلاتین قرار داده شد و نمونه‌ها پس

در این پژوهش با تمرکز بر سنتز سبز نانوذره نقره خواص ضد میکروبی آنها بررسی شده است.

2- مواد و روش‌ها

2-1 تهیه عصاره آبی بذر گیاه خارخاسک و سنتز نانوذرات

نخست بذرها با سدیم هیپوکلریت 30 درصد به مدت 5 دقیقه ضدعفونی و بعد آن سه بار و هر بار یک دقیقه با آب شستشو انجام شد. در ادامه بذرها با الکل 20 درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شد و در نهایت سه بار و هر بار به مدت 1 دقیقه با آب مقطر شسته شد. پس از خشک‌شدن، بذر گیاه به‌وسیله آسیاب پودر شده و برای عصاره‌گیری استفاده شد. برای تهیه عصاره آبی بذر گیاه، به 2 گرم از پودر بذر گیاه 40 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و 15 دقیقه در دمای 70 درجه حرارت داده شد. عصاره با استفاده از کاغذ واتمن شماره 1 صاف شد. این عصاره در ظرف تیره در یخچال قابل نگهداری است. برای تهیه نانوذرات نقره 20 میلی‌لیتر از عصاره به 80 میلی‌لیتر از محلول نیترات نقره با غلظت 1 میلی‌مولار مخلوط شد. پس از سنتز محلول نانوذره و انجام تست‌های مناسب برای اثبات تولید آن، در ادامه با سه بار تکرار محلول بیوسنتزی به مدت 15 دقیقه و با دور 5000 دور بر دقیقه سانتیفریوژ شد. در هر بار سانتیفریوژ محلول رویی دور ریخته شد و شستشو با آب مقطر انجام گرفت. در نهایت رسوب حاصل خشک شد و برای مطالعه‌های بعدی از جمله برای تست‌های بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال از آن استفاده شد.

2-2 مطالعه‌های طیفی UV-visible

با کمک روش اسپکتروفوتومتر مرئی - فرابنفش می‌توان سنتز نانوذرات را بررسی کرد. پس از تغییر رنگ مخلوط واکنش به قهوه‌ای تیره سنتز نانوذرات نقره به‌وسیله

از خشک شدن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM (XL30) آنالیز شد.

2-6 بررسی آثار ضدباکتریایی

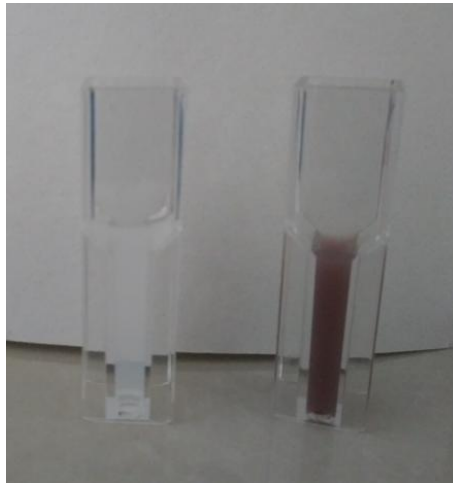
به منظور سنجش فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده در این پژوهش از روش اندازه گیری هاله عدم رشد یا دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) استفاده شد. محیط کشت نوترینت آگار تهیه شده در فشار 15 اتمسفر و دمای 121 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه اتوکلاو شد و پس از اتمام این فرایند محیط کشت تا دمای 45- 40 درجه خنک شد و حدود 10-15 میلی لیتر از آن به پتری دیش ها منتقل شد. در ادامه 100 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به پتری دیش های حاوی محیط کشت پورپلیت شد. در این مطالعه از سویه های باکتریایی اشرشیاکولی (ATCC25922) و باسیلوس سوبتیلیس (ATCC9372) به عنوان سویه های استاندارد استفاده شد. دیسک های کاغذی استریل با ابعاد 6 میلی متر و آغشته به نمونه نانوذرات سنتز شده با حفظ فاصله مناسب از یکدیگر و دیواره پلیت بر سطح محیط کشت جامد قرار داده شد. به منظور انتشار و جذب مطلوب ماده موثره موجود در دیسک ها به محیط کشت، پلیت ها به مدت 30 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی گراد قرار داده شدند و سپس در انکوباتور به مدت 24 ساعت در دمای بهینه رشد باکتری قرار گرفتند. پس از 24 ساعت فعالیت آنتی باکتریال با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد با استفاده از کولیس ثبت شد [25؛ 26]. در این آزمایش از غلظت

100 میکروگرم بر میلی لیتر این نانوذره خشک شده استفاده شد. در آزمایشی که نتایج آن در این مطالعه گزارش نشده است، غلظت های مختلفی از نانوذره تهیه و با استفاده از روش فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu)، میزان ترکیب های فنولی تام لود شده بر سطح نانوذرات نقره بیوستزی تعیین شد [27]. برای سنجش هاله عدم رشد غلظتی از نانوذره انتخاب شد که حاوی بیشترین مقدار ترکیب های فنولی لود شده است.

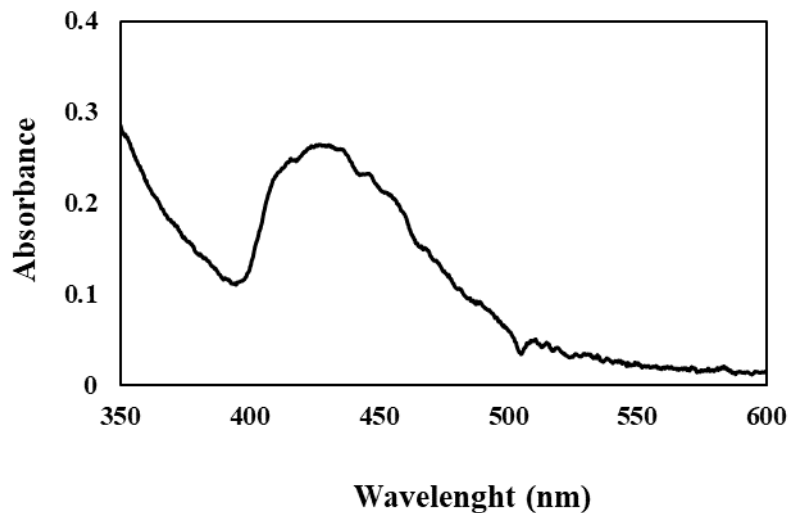
3- نتایج

3-1 نتایج مطالعه های طیف سنجی UV-visible

برای اثبات وجود نانوذرات نقره طیف UV-visible از آنها تهیه شد. با مشاهده اولین تغییر رنگ نمونه نسبت به شاهد، جذب نمونه سنتز شده با دستگاه اسپکتروفتومتری UV-visible خوانش شد. در اثر احیا یا کاهش یون های Ag^+ به Ag^0 و در نتیجه تشکیل نانوذرات نقره، رنگ نمونه ها از رنگ شیری به قهوه ای تبدیل می شود که نشان دهنده تولید سوسپانسیون کلئیدی نانوذرات نقره بود (شکل 1). با توجه به اینکه نانوذرات نقره پیک جذبی بین محدوده 400 تا 500 نانومتر دارند، شکل 2 نشان می دهد که مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در ناحیه 429 نانومتر برای نانوذرات نقره رخ داده است. همچنان که در نمودار پیداست، وجود پیک در این محدوده که با استفاده از دستگاه طیف سنج ثبت شده است، گامی در جهت اثبات سنتز نانوذرات نقره به شمار می آید.



شکل 1 سمت چپ نمونه شاهد و سمت راست نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره بذر گیاه خارخاسک

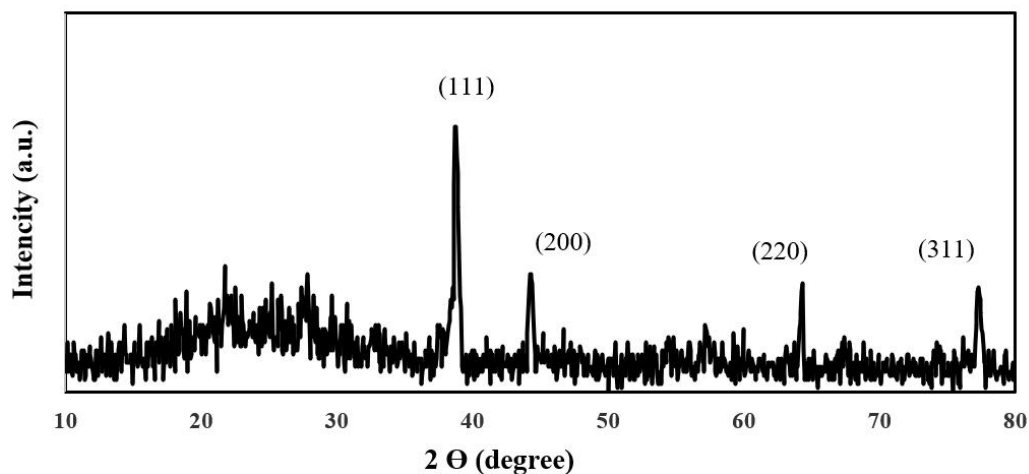


شکل 2 طیف اسپکتروفتومتر مرئی - فرابنفش نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک

می باشند و وجود نانوذرات نقره را اثبات می کنند. این زوایا مربوط به ساختار شبکه مکعب وجوه پر یا Face-Centered Cubic (FCC) نانوذرات نقره هستند. مس، سرب، طلا، پلاتین و نقره از جمله فلزهایی به شمار می آیند که شبکه مکعبی FCC دارند [28]. نتایج طیف نانوذره سنتز شده با الگوی استاندارد پراش اشعه ایکس نقره تطابق کامل دارد.

2-3 نتایج مطالعات پراش پرتو ایکس XRD

تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات فلزی سنتز شده به وسیله آزمون پراش پرتو ایکس انجام شد. شکل 3 الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره بذر خارخاسک را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، پیکهای مربوط به اندیس میلر (111)، (200)، (220) و (311) به ترتیب مربوط به زوایای 2θ برابر با 38.07° ، 44.26° ، 64.43° و 77.35°

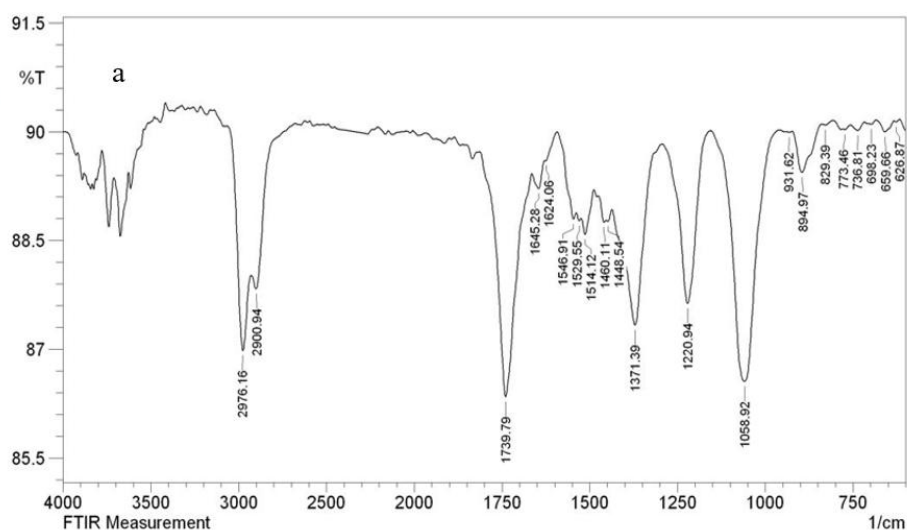


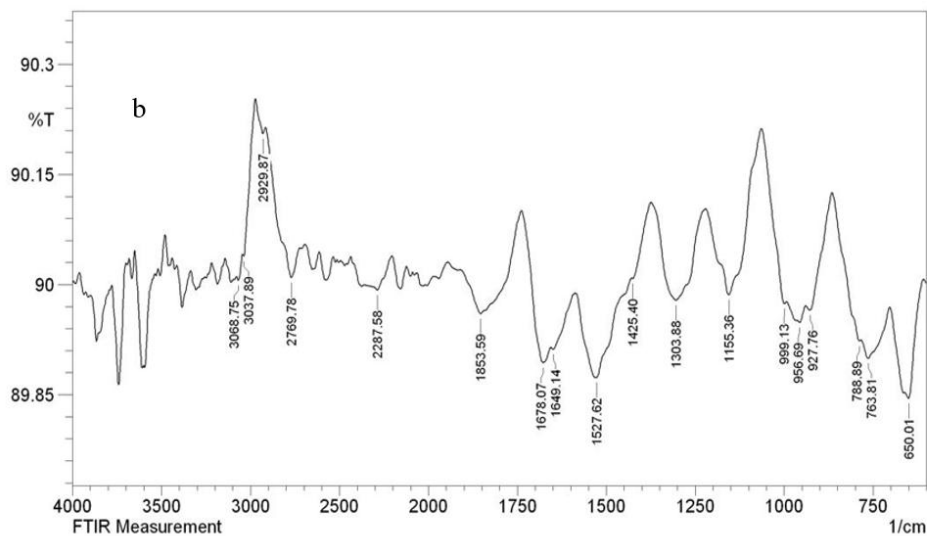
شکل 3 الگوی پراش اشعه ایکس XRD نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک

4 نشان داده شده است. در شکل 4- الف پیک‌هایی در محدوده 2900 cm^{-1} (پیوند C-H)، 1739 cm^{-1} (پیوند C=O)، پیک‌هایی در محدوده $1390\text{--}1365\text{ cm}^{-1}$ (خمش CH_3)، پیک در محدوده 1220 cm^{-1} (خمش C-OH)، پیک در محدوده 1058 cm^{-1} (خمش C-O-C)، 965 cm^{-1} (پیوند S-O) و پیک در محدوده 1645 cm^{-1} (خمش C=C) خوانش شد [29-30]. تفاوت پیک نانوذره سنتز شده با پیک عصاره بذر گیاه (شکل 4- ب) که پیک‌های متنوعی دارد، به‌طور کامل مشهود است.

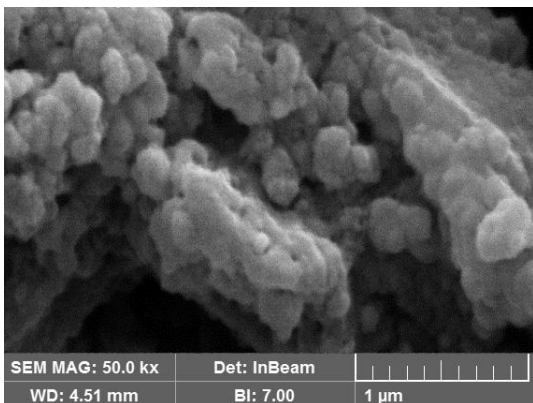
3-3 طیف‌سنجی مادون قرمز FTIR

برای بررسی تشکیل نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه، طیف‌سنجی مادون قرمز اندازه‌گیری شد. طیف‌سنجی FT-IR به‌وسیله دستگاه طیف‌سنج Perkin-Elmer انجام شد و داده‌ها در محدوده $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ثبت شدند. به‌منظور بررسی سیگنال‌های پس‌زمینه، دستگاه به‌وسیله یک نمونه خالص از پتاسیم برماید کالیبره شد و سپس اسکن نمونه‌ها انجام گرفت. طیف‌سنجی مادون قرمز نانوذره سنتز شده و عصاره بذر گیاه در تصاویر a, b-





شکل 4 الف - تصویر اسپکتروم FTIR نانوذرات تهیه شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک؛ ب - تصویر اسپکتروم FTIR عصاره بذر گیاه خارخاسک



شکل 5 تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی

نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک

3-4 نتایج میکروسکوپ SEM

از مناسب ترین روش های موجود برای آزمایش و آنالیز مورفولوژی نانوساختارها و شناسایی ترکیب های شیمیایی میکروسکوپ الکترونی روبشی است. توانائی SEM برای بررسی سطح مواد فوق العاده بوده و مزایای فراوانی نسبت به میکروسکوپ های نوری دارد. شکل 5 تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی گسیل میدانی SEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک را نشان می دهد. اندازه نانوذرات حدود 200 نانومتر تعیین شد. از طرفی تصویر SEM نشان دهنده ابعاد نانومتری ذرات نقره بوده و بیانگر شکل تقریباً کروی آنها است.

3-5 بررسی فعالیت آنتی باکتریال نانوذرات نقره با

استفاده از عصاره آبی بذر گیاه خارخاسک

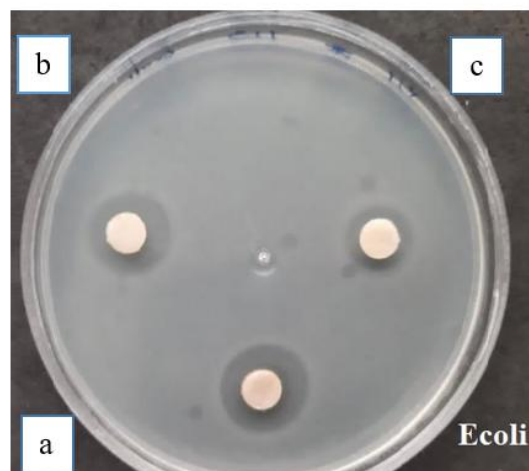
در آغاز عصاره هایی با غلظت 10 درصد و 20 درصد از بذر گیاه خارخاسک تهیه و سنتز نانوذرات نقره با استفاده از این عصاره های گیاهی انجام شد. در ادامه محلول بیوستزی سانتی فیوژ و رسوب حاصل شده زیر هود خشک شد. 100 میکروگرم بر میلی لیتر از هر دو نمونه نانوذره سنتز تهیه و برای بررسی فعالیت آنتی باکتریال

باسیلوس سوبتیلیس و 10 میلی‌متر بر باکتری اشرشیاکولی) می‌باشند. قطر هاله عدم رشد نانوذره نقره سنتز شده با عصاره 20 درصد و 10 درصد روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب برابر با 20 و 18 میلی‌متر مشاهده شد. در غلظت‌های مشابه در برابر باکتری‌های اشرشیاکولی میزان قطر هاله عدم رشد به ترتیب برابر با 16 و 13 میلی‌متر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره بذر گیاه خاصیت آنتی‌باکتریال بیشتری بر ضد باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس نسبت به باکتری گرم منفی اشرشیاکولی دارد. به عبارتی باکتری اشرشیاکولی نسبت به باسیلوس سوبتیلیس مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهد.

استفاده شد. برای تعیین فعالیت ضد میکروبی نمونه‌های آزمایش شده، دیسک‌های استریل شده به قطر 6 میلی‌متر استفاده شدند. پلیت‌های آماده شده در انکوباتور در دمای ثابت 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد اطراف هر یک از دیسک‌ها به‌عنوان شاخص آنتی‌باکتریال اندازه گیری شد. دیسک‌های استریل آغشته به 15 میکرولیتر از نمونه‌های حاوی نانوذرات سنتز شده با دو عصاره 20 درصد و 10 درصد بذر گیاه به ترتیب (شکل 6-الف) و (شکل 6-ب) و همچنین عصاره آبی بذر گیاه خارخسک (20 درصد) به‌عنوان شاهد (شکل 6-ج) استفاده شد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به نانوذره ساخته شده در حضور عصاره 20 درصد بذر گیاه اندازه‌گیری شد و کمترین هاله رشد مربوط به نمونه‌های شاهد (13 میلی‌متر بر باکتری



شکل ب



شکل الف

شکل 6 نتایج آزمایش قطر هاله عدم رشد ناشی از آثار نانوذرات نقره سنتز شده بر ضد باکتری اشرشیاکولی (تصویر سمت راست) و باکتری باسیلوس سوبتیلیس (تصویر سمت چپ). الف - نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره 20 درصد بذر گیاه خارخسک؛ ب - نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره 10 درصد بذر گیاه خارخسک؛ ج - عصاره بذر گیاه خارخسک

ساختار حلقه و یک یا چند گروه هیدروکسیل دارند. ساختار آنها ممکن است از ساختار یک مولکول فنولی ساده تا یک پلیمر پیچیده با وزن مولکولی بالا متغیر باشد.

4- بحث و نتیجه گیری

به ترکیب‌های فنولی موجود در گیاهان به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار توجه می‌شود. این ترکیب‌ها یک

فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی بستگی به ساختار آن به‌خصوص تعداد، موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و ماهیت استخلاف‌های روی حلقه‌ها دارد [31]. ترکیب‌های فنولی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، پلیمرهای ساختاری (لیگنین)، جاذب‌ها (فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها) ترکیب‌های سیگنالی (سالیسیلیک‌اسید و فلاونوئیدها) و ترکیب‌های دفاعی (تانن و فیتوآلکسین) عمل می‌کنند. با رویکرد فیزیولوژیکی انسان، ترکیب‌های فنولی در پاسخ‌های دفاعی بدن از جمله فعالیت‌های ضدپیری، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و مهار آنژیوژنز بسیار حیاتی هستند. بنابراین استفاده از این گیاهان حاوی ترکیب‌های فنولی با محتوای آنتی‌اکسیدانی بالا به‌وسیله کنترل استرس اکسیداتیو شیوع برخی بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و انواع سرطان‌ها را کاهش می‌دهد [32]. با توجه به شیوع بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌های بیماری‌زا در سراسر جهان و افزایش مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌ها، رویکرد پژوهش‌ها به سمت شناسایی و طراحی عوامل ضدباکتری جدید معطوف شده است. نانوذرات نقره به‌عنوان یکی از عوامل آنتی‌باکتریال و آنتی‌ویروس توسعه پیدا کرده است. استفاده از عصاره گیاهان برای سنتز نانوذرات به‌واسطه یک فرایند بیولوژیکی - که سازگار با محیط زیست، غیرسمی، سودآور و کارآمد برای بهره‌برداری باشد - امتیاز بالایی دارد. ترکیب‌های فنولی موجود در عصاره گیاهی از عوامل اصلی احیا و کاهش یون‌های نقره می‌باشند و غلظت آنها می‌تواند بر دینامیک واکنش، مورفولوژی، اندازه نانوذرات و مساحت سطح آنها تأثیر بگذارد [33].

در سال 2015 توسط سینگ¹ و همکاران نانوذرات نقره و طلا را با استفاده از عصاره برگ گیاه جینسینگ سنتز کردند. تعیین خصوصیات نانوذره به‌وسیله روش‌های اسپکتروسکوپی UV-vis، XRD، FTIR و میکروسکوپ

TEM بررسی شد. آثار ضد میکروبی قوی برای نانوذرات طلا و نقره تولید شده بر سویه‌های اشرشیاکولی، سالمونلا و استافیلوکوکوس ائورئوس مشاهده شد. آثار ضدالتهابی، مهار بیوفیلم و خواص ضدانعقادی این نانوذرات آنها را به کاندید مناسبی برای کاربردهای زیستی و پزشکی تبدیل می‌کند [34]. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهی گندواش *Artemisia annua* به‌وسیله خی² و همکاران در سال 2017 گزارش شد. در این مطالعه آثار ضدباکتریایی نانوذرات نقره مطالعه شد. نتایج نشان داد که نانوذره نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاهی به‌عنوان یک احیاکننده کارآمد، سودآور و با صرفه بوده است که خاصیت آنتی‌باکتریال قوی دارد [35]. در سال 2019 ژانگ³ و همکاران سنتز سبز نانوذرات نقره با عصاره گیاه خولنجان *Alpinia Officinarum* را گزارش دادند. عصاره این گیاه آثار آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی دارد. مشکل فراهمی‌زیستی پایین داروهای بر پایه این گیاه با سنتز نانوذره نقره آن به‌طور چشمگیری برطرف می‌شود. خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدآپوپتوز، ضدالتهابی و اثر محافظت‌کنندگی آن در برابر سمیت و نفروز در سلول‌های کلیوی به‌وسیله تست‌های بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیک نانوذره سنتزی تأیید شد [36].

آدهیکاری⁴ و همکاران در سال 2022 نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه درمنه را سنتز کردند. این نانوذرات حساسیت بالایی برای شناسایی فلز جیوه از خود نشان دادند. با توجه به اینکه فلزات سنگین برای سلامتی انسان ایجاد سمیت بالای می‌کنند، سنتز این نانوذرات نقره با روش سبز و پتانسیل بالای آنها برای اتصال و شناسایی یون نقره، کاربرد دارد که اهمیت آن را به‌عنوان حسگرهای فلزی به‌خوبی نشان می‌دهد [37]. خواص ضدالتهابی خارخاسک در بسیاری از مطالعات

2 Xia
3 Zangh
4 Adhikari

1 Singh

باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولی و سودوموناس آئروژینوای گرم منفی انجام شد. در این مطالعه نیز باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نانوذرات حساس‌تر بودند و در غلظت‌های کمتر از بین می‌رفتند [39]. اسدی و همکاران در سال 2014 گزارش دادند که میزان غلظت مهارکننده‌ها بر رشد باکتری بسته به نوع باکتری متفاوت است و باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری دارند و این ویژگی را به دلیل نوع دیواره باکتری‌های گرم مثبت نسبت داده اند [40] عصاره گیاه علف مورچه *Cressa cretica* L. خواص آنتی باکتریایی بیشتری بر علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آئروس نسبت به باکتری گرم منفی اشرشیاکولی نشان داد. عصاره اتانولی این گیاه بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه اثرات مهارکنندگی و کشندگی از خود نشان می‌دهد اما میزان حداقل غلظت مهاری MIC آن بیشتر از حداقل غلظت کشندگی MBC است. یعنی با وجود اینکه رشد باکتری‌ها در غلظت‌های نسبتاً پایین عصاره مهار می‌گردد، اما برای بروز آثار کشندگی به غلظت‌های بیشتری از عصاره مورد نیاز است. علاوه بر این مقادیر MBC در مورد باکتری گرم منفی اشرشیاکولی بیشتر از باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آئروس می‌باشد که این تفاوت از ساختار دیواره سلولی این دو باکتری ناشی می‌شود [41]. طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز باکتری‌های گرم مثبت نسبت به نانوذرات حساس‌تر بوده و در غلظت‌های کمتر از بین می‌رفتند. از جمله دلایلی که باکتری‌های گرم منفی حساسیت کمتری نسبت به نانوذرات را از خود نشان می‌دهند، احتمالاً وجود غشای خارجی از جنس لیپوپلی ساکارید است که به عنوان سد مانع نفوذ نانوذرات به داخل سلول باکتری می‌شوند. با توجه به اینکه اشرشیاکولی در دسته باکتری‌های گرم منفی قرار دارد، برای ورود نانوذرات نقره با ممانعت بیشتری در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مواجه است، بنابراین دیرتر به

گزارش شده است. عصاره اتانولی خارخاسک در کاهش بیان برخی از آنزیم‌ها و سیتوکاین‌های التهابی نقش دارد. آنزیم سیکلو اکسیژناز، سیتوکاین‌های مختلفی مانند IL4 و TNF- α از عصاره این گیاه متأثر می‌شود. از سوی دیگر وجود ساپونین‌ها و همچنین ترکیب‌های فنولی در عصاره گیاه خارخاسک به آن خاصیت ضدسرطانی می‌دهد. ساپونین‌ها به دلیل تنوع ساختاری زیاد از مسیرهای مختلفی اثر ضدتوموری ایجاد می‌کنند [18-20]. همان‌طور که گزارش شد، میزان ترکیب‌های فنولی موجود در عصاره بذر گیاه خارخاسک بسیار بالاست و از طرفی اندازه‌های بالایی از این ترکیب‌ها بر سطح نانوذرات بیوستتزی لود شده است. در مطالعه حاضر نانوذرات سنتز شده اندازه‌های بسیار کوچک داشته است. بنابراین مساحت سطح بزرگ‌تری نیز دارند. در نتیجه میزان ترکیب‌های فنولی لود شده بر آنها نیز بیشتر است و خواص بیولوژیکی بهتری نیز خواهند داشت. این نانوذرات همراه با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا می‌تواند یک گزینه مناسب برای کاربرد آنها در بخش‌های دارویی و درمانی باشد. در زمینه بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره گیاهان دارویی با استفاده از اندازه‌گیری هاله عدم رشد، پژوهش‌های زیاد نانوذرات انجام شده است. نتایج آزمایش دیسک دیفیوژن نشان می‌دهد که نتایج قطر هاله عدم رشد برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس بیشتر از اشرشیاکولی است. به عبارتی اشرشیاکولی حساسیت کمتر یا مقاومت بیشتری را در مقابل نانوذرات سنتز شده از خود نشان می‌دهد. عصاره‌های گیاهی می‌توانند عملکردهای مختلفی در برابر سوبیه‌های باکتریایی از خود نشان دهند. عصاره‌ها بیشتر در مقابل باکتری‌های گرم مثبت خواص آنتی‌باکتریایی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی از خود نشان می‌دهند [38]. پژوهشی در سال 2012 توسط ملکوتیان و همکاران بر اثر نانوذرات سنتز شده با روش سبز روی باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوکوس آئوروس،

منابع

- [1] Govindaraju, K., Tamilselvan, S., Kiruthiga, V., Singaravelu, G. (2010) Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. *J Biopest.* 3, 394–399.
- [2] Hu, C.M.J. Aryal, S. Zhang, L. (2010) Nanoparticle-assisted combination therapies for effective cancer treatment, *Ther. Deliv.* 1, 323–334.
- [3] Haley, B. Frenkel, E. (2008) Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. *Urol. Oncol.* 26, 57-64.
- [4] Wu, X. Liu, H. Liu, J. Haley, KN. Treadway, J.A. Larson, JP. (2003) Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.* 21, 41-46.
- [5] Jeevanandam¹, J., Barhoum, A., Chan¹, Y. S., Dufresne, A. and Danquah. M.K (2018) Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J. Nanotechnol.* 9. 1050–1074.
- [6] Nadagouda, MN., Hoag, G., Collins, J., Varma, RS. (2009) Green synthesis of Au nanostructures at room temperature using biodegradable plant surfactants. *Cryst Growth Des.* 9, 4979–4983.
- [7] Bhattacharya, D., Rajinder, G. (2005) Nanotechnology and potential of microorganisms. *Crit Rev Biotechnol.* 25, 199–204.
- [8] Mukherjee, A., Roy, M., Mandal, BP., Dey, GK., Mukherjee, PK., Ghatak, J., et al. (2008) Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *asperellum*. *Nanotechnology* 19, 075103.
- [9] Allafchian, AR., Jalali, AH., Aghaei, F., Farhang, HR. (2018) Green synthesis of silver nanoparticles using *Glaucium corniculatum* (L.) Curtis extracts and evaluation of its Antibacterial activity. *IET Nanobiotechnol.* 12, 574–578.
- [10] Vithiya, K., Sen, S. (2011) Biosynthesis of nanoparticles. *Int J Pharm Sci Res.* 2, 2781–2785.
- [11] Reddy, NJ., Nagoor Vagoor Vali, D., Ranimand Rani, S. (2014) Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *piper longum* fruit mater. *Sci Eng C mater Biol.* 1, 115–122.

اثر مهاری پاسخ می‌دهد. نتایج این مطالعه در تطابق با مطالعات پیشین است.

اثر بخشی نانوذرات فلزی مختلف بر روی انواع باکتری های متفاوت است برای مثال باکتری های باسیلوس سوبتیلیس معمولاً حساسیت بالاتری در برابر نانوذرات نقره و باکتری های اشرشیاکولی حساسیت بیشتری در برابر نانوذرات مس از خود شان می‌دهند [40]. سایر پژوهش ها حاکی از آن است که متغیرهایی مانند نوع باکتری، زمان تماس و غلظت نانوذرات نقره عوامل موثر بر تاثیر گذاری مهار فعالیت باکتری ها هستند [42]. با توجه به اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره ساخته شده با عصاره بذر گیاه خارخاسک، این نانوذرات می‌توانند به عنوان گزینه مناسبی برای حذف باکتری های عفونت زا در مراکز درمانی مطرح شوند. بطور کلی هدف از این پژوهش ساخت و بهینه سازی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه خارخاسک با روش زیستی بدون استفاده از مواد شیمیایی مضر و آسیب رسان به محیط زیست است. عصاره بذر گیاه خارخاسک غنی از ترکیبات فلاونوئیدی، ساپونینها و آلکالوئیدهاست و با توجه به اینکه مطالعه تاثیر نانوذرات نقره حاوی عصاره بذر گیاه خارخاسک تا کنون انجام نشده سنتز و بررسی موفولوژی، اندازه و خصوصیات ساختاری نانوذرات با استفاده از XRD، FT-IR و SEM انجام گرفت و خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات سنتز شده علیه تعدادی از سوش های استاندارد باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد ارزیابی قرار گرفت.

5- تقدیر و تشکر

به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سمنان برای حمایت مادی و معنوی از این پژوهش تشکر می‌شود.

- [22] Suvith, V. S., Philip, D. (2014) Catalytic degradation of methylene blue using biosynthesized gold and silver nanoparticles. *Spectrochim. Acta, Part A*. 118, 526-532.
- [23] Kharat, S. N., Mendhulkar, V. D. (2016) Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. *Mater. Sci. Eng. C*. 62, 719-724.
- [24] Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., Wang, H., Wang, Y., Shao, W., He, N. (2007) Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*. 18, 105104.
- [25] Hwang, J.J., Ma, T.W. (2012) Preparation, morphology, and antibacterial properties of polyacrylonitrile/montmorillonite/silver nanocomposites. *Mater. Chem. Phys.* 136, 613-623.
- [26] Sarker, S.D., Nahar, L., Kumarasamy, Y. (2007) Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 42, 321-324.
- [27] Singleton, V.L. Orthofer, R. Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299, 152-178.
- [28] Callister, W.D. Rethwisch, D.G. (2018) *Materials Science And Engineering*, 10th ed. 50-54.
- [29] Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. (2004) Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Interface Sci.* 275, 496-502.
- [30] Kumar, V., Bano, D., Mohan, S., Singh, D. K., Hasan, S. H. (2016) Sunlight-induced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Polyalthia longifolia* and its antioxidant activity. *Mater. Lett.* 181, 371-377.
- [31] Balasundram, N. Sundram, K. Samman, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agri-industrial byproducts: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191-203.
- [32] Lin, D. Xiao, M. Zhao, J. Li, Z. Xing, B. Li, X. Kong, M. Li, L. Zhang, Q. Liu, Y. (2016) An overview of plant phenolic compounds and their
- [12] Elemike, E., Onwudiwe, DC., Ekennia, A., Jordaan, A. (2018) Synthesis and characterisation of silver nanoparticles using leaf extract of *Artemisi aafra* and them in vitro antimicrobial and antioxidant activities. *IET Nanobiotechnol.* 12, 722-726.
- [13] Canillac, N., Mourey, A. (2001) Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*. 18, 261-268.
- [14] Shahnia, M., Khaksar, R. (2013) Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 7, 949-955.
- [15] Georgiev, GI., Ivanova, A., Mechkarova, P., Ivanova, A. and Popova L. (2010) Rate and forms of mineral nutrition CAN influence dry matter accumulation and saponin content of *Puncture Vine* (*T. terrestris* L.). *Biotechnol Biotechnol Equip.* 24, 49-52.
- [16] Hassan, LG., Umar, K.J. and Umar, Z. (2007) Antinutritive factors in *T. terrestris* (Linn) leaves and predicted calcium and zinc bioavailability. *J. Trop. Biosci.* 7, 33-36.
- [17]. Kostova, I. and Dinchev, D. (2005) Saponins in *T. terrestris*—chemistry and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*. 4, 111-137.
- [18] Kang, SY., Jung, HW., Nam, JH., Kim, WK., Kang, JS., Kim, YH., Cho, CW., Cho, CW., Park, YK. and Bae, HS. (2017) Effects of the fruit extract of *T. terrestris* on skin inflammation in mice with Oxazolone-induced atopic dermatitis through regulation of calcium channels, Orai-1 and TRPV3, and mast cell activation. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017, 8312946.
- [19] Baburao, B., Rajyalakshmi, G., Venkatesham, A., Kiran, G., Shyamsunder, A. and Gangarao, B. (2009) Anti-inflammatory and antimicrobial activities of methanolic extract of *T. terrestris* linn plant. *Int. J. Chem. Sci.* 7, 1867-1872.
- [20] Zheleva-Dimitrova, DI., Obreshkova, DA. and Nedialkov, P. (2012) Antioxidant activity of *T. terrestris*—a natural product in infertility therapy. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 4, 508-511.
- [21] Singh, V., Shrivastava, A and Wahi, N. (2015) Biosynthesis of silver nanoparticles by plants crude extracts and their characterization using UV, XRD, TEM and EDX. *Afr. J. Biotechnol.* 14, 2554-2567.

(2022) Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Artemisia vulgaris* Extract and Its Application toward Catalytic and Metal-Sensing Activity. *Inorganic*. 10, 113-125.

[38] Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253.

[39] Malakootian, M. Toolabi, A. (2010) Determining and comparing the effect of nanoparticle CuO, TiO₂ and ZnO in removing gram positive and gram negative bacteria from waste water. *J. Toloo Behdasht.* 9, 1-11.

[40] Asadi, M. Khosravi-Darani, K. Mortazavi, S. Hajseyed Javadi, N. Azadnia, E. Kiani Harchegani, A. (2014) Antimicrobial effect of silver nanoparticles produced by chemical reduction on *Staphylococcus aureus* and *Escheirchia coli*. *Iran. J. Nutr. Sci. Food Technol.* 8, 83-92.

[41] Shahraki, S. Shahraki, T. (2018) Investigation of antioxidant, anti-bacterial properties and binding to human serum albumin in the *Cressa cretica L.* grown in the Sistan region. *EJMP.* 6,11-20.

[42] Alizade, H. Salouti, M. Shapouri, R. Abdollazadeh, P. Naseryan, J. (2012) Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Brucella Melitensis* 16M in an animal model in vitro. *AMUJ.* 14, 64-70.

importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules.* 21, 1374.

[33] Jalilian, F. Chahardoli, A. Sadrjavadi, K. Fattahi, A. Shokoohinia, Y. (2020) Green synthesized silver nanoparticle from *Allium ampeloprasum* aqueous extract: Characterization, antioxidant activities, antibacterial and cytotoxicity effects. *Adv. Powder Technol.* 31, 1323.

[34] Singh, P. Kim, Y.J. Yang, D.C. (2015) A strategic approach for rapid synthesis of gold and silver nanoparticles by *Panax ginseng* leaves. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 44,1949-1957.

[35] Xia, QH. Zheng, LP., Zhao, PF. Wang, JW. (2017) Biosynthesis of silver nanoparticles using *Artemisia annua* callus for inhibiting stem-end bacteria in cut carnation flowers. *IET. Nanobiotechnol.* 11,185-192.

[36] Zhang, Z. Xin, X. Zho, G. Li, Q. Veeraraghavan, V.P. Mohan, S.K. Wang, D. Liu, F. (2019) Green synthesis of silver nanoparticles from *Alpinia officinarum* mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity via down-regulating apoptotic pathway in rats. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 47, 3215-3221.

[37] Adhikari, A. Lamichhane, C. Adhikari, A. Gyawali, G. Acharya, D. Baral, E. R. Chhetri, K.

The utilization of *Tribulus terrestris* seed extract as a biological source for silver nanoparticle synthesis and evaluating the nanoparticles' antibacterial properties

Nooshin Bijari *

Assistant professor- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Semnan University, Semnan, Iran

**corresponding author E-mail: n.bijari@semnan.ac.ir*

Received:2023/7/9

Accepted: 2024/1/14

Abstract

The green synthesis of nanoparticles is performed in a low-cost, environmentally friendly, and efficient manner. Compared to other methods of nanoparticle production, green synthesis has proven its superiority and unique benefits, eliminating the need for expensive, toxic, time-consuming, and undesirable methods. In this study, the green synthesis of silver nanoparticles using the extract of *Tribulus terrestris* was investigated. *Tribulus terrestris* is a medicinal plant used in traditional medicine to treat urinary and reproductive tract infections, especially burning, kidney stone elimination, relief of rheumatic pains, reduction of blood pressure, and stimulation of the liver. In this research, the morphology, size, and structural properties of nanoparticles were investigated using XRD, UV-visible, FT-IR, and SEM. Given the antibacterial and anticancer properties of the *Tribulus terrestris* extract and the importance of silver nanoparticles, the antimicrobial effects of silver nanoparticles were examined against a number of standard strains, as well as gram-negative and gram-positive bacteria. UV-visible spectroscopy revealed a peak in the 429 nm, indicating the presence of synthesized silver nanoparticles. The results of X-ray diffraction (XRD) also confirmed the formation of the crystalline structure of nanoparticles. The results of the non-growth halo diameter for *Bacillus subtilis* bacterium were more than that of *Escherichia coli*, in other words, *Escherichia coli* showed more resistance against synthesized nanoparticles. The results of this research show that the green synthesis of silver nanoparticles using milk thistle seed extract can be used as a suitable antibacterial agent against clinical pathogens.

Key Words: Silver nanoparticle, Green synthesis, Phenolic compounds, Antibacterial