گزارش کوتاه
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۹، مرداد ۱۳۹۹، ۵۴۸-۵۳۹

ویژگی یابی و بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی/نقره سنتز شده با عصاره دانه گیاه خار مریم (*Silybum marianum*): یک گزارش کوتاه

ابوالفضل بایرامی[۱]، فرید محمدی اروانق[۲]، صابر زهری[۳]، مهدی بایرامی[۴]

دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/٦ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۸/۱۲/۲٤ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۳/۱۹ پذیرش مقاله: ۹۹/۳/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از فناوری نانو در زمینه های مختلف به ویژه در زمینه بهداشتی و دارویی به سرعت در حال گسترش می باشد. هدف از این مطالعه تولید نانوذرات اکسید روی/نقره زیستی با استفاده از عصاره دانه خارمریم و تعیین اثرات ضد میکروبی آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش آزمایشگاهی نانوذرات زیستی با استفاده از عصاره آبی دانه خار مریم و نانوذرات اکسید روی به روش شیمیایی سنتز شدند، پس از بررسی ساختار، اثرات ضد باکتریایی این نانومواد در غلظت های۰/۸، ۰/۴، ۰/۲، ۰/۱ ، ۰/۰۵ و صفر (شاهد) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* مطالعه گردید.

یافته‌ها: اندازه نانوذرات اکسیدروی/نقره سنتز شده به روش زیستی، ۱۷/۵ نانومتر تعیین شد که نسبت به نانوذرات شیمیایی (۲۲ نانومتر) کوچک‌تر بودند که این اندازه کوچک در کاربرد زیستی آن می تواند تأثیرگذار باشد. هم‌چنین حضور ترکیبات آلی گیاهی در ساختارنانوذرات زیستی تأیید شدند. هر دو نوع نانوذره اثرات ضد باکتریایی وابسته به دوز داشتند. با اینکه حساسیت باکتری ها نسبت به نانوذرات زیستی بیش‌تر بود ولی این اختلاف از نظر آماری فقط در غلظت ۰/۸ میلی گرم/میلی لیتر معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات زیستی تأثیر بیش‌تری در کنترل رشد باکتری‌ها دارند و این می‌تواند به علت سایز کوچک‌تر و وجود ترکیبات فعال گیاهی باشد.

واژه‌های کلیدی: خار مریم، ضد باکتریایی، سنتز سبز، نانوذرات اکسید روی-نقره

۱-- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تلفن: ۳۱۵۰۵۱۸۷-۰۴۵، دورنگار: ۳۳۵۱۴۷۰۱-۰۴۵، پست الکترونیکی: a_bayrami@uma.ac.ir
۲- دانش آموخته فیزیولوژی جانوری، گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- استاد گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴- دانش آموخته دکترای حرفه ای دام‌پزشکی، دانشگاه آزاد تبریز، تبریز، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

مقدمه

نانوفناوری دانشی کاربردی و نوعی فناوری است که زمینه-های متفاوتی را شامل می‌شود. زمینه اصلی نانوفناوری تولید مواد یا ابزارهایی در ابعاد کم‌تر از صد نانومتر است [۱]. کاربردهای جدید نانو ذرات و نانو مواد وابسته به خواص بهبود یافته و جدید آن‌ها می‌باشد که مربوط به اندازه، مورفولوژی و نحوه توزیع آن‌ها می‌گردد[۲].

بیماری‌های عفونی یکی از چالش‌های اصلی در زمینه پزشکی می‌باشد به طوری‌که در سال‌های اخیر بیش از ۳۰۰ نوع از این بیماری‌های عفونی مشکل ساز شده‌اند. مقاومت باکتری‌ها در برابر داروهای موجود در بیش‌تر نقاط جهان زنگ خطری را در این زمینه به صدا درآورده است و یکی از علل مرگ و میر در جمعیت انسانی می‌باشد. با توجه به این نانوذرات فلزی توجه بسیاری از پژوهش‌گران و محققین را جلب کرده است [۳].

در حال حاضر روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای ساخت نانو ذرات کاربرد دارد. اخیراً محققین پی بردند که موجودات زنده و مواد زیستی می‌توانند پیش‌سازهای فلزی را احیاء کنند. گسترش و کاربردی بودن این روش در استفاده از احیاء کننده‌های طبیعی، تثبیت مواد نهایی بدون استفاده از عوامل سمی، عدم به‌کارگیری مواد شیمیایی گران قیمت و عدم مصرف انرژی بالا، می‌باشد [۴]. ترکیبات گیاهی هم به عنوان عوامل کاهنده و هم کنترل کننده رشد نانوذرات در سنتز نانوذرات، استفاده می‌شوند [۵]. انواع مختلفی از نانوذرات اکسید فلزی و فلزی برای تهیه نانوذرات زیستی برای اهداف پزشکی و دارویی استفاده شده است که از پرکاربردترین آن‌ها می‌توان به اکسید روی و نقره اشاره نمود [۶].

گیاه خار مریم از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum marianum* دارای ترکیبات مختلفی از جمله سیلی‌بین، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین، آپی ژنین، دی هیدروسیلی‌بین، دی اکسی سیلی‌کریستین، دی اکسی سیلی‌دیانین است. عصاره دانه خشک گیاه دارای ۱ الی ۴ درصد سیلی‌مارین است که شامل فلاونوییدهای مختلفی است. سیلی‌بین‌مؤثرترین ماده موجود در سیلی‌مارین است که به عنوان آنتی اکسیدان و محافظ کبدی شناخته شده است [۷]. خار مریم در درمان بیماری‌های مختلف کبدی و گوارشی در طب سنتی کاربرد دارد و عصاره بذر این گیاه دارای قدرت آنتی اکسیدانی بسیار قوی می‌باشد [۸].

در پژوهش‌های زیادی نانوذرات تولید شده به روش زیستی و با استفاده از عصاره گیاهان مختلف برای کنترل بیماری‌هایی مانند دیابت، سندروم تخمدان پلی کیستیک، زخم‌های پوستی و حتی کنترل باکتری‌ها به کار رفته است و نتایج مثبتی نیز حاصل شده است [۶-۳]. با توجه به کاربردهای دارویی دانه خار مریم و اکسید روی [۹] و نبود پژوهشی که در آن نانوذرات اکسید روی و نقره با هم در یک مرحله و به روش زیستی تولید شده باشند، لذا در این پژوهش با تولید نانوذرات اکسید روی/ نقره با عصاره دانه خارمریم (زیستی) به صورت تک مرحله‌ای و بدون عصاره (شیمیایی)، ضمن بررسی ویژگی‌های مولکولی و مورفولوژیکی آن‌ها با استفاده از طیف سنجی پراش اشعه ایکس (Energy-dispersive X-ray)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning electron microscopy) و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

عبوری (Transmission electron microscopy) برای اولین بار به مطالعه اثر ضدباکتریایی آن‌ها پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت یک پژوهش آزمایشگاهی طراحی و اجرا گردید. این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه محقق اردبیلی می‌باشد. دانه خار مریم (*Silybum marianum*)، در سال ۱۳۹۷ از عطاری‌های موجود در سطح شهر اردبیل تهیه گردید و پس از تأیید مرکز هرباریم گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی دانه‌های مرغوب برای مطالعه انتخاب گردید. برای تهیه عصاره آبی خار مریم، ۱۰۰ گرم از بذر گیاه را ابتدا با آب معمولی (۲ بار) و سپس با آب مقطر (۱ بار) شستشو داده و سپس نمونه‌ها بر روی کاغذ تمیز و در سایه خشک شدند. سپس نمونه‌ها به صورت پودر درآمدند. پودر حاصل را در بشر به همراه ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر روی هیتر-استیرر با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از یک ساعت پس از سرد شدن، محتویات بشر با استفاده از کاغذ صافی (واتمن شماره ۱)، صاف شده و محلول حاصل در دمای ۴ درجه برای استفاده در مرحله بعدی نگه‌داری شد [۷]. برای سنتز ۲ گرم نانوذره زیستی اکسید روی- نقره با نسبت ۹۵ درصد اکسید روی و ۵ درصد نقره، ۶/۹۴ گرم روی نیترات ۶ آبه [$Zn(NO_3)_2.6H_2O$] و ۰/۱۶ گرم نقره نیترات [$Ag(NO_3)$] را بعد از توزین به درون ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال هم زدن ریخته، سپس ۵۰ میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه (۵۰۰گرم/لیتر) را به آن اضافه نموده تا حجم کل محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد. با NaOH ۵ مولار، pH محلول در ۱۰ تنظیم گردید. سپس محلول حاصل را ۱۰ دقیقه در ماکروویو (2.45 GHz and 1000 W) قرار داده شد. رسوب حاصل به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰rpm، سانتریفیوژ (ساخت شرکت سیگما- کشور آلمان) شده و یک‌بار با آب مقطر و سپس با اتانول شستشو داده و سانتریفیوژ شد. در نهایت نمونه‌ها را در اُون (Oven) و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت جهت خشک شدن قرار گرفت و بعد از آن به صورت پودر برای مرحله بعدی نگه‌داری شد. برای تهیه نانوذرات شیمیایی دقیقاً از همان روش استفاده شد با این تفاوت که به جای عصاره گیاهی از همان حجم آب مقطر استفاده شد و ۶/۴۲۴ گرم روی نیترات ۶ آبه استفاده شد [۶].

خلوص مواد و آنالیز عناصر موجود در محصولات سنتز شده توسط دستگاه طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (model LEO1430VP) مورد بررسی قرار گرفت. مورفولوژی سطح و توزیع ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (model LEO1430VP) و اندازه نانو ذرات سنتز شده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (model Zeiss-EM10C180 kV) استفاده گردید [۵].

به منظور بررسی خواص ضدباکتریایی نانو ذرات اکسید - روی/نقره شیمایی و نانو ذرات اکسید روی/نقره سنتز شده با عصاره گیاهی خار مریم بر روی باکترهای *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، ابتدا کلنی‌های سالم از این دو گونه باکتری گرم منفی و گرم مثبت، بر روی محیط جامد کشت (LB Broth) داده شدند. سپس یک کلنی از باکتری با استفاده از آنس برداشته و در محیط کشت مایع (Muller-Hinton broth)، کشت داده شد. سپس سوسپانسیون نانوذرات

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

در غلظت‌های ۰/۸، ۰/۴، ۰/۲، ۰/۱ ، ۰/۰۵ و صفر (شاهد) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. کنترل مثبت شامل محیط کشت حاوی باکتری و کنترل منفی حاوی نانوذرات و محیط کشت بود. محیط کشت مایع به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد، اتوکلاو (ریحان طب-ایران) شد. سپس درون لوله‌های استریل، منتقل و سوسپانسیون نانوذرات به محیط اضافه گردید. سرانجام ۱۰۰ میکرولیتر باکتری به هرکدام از لوله‌ها افزوده شد. بعد از سپری شدن ۲۴ ساعت، جذب هر کدام از غلظت‌ها در طول موج ۶۰۰ نانو متر برای تعیین میزان زنده مانی باکتری‌ها اندازه گرفته شد. برای اطمینان، از هر کدام از لوله‌ها کلنی خالص بر روی محیط جامد (LB Broth) نیز، کشت داده شدند [۴]. تمامی آزمایش ها به صورت سه بار تکرار انجام گرفته و میانگین داده‌ها در بخش نتایج ارائه گردیده است.

داده‌های جمع‌آوری شده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ شد. پس از بررسی نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگروف اسمیرنف و تساوی واریانس ها با آزمون لون، نتایج با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. کلیه نمودارهای مربوطه نیز توسط نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ رسم گردید. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

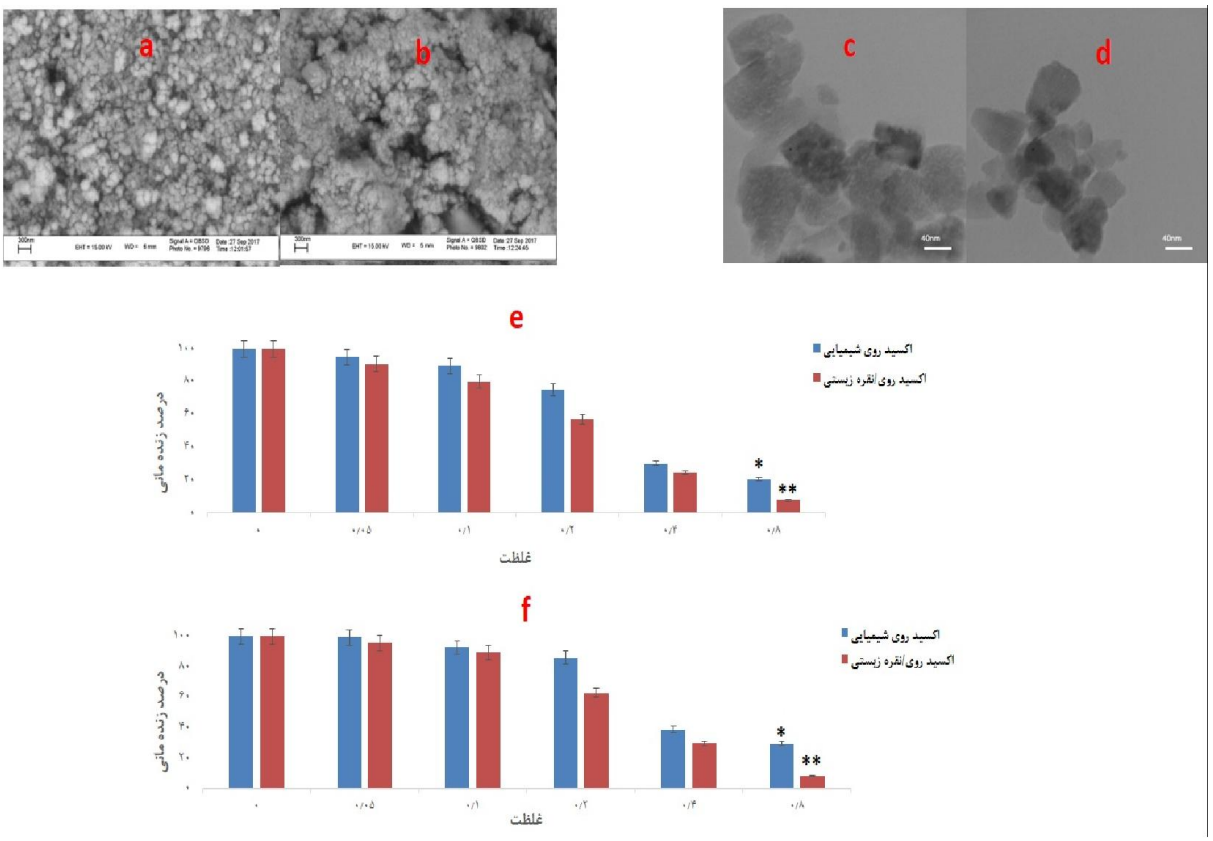
پس از تهیه نانوذرات از روش‌های مختلفی جهت اطمینان از تشکیل صحیح و مورد انتظار آن‌ها استفاده گردید. بررسی تأیید حضور برخی عناصر موجود در ساختار نانوذرات ZnO و ZnO/Ag زیستی از تکنیک طیف سنجی پراش اشعه ایکس استفاده شد. نتایج حاصل حضور عناصر اکسیژن و روی در نمونه‌های اکسید روی شیمیایی به وضوح دیده نشان داد. اما در نانوذرات اکسید روی/نقره سنتز شده به روش زیستی علاوه بر حضور عناصر روی، اکسیژن و نقره، عنصر کربن هم دیده شد که به خاطر حضور مقدار قابل ملاحظه‌ای از مولکول‌های آلی موجود در عصاره بود. حضور عنصر روی در دو ناحیه در نانوذره ZnO و عنصر اکسیژن در یک ناحیه از طیف مربوطه تأییدی بر صحت سنتز هر دو نانوذره بود. در نانوذره ZnO/Ag زیستی علاوه بر حضور عناصر روی، نقره و اکسیژن، عنصر کربن نیز مشاهده شد که نشان از اتصال قوی مولکول‌های عصاره با اکسید روی بود. چرا که علی‌رغم چند مرحله شستشو هنوز متصل شده با اکسید روی باقی ماندند.

مورفولوژی نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش شیمیایی و زیستی، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی شد که تصاویر در شکل ۱ (a و b) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، هر دو نانوذره سنتز شده تقریباً حالت کروی دارند. نانوذرات سنتز شده به روش زیستی با استفاده از عصاره گیاه خار مریم اندازه کوچک‌تری نسبت به نانوذرات اکسید روی خالص دارند.

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش شیمیایی و زیستی، در شکل ۱ (c و d) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوذرات سنتز شده به روش زیستی اندازه کوچک تری نسبت به نانوذرات اکسید روی خالص (ZnO) دارند. لذا با توجه به یافته‌های به دست آمده از تکنیک‌های SEM و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

TEM نتیجه‌گیری می‌شود که مولکول‌های موجود در عصاره گیاهی به خاطر اتصال به ZnO در حال رشد، از رشد زیاد ذرات آن‌ها جلوگیری می‌کنند.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانو ذرات سنتز شده: اکسید روی شیمیایی (a) و اکسید روی/نقره زیستی (b). شکل ظاهری کروی‌تر و اندازه کوچک‌تر در نانوذره اکسید روی/نقره زیستی کاملاً مشهود است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانو ذرات سنتز شده: اکسید روی شیمیایی (c) و اکسید روی/نقره زیستی (d)، کوچک‌تر بودن نانوذرات زیستی سنتز شده نسبت به نانوذره اکسید روی شیمیایی در تصاویر مشخص است. درصد زنده مانی باکتری‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی شیمیایی و اکسید روی/نقره زیستی. (e) درصد زنده مانی باکتری E. coli تیمار شده با نانوذرات (f) درصد زنده مانی باکتری S. aureus تیمار شده با نانوذرات. علائم * و ** در بالای ستون ها بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌ها از نظر آماری می‌باشد (p<۰/۰۵).

برای بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده، دو گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی *E. coli* و *S. aureus* با غلظت‌های مختلفی از این نانومواد در محیط کشت مایع و سپس جامد تیمار شدند. مقایسه نتایج در شکل ۱ (e و f) بر اساس غلظت نشان می‌دهد که در تیمار با هر دو نانو ذره، میزان زنده مانی باکتری‌ها از هر دو گونه حالت نزولی داشته و با افزایش غلظت ارتباط مستقیم وجود دارد. بررسی تأثیر نانومواد بر دو گونه متفاوت گرم منفی و گرم مثبت از باکتری

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

تفاوت در میزان زنده مانی این دو گونه باکتری را در غلظت مشابه از تیمار نشان می‌دهد به طوری‌که میزان حساسیت *S. aureus* بیش‌تر از *E. coli* می‌باشد. اما مقایسه میانگین در سطح اطمینان ۹۵ درصد نشان می‌دهد که در تیمار باکتری *E. coli* اختلاف در میزان اثر دو نوع نانوذره در تمامی غلظت‌ها وجود دارد ولی این اختلاف فقط در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر معنی‌دار می‌باشد. این شرایط دقیقاً در مقایسه میزان زنده مانی باکتری *S. aureus* نیز دیده می‌شود، یعنی این‌که در غلظت‌های مختلف استفاده شده، اختلاف معنی‌داری در میزان مرگ و میر به‌جزء در بالاترین غلظت (۰/۸) دیده نمی‌شود. در بررسی اثر غلظت‌های مشابه بر دو نوع باکتری مختلف علی‌رغم وجود تفاوت‌های عددی، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین آن‌ها دیده نمی‌شود.

بحث

در سال‌های اخیر پژوهش‌های بسیاری در جهت تولید مواد ضد باکتری انجام یافته است و راه‌کارهای جدیدی در برابر مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌های موجود ارائه شده است. استفاده از نیترات نقره ۵ درصد برای درمان سوختگی از سال ۱۹۶۰ رایج بود. با پیشرفت علم نانو در سال ۲۰۰۴ اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره بررسی شد. نانوذرات به واسطه نسبت سطح به حجم بالا و شکل‌های ظاهری متفاوت، رفتارهای متنوعی در هنگام مواجهه با سلول زنده دارند و اغلب به راحتی با دیواره و یا غشاء سلولی واکنش داده و باعث تخریب آن یا موفق به ورود به آن می‌گردند. به همین علت امروزه استفاده از نانوذرات در زمینه‌های مختلف، به ویژه بهداشتی و دارویی گسترش یافته است به طوری‌که در ساختار پوشش‌های ضد میکروب و پمادهای زخم و سوختگی به فراوانی استفاده می‌شود [۱۰].

از ویژگی‌های بارز این پژوهش سنتز هم‌زمان یک نوع نانوذره با استفاده از نمک‌های روی و نقره به کمک خاصیت احیاء کنندگی عصاره گیاه خار مریم می‌باشد. براساس یافته های این پژوهش اثر آنتی باکتریایی این مواد با حضور ترکیبات فعال گیاهی افزایش می‌یابد و این می‌تواند مربوط به حضور ترکیبات فنلی این گیاه باشد. هم‌چنین عصاره در تشکیل نانوذرات کوچک‌تر با قدرت نفوذ بیشتر نیز مؤثر می‌باشد. مکانیسم ضدباکتریایی نانوذرات می‌تواند به توانایی جذب الکترواستاتیک بین یون‌های مثبت در ساختار نانوذرات فلزی و یون‌های منفی در ساختار باکتری باشد [۱۱]. این اتصال با اثر بر پروتئین‌های تیولی غشاء سلولی باکتری باعث اکسیداسیون غشاء باکتری می‌گردد و شرایط را برای انجام واکنش‌های استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن فراهم می‌کند. این امر ساختار غشاء سلولی و عملکرد آن را در نفوذپذیری و تنفس سلولی مختل کرده و باعث مرگ آن می-شود [۱۲].

شکل و اندازه نانوذره فاکتور اصلی در نفوذپذیری آن و انتشار به درون سلول می‌باشد که به واسطه پورین‌ها و پروتئین‌های دیواره سلولی انجام می‌گیرد و یا اتصالات الکترواستاتیکی با پروتئین‌های دارای گروه‌های تیولی صورت می‌گیرد که هر دو فرآیند در ویژگی‌های الکتروشیمیایی غشاء سلولی تداخل ایجاد کرده و باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) می‌شود. بالا رفتن میزان تولید اکسیژن فعال از نشانه‌های تداخل نانوذرات در ساختار

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

باکتری‌ها می‌باشد. این رادیکال‌های فعال باعث تغییرات و آسیب‌های مختلفی در سلول از جمله افزایش نفوذپذیری به نانومواد، پراکسیداسیون لیپیدها، اختلال در مسیر انتقال یون ها، تغییرات در ساختار پروتئین ها، DNA و در نهایت مرگ سلولی می‌گردند [۱۳].

در پژوهش حاصل بر خلاف یافته‌های قبلی اثر ضدباکتریایی نانوذرات تولید شده بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی بالا بود با این‌که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری گزارش نشد. علت مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها به ویژگی‌های ژنتیکی و اکتسابی آن‌ها مربوط می‌شود [۱۴]. در صورتی‌که یافته‌های جدید نشان می‌دهند که مقاومت بالای باکتری‌های گرم منفی در برابر نانوذرات یک پدیده اکتسابی است و مربوط به ژن‌ها نمی‌باشد. در این مکانیسم باکتری با استفاده از پروتئین‌های فلاژلین چسبناک و شلاقی باعث تجمع نانوذرات و آگلومره شدن آن‌ها در خارج از سلول خود می‌شود و با این پدیده مانع اثر اکسیداسیونی نانوذرات می‌گردند [۱۵]. مطالعات قبلی در زمینه اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی شیمیایی و زیستی بیانگر تأثیرات مثبت این نانوذرات در کنترل رشد باکتری‌ها می‌باشد [۴، ۹]. مهم‌ترین ویژگی این پژوهش تهیه هم‌زمان نانوذره ترکیبی اکسید روی و نقره در یک مرحله و مقایسه اثرات ضد باکتریایی آن با کارهای قبلی که فقط از اکسید روی استفاده شده بود. آنالیز داده‌های حاصل ضمن تأیید اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی مطابق با کارهای قبلی، نشان داد که وجود نقره در این ساختار باعث افزایش معنی داری در کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد.

در حین این پژوهش یکی از مشکلات، عدم انحلال نانوذرات در محیط کشت جامد بود، لذا امکان استفاده از روش دیسک وجود نداشت که برای حل این مشکل از روش دیگری استفاده شد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی روش‌هایی که بتوان بر این مشکل چیره شد بررسی شود و هم‌چنین در تولید نانوذرات از نسبت‌های متفاوت اکسید روی و نقره استفاده شود تا ترکیب بهینه با بالاترین اثرگذاری در رشد باکتری‌ها حاصل گردد.

نتیجه‌گیری

استفاده از ترکیب جدید نانویی و سنتز آن به ترکیبات فعال گیاهی باعث بروز ویژگی‌ها و رفتارهای جدیدی در این مواد می‌شود که می‌توان از این ویژگی‌ها در کنترل باکتری‌های بیماری‌زا استفاده کرد. این نتایج می‌تواند راه‌کاری پاک و ایمن و چشم اندازی جدید و امیدبخش در حوزه بهداشت و ایمنی فراهم کند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل نتایج طرح پژوهشی به شماره ۱۳۹۶/۱۰/۱۰/۱۷۳۴ که با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی در محل دانشکده علوم، گروه زیست شناسی انجام شده است. لذا نویسندگان از واحد پژوهش و فناوری این دانشگاه، کمال تشکر و قدردانی را دارند..

References

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]

[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

[1] Sheydaei P, Bayrami A, Azizian Y, Parvinroo S. Study on the toxicity effects of Zinc Oxide nanoparticles on hematological and serum parameters in mice. *J. Arak. Uni. Med. Sci* 2017; 19(115): 39-47.

[2] Khalil K, Fouad H, Elsarnagawy T, Almajhdi F. Preparation and characterization of electrospun PLGA/silver composite nanofibers for biomedical applications. *International J Electrochem Sci* 2013; 8: 3483–93.

[3] Dizaj SM, Lotfipour F, Barzegar-Jalali M, Zarrintan MH, Adibkia K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mat Sci Eng C Mater* 2014; 44: 278-84.

[4] Bayrami A, Alioghli S, Rahim Pouran S, Habibi-Yangjeh A, Khataee A, Ramesh S. A facile ultrasonic-aided biosynthesis of ZnO nanoparticles using Vaccinium arctostaphylos L. leaf extract and its antidiabetic, antibacterial, and oxidative activity evaluation. *Ultrason Sonochem* 2019; 55: 57-66.

[5] Rahim Pouran S, Bayrami A, Mohammadi Arvanagh F, Habibi-Yangjeh et al. Biogenic integrated ZnO/Ag nanocomposite: Surface analysis and in vivo practices for the management of type 1 diabetes complications. *Colloied Surface B* 2020; 189: 110878.

[6] Mohammadi-Aloucheh R, Habibi-Yangjeh A, Bayrami A, Latifi-Navid S, Asadi A. Green synthesis of ZnO and ZnO/CuO nanocomposites in Mentha longifolia leaf extract: characterization and their application as anti-bacterial agents. *J. Mater. Sci Mater.* 2018: 596-605.

[7] Shibano M, Lin AS, Itokawa H, Lee KH. Separation and characterization of active flavonolignans of Silybum marianum by liquid chromatography connected with hybrid ion-trap and time-of-flight mass spectrometry (LC-MS/IT-TOF). *J Nat Prod* 2007; 70(9): 1424-8.

[8] Deep G, Agarwal R. Antimetastatic efficacy of silibinin: molecular mechanisms and therapeutic potential against cancer. *Cancer Met Rev* 2010; 29(3): 447-63.

[9] Bayrami A, Haghgooie S, Rahim Pouran S, Mohammadi Arvanag F, Habibi-Yangjeh A. Synergistic antidiabetic activity of ZnO nanoparticles encompassed by Urtica dioica extract. *Adv Powder Technol* 2020; In press.

[10] Kenneth K, Wong Y, Liu X. Silver nanoparticles the real silver bullet in clinical medicine. *Med Chem Commun* 2010; 1: 125-31.

[11] Prabhu YT, Rao KV, Kumara BS, Sai kumar VS, Pavani T. Synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles and its

antibacterial application. *Int Nano Lett* 201; 5(2): 85-92.

[12] Maddy SA, Raheed QJ, Kalaichelvan PT. Antimicrobial activity of zero-valant iron nanoparticles. *International Journal Mod Eng Res* 2012; 2(1): 578-81.

[13] Lapresta-Fernandez A, Fernandez A, Blasco J. Nanoecotoxicity effects of organisms. *Trends Anal Chem* 2012; 32: 40-59.

[14] Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med* 2004; 10(S12): S122-9.

[15] Panacek A, Kvitek L, Semekalova M, Vecerova R, Kolar M, Roderova M, et al. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nat Nanothechnol* 2017; 13(1): 65-71.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]

[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]

Characterization and Evaluation of Antimicrobial Effects of ZnO/Ag Nanoparticles Synthesized by Milk Thistle Seed Extract (*Silybum marianum*): A Short Report

A. Bayrami[۱], F. Mohammadi Arvanagh[۲], S. Zahri[۳], M. Bayrami[۴]

Received: 26/01/2020 Sent for Revision: 14/03/2020 Received Revised Manuscript: 08/06/2020 Accepted: 09/06/2020

Background and Objectives: The use of nanotechnology is rapidly expanding in various fields, especially in the health and pharmaceutical fields. The purpose of this study was to produce biological Zinc Oxide (ZnO) and silver (Ag) nanoparticles (NPs) using extract of milk thistle seeds and to determine their antibacterial properties.

Materials and Methods: In this laboratory study, biological NPs were synthesized using aqueous extract of milk thistle, and ZnO NPs were chemically synthesized as well. After investigating the structural properties, the antibacterial effects of the nanomaterials on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were studied at the concentrations of 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 and 0 (control) mg/ml.

Results: The size of the biologically synthesized ZnO/Ag NPs was determined (17.5 nm), which was smaller than the chemical NPs (22 nm). Due to smaller size, it could have more bioactivity. Furthermore, the presence of organic compounds in the structure of NPs was confirmed. Both types of NPs showed dose-dependent antibacterial effects. Despite high sensitivity of bacteria to the biological NPs, this difference was statistically significant only at theconcentration of 0.8 mg/ml ($p<0.05$).

Conclusion: The findings showed that biological NPs were more effective on the bacterial growth. This could be due to their smaller size and presence of active plant compounds in their structure.

Key words: Milk thistle, Antibacterial, Green synthesis, ZnO/Ag NPs

Funding: This study was funded by University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of University of Mohaghegh Ardabili approved the study.

How to cite this article: Bayrami A, Mohammadi Arvanagh F, Zahri S, Bayrami Z. Characterization and Evaluation of Antimicrobial Effects of ZnO/Ag Nanoparticles Synthesized by Milk Thistle Seed Extract (Silybum marianum): A Short Report. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 19 (5): 539-48. [Farsi]

1- Associate Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, ORCID: 0000-0001-7002-8605 (Corresponding Author) Tel: (045) 31505187, Fax: (045) 33514701, E-mail: a_bayrami@uma.ac.ir

2- MSc in Animal Physiology, Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, ORCID: 000-0003-3505-890X

3- Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, ORCID: 0000-0002-1470-7694

4- PhD in Veterinary Medicine, Azad University of Tabriz, Tabriz, Iran, ORCID: 0000-0002-7782-6594

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-12-04]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.2.3]

[DOI: 10.29252/jrums.19.5.539]