مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶

بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره میوه گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*)

حدیث طلوعی تبار .M.Sc[1]، علی اصغر حاتم نیا .Ph.D[2*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه ایلام، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، ایلام، ایران
۲- دانشگاه ایلام، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، ایلام، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: hatamniya60@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۴

چکیده

هدف: در این تحقیق از یک روش ساده و سریع جهت سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره میوه گیاه تشنه‌داری استفاده شد، به‌طوری‌که متابولیت‌های موجود در عصاره میوه تشنه‌داری سبب کاهش یون‌های نقره به نانوذرات نقره طی فرآیند سنتز سبز شدند.

مواد و روش‌ها: جهت شناسایی نانوذرات سنتز شده از عصاره گیاه تشنه‌داری از روش‌های اسپکتروسکوپی UV و میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ استفاده شد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره میوه گیاه تشنه‌داری بر علیه باکتری‌های گرم منفی (اشریشیاکلای بالینی، اشریشیاکلایATCC، سالمونلا تایفیATCC و کلبسیلا پنمونیه) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از تکنیک میکرودایلوشن تعیین شد. فعالیت ضدباکتریایی به‌وسیله روش انتشار چاهک در آگار تعیین شد.

نتایج: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافته و در غلظت ۵ میلی‌مولار نانوذرات نقره، فعالیت ضدباکتریایی در برابر همه باکتری‌ها مشاهده شد، با این‌حال بیشترین فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره در غلظت ۵ میلی‌مولار و بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (با قطر هاله عدم رشد ۳۲ میلی‌متری) مشاهده شد. همچنین در غلظت‌های پایین ۰/۳۱۲ و ۰/۶۲۵ میلی‌مولار نانوذرات نقره اثرات مهارکنندگی روی باکترهای کلبسیلا پنمونیه و سالمونلا تایفی ATCC مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این پیشنهاد ارائه می‌شود که نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره میوه تشنه‌داری می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی مناسب در برابر پاتوژن‌های بالینی استفاده شود.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، میوه، تشنه‌داری، سنتز سبز، فعالیت ضدباکتریایی

مقدمه

امروزه نانو فناوری به‌علت کاربرد وسیع و فراوان در علوم و صنایع با سرعت بالایی در حال رشد می‌باشد. برای تولید نانو ذرات روش‌های مختلفی مانند روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی استفاده می‌شود. استفاده از روش‌های فیزیکی نیاز به دما و فشار بالا و همچنین هزینه زیادی دارد (۱). از طرف دیگر در اغلب روش‌های شیمیایی از مواد شیمیایی استفاده شده که این مواد نه تنها برای محیط زیست بلکه همچنین برای سیستم‌های زیستی سمی و خطرناک می‌باشد (۲، ۳، ۴ و ۵). مشکل دیگر استفاده از این روش تولید محصولات سمی می‌باشد (۴). از این رو نیاز به روشی با بازده بالا، قیمت کم، بدون تولید مواد سمی و بدون آسیب‌های زیست محیطی رو به افزایش می‌باشد. یکی از روش‌های تولید نانو ذرات، تولید به‌روش زیستی است و توجه به این روش برای تولید نانو ذرات رو به افزایش می‌باشد. فهرستی عظیم از منابعی که در تولید زیستی نانوذرات فلزی به‌کار می‌روند موجود است. مواردی مانند میکروارگانیسم‌ها از قبیل باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها (۶، ۷ و ۸) و همچنین گیاهان و عصاره‌های گیاهی (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴) در تولید زیستی نانو ذرات کاربرد دارند.

اخیرا استفاده از گیاهان جهت سنتز نانوذرات توسعه یافته است، به‌طورکلی فیتوسنتز نانوذرات به‌وسیله گیاهان دارای مزیت‌هایی می‌باشد که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: در فیتوسنتز نانوذرات به‌وسیله عصاره گیاهی به‌طور معمول از حلال آب استفاده می‌شود که حلالی مناسب و بدون خطر می‌باشد (۴). زیست سنتز نانوذرات توسط عصاره گیاهی خیلی ساده بوده و به شرایط ویژه‌ای که در روش‌های فیزیکی و شیمیایی لازم است، نیاز نمی‌باشد (۴ و ۱۵). پتانسیل کاهشی عصاره گیاهی نسبت به محیط‌های کشت میکروبی بالاتر بوده و در نتیجه مدت زمان لازم جهت تشکیل نانوذرات کمتر می‌باشد (۱۶، ۱۷ و ۱۸). آلودگی ایجاد شده طی بیوسنتز نانوذرات به‌وسیله عصاره گیاهی نسبت به روش‌های دیگر کمتر و تقریباً در حد صفر می‌باشد (۱۹). در نتیجه زیست سنتز نانوذرات به‌وسیله عصاره گیاهی اثرات زیست محیطی خیلی پایین می‌باشد به‌طوری‌که سازگار با محیط می‌باشد (۱۵، ۱۶، ۲۰ و ۲۱). با این حال سرعت تولید، کیفیت و ویژگی‌های دیگر نانوذرات تولید شده به‌وسیله عصاره گیاهی به عواملی از قبیل طبیعت عصاره گیاهی، غلظت عصاره، غلظت نمک فلزی، pH، دما و مدت زمان واکنش بستگی دارد (۲۲).

استفاده از گیاهان به‌علت سازگاری با محیط و فراوانی معمولاً در اولویت می‌باشند. همچنین گیاهان به‌علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد، گزینه‌ای مناسب برای تولید نانوذرات به‌روش زیستی محسوب می شوند. یکی از این گیاهان گیاه تشنه‌داری (Scrophularia striata) است. این گیاه از تیره گل میمون می‌باشد و دارای خواص دارویی فراوانی در طب سنتی می‌باشد. گیاه تشنه‌داری که در مناطقی از استان ایلام به‌صورت خودرو می‌روید سال‌هاست به‌صورت سنتی توسط مردم بومی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله کمک به بهبود زخم و ضد عفونی کردن آن به‌کار می‌رود، با این وجود مطالعات زیادی بر روی آن صورت نگرفته است.

از آنجاکه گیاهان منابع مناسبی جهت تولید نانوذرات نقره محسوب شده و همچنین گیاه تشنه‌دارای به‌صورت سنتی در استان ایلام در درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، در این تحقیق از قسمت میوه گیاه تشنه‌داری جهت زیست سنتز نانوذرات نقره استفاده شده و اثرات ضدباکتریایی آن بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: گیاه تشنه‌داری مورد استفاده در این تحقیق از مناطق کوهستانی اطراف شهر ایلام جمع آوری شد. پس از جمع آوری گیاه قسمت های مختلف آن از قبیل قسمت‌های هوایی(شاخه و برگ)، میوه و ریشه با آب دیونایزه شستشو، در شرایط مناسب و در سایه خشک گردید و جهت تهیه عصاره به‌وسیله آسیاب برقی پودر شد.

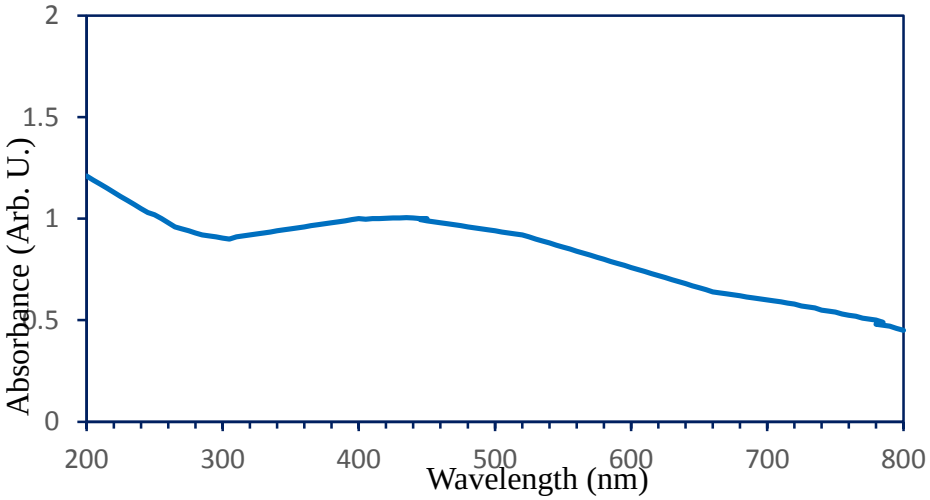
تهیه عصاره آبی: ۱۰ گرم از پودر گیاه را توزین و در ۱۰۰ سی سی آب مقطر حل و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شد. بعد از صاف کردن با کاغذ صافی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال برای مراحل بعدی قرار داده شد (۹).

تهیه محلول نانوذرات: در این روش از هیتر استیرر مغناطیسی طبق روش Subba Rao و همکاران (۱۲) با

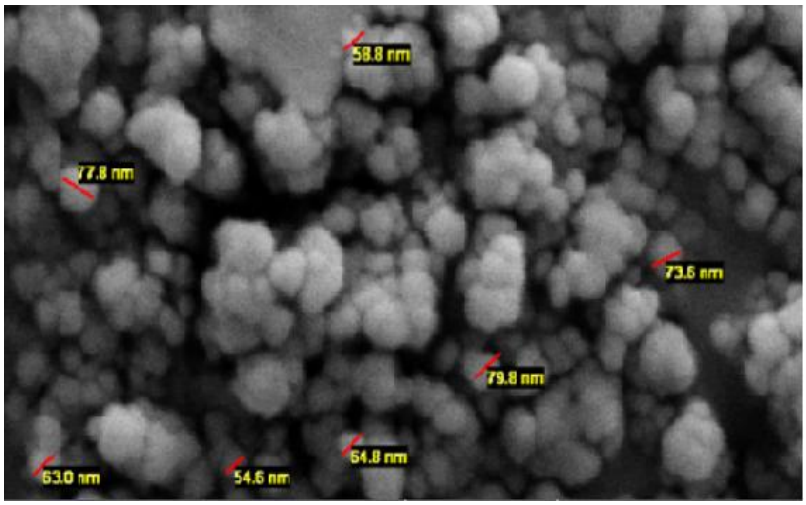
اندکی تغییرات استفاده شد. پس از تهیه عصاره آبی و محلول نیترات نقره (AgNO3)، محلول‌هایی با مقدار ۱۰ میلی‌لیتر مقدار از عصاره آبی و ۵۰ میلی‌لیتر از محلول نیترات نقره تهیه و واکنش در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و در دور ۳۰۰۰rpm و به‌مدت ۳۰ دقیقه انجام شد.

تهیه رسوب از محلول نانوذرات: بعد از ۲۴ ساعت محلول واکنش با سرعت ۱۰۰۰۰rpm به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و رسوب حاصله با آب دیونایزه شستشو داده شد و سپس دوباره سانتریفیوژ شد. این عمل برای پاکسازی کامل نانوذرات از آلودگی‌ها ۳ بار انجام شد و رسوب حاصله به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد (۹).

روش‌های شناسایی نانوذرات: نانوذرات دارای مشخصات متنوعی هستند که برای تعیین هر کدام از آن‌ها به ابزار و وسایل دقیقی نیاز است. در این تحقیق جهت ارزیابی نانوذرات از روش‌های طیف سنجی جذب اتمی و آنالیز میکروسکوپ الکترونی استفاده شد، به‌طوری‌که اسپکتروسکوپی UV بیشترین میزان جذب را در دامنه ۴۳۶ تا ۴۴۰ نانومتر نشان داده و ویژگی‌های کریستالی و کروی نانوذرات نقره به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ تایید شد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱: طیف سنجی جذب اتمی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره میوه گیاه تشنه‌داری.



شکل ۲: میوگراف میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ (SEM) نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره میوه گیاه تشنه‌داری.

بررسی حساسیت سویه‌های باکتریایی به نانوذرات نقره به‌روش چاهک: برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره از روش انتشار چاهک در آگار استفاده شد. برای این منظور پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد نیم مک فارلند، در شرایط کاملا استریل با سواپ بر روی محیط مولر هینتون آگار به‌صورت چمنی کشت داده شد. سپس به‌وسیله پیپت پاستور استریل بر روی محیط کشت دو چاهک به قطر تقریبی ۶ میلی متر با فواصل منظم ایجاد شد. در یکی از چاهک‌ها مقدار ۱۰۰ مایکرولیتر از محلول نانوذره نقره با غلظت ۰/۰۰۵ مولار و در چاهک دیگر ۱۰۰ مایکرولیتر از عصاره آبی ریخته شد و از یک دیسک آنتی بیوتیک به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. سپس رقت‌های مختلف از نانوذرات نقره تهیه و به شکل فوق اثر ضدباکتریایی آن مورد بررسی قرار گرفت. همه آزمایش‌ها سه بارتکرار شدند و نتایج به‌صورت متوسط آنها ارائه شوند (۲۳).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC= Minimum Inhibitory Concentration) و تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC= Minimum Bactericidal Concentration): آزمایش MIC در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ایی استریل و با روش میکرودایلوشن براث انجام گرفت (۲۴). سریال‌های رقت با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث از ۵ میلی‌مولار تا ۰/۱۵۶ میلی‌لار تهیه شدند و ۱۰۰ میکرولیتر از آن‌ها به پلیت‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت بودند، اضافه شد. در آخر به همه چاهک‌ها ، ۱۰۰ مایکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی رقیق شده معادل استاندارد نیم مک فارلند اضافه شد. آزمایش‌های مشابه برای کنترل مثبت (محیط کشت و سوسپانسیون باکتری) و منفی (محیط کشت و نانوذرات نقره) در نظر گرفته شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کف پلیت مورد بررسی قرار گرفت. طبق تعریف غلظت آخرین (رقیق‌ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده بود معادل MIC در نظر گرفته شد. ردیف کنترل مثبت و کنترل منفی نیز جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و ردیف‌های دیگر با آن‌ها مقایسه شد. برای تعیین MBC، ۱۰۰ مایکرولیتر از خانه MIC و سه خانه ما قبل آن جداگانه روی محیط مولر هینتون آگار کشت داد شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، کمترین غلظتی از نانوذره نقره را که باکتری در آن رشد نکرده بود به‌عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش شد. همه آزمایش‌ها سه بارتکرار شدند و نتایج متوسط آنها ارائه شدند.

نتایج

نتایج بررسی فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات نقره تولید شده از عصاره آبی میوه گیاه تشنه‌داری

اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره در غلظت‌های مختلف نشان داد که با وجود مقاومت نسبی اکثر سویه‌ها در غلظت‌های پایین، بیشترین حساسیت در غلظت ۵ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۳). بنابراین میزان حساسیت باکتری‌ها به غلظت نانوذرات نقره بستگی داشته و با افزایش غلظت نانودرات نقره فعالیت ضدباکتریایی آن نیز افزایش یافته است. با این‌حال میزان این افزایش در همه باکتری‌ها یکسان نبوده به‌طوری‌که در غلظت ۵ میلی‌مولار محلول نانوذرات نقره، دارای بیشترین اثر مهاری بر استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین اثر بر سالمونلا تایفی بوده است. در غلظت‌های پایینتر بیشترین تاثیر را بر روی سویه‌های اشریشیاکلی ATCC و اشریشیاکلی بالینی نشان داده است. سایر باکتری‌های مورد آزمایش از قبیل کلبسیلاپنمونیه و سالمونلاتایفی در غلظت‌های پایینتر محلول نانوذرات از خود مقاومت نشان دادند، به‌طوری‌که غلظت‌های ۰/۳۱۲ و ۰/۶۲۵ میلی‌مولار نانوذرات نقره روی آنها تأثیری نداشته است (جدول ۱ و ۲).

نتایج مربوط به حداقل غلظت‌های مهاری (MIC) و حداقل غلظت‌های کشندگی (MBC) نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت‌های ۳۱۲ تا ۶۲۵ میکرومولار محلول نانوذرات بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش اثر باکتریوستاتیک داشت و در غلظت ۶۲۵ میکرومولار دارای اثر کشندگی بر همه‌ی باکتری‌ها به جز سالمونلا تایفی و کلبسیلا پنمونیه بود (جدول ۳).

جدول ۱: قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) ناشی از غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (میلی‌مولار) سنتز شده از عصاره میوه تشنه‌داری بر علیه باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش

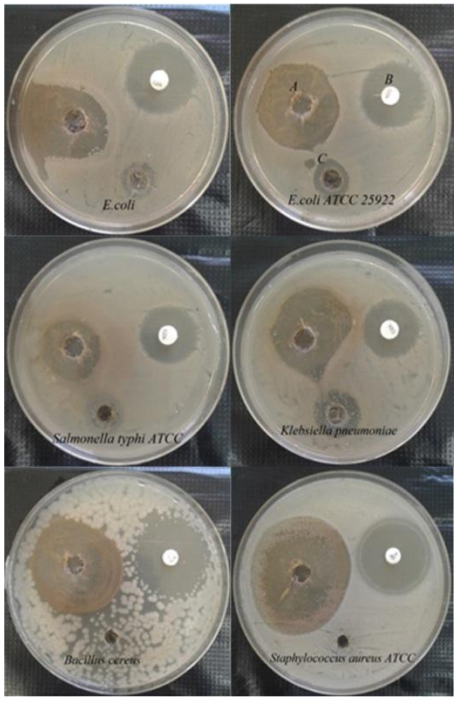
سویه‌های میکروبی	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۲۵	۰/۳۱۲	عصاره آبی	کلاوونیک اسید
اشریشیاکلیATCC	۲۲	۱۱	۹	۶	۲	۰	۲۳
اشریشیاکلی‌بالینی	۱۶	۹	۶	۲	۲	۰	۲۰
سالمونلاتایفیATCC	۱۲	۶	۴	۰	۰	۰	۲۱
کلبسیلاپنمونیه	۱۶	۶	۰	۰	۰	۰	۱۸

جدول ۲: قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) ناشی از غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (میلی‌مولار) سنتز شده از عصاره میوه تشنه‌داری بر علیه باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش

سویه‌های میکروبی	۵	۲/۵	۱/۲۵	۰/۶۲۵	۰/۳۱۲	عصاره آبی	سیپروفلوکساسین
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۲	۹	۶	۲	۰	۰	۲۸
باسیلوس سرئوس	۲۵	۵	۴	۳	۰	۰	۲۲

جدول ۳: حداقل غلظت‌های مهاری (MIC) و حداقل غلظت‌های کشندگی (MBC) نانوذرات نقره سنتز شده (میلی‌مولار) از عصاره میوه برای باکتری‌های مورد آزمایش

سویه‌های میکروبی	MIC	MBC
اشریشیاکلیATCC	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵
اشریشیاکلی بالینی	۰/۶۲۵	۰/۶۲۵
سالمونلاتایفیATCC	۰/۶۲۵	۲/۵
کلبسیلاپنمونیه	۰/۶۲۵	۲/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵
باسیلوس سرئوس	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵



(A): Ag NPs , (B): Antibiotic (C): Extract

شکل ۳: تصاویر مربوط به قطر هاله عدم رشد ناشی از نانوذرات نقره (۵ میلی مولار) سنتز شده از عصاره میوه تشنه‌داری بر علیه باکتری‌های مورد آزمایش.

بحث

امروزه در سراسر جهان به سبب شروع بیماری‌های عفونی به‌دلیل باکتری‌های بیماری‌زای مختلف و افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، شرکت‌های داروسازی و محققان برای عوامل ضدباکتری جدید در حال جستجو هستند. بنابراین نانوذرات نقره به‌عنوان عوامل ضد باکتریال، ضد ویروس و حتی ضد سرطانی توسعه پیدا کرده‌اند (۲۵). در سال‌های اخیر روش بیوسنتز با استفاده از عصاره گیاهان توجه بیشتری را نسبت روش‌های فیزیکی و شیمیایی را به‌خود اختصاص داده است (۲۶).

اساس سنتز نانوذرات کاهش یون‌های نمک آن‌ها و در واقع خنثی شدن بار الکتریکی آنها است. عصاره گیاه تشنه‌داری با دارا بودن فلانوئیدها، آلکالوئیدها، تری‌ترپنوئیدها و ساپونین‌ها پتانسیل بالایی برای کاهش یون‌های نقره و تولید نانوذرات را دارا هستند (۲۷ و ۲۸).

در این مطالعه سنتز نانوذرات نقره در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۳۰ دقیقه انجام شد و تغییر رنگ محلول واکنش از زرد کم رنگ به قهوه‌ای تیره تا سیاه در اثر بر هم کنش عصاره گیاهی و محلول نیترات نقره و اولین نشانه از تولید نانوذرات نقره محسوب می‌شود کاملا مشهود بود. پس از آن طیف جذبی محلول نانوذرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر که پیک (قله) طول موج آن حدود ۴۳۶ تا ۴۴۰ نانومتر را نشان داد که نشان‌دهنده وجود نانوذرات نقره می‌باشد. یافته‌های فوق در مطالعه حاضر با مطالعات Ahmad و همکاران (۲۹) تطابق داشت، چنانچه ثابت کردند که تغییر رنگ تابعی از زمان است و با گذشت زمان و پیشرفت واکنش، غلظت نانوذرات نقره بیشتر می‌شود. این گروه با سنجش چگالی نوری محلول واکنش در بازه‌های زمانی مختلف به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت نانوذرات نقره است که باعث تغییر رنگ بیشتر محلول واکنش به سمت قهوه‌ای تیره می‌شود.

نتایج ضد میکروبی نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از عصاره آبی میوه گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) حاکی از فعالیت ضدباکتریایی بالای نانوذرات نقره بر باکتری‌های مورد آزمایش است. Mameneh و همکاران (۹) با تولید نانوذرات نقره از عصاره آبی گل‌های تشنه‌داری نشان دادند که اثرات مهاری نانوذرات نقره در غلظت ۰/۰۱ مولار بر روی باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۱۶ و ۱۷ میلی‌متر بوده که در مقایسه با نانوذرات تولید شده از عصاره آبی میوه تشنه‌داری در مطالعه حاضر، اثرات ضد میکروبی پایین‌تری داشته‌اند. در مطالعه‌ای که توسط Velusamy و همکاران بر روی نانوذرات نقره تولید شده از عصاره آبی *Azadirachta indica* L. انجام گرفت (۱۳)، این محققین نشان دادند که نانوذرات در غلظت ۱ میلی‌مولار دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری‌های سالمونلا انتریتیدیس و باسیلوس سرئوس بوده و قطر هاله عدم رشد به‌ترتیب برابر ۱۵/۱ و ۱۴/۳ میلی‌متر بود. در پژوهش حاضر اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره تولید شده بر علیه ۶ سویه باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص که نانوذرات نقره بر علیه تمام سویه‌های باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی موثر بوده و این فعالیت وابسته به غلظت محلول نانوذرات به‌کار برده شده داشت. Sondi و همکاران (۳۰) فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات را بر علیه باکتری اشریشیاکلی نشان داده و ذکر کرده اند که این فعالیت وابسته به غلظت نانوذرات در محلول می‌باشد.

نتیجه گیری

در این مطالعه نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی میوه گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) در غلظت‌های مختلف سنتز شد و همه باکتری‌های مورد آزمایش نسبت به نانوذرات ساخته شده حساس بودند و بیشترین اثر ضدباکتریایی مربوط به غلظت ۵ میلی‌مولار نانوذرات بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نانوذرات تولید شده از عصاره آبی گیاه تشنه‌داری از ویژگی‌های ضدباکتریایی قابل توجهی در شرایط آزمایشگاهی برخوردار است. با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که نانوذرات نقره سنتز شده را می‌توان به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی مناسب در برابر پاتوژن‌های بالینی استفاده کرد.

منابع

1. Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY. Biological synthesis of metallicnanoparticles. Nanomed-Nanotechnol. 2010; 6(2): 257-262.

2. Begum NA, Mondal S, Basu S, Laskar RA, Mandal D. Biogenic synthesisof Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of black tea leaf extracts. Colloid Surface. B. 2009; 71(1): 113-118.

3. Li X, Xu H, Chen ZS, Chen G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. J. Nanomater. Volume 2011. Article ID 270974.16 pages. http://dx.doi.org/10.1155/2011/270974.

4. Rajan R, Chandran K, Harper SL, Yun SI, Kalaichelvan PT. Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. Ind. Crops. Prod. 2015; 70: 356-373.

5. Roy N, Mondal S, Laskar RA, Basu S, Mandal D, Begum NA. Biogenicsynthesis of Au and Ag nanoparticles by Indian propolis and its constituents. Colloid Surface. B. 2010; 76(1): 317–325.

6. Luangpipat T, Beattie IR, Chisti Y. Haverkamp R.G. Gold nanoparticles produced in a microalga. J. Nanopart. Res. 2011; 13(12): 6439-6445.

7. Samadi N, Golkaran D, Eslamifar A, Jamalifar H, Fazeli MR, Moshseni FA. Intra/extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by anautochthonous strain of Proteus mirabilis isolated from photographic waste. J. Biomed. Nanotechnol. 2009; 5(3): 247-253.

8. Singaravelu G, Arockiamary JS, Kumar VG, Govindaraju K. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville. Colloid Surface. B. 2007; 57(1): 97-101.

9. Mameneh R, Ghaffari-Moghaddam M, Solouki M, Samzadeh-Kermani A, Sharifmoghadam MR. Characterization and antibacterial activity of plant mediated silver nanoparticles biosynthesize using Scrophularia striata flower extract. Russ. J. Appl. Chem. 2015; 88(3): 538-546.

10. Rathi Sre PR, Reka M, Poovazhagi R, Arul Kumar M, Murugesan K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of Erythrina indica lam. Spectrochim. Acta A. 2015; 135: 1137-1144.

11. Salem WM, Haridy M, Sayed WF, Hassan NH. Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from latexand leaf extract of Ficus sycomorus. Ind. Crops. Prod. 2014; 62: 228-234.

12. Subba Rao Y, Kotakadi VS, Prasad TNVKV, Reddy AV, Gopal DVRS. Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (Ocimum sanctum) leaf extract. Spectrochim. Acta A. 2013; 103: 156-159.

13. Velusamy P, Das J, Pachaiappan R, Vaseeharan B, Pandian K. Greener approach for synthesis of antibacterial silver nanoparticlesusing aqueous solution of neem gum (Azadirachta indica L.). Ind. Crops. Prod. 2015; 66: 103-109.

14. Vijayakumar M, Priya K, Nancy FT, Noorlidah A, Ahmed ABA. Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using Artemisia nilagirica. Ind. Crops. Prod. 2013; 41: 235-240.

15. Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol Adv. 2013; 31(2): 346-356.

16. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. Green Chem. 2011; 13(10): 2638-2650.

17. Kannan N, Mukunthan K, Balaji S. A comparative study of morphology, reactivity and stability of synthesized silver nanoparticles using Bacillus subtilis and Catharanthus roseus (L.) G. Don. Colloid Surface. B. 2011; 86(2): 378-383.

18. Narayanan KB, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Adv. Colloid Interface. 2010; 156(1-2):1-13.

19. Dahl JA, Maddux BLS, Hutchison JE. Toward greener nanosynthesis. Chem. Rev. 2007; 107(6): 2228-2269.

20. Gan PP, Li SFY. Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver

bacteria. J. Colloid. Interf. Sci. 2004; 275(1): 177-182.

nanoparticles and their applications. Rev. Environ. Sci. Bio. 2012; 11(2): 169-206.

21. Kumar V, Yadav SK. Plant-mediated synthesis of silver and goldnanoparticles and their applications. J. Chem. Technol. Biot. 2009; 84(2):151-157.

22. Dwivedi AD, Gopal K. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using Chenopodium album leaf extract. Colloid. Surface. A. 2010; 369(1-3): 27-33.

23. Hwang JJ, Ma TW. Preparation, morphology, and antibacterial properties of polyacrylonitrile/montmorillonite/silver nanocomposites. Mater. Chem. Phys. 2012; 136(2): 613-623.

24. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. 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. 2007; 42(4): 321-324.

25. Ramezani T, Nabiuni M, Baharar J, Parivar K, Namvar F. Anti-cancerous effects of silver nanoparticles coated with curcmin on A2780 ovarian cancerous cells. Journal of Cell & Tissue. 2017; 7(3): 313-333.

26. Bar H, Bhui DK, Sahoo GP, Sarkar P, De SP, Misra A. Green shynthesis of silver nanoparticlesusing latex of Jatropha curcas. Colloid. Surface. A. 339(1-3): 134-139.

27. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extract. ACS Sustain. Chem. Eng. 2013; 1(6):591-602.

28. Kasthuri J, Kathiravan K, Rajendiran N. Phyllanthin-assisted synthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. J. Nanopart. Res. 2009; 11(5): 1075-1085.

29. Ahmad N, Sharma S, Alam MK, Singh VN, Shamsi SF, Mehta BR, et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. Colloid Surface. B. 2010; 81(1): 81-86.

30. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2017; 8(2) *Original Article*

Investigation of antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from *Scrophularia striata* fruit extract

Tolouietabar H, M.Sc [1], Hatamnia AA, Ph.D [2*]

1. MSc Graduated from Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Iran.
2. Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam , Iran

* Email corresponding author: hatamniya60@gmail.com

Received: 23 Jul. 2017 Accepted: 5 Sep. 2017

Abstract

Aim: In this research, a simple and rapid method (green synthesis) was applied for synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using Scrophularia striata fruit extract, so that the metabolites present in S.striata fruit extract caused to reduce silver ions to AgNPs in green synthesis process.

Material and Methods: UV–visible spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM) were used to characterize the synthesized nanoparticles from S. striata extract. The antibacterial activity of the synthesized silver nanoparticles from S. striata extract was investigated against Gram-negative bacteria (Escherichia coli clinical, Escherichia coli ATCC, Salmonella typhi ATCC and Klebsiella pneumoniae) and Gram-positive bacteria (Staphylococcus aureus and Bacillus cereus). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined using microdilution technique. The antibacterial activity was determined by agar well diffusion method.

Results: The results showed that with increased concentration of silver nanoparticles, antibacterial activity increased and in the concentration of 5 mM silver nanoparticles, antibacterial activity was observed against all bacteria, however the highest antibacterial activity of silver nanoparticles observed against Staphylococcus aureus (inhibition zone diameter with 32 mm). Also, in the low concentrations of 0.312 and 0.625 mM of silver nanoparticles, no inhibitory effects were observed on the Klebsiella pneumoniae and Salmonella typhi ATCC.

Conclusion: From the results, it is suggested that silver nanoparticles synthesized using S. striata fruit extract could be used as a suitable antibacterial agent against clinical pathogens.

Keywords: Silver nanoparticles, Fruit, Scrophularia striata, Green synthesis, Antibacterial activity.