سنتز بیولوژیکی نانوذرات نقره از صمغ درختان و بررسی اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره و مس

لطیفه پوراکبر[۱*]، فروغ یوسف زایی[۱]، خلیل فرهادی[۲]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲) گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۴**

چکیده

مقدمه: علاقه در استفاده از روش های دوستدار محیط زیست در سنتز نانوذرات بدون استفاده از مواد خطرناک برای محیط زیست و سلامت انسان رو به رشد بوده است. هدف از این مطالعه بیوسنتز نانوذرات نقره از صمغ درختان مختلف و بررسی سمیت نانوذرات و نمک های آن ها در برابر دو باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه نانوذرات نقره(SNPs) از عصاره مان بلوط و صمغ گیلاس و زرآلود سنتز شد و فعالیت ضدباکتریایی آن ها مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات نقره از احیاء نیترات نقره تهیه شد. نانوذرات مس توسط احیاء کلرید مس با L-آسکوربیک اسید تشکیل گردید. مشخصه های نانوذرات تهیه شده با استفاده از روش اولتراسپکتروفتومتر و میکروسکوپ الکترونی گذاره تعیین گردید. فعالیت ضدباکتری نانوذرات در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته های پژوهش: در مطالعه حاضر بیوسنتز و مشخصه های نانو SNPs با استفاده از صمغ گیلاس و زردآلو برای اولین بار گزارش گردید. طیف مخلوط واکنش نشان داد که ماکزیمم جذبی در طول موج ۴۲۰ نانومتر بود. تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان داد که نانوذرات تشکیل شده کروی شکل با اندازه ۱۰ تا ۳۰ نانومتر بود. باکتری های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت واضحی را نسبت به نانوذرات نقره و مس نشان دادند که اثر نانوذرات نقره نسبت به مس مشهودتر بود. آنالیز داده ها نشان داد که کلرید مس و نیترات نقره اثر بازدارندگی کمتری نسبت به نانوذرات داشتند.

بحث و نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که میکروارگانیسم ها در برابر نانوذرات مورد آزمایش حساس بودند. به هر حال باکتری اشریشیاکلی از حساسیت بیشتری نسبت به استافیلوکوکوس‌اورئوس به هر دو نانوذره نشان داد.

واژه های کلیدی: نانوذرات نقره و مس، فعالیت ضدمیکروب، صمغ درختان

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email:1.Pourakbar@urmia.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

امروزه استفاده از نانوذرات نقره در صنایع مختلف گسترش پیدا کرده است. نانوذرات نقره قبلاً به روش های شیمیایی و فیزیکی تولید می شد که خطرناک و بسیار پر هزینه بودند. امروزه از مواد بی خطر محیطی مثل عصاره های گیاهی(۱)، باکتری ها(۲)، قارچ ها(۳) و آنزیم ها(۴) برای سنتز نانوذرات نقره استفاده می شود. این روش ها کم هزینه و دوست دار طبیعت بوده و به راحتی در مقیاس وسیع تولید شده و نیازی به فشار بالا، انرژی، دما و مواد شیمیایی سمی نیست. از طرف دیگر قابلیت استفاده برای داروسازی و دیگر کاربردهای پزشکی را دارد(۵). نانوذرات نقره به طور عمده در محصولاتی مثل لباس، وسایل آرایشی، مکمل ها و افزودنی های رژیم غذایی، شوینده ها، تهویه هوا، اسپری، فیلترهای آب، کیبورد لپ تاپ و تلفن و اسباب بازی ها و غیره استفاده می شود(۶) این استفاده گسترده از نانوذرات نقره، باعث نگرانی هایی درباره اثر نانوذرات بر محیط زیست شده است.

نقره و مس از دیر باز به داشتن خواص ضدمیکروارگانیسمی قوی شناخته شده اند. در نتیجه ترکیبات نقره و مس به طور وسیعی برای درمان سوختگی ها و طیف وسیعی از عفونت ها استفاده می شدند(۷). ظهور مداوم مقاومت به آنتی بیوتیک ها در میکروارگانیسم های بیمارگر و فرصت طلب، جوامع علمی را مجبور ساخته است تا دائماً به دنبال داروها و نقاط هدف جدیدتری باشند(۸). آنتی بیوتیک های جدید در دهه گذشته به وسیله صنعت داروسازی معرفی شده اند که هیچ کدام از آن ها از نظر فعالیت علیه مقاومت چندگانه باکتری ها(Multidrug – Resistant Bacteria) اصلاح نشده اند. با توجه به این که فعالیت های ضدمیکروبی نانوذرات اثبات شده است، توسعه کاربردهای بدیع این مواد، آن ها را یک جایگزین جالب برای آنتی بیوتیک ها می سازد. فعالیت باکتری کشی نانوذرات نقره علیه باکتری های گرم مثبت و منفی(به ویژه سویه هایی که مقاومت چندگانه دارند) و هم چنین خاصیت ضدقارچی این نانوذرات گزارش شده است(۹). خاصیت ضدباکتری نانوذرات مس هم مورد مطالعه قرار گرفته است(۱۰). نقره طیف وسیعی از فرآیندهای بیولوژیک در میکروارگانیسم ها را تحت تاثیر قرار می دهد از جمله موجب تغییر ساختار و غشای سلول می شود(۹). نقره هم چنین از بیان پروتئین ها و تولید ATP ممانعت می کند(۱۱). اگر چه مکانیسم های ضدمیکروبی اختصاصی نانوذرات هنوز به طور کامل شناخته نشده است. با این حال چند تئوری در این زمینه پیشنهاد شده است که عبارتند از: ۱) اختلال در تولید ATP و همانندسازی DNA توسط جذب یون های آزاد شده از نانوذرات ۲) واکنش نانوذرات با پروتئین های غشا و تجمع آن ها در دیواره سلولی که منجر به تغییر عمل‌کرد صحیح و تراوایی غشاء می شود. ۳) تولید گونه های فعال اکسیژن(ROS) در حضور نانوذرات و یون های آزاد شده. ۴) آسیب رسانی مستقیم نانوذرات به غشاء(۱۲).

با ظهور نانوتکنولوژی و با توجه به خاصیت ضدمیکروبی نقره و افزایش این خاصیت در مقیاس نانو، می توان از آن در مبارزه با پاتوژن های مختلف گیاهی و جانوری نیز بهره برد. نانوذرات نقره ذراتی آبدوست با تاثیرگذاری بالا و عمل سریع، غیرسمی و غیرآلرژیک و بی ضرر برای انسان می باشند. این ذرات با از بین بردن کامل قارچ ها و باکتری ها، بر خلاف سایر آنتی بیوتیک ها هیچ گونه مقاومتی را در میکروب ها ایجاد نمی کنند(۱۳). نانوذرات حوزه های عمل متعددی دارند، ممکن است برای کنترل بیماری زاهای مختلف گیاهی و جانوری به صورت نسبتاً ایمن تری در مقایسه با قارچ کش های سنتتیک استفاده شوند(۱۴). تحقیقات متنوعی روی اثرگذاری نانوذرات نقره بر کنترل و مبارزه با انواع میکروارگانیسم ها صورت گرفته است.

در این مطالعه اثر غلظت انتخاب شده از نانوذرات نقره و مس و نمک های تشکیل دهنده

آن ها بر روی دو باکتری گرم مثبت و منفی مورد بررسی قرار گرفت. لذا اهداف اصلی این کار پژوهشی سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از صمغ چند گونه درختی و بررسی و مقایسه ضدمیکروبی نانوذرات مس، نقره و نمک های آن ها بود.

مواد و روش ها

سنتز نانوذرات مس: نانوذرات مس بسیار پایدار به وسیله احیا شیمیایی نمک کلریدمس در آب با اسید آسکوربیک به عنوان عامل کاهنده و پایدار کننده آماده شد. برای سنتز نانوذرات مس از روش Jing و همکاران(۱۵) با اندکی تغییر استفاده شد. مقدار ۰/۲ مول از نمک کلریدمس به همراه ۰/۴ مول اسید آسکوربیک در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به طور جداگانه حل شد. سپس بشر حاوی کلرید مس دو آبه تا رسیدن به دمای ۸۰ درجه گرما داده شد. نانوذرات مس به وسیله افزوده شدن قطره قطره اسیدآسکوربیک به محلول کلرید مس آماده شد. این محلول تا زمان تشکیل محلول قهوه ایی تیره رنگ در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت(۱۲ ساعت). محلول نانوذرات حاصل برای ۱۵ دقیقه در دور ۸۰۰۰ سانتریفوژ شد.

سنتز نانوذرات نقره: جهت تهیه عصاره آبی صمغ گیاه گیلاس و زرد آلو ۵ گرم از هر کدام به طور جداگانه با آب دیونیزه شسته شده و به یک ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری منتقل شد و در نهایت مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن افزوده گردید. سپس مخلوط به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت. مخلوط حاصل سه بار با کاغذ صافی فیلتر شده و توسط سانتریفوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه(rpm) به مدت ۲۰ دقیقه خالص سازی شد. این محلول در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده و به مدت یک هفته قابل استفاده می باشد. سپس ۵ میلی لیتر عصاره آبی تازه تهیه شده به ۱۰۰ میلی لیتر از نمک ۱ میلی مولار نیترات نقره افزوده شده بدین ترتیب تغییر رنگ از زرد روشن به قهوه ای(به عنوان اولین نشانه از تشکیل نانوذرات نقره) هم در دمای ذکر شده و هم دمای اتاق رخ داد. کاهش یون های نقره و تشکیل نانوذرات نقره به وسیله اسپکتروفتومتری UV-Vis در طول موج های ۳۰۰ الی ۷۰۰ نانومتر بررسی شد. آنالیز TEM (میکروسکوپ الکترونی گذاره) در آزمایشگاه کفا (زیر مجموعه دانشگاه تهران) انجام شد(۱۶).

مطالعه خاصیت ضدمیکروارگانیسمی نانوذرات: برای مطالعه خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات، باکتری های اشریشیاکلی(ATCC 25922) و استافیلوکوکوس اورئوس(ATCC 12228) از مرکز منطقه ای کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه خریداری شدند. برای مطالعه خاصیت ضدباکتریایی بعد از کشت اولیه باکتری در محیط کشت مولر هینتون سوسپانسیونی از باکتری در غلظت $۱/۵\times۱۰^{۸}$ تهیه و در پتری دیش ها ریخته شد. دیسک های بلانک به نانوذرات نقره و عصاره های گیاهی و نیترات نقره به مقدار ۵۰ میکرولیتر آغشته شدند. دیسک های آماده آنتی بیوتیک های پنی سیلین(µg ۱۰)، جنتامایسین(µg ۱۰)، تتراسایکلین(µg ۳۰) و سفالاکسین(µg ۳۰) هم در محیط کشت قرار گرفتند. بعد از رشد باکتری اثر بازدارندگی با منطقه بازدارندگی که به صورت هاله در دور دیسک ها به وجود می آید، اندازه گیری شد(۱۷).

آنالیز آماری: برای آنالیز داده ها و رسم نمودارها از برنامه های رایانه ای SPSS و Excel استفاده گردید. نتایج به صورت مقادیر میانگین سه تکرار و خطای استاندارد(±SE) میانگین بیان شده است. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون ANOVA و دانکن در سطح ۵ درصد، در صورت معنی دار بودن اثر عوامل آزمایشی انجام شد.

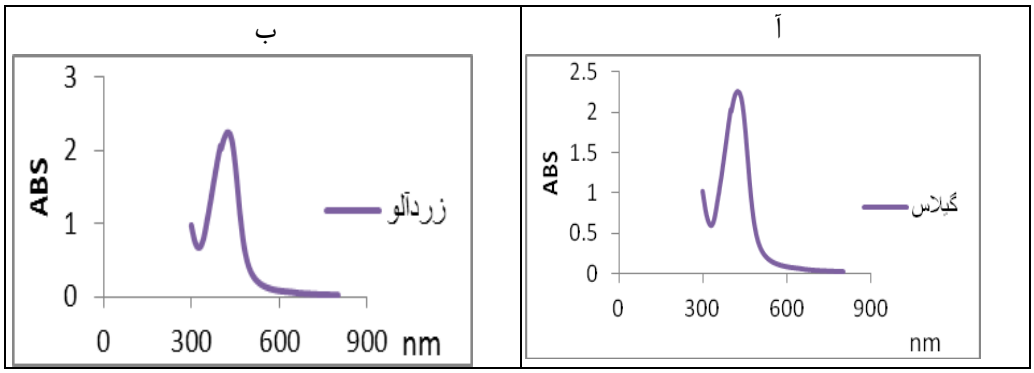
یافته های پژوهش

سنتز نانوذرات نقره: کاهش یون های نقره به نانوذرات نقره در کنار عصاره صمغ های درختی با تغییرات رنگ همراه بود(شکل شماره ۱). تشکیل نانوذرات به وسیله اسپکتروفتومتر

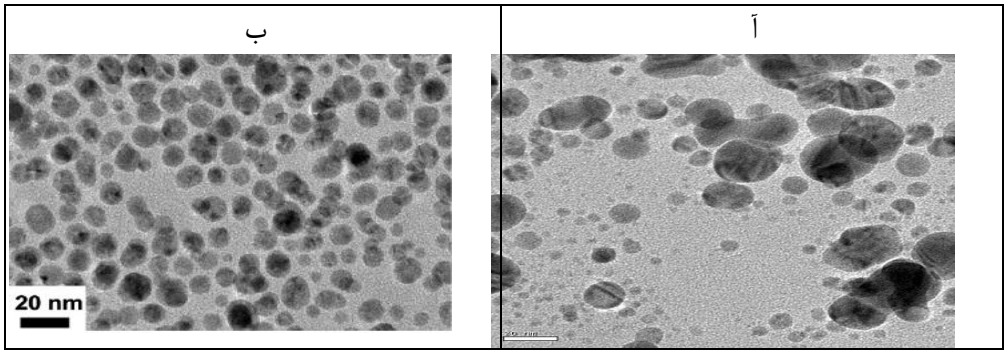
UV-Vis تعیین شد(شکل شماره ۲). آنالیز عکس میکروسکوپ الکترونی گذاره(TEM) تائید کرد که نانوذرات شکل کروی و اندازه nm ۳۰-۱۰ داشتند(شکل شماره ۳).

آ ب پ

شکل شماره ۱. تغییرات رنگ در تشکیل نانوذرات نقره. مایع بی رنگ نیترات نقره، نانوذرات نقره سنتز شده از آ) مان بلوط، ب) صمغ گیلاس، پ) صمغ زردآلو.



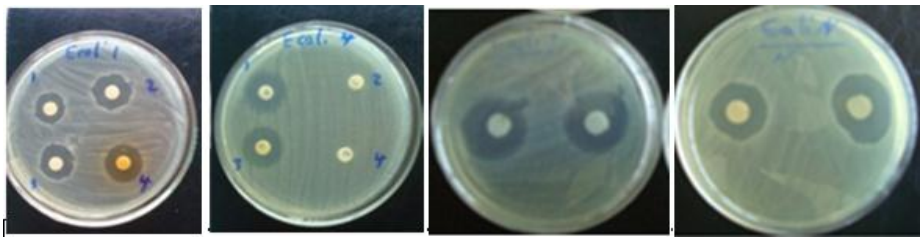
شکل شماره ۲. میزان جذب نانوذرات نقره. نانوذرات نقره سنتز شده از صمغ درخت گیلاس (آ) و زردآلو (ب) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis از طول موج ۳۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر.



شکل شماره ۳. عکس میکروسکوپ الکترونی گذاره نانوذرات نقره سنتز شده از صمغ گیلاس (آ) و زردآلو (ب).

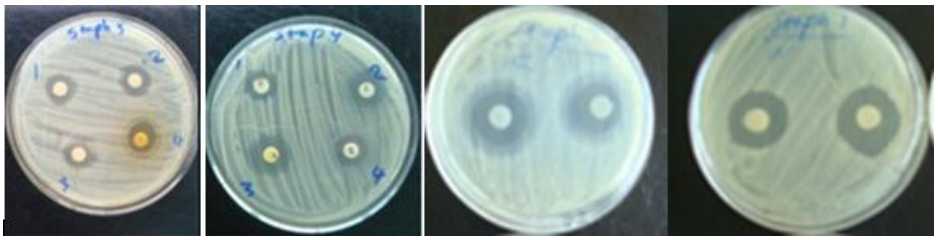
نتایج خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره:
بررسی نتایج اثر بازدارندگی نانوذرات نقره بر باکتری اشریشیاکلی نشان داد که منطقه بازدارندگی نانوذرات تهیه شده از صمغ گیلاس و زردآلو تقریباً یکسان بوده و تفاوت معنی داری نداشتند ولی نانوذره تهیه شده از مان بلوط نسبت به نانوذرات ذکر شده بر اشریشیاکلی اثر کمتری نشان داد. از ۴ آنتی بیوتیک انتخاب شده پنی سیلین و سفالکسین هیچ اثری بر باکتری اشریشیاکلی نشان ندادند(جدول شماره ۱). نانوذره

نقره سنتز شده از صمغ گیلاس و زردآلو بر اشریشیاکلی، نسبت به نیترات نقره اثر بازدارندگی بیشتر و تفاوت معنی داری داشتند. اثر بازدارندگی از رشد جنتامایسین و تتراسایکلین در مقایسه با نیترات نقره بیشتر و تفاوت معنی دار بود. آنتی بیوتیک های موثر واقع شده تفاوت معنی داری با نانوذرات نقره نداشتند(شکل شماره ۴). نانوذرات نقره سنتز شده با صمغ درختان مذکور نسبت به جنتامایسین و سفالاکسین و نانوذرات مس نسبت به سفالاکسین افزایش معنی دار در بازدارندگی از رشد نشان دادند(شکل شماره ۵). اثر نانوذرات مس و هر سه نانوذرات نقره بر باکتری اشریشیاکلی نسبت به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس موثرتر بود(همه تفاوت ها در سطح ۵ درصد معنی دار بود). اثر بازدارندگی تیمارهای مختلف بر باکتری ها بر اساس هاله اطراف کلنی ها در جدول شماره ۱ آورده شده است.



آ ب پ ت

شکل شماره ٤. تاثیر تیمارهای مختلف بر باکتری اشریشیاکلی. آ) نیترات نقره، ب) کلرید مس، پ) آنتی بیوتیک ها، شماره روی پتری دیش ها ۱) جنتامایسین، ۲) پنی سیلین، ۳) تتراسایکلین، ٤) سفالاکسین، ت) نانوذرات، به ترتیب شماره روی پتری دیش ۱، ۲ و ۳) نانوذرات نقره سنتز شده از مان بلوط، صمغ زردآلو و صمغ گیلاس ٤) نانوذرات مس.



آ ب پ ت

شکل شماره ۵. تاثیر تیمارهای مختلف بر باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس. آ) نیترات نقره، ب) کلرید مس، پ) آنتی بیوتیک ها، شماره روی پتری دیش ها ۱) جنتامایسین، ۲) پنی سیلین، ۳) تتراسایکلین، ٤) سفالاکسین، ت) نانوذرات، به ترتیب شماره روی پتری دیش ۱، ۲ و ۳) نانوذرات نقره سنتز شده از مان بلوط، صمغ زردآلو و صمغ گیلاس و ٤) نانوذرات مس.

جدول شماره ۱. اثر بازدارندگی تیمارهای مختلف بر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس. نانوذرات نقره سنتز شده از ۱) صمغ زردآلو، ۲) صمغ گیلاس، ۳) مان بلوط، ٤) نانوذرات مس، ٥) جنتامایسین، ٦) پنی سیلین، ۷) تتراسایکلین، ۸) سفالاکسین، ۹) کلریدمس، ۱۰) نیترات‌نقره. اعداد میانگین سه تکرار± انحراف معیار بوده و حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ است.

	منطقه بازدارندگی (میلی متر)									
باکتری	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
E.coli	۱۸±۰/۲۴ a	۱۸±۰/۳۱ a	۱۶±۰/۰۹ b	۱۶±۰/۱۹ b	۱۸±۰/۱۲ a	۰ e	۱۸±۰/۲۳ a	۰ e	۱۴±۰/۱۸ d	۱۵±۰/۲۴ c
S.areus	۱۶±۰/۴۶ b	۱۷±۰/۳۶ b	۱۳±۰/۲۸ d	۱۵±۰/۳۴ c	۱۳±۰/۲۲ d	۱۷±۰/۲۹ b	۱۹±۰/۳۴ a	۱۲±۰/۳۵ e	۱۴±۰/۳۷ d	۱۵±۰/۳۵ c

بحث و نتیجه گیری

امروزه استفاده از نانوذرات به علت ویژگی های بسیار جذاب و کاربردهای مختلف آن ها در مقایسه با نمک های فلزی گسترش بسیاری پیدا کرده است. از طرف دیگر روش های جدید برای سنتز نانوذرات هم بسیار مورد توجه قرار گرفته اند(۱۸). سنتز نانوذره نقره از مان بلوط قبلاً گزارش شده بود(۱۶) در صورتی که سنتز نانوذرات نقره از صمغ درختان گیلاس و زردآلو برای اولین بار گزارش شد. در این پژوهش نانوذرات نقره با روش زیستی دوستدار محیط زیست و بدون استفاده از هر گونه مواد شیمیایی مضر تولید شد. بنا بر این، استفاده از پتانسیل بزرگ طبیعت می تواند در تولید نانوذرات بدون آسیب به محیط زیست کمک کننده باشد. در کل می توان بیان نمود که ارجحیت تولید گیاهی نانوذرات بر سایر روش های زیستی، بی خطر بودن، و هم چنین قابلیت بالای گیاهان است که بسیار قابل اعتماد و سالم تر از باکتری، قارچ و مخمر برای تولید نانوذرات می باشد. در ضمن این که نانوذرات تولید شده به این روش نسبت به روش های شیمیایی دارای پایداری بیشتری است.

سمیت عبارت است از هر اثر مضر یا آسیب رسان بر موجود زنده زمانی‌که در معرض نانوذرات یا نمک های آن ها قرار می گیرد. اگر هدف ضد عفونی کردن یک ارگانیسم خاص باشد سمیت ممکن است به عنوان یک نتیجه مثبت (ضدباکتری یا ویروس) تفسیر گردد. با این حال اگر مواد مشابه به طور ناخواسته و بدون برنامه ریزی به موجودات زنده دیگر مثل جانوران و گیاهان نیز اثر گذارد به عنوان سمیت و خطر بالقوه محسوب می گردد(۱۹). نتایج این کار تحقیقی نشان داد که نانوذرات سنتز شده اثر ضدباکتری داشتند.

تحقیقات زیادی اثر ضدقارچی و باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره های گیاهی را نشان داده است که با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد. در این راستا می توان به اثر ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاهی Euphorbia hirta L.(۲۰) و هم چنین اثر ضد استافیلوکوکوس نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره های گیاهان گل خطمی(Althaea officinalis L.)، برگ آویشن(Thymus vulgaris L.) و برگ پونه(Mentha pulegium L.) اشاره نمود(۲۱). مطالعات نشان داده است که اندازه نانوذرات بر میزان ضدباکتری یا قارچی نانوذرات تاثیر دارد. Agnihotri و همکاران(۲۲) تاثیر اندازه نانوذرات بر باکتری ها را بررسی کرده و نشان داده اند که با کاهش اندازه نانوذرات به زیر ۱۰ نانومتر خاصیت ضدباکتریایی نیز افزایش می یابد(۲۳).

تحقیقات نشان داده است که ترکیبات تجاری پودر نانوذرات نقره نیز در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به کاهش تشکیل کلنی های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از ۲×۱۰^{۴} CFU/ml به ترتیب به صفر و کمتر از ۲۰ کلنی می شود(۲۴). مشابه با نتایج ما Pape و همکاران(۲۵) گزارش کرده اند که خواص ضدباکتریایی نانوذرات مس نسبت به نانوذرات نقره کمتر است. Cubillo و همکاران(۱۰) خواص ضدباکتریایی نانوذرات مس را با تری کلوزان بررسی و خواص ضدباکتریایی برای هر دو گزارش کرده اند. نانوذرات دیگر هم اثرات ضدباکتریایی از خود نشان می دهند مثلاً نشان داده شده است که نانوتیوب های کربن بر فراوانی گروه باکتریایی خاک در کشت گوجه فرنگی اثر می گذارد(۲۶).

به هر حال مطالعات زیادی جهت تعیین اثر ضدمیکروبی، غلظت های موثر و اندازه و نوع نانوذرات و مقایسه ترکیبات تجاری و زیستی آن ها مورد نیاز می باشد.

تعیین مشخصات نانوذرات برای کنترل سنتز و کاربرد آن ها ضروری است. در این مطالعه تشکیل نانوذرات نقره با استفاده از صمغ درختان به روش اسپکتوفتومتری و تهیه TEM تایید گردید. طبق نتایج حاصله حساسیت میکروارگانیسم ها به نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی و نانوذرات مس به روش شیمی در این مطالعه به وضوح

مشاهده گردید. در این بین حساسیت باکتری اشریشیاکلی نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به نانوذرات سنتز شده بیشتر بود و از بین دو نانوذره نقره و مس اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره مشهودتر بود.

References

1. Jain D, Kumar DS, Kachhwaha S, Kothari SL. Synthesis of plant mediated silver nanoparticles using Papaya fruit extract and evaluation of their antimicrobial activities. Dig J Nanomater Biostruct 2009; 4 : 557-63.
2. Saifuddin N, Wong CW, Yasumira AAN. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of bacteria with microwave irradiation. Electron J Chem 2009; 6: 61-70. doi: 10.1155/2009/734264.
3. Verma VC, Kharwa RN, Gange AC. Biosynthesis of antimicrobial silver nanoparticles by the endophytic fungus Aspergillus clavatus. J Nanomed2011; 5 : 33-40.
4. Willner I, Baron R, Willner B. Growing metal nanoparticles by enzymes. Adv Mater 2006; 18: 1109-20. doi: 10.1002/adma200501865.
5. Singh A, Jain D, Upadhyay MK, Khandelwal, Verma HN. Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone mexicana leaf extracts and evaluation of their antimicrobial activities. Dig J Nanomate Biostruct 2010; 5: 483-09.
6. Aitken RJ, Chaudhry MQ, Boxall ABA, Hull M. Manufacture and use of nanomaterials current status in the UK and global trends. Occup Med 2016; 56: 300-06. doi: 10.1093/0ccmed/kq105.
7. Jeon HJ, Yi SC, Oh SG. Preparation and antibacterial effects of Ag SiO_2 thin films by sol-gel method. Biomaterials 2003; 24: 4921-08. doi: 10.1016/so142-9612(03)00415-0.
8. Demir E, Kaya N, Kaya B. Genotoxic effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of Allium cepa by comet assay. Turk J Biol 2014; 38: 31-09. doi:10.3906/biy-1306-11.
9. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram negative bacterium Escherichia coli. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 1712-20. doi: 10.1128/AEM.02218-06.
10. Estebancubillo A, Pecharroman C, Aguilar E, Santaren J, Moya JS. Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles in to sepiolite. J Mater Sci 2006; 41: 5208-12. doi: 10.1007/s10853-006-0432-x.
11. Neal AL. What can be inferred from bacterium nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? Ecotoxicology 2008; 17:362-71. doi: 10.1007/s10646-008-0217-x.
12. Mirzajani F, Ghassempour A, Aliahmadi A, Esmaeili MA. Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. Res Microbiol 2011; 162: 542-09. doi: 10.1016/j.resmic.2011.04.009.
13. Clement JL, Jarret PS. Antimicrobial silver. Me Based Drugs 1994; 1: 467-82. doi: 10.1155/MBD.1994.467.
14. Park HJ, Kim SH, Kim HJ, Choi SH. A new composition of nano sized silica silver for control of various plant diseases. Plant Pathol 2007; 22: 295-302.
15. Jing X, Ye W, Qunji X, Xuedong W. Synthesis of highly stable dispersions of nanosized copper particles using L-ascorbic acid. Green Chem 2011; 13: 900-04. doi: 10.1039/C0GC00772B.
16. Forough M, Farhadi KH. Biological and green synthesis of silver nanoparticles. Turkish J Eng Env Sci 2010; 34: 281-07. doi:10.3906/muh-1005-30.
17. Cheesbrough M. District laboratory practice in tropical countries. 2th ed. Fakenham Norfolk UK Cambridge Uni Publication. 2000; P. 138-40.
18. Kato H. In vitro assays tracking nanoparticles inside cells. Nat Nanotechnol 2011; 6: 139-40. doi: 10.1038/nnano.2011.25.
19. Marambiojones C, Hoek EMV. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. J Nanopart Res 2011; 12: 1531-51. doi: 10.1007/s11051-010-9900-y.

20. David E, Elumalai EK, Prasad TN, Venkata K, Nagajyothi PC. Green synthesis of silver nanoparticle using Euphorbia hirta L and their antifungal activities. Arch Appl Sci Res 2010; 2 : 76-81.
21. Jafari A, Pourakbar L, Farhadi KH, Mohamad Golizad L. Biological synthesis of silver nanoparticles and evalution of antibacterial and antifungal properties of silver and copper nanoparticles. Turk J Biol 2015; 39: 1-6. doi: 10.3906/biy-1406-81.
22. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. RSC 2014; 4: 3974-83. doi: 10.1039/C3RA44507K.
23. Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Habib SS, Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram negative bacteria a comparative study. Int J Nanomed 2012; 7: 6003-09. doi: 10.2147/IJN.S35347.
24. Smetana A, Klabunde K, Marchin G, Sorensen C. Biocidal activity of nanocrystalline silver powders and particles. Langmuir 2008; 24: 7457-64. doi: 10.1021/la800091y.
25. Pape HL, Serena FS, Contini P, Devillers C, Maftah A, Leprat P. Evaluation of the anti-microbial properties of an activated carbon fibre supporting silver using a dynamic method. Carbon 2002; 40: 2947-54.
26. Khodakovskaya M, Dervishi E, Mahmood M, Xu Y, Li Z, Watanabe F, et al. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. ACS Nano 2009; 3 : 3221-07. doi: 10.1021/nn900887m.

Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Tree Gum Extracts and Evaluation of Antibacterial Properties of Silver and Copper Nanoparticles

Pourakbar L[1], Yosefzaei F[1], Farhadi K[2]*

(Received: May 2, 2017 Accepted: September 5, 2017)

Abstract

Introduction: There has been growing interest in using environmentally friendly methods of synthesizing nanoparticles without using substances risky to the environment and human health. The aims of this study were biosynthesis of silver nanoparticles using different tree gum extracts and evaluation of the toxicity of nanoparticles and their salts against two bacteria: Escherichia coli and Staphylococcus aureus.

Materials & Methods: In this study, silver nanoparticles (SNPs) synthesized from manna of Quercus, Cerasus avium, and Prunus armeniaca gum extracts were investigated for their antibacterial activity. Silver nanoparticles were prepared from the reduction of silver nitrate. Copper nanoparticles (CuNPs) were formed by reduction of $CuCl_2$ with L-ascorbic acid. Prepared nanoparticles were characterized by ultraviolet-visible spectroscopy and TEM techniques. Antibacterial activities of the nanoparticles were tested against Staphylococcus aureus and Escherichia coli.

Findings: In the present study, biosynthesis and characterization of SNPs using Cerasus avium and Prunus armeniaca gum extracts is reported for the first time. The spectrum of the reaction mixture showed a strong absorption peak at 420 nm. TEM image showed that Ag-NPs (SNPs) formed were well dispersed with a spherical structure and 10 to 30 nm particle size range. Bacteria (E. coli and S. aureus) showed clear hypersensitivity to silver and copper nanoparticles, and the effects of SNPs were more notable than those of CuNPs. Data analysis showed that $CuCl_2$ and $AgNO_3$ nanoparticles had a lower inhibitory effect.

Discussion & Conclusions: Our results showed these microorganisms had sensitivity against the tested nanoparticles; however, E. coli showed higher sensitivity than S. aureus to both nanoparticles.

Keywords: Silver and copper nanoparticles, Antibacterial activity, Tree gum

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
2. Dept of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran
**Corresponding author Email: l.pourakbar@urmia.ac.ir*