مجله دنیای میکروب‌ها
سال هشتم شماره اول (پیاپی ۲۲) بهار ۱۳۹۴
صفحات ۲۵-۱۸

Original Article

اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از تراوش های بذر علف هرز بر *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس*

مهرداد خاتمی*[۱]، شهرام پورسیدی[۲]، منوچهر خاتمی[۳]، کی قباد کیکاوسی[۴]

[۱] کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنرکرمان، [۲] استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۳] دانشجوی تخصص، گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، [۴] استادیار ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زاهدان، سیستان و بلوچستان، گروه فنی و مهندسی

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به خاصیت ضد میکروبی نقره و افزایش این خاصیت در مقیاس نانو، می توان از آن در مبارزه با عوامل مختلف بیماری زا بهره برد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از تراوش های بذر علف هرز بر روی سویه های استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس* انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی نانوذرات نقره با استفاده از تراوش های بذر علف هرز جغجغه سنتز شدند. نانوذرات سنتزی با استفاده از طیف سنجی ماورابنفش- مرئی، پراش اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی گذاره مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده، از روش رقت سازی لوله ای استفاده شد.

یافته ها: سنتز نانوذرات نقره با آنالیز طیف سنجی ماورابنفش- مرئی و پراش اشعه ایکس تایید گردید. میکروسکوپ الکترونی سنتز نانوذرات نقره با قطری در محدوده ۵ تا ۳۵ نانومتر را نشان داد. کمترین غلظت مهارکنندگی برای باکتری های *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب ۱/۵۶ و ۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی ۳/۱۲ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد.

نتیجه گیری: سنتز زیستی با استفاده از تراواش های بذر علف هرز جغجغه روشی بسیار کم هزینه و بدون نیاز به مصرف انرژی است. توانایی استفاده از علف هرز جغجغه در سنتز نانو ذرات نقره باعث می شود که بتوان از این گیاه که مصرف مفیدی ندارد، به عنوان یک منبع زیستی مفید برای سنتز نانو ذرات نقره در مقیاس صنعتی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، علف هرز، کمترین غلظت باکتری کشی، کمترین غلظت مهارکنندگی.

دریافت مقاله: مهر ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: دی ماه ۹۳

مقدمه

ذرات با اندازه ای در مقیاس ۱ تا ۱۰۰ نانومتر، نانوذرات نامیده می شوند. علاوه بر ترکیب و ساختار، ابعاد مواد نیز یکی از عوامل موثر بر خواص مواد است که می تواند موادی با ویژگی های جدید تولید نماید. با ظهور نانوتکنولوژی و با توجه به خاصیت ضد میکروبی نقره و افزایش این خاصیت در مقیاس نانو، می توان از آن در مبارزه با عوامل بیماری زای مختلف انسانی و حیوانی نیز بهره مند شد. نانوذرات نقره کاربرد های فراوانی در علوم مختلف مانند پزشکی، داروسازی، فیزیک و شیمی دارند (۱).

نانوذرات نقره به دلیل رسانایی مناسب، پایداری شیمیایی، خواص کاتالیتیک، فتونیک و اپتوالکترونیک بسیار مورد توجه محققان هستند (۲ و ۳). در زمینه تحقیقات مرتبط با علوم

*) آدرس برای مکاتبه: کرمان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، گروه بیوتکنولوژی.
تلفن: ۰۹۳۶۲۶۶۲۸۸۲ پست الکترونیک: Mehrdad7khatami@gmail.com

زیست شناسی، نانوذرات نقره به عنوان عامل باکتری کش استفاده شده اند. اخیراً در ردیابی DNA نیز کاربرد پیدا کرده اند (٤ و ٥). با توسعه علم نانوتکنولوژی و تولید نانوذرات نقره، استفاده از نقره به عنوان ماده باکتری کش قدرتمند رونق یافته است (٦). به منظور سنتز نانوذرات، روش های فیزیکی، زیستی و شیمیایی متفاوتی عرضه شده اند. از میان روش های فیزیکی و شیمیایی می توان به روش های فرسایش لیزری (۷)، امواج میکروویو (۸)، روش احیای شیمیایی(۹)، احیای الکتروشیمیایی(۱۰) و لیتوگرافی (۱۱) اشاره نمود. از معایب این روش ها، استفاده از عوامل احیا کننده و مصرف انرژی است که از یک سو می توانند برای سلامتی انسان و محیط زیست خطرات بالقوه داشته باشند و از سوی دیگر در تولید در مقیاس صنعتی هزینه بر بوده و توجیه اقتصادی ندارند (۹-۷).

با توجه به هزینه های بالای سنتز شیمیایی و افزایش مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها، بررسی تولید زیستی نانوذرات نقره با صرف انرژی و هزینه بسیار کم نسبت به روش شیمیایی و بدون نیاز به حلال ها آلی و نیز تاثیر ضد میکروبی نانوذرات نقره حائز اهمیت می باشد. امروزه روش های زیستی سنتز نانوذرات توسعه یافته اند تا نانوذراتی سازگار با محیط زیست و ارزان قیمت تولید نمایند. بیوسنتز نانوذرات به وسیله میکروب ها به عنوان یک جایگزین مناسب در تولید نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است (۱۲).

سنتز سبز نانوذرات نقره توسط باکتری ها و قارچ های مختلف قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته است. از مایع روماند کشت قارچ *فوزاریوم مونیلیفورم* (*Fusarium moniliforme*) به منظور تولید نانوذرات نقره در مقیاس آزمایشگاهی استفاده شده است (۱۳). کلاوس (Klaus) و همکاران تولید نانوذرات نقره شش ضلعی و نیز کروی را در باکتری *سودوموناس استوتزری* (*Pseudomonas stutzeri* AG259) ثابت کرده اند (١٤).

سنتز سبز با استفاده از گیاهان نیز انجام شده است. در سال ۲۰۱۰ سنتز نانوذرات نقره با استفاده از پوست موز گزارش گردید (۱۵). باکتری *باسیلوس سرئوس* (*Bacillus cereus*) مهمترین عامل مسمویت های غذایی و *آسینتوباکتر بامانی* (*Acinetobacter baumannii*) به عنوان یکی از شایع ترین عوامل عفونت زای زخم های سوختگی مطرح می باشند. با توجه به مقاوم شدن این سویه های بیماری زا نسبت به آنتی بیوتیک های رایج و همچنین تولید بیوفیلم، یافتن مواد ضد میکروبی جدید ضروری است.

هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از تراوش های بذر علف هرز جغجغه (*P. farcta*) بر روی سویه های استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس* بود.

مواد و روش ها

الف) تهیه تراوش بذر: ۱۰ گرم بذر جغجغه از محوطه دانشگاه علوم پزشکی کرمان جمع آوری شد. نمونه ها به منظور حذف گرد و خاک سطحی، دو بار و هر بار یک دقیقه با آب شستشو داده شدند. در مرحله بعد بذرها به مدت چهار دقیقه با محلول هیپوکلرید سدیم با غلظتی معادل ۳۰ درصد غلظت وایتکس تجاری ضد عفونی شستشو داده شدند. سپس سه بار و هر بار به مدت دو دقیقه با آب دوبار تقطیر استریل شستشو گردیدند. در نهایت بذرها به مدت دو دقیقه با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و سپس سه بار و هر بار دو دقیقه با آب دیونیزه استریل شستشو شدند. به منظور تهیه تراوش های بذر، بذرهای ضدعفونی شده به ارلن حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه استریل اضافه گردید و به مدت دو روز در دمای ۲۸ درجه سیلیسیوس و در تاریکی قرار داده شدند. سپس بذرها بیرون ریخته شدند و مایع باقی مانده برای جداسازی هر گونه ذرات درشت با استفاده از کاغذ واتمن شماره ٤۲ فیلتر گردید و در دمای ٤ درجه سیلیسیوس در تاریکی نگهداری شد (١٦). سپس از عصاره حاصل برای سنتز نانوذرات نقره استفاده گردید.

ب) سنتز نانوذرات نقره: ابتدا یک محلول ذخیره (استوک) نیترات نقره با غلظت ۰/۱ مولار از طریق حل نمودن ۰/۸٤٥ گرم نیترات نقره (مرک، آلمان) در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه تهیه شد. ۵ میلی لیتر از تراوش های بذر علف هرز جغجغه در

دمای ۲۵ درجه سیلیسیوس (دمای اتاق) به ۱۰ میلی لیتر محلول نیترات نقره بدون همزنی اضافه گردید (۱۷). حجم نهایی مخلوط واکنش (تراوش ها + نیترات نقره) ۱۵ میلی لیتر و غلظت نهایی نیترات نقره ٤ میلی مولار بود. به این ترتیب که ٦۰۰ میکرولیتر محلول نیترات نقره در ۹/٤ میلی لیتر آب دیونیزه برای رسیدن به حجم نهایی ۱۰ میلی لیتر حل شدند. سپس ۵ میلی لیتر از تراوش های بذر به این ۱۰ میلی لیتر اضافه گردید.

ج) تعیین ویژگی فیزیکو شیمیایی نانوذرات نقره: سنتز نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه طیف سنجی ماورابنفش-مرئی جذبی از نوع Scan Drop محصول شرکت Analytic gena ساخت آلمان در محدوده ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر بررسی شد. پراش اشعه ایکس با استفاده از دستگاه PANalitical, X'PERT pro ساخت هلند و با تابش λ=1.54 Å در زاویه ۲ تتا در محدوده ۲۰-۸۰ انجام پذیرفت. به منظور تعیین اندازه، شکل و نحوه توزیع نانوذرات نقره عکس برداری الکترونی عبوری با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی ZEISS ساخت آلمان (۸۰ Kb) انجام گرفت (۱۵).

د) سویه های میکروبی و روش بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره: سویه میکروبی استاندارد *باسیلوس سرئوس* (ATCC 14579) و *آسینتوباکتر بامانی* (ATCC ۱۹٦۰٦) از بخش میکروب شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه گردید.

به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده از روش ماکرودیلوشن استفاده شد. برای هر باکتری یک سری ۱۰ لوله ای از رقت های مختلف نانوذرات نقره تهیه گردید. لوله ها حاوی یک میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) حاوی غلظت های ۸۰۰ ، ٤۰۰ ، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ٦/۲۵، ۳/۱۲ و ۱/۵٦ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذرات نقره بودند. از کشت یک روزه باکتری های مورد بررسی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان)، با استفاده از سدیم کلرید (۰/۹ درصد)، کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه و به تمامی رقت ها در لوله ها معادل یک میلی لیتر اضافه شد. این امر باعث کاهش غلظت نانوذرات درون لوله ها به نصف گردید. به طوری که غلظت ها به ٤۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ٦/۲۵، ۳/۱۲ و ۱/۵٦ و ۰/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر تغییر یافتند. سپس نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفتند.

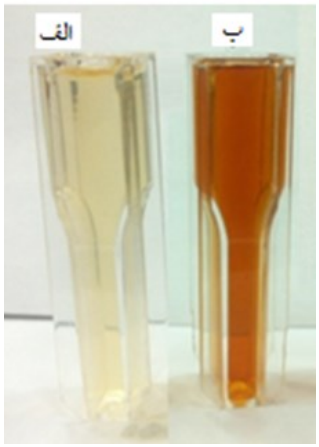
به عنوان کنترل مثبت درون یک لوله تنها محیط کشت مولر هینتون براث همراه باکتری تلقیح و گرماگذاری گردید.

برای کنترل منفی و به منظور اطمینان از استریل بودن مراحل انجام کار و سوسپانسیون نانوذرات نقره سنتز شده، درون یک لوله تنها یک میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث و در لوله دیگری یک میلی لیتر محیط کشت مولر هینتون براث حاوی محلول های نانو ذرات نقره با غلظت نیم میکروگرم بر میلی لیتر اضافه شد. در نهایت برای بررسی اثر ضد میکروبی تراوش های بذر گیاه جغجغه یک لوله محیط کشت حاوی غلظتی برابر غلظت تراوش های به کار رفته در سنتز نانوذرات نقره تهیه گردید. سپس همراه با نمونه های مورد بررسی گرماگذاری گردید. در ادامه لوله های حاوی کشت باکتری ها، به صورت چشمی در مقابل نور مستقیم از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری بررسی شدند. کمترین غلظت مهار کننده رشد باکتری (MIC) تعیین گردید. به منظور اطمینان از مرگ سلول های باکتریایی و تعیین کمترین غلظت باکتری کشی (MBC) از لوله هایی که فاقد کدورت بودند ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و بر روی محیط مولر هینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. برای اطمینان از نتیجه آزمایش ها، تمامی آزمون ها سه بار تکرار و نتایج با یکدیگر مقایسه گردیدند (۱۸).

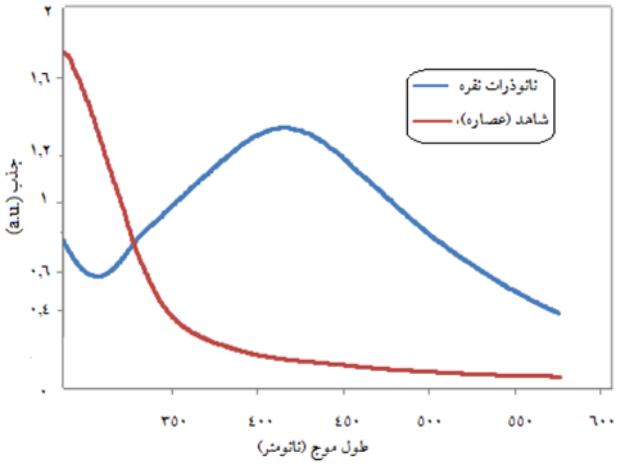
یافته ها

الف) سنتزنانوذرات نقره: نانوذرات نقره به وسیله تراوش های بذر علف هرز جغجغه از محلول نیترات نقره سنتز گردید. شکل ۱ تغییر رنگ عصاره از زرد روشن به خرمایی شفاف که بیان گر تشکیل نانوذرات نقره می باشد را نشان می دهد.

ب) طیف سنجی ماورابنفش- مرئی: نتایج طیف سنجی



شکل ۱: تغییر رنگ تراوش های بذر جغجغه (الف) بعد از تشکیل نانوذرات نقره (ب).



شکل ۲: گراف اسپکتروفتومتری جذبی قبل و بعد از سنتز نانو ذرات نقره.

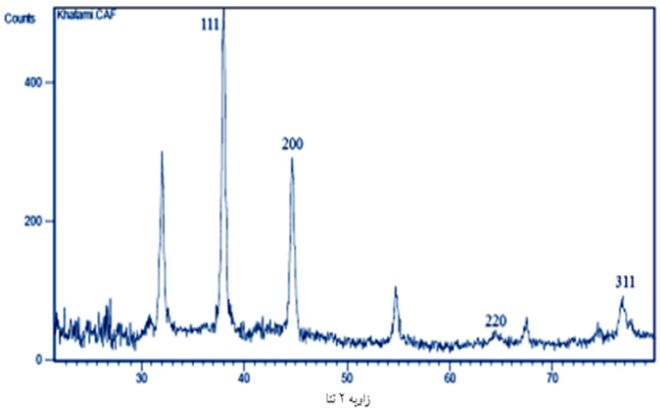
ماورابنفش- مرئی حاصل از تراوش های بذر علف هرز جغجغه تیمار شده قبل (تراوش ها به تنهایی) و بعد از سنتز نانوذرات نقره در شکل ۲ آورده شده است. پیک جذبی حداکثر در منحنی به دست آمده از تراوش ها پس از سنتز نانوذرات نقره، در محدوده ٤۰۰ تا ٤۵۰ نانومتر بیانگر سنتز نانوذرات نقره می باشد.

ج) پراش اشعه ایکس (X-ray diffraction): الگوی پراش اشعه ایکس تراوش های بذر علف هرز جغجغه تیمار شده با نیترات نقره، چهار پیک مجزا در زوایای ۳۸/۱۱، ٤٤/۳۸، ٦٤/٤٤ و ۷۷/٤۲ که به ترتیب مرتبط با سطوح ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ است را نشان داد. این یافته نشان دهنده تشکیل ساختار کریستالی نانوذرات نقره می باشد (شکل ۳).

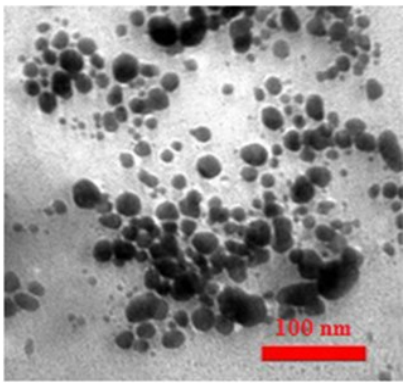
د) عکس برداری الکترونی گذاره (TEM): با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره تشکیل نانوذرات نقره کروی شکل اثبات گردید (شکل ٤).

نمودار توضیح اندازه نانوذرات مشاهده شده در میکروگراف الکترونی که با استفاده نرم افزار اکسل رسم شده در نمودار ۱ نشان داده شده است. نانوذرات نقره سنتز شده قطری در محدوده ۵-۳۵ نانومتر با بیشترین فراوانی در محدوده اندازه ۲۰-۲۵ نانومتر را نشان دادند.

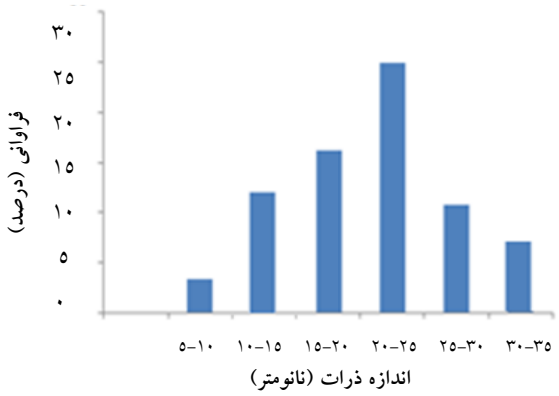
ه) اثرات ضد باکتریایی: کمترین غلظت مهارکنندگی و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذرات نقره بر روی سویه های استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس* تعیین گردید. در این مطالعه کمترین غلظت مهارکنندگی برای باکتری *آسینتوباکتر*



شکل ۳: الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات نقره سنتز شده با تراوش های بذر علف هرز جغجغه.



شکل ٤: عکس تهیه شده از نانوذرات نقره سنتز شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی گذاره.



نمودار ۱: توضیح اندازه نانوذرات نقره سنتز شده، مشاهده شده در میکروسکوپ الکترونی گذاره.

بامانی معادل ۱/۵٦ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی ۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود. در حالی که کمترین غلظت مهارکنندگی برای باکتری *باسیلوس سرئوس* کمترین غلظت مهارکنندگی ۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی ٦/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد (جدول ۱).

نانوذرات سنتز شده اثر باکتری کشی معنی داری بر روی نمونه های مورد آزمایش داشتند. به طوری که در غلظت بسیار پایین از رشد باکتری ها جلوگیری نمودند. در حالی که تراوش های بذر جغجغه در غلظت مورد استفاده برای سنتز فاقد هر گونه اثر ضد میکروبی بود.

بحث

پس از ظهور و افزایش مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها، تحقیقات بسیاری برای کشف مواد جایگزین آنتی بیوتیک ها انجام گردید. در سال ۱۹٦۰ از نیترات نقره ۵ درصد برای درمان سوختگی ها استفاده شد (۱۹). با پیشرفت علم نانوتکنولوژی در سال ۲۰۰٤ با بررسی اثرات نانوذرات نقره بر روی باکتری *اشریشیا کلی* آن ها را به عنوان عوامل ضد میکروبی جدید معرفی نمودند (۲۰). با توجه به روش های متفاوتی که برای سنتز نانوذرات نقره وجود دارد، روش بیوسنتز مقرون به صرفه تر می باشد.

در مطالعه حاضر اثر نانوذرات نقره بر روی سویه های استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* و *باسیلوس سرئوس* بررسی گردید. در گزارش های ارائه شده، نتایج متفاوتی حاصل شده است. کریشنا راج (Krishnaraj) و همکاران کمترین غلظت مهارکنندگی نانوذرات نقره را بر روی هر دو سویه استاندارد *اشریشیا کلی* و *ویبریو کلرا* (*Vibrio cholera*) معادل ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش نمودند (۲۱). این میزان تقریباً ۱۰ برابر بیشتر از غلظت تعیین شده در مطالعه حاضر است.

در سال ۲۰۰۹ تاثیر نانوذرات نقره با میانگین اندازه ۷ و ۷۰ بر روی *اشریشیا کلی* و *سودوموناس ائوروس* و *باسیلوس سوبتیلیس* مورد بررسی قرار گرفت. کمترین غلظت مهار کنندگی نانوذرات نقره بر روی هر سه سویه برای نانوذرات نقره با میانگین قطر ۷ نانومتری به ترتیب برابر با ۳ ، ۲ و ۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر بود. کمترین غلظت مهار کنندگی برای نانوذرات نقره با میانگین قطر ۷۰ نانومتر، برای *اشریشیا کلی* و *سودوموناس ائوروس* به ترتیب ۳٤ و ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد (۲۲). که به مراتب تاثیر بسیار کمتری نسبت به نانوذرات نقره سنتز شده در پژوهش حاضر دارد. دلیل تفاوت در نتایج ارائه شده را می توان به تفاوت ساختاری و ژنتیکی

جدول ۱: نتایج اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره در غلظت های مختلف.

سویه باکتری	غلظت های نانوذرات نقره (میکروگرم بر میلی لیتر)								
	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۳/۱۲	۱/۵۶	۰/۷۸
آسینتوباکتر بامانی	-	-	-	-	-	-	-	- **	- *	+
باسیلوس سرئوس	-	-	-	-	-	-	- **	- *	+	+

+ : رشد باکتری - : عدم رشد باکتری
*: کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC)
** : کمترین غلظت باکتری کشی (MBC)

گونه و کارایی ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده با تراوش های بذر گیاه جغجغه نسبت داد.

از طرف دیگر در سال ۲۰۱۰ غلظت مهار کنندگی رشد چهار آنتی بیوتیک بر روی سویه استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* 19606 منتشر شد (۲۳). نتایج نشان داد که غلظت مهار کنندگی رشد آنتی بیوتیک های کلیستین، پلی میکسین B، سفپمین، تیکوپلانین و آزیترومایسن به ترتیب ۱، ۰/۵، ۱٦، ۱۲۸ و ٦٤ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. با مقایسه غلظت مهار کنندگی رشد نانوذرات استفاده شده در این تحقیق بر روی سویه استاندارد *آسینتوباکتر بامانی* مشخص می شود که نانوذرات نقره تقریباً اثری مشابه با کلیستین، پلی میکسین B و تاثیر بسیار بهتری نسبت به سایر آنتی بیوتیک های مورد آزمایش دارند.

اسدیان (Asadian) و همکاران در سال ۲۰۱٤ با استفاده از نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی، غلظت مهار کنندگی رشد باکتری *باسیلوس سرئوس* را ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر اعلام نمودند (۲٤). در حالی که نتایج ما نشان داد که غلظت مهار کنندگی نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با تراوش های بذر علف هرز جغجغه ۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر است که اثر ضد میکروبی بسیار قوی تری نسبت به نانوذرات سنتز شده با روش شیمیایی دارد.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که سنتز نقره با استفاده از تراوش بذر علف هرز جغجغه بدون نیاز به صرف انرژی و مواد اولیه گران قیمت، قابلیت تولید در مقیاس صنعتی را دارا می باشد. با توجه به این که نانوذرات نقره تولید شده اثر ضد میکروبی معنی داری بر روی سویه های مورد آزمایش داشتند، این نانوذرات می توانند به عنوان ماده ضد عفونی کننده موثر برای گندزدایی پسماند های بیمارستانی و استریل نمودن محیط اتاق عمل مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از بخش بیوتکنولوژی دانشگاه شهید باهنر کرمان، به خصوص جناب آقای دکتر جعفر ذوالعلی به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. Trends Biotechnol. 2010; 28: 580-588.
2. Shipway AN, Katz E, Willner I. Nanoparticle arrays on surfaces for electronic, optical and sensor applications. Chem Phys Chem J. 2000; 1: 18-52.
3. Hussain S, Pal AK. Incorporation of nanocrystalline silver on carbon nanotubes by electrode position technique. Mater Lett. 2008; 62: 1874-1877.
4. Cho KH, Park JE, Osaka T, Park S. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochim Acta. 2005; 51: 956-960.
5. Cao YWC, Jin RC, Mirkin CA. Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. Sci. 2002; 297: 1536-1540.
6. Jiang HQ, Manolache S, Wong ACL, Denes FS. Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. J Appl Polym Sci. 2004; 93: 1411-1422.
7. Tsuji T, Kakita T, Tsuji M. Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water. Appl Surf Sci. 2003; 206: 314-320.
8. Speth TF, Varma RS. Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures. Accounts Chem Res. 2011; 44: 469-478.

9. Faure C, Derre A, Neri W, Spontaneous formation of silver nanoparticles in multilamellar vesicles. J Phys Chem B. 2003; 107: 4738-4746.

10. Zhang YH, Chen F, Zhuang JH. Tang Y, Wang D. Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. Chem Commun. 2002; 23: 2814-2815.

11. Jensen TR, Malinsky MD, Haynes CL, Duyne RPV. Nanosphere lithography: tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles. J Phys Chem. 2000; 104: 10549-10556

12. Verma VC, Kharwar RN, Gange AC. Biosynthesis of noble metal nanoparticles and their application. Nutr Nat Resour. 2009; 4: 1-17.

13. Ashrafi SJ, Rastegar MF, Jafarpour B, Kumar SA. Use of plant pathogenic fungi *Fusarium moniliforme* for biosynthesis of silver nano particles with emphasis to time. Euro Cell Material. 2010; 20: 1-8.

14. Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist CG. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. Proc Natl Acad Sci. 1999; 96: 13611-13614.

15. Bankara A, Joshi B, Ravi A, Kumara,b, Zinjardea S. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. Colloids and surfaces A: Physicochem. Eng Aspects 2010; 368: 58-63.

16. Lukman AI, Gong B, Marjo CE, Roessner U, Harris AT. Facile synthesis, stabilization, and antibacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. J Colloid Interf Sci. 2011; 353: 433-444.

17. Singh KM, Panghal S, Kadyan U, Yadav JP. Antibacterial activity of synthesized silver nanoparticles from *Tinospora cordifolia* against multi drug resistant strains of *Pseudomonas* aeruginosa isolated from burn patients. Nanomed Nanotechnol. 2014; 5(2): 1-6.

18. Petrus EM, Tinakumari S, Chai LC, Ubong A, Tunung R, Elexson N, Chai LF, Son R. A study on the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Nano Colloidal Silver on food-borne pathogens. Int Food Res J. 2011; 18: 55-66.

19. Moyer CA, Brentano L, Gravens DL, Margraf HW, Monafo WW. Treatment of large human burns with 0.5% silver nitrate solution. Arch Surg. 1965; 90: 812-817.

20. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci. 2004; 275: 177-182.

21. Krishnaraj C, Jagan EG, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan PT, Mohan N. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Coll surfa B: Biointerfaces. 2010; 76: 50-56.

22. Khaydarov RR, Khaydarov RA, Estrin Y, Evgrafova S, Scheper T, Endres C, Cho SY. Silver nanoparticles nanomaterials: Risks and benefits. NATO Science for Peace and Security Series C: Environ Security. 2009; 287-297.

23. Moffatt JH, Harper M, Harrison P. Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide Production. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54(12): 4971-4977.

24. Asadian S, Ghahfarokhi1, Naji T, Mazdapour M, Kazemi J, Tajehmiri A. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Bacillus cereus*. Int J Basic Sci. 2014; 2(2): 6-11.

Journal of Microbial World
Volume 8, No. 1, April 2015

Original Article

Antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized using weed seed exudates against of *Bacillus cereus* and *Acinetobacter baumannii*

Mehrdad Khatami[1], **Shahram Porseyedi**[2], **Manoochehr Khatami**[3], **Keighobad Keikvousi**[4]

[1] MS.c., Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kerman Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran.
[2] Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kerman Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran.
[3] Resident, Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
[4] Assistant Professor, Department of Engineering, Islamic Azad University, Zahedan branch, Systan va Balochestan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Due to the antimicrobial ability of silver and increases in these ability at nano-levels, it is possible to use silver nanoparticles for treatment of infections. This study was aimed to evaluate antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized using weed seed exudates against of *Bacillus cereus* and *Acinetobacter baumannii*.

Materials & Methods: In this sectional study, silver nanoparticles were synthesized using *Prosopis farcta* seed exudates and analyzed with UV-vis spectrophotometer, X-ray diffraction and transmission electron microscopy. The broth macro dilution method was used to investigate the antibacterial effects of silver nanoparticles.

Results: Synthesis of silver nanoparticles was confirmed using UV-vis spectroscopy and X-ray diffraction analysis. Transmission electron microscopy showed the production of nanoparticles with 5-35 nm diameters. The minimum inhibitory concentrations against *A. baumannii* and *B. cereus* were 1.56 and 3.12 µg/mL and minimum bactericidal concentrations of 3.12 and 6.25 µg/mL, respectively.

Conclusion: Biological synthesis of nanoparticles using *P. farcta* seed exudates is a very cost effective method and there is no need to energy sources. The ability to synthesize silver nanoparticles using *P. farcta* can make this agricultural-useless plant as a biological source for the synthesis of nanoparticles using.

Keywords: Silver nanoparticles, Weed, Minimum bactericidal concentration, Minimum inhibition concentration.

Correspondence to: Mehrdad Khatami

Tel: +989362662882

E-mail: Mehrdad7khatami@gmail.com

Journal of Microbial World 2015, 8(1): 18-25.