

Research Paper

Green Synthesis of Ag/Fe₃O₄ Nanocomposite by Aqueous Extract of *Eryngium caucasicum* and Evaluation of its' Antifungal ActivityZahra Dehghan¹ , *Mojtaba Ranjbar² , Mostafa Govahi³ 

1. Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

2. Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

3. Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

**Citation** Dehghan Z, Ranjbar M, Govahi M. Green Synthesis of Ag/Fe₃O₄ Nanocomposite by Aqueous Extract of *Eryngium caucasicum* and Evaluation of its' Antifungal Activity. Qom Univ Med Sci J. 2021; 15(1):28-37. <https://doi.org/10.52547/qums.15.1.28> <https://doi.org/10.52547/qums.15.1.28>

Received: 14 Dec 2020

Accepted: 20 Mar 2021

Keywords:Green Synthesis,
Eryngium, Ag/Fe₃O₄
nanocomposite,
Nanocomposites,
Antifungal Agents**ABSTRACT****Background and Objectives:** The green nanoparticle synthesis method using plants due to a cost effective and environmental compatibility has been extensively noticed. In this study, the biosynthesis of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite by using extract of *Eryngium caucasicum* and its antifungal properties has been reported.**Methods** Synthesized Ag/Fe₃O₄ nanocomposite was characterized by using UV-Visible spectroscopy, XRD, and FESEM analyses. The antifungal potential of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite was evaluated using Disc diffusion assay.**Results** The formation of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite has confirmed through UV-visible spectroscopy (at 425 nm). XRD results revealed the crystalline nature of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite and FESEM analysis exhibited spherical shape with size 26-42 nm. It was also detected that the Ag/Fe₃O₄ nanocomposite at a concentration of 150 µg/ml had the highest inhibition on *Cryptococcus neoformans* compared to *Fusarium thapsinum*, *Candida albicans*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium semitectum* and *Candida glabrata*.**Conclusion** The results of this study showed that the Green synthesis of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite by aqueous extract of *Eryngium caucasicum*, which is a new, non-toxic, simple, cost-effective, fast and environmentally friendly technique, have high antifungal activity.

* Corresponding Author:

Mojtaba Ranjbar

Address: Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

Tel: +98 (11) 44442136

E-Mail: ranjbarmf@gmail.com

مقاله پژوهشی

سنتز سبز نانوکامپوزیت آهن / نقره به وسیله عصاره آبی گیاه زولنگ و ارزیابی فعالیت ضدقارچی آن

زهره دهقان^۱، *مجتبی رنجبر^۲، مصطفی گواهی^۳

۱. دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
۲. گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
۳. گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.

چکیده

 تاریخ دریافت: ۲۴ آذر ۱۳۹۹
 تاریخ پذیرش: ۲۷ اسفند ۱۳۹۹

زمینه و هدف: روش سنتز سبز نانوذرات به وسیله گیاهان به علت کم‌هزینه بودن و سازگاری با محیط زیست بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه سنتز زیستی نانوکامپوزیت آهن / نقره به وسیله عصاره گیاه زولنگ و بررسی خصوصیات ضدقارچی آن گزارش شده است.

روش بررسی: آنالیز نانوکامپوزیت تولیدی به وسیله دستگاه‌های XRD، UV و FESEM انجام گرفت و در ادامه فعالیت ضدقارچی نانوکامپوزیت با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی شش قارچ بررسی شد.

یافته‌ها: طیف‌سنجی، پیک جذبی در ۴۲۵ نانومتر را نشان می‌دهد که سنتز نانوکامپوزیت نقره / آهن را تأیید کرد. آنالیز XRD، ماهیت کریستالی نانوکامپوزیت نقره / آهن را تأیید کرد. آنالیز FESEM نشان داد که شکل نانوکامپوزیت نقره / آهن کروی و اندازه نانوکامپوزیت شناسایی شده دارای رنجی از ۲۶ تا ۴۲ نانومتر است. فعالیت ضدقارچی نانوکامپوزیت نقره / آهن نشان داد که نانوکامپوزیت نقره / آهن در غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بالاترین مهار را بر قارچ *Cryptococcus neoformans* در مقایسه با قارچ‌های *Fusarium semitectum*، *Candida albicans*، *Pyricularia oryzae* و *thapsinum*، *Candida glabrata* دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکامپوزیت آهن / نقره سنتز شده به وسیله عصاره آبی گیاه زولنگ که یک تکنیک جدید، غیرسمی، ساده، مقرون به صرفه، سریع و سازگار با محیط زیست است، دارای فعالیت ضدقارچی بالاست.

کلیدواژه‌ها:

 سنتز سبز، زولنگ،
 نانوکامپوزیت آهن /
 نقره، نانوکامپوزیت‌ها،
 عوامل ضدقارچی.

مقدمه

به علت افزایش نسبت سطح به حجم آن‌هاست [۱].

نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داد که نانوذرات نقره در بسیاری از زمینه‌ها به دلیل فعالیت‌های ضد میکروبی، ضدقارچی و ضدسرطانی نسبت به دیگر فلزات دارای برتری هستند. از این رو با استفاده از آن‌ها می‌توان سطوح ضد میکروبی ایجاد کرد. همچنین می‌توان از آن به عنوان پوششی برای تمام سطوح مثلاً در بیمارستان‌ها، مکان‌های عمومی و حتی منازل، استفاده کرد [۲]. نانوذرات نقره در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، در غلظت‌های بسیار پایین، دارای اثرات ضد میکروبی قوی بوده و با توجه به مزیت‌هایی از قبیل عدم سمیت و اثرات سوء جانبی بر سلول‌های انسانی و همچنین عدم مقاومت میکروبی، در حال حاضر به عنوان جایگزین مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان

به طور کلی بشر از زمان شناسایی باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا در پی یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید به دلیل مقاوم شدن این میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌هاست و نیاز به داروهای جایگزین مؤثرتر با اثرات جانبی کمتر احساس می‌شود. در دهه‌های اخیر مطالعات نشان داده ترکیبات بر پایه نانوذرات، فرصت‌های جدیدی جهت توسعه داروهای ضد میکروبی ایجاد کرده‌اند [۱]. در همین راستا، نانوذرات فلزی به دلیل برخورداری از توان بالقوه کاربردی بالا، توجه زیادی را به خود جلب کرده و افق‌های جدیدی را در علوم نوین، صنعت و بهداشت، نمایان کرده است. نانوذرات با توجه به اندازه، توزیع ذرات و ریخت‌شناسی‌شان دارای خواصی جدید نسبت به ذرات بزرگ‌تر بوده که این موضوع

* نویسنده مسئول:

مجتبی رنجبر

نشانی: آمل، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، دانشکده زیست فناوری، گروه زیست فناوری میکروبی.

تلفن: ۴۴۴۴۲۱۳۶ (۱۱) ۹۸+

رایانامه: ranjbarmf@gmail.com

روش بررسی

گیاه زولنگ از شهر آمل جمع‌آوری و توسط آقای دکتر نقی‌نژاد در گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران تأیید شد. به منظور تهیه عصاره آبی ۲۰ گرم برگ پودر شده را با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه ترکیب کردیم و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و سپس با استفاده از کاغذ واتمن، فیلتر کردیم.

سنتز نانو کامپوزیت به روش دهقان و همکاران (۱۳۹۷) انجام شد [۱۲]. به طور خلاصه ۰/۰۴۹۵ گرم $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (۰/۰۱ مولار)، ۰/۱۳۵ گرم $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (۰/۰۲ مولار) و ۰/۰۸ گرم NaOH (۰/۰۸ مولار) در ۲۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه به طور جداگانه حل شد و در ادامه سه ترکیب با هم مخلوط و مخلوط حاصل چندین بار با آب دیونیزه شست‌وشو و سانتریفیوژ شد.

در ادامه ۰/۷۷ گرم Fe_3O_4 با ۲۷ میلی‌لیتر عصاره آبی ترکیب و سپس ۰/۲۳ گرم نقره نیترات به ترکیب قبلی اضافه و به مدت پنج ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول حاصل سانتریفیوژ و با آب مقطر سه بار شست‌وشو داده شد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد.

به منظور تأیید ساخت نانو کامپوزیت و تعیین اندازه و ساختارها از اسپکتروفتومتر فرابنفش^۲ (Thermo BioMate, USA)، میکروسکوپ الکترونی گسیلی میدانی^۳ (TESCAN MIRA) و طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس^۴ (Philips, Netherland) استفاده شد. فعالیت ضدقارچی نانو کامپوزیت بر روی شش قارچ (*Can-* *dida albicans*, *Candida glabrata*, *Fusarium thapsinu*، *Cryptosporidium parvum*، *Fusarium semitectum*، *Pyricularia oryzae*، *Coccidioides immitis*) به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد.

به منظور بررسی خاصیت ضدقارچی نانو کامپوزیت‌ها به روش دیسک دیفیوژن، ابتدا اقدام به کشت شبانه قارچ‌ها در محیط سابرو دکستروز برآش و روز بعد مجدداً قارچ‌ها در محیط جدید سابرو دکستروز برآش واکشت شد و بعد از رسیدن جذب قارچ در غلظت نیم‌مک‌فارلند، ۴۰ میکرولیتر از قارچ‌ها روی پلیت‌های ۸ سانتی‌متری حاوی محیط کشت سابرو دکستروز آگار (شرکت مرک) پخش شد [۹]. در ادامه دیسک‌های استریل روی محیط کشت قرار گرفت و ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نانو کامپوزیت (۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) روی دیسک‌ها قرار گرفت. همچنین از آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین بی به عنوان شاهد استفاده شد. در انتها پلیت‌های استریل در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند و میزان هاله عدم رشد در اطراف هریک از دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت، با مقایسه قطر هاله عدم رشد اثر ضدقارچی نانو کامپوزیت تعیین شد.

بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های گوارشی، بیماری‌های پوستی، عفونت‌های بیمارستانی و همچنین برای ضدعفونی کردن زخم‌ها و جراحات عفونی، مطرح هستند [۴، ۵]. از جمله نانوذرات فلزی مهم دیگر، نانوذرات تولیدی به وسیله فلز آهن به دلیل دارا بودن ویژگی‌های منحصر به فرد هستند. در دهه گذشته، نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 به دلیل خواص مغناطیسی و زیست‌سازگاری‌شان توجه زیادی را به خود جلب کردند و مطالعات بسیاری روی آن‌ها انجام شده است. این ذرات در مقایسه با سایر نانوذرات برپایه فلزات سنگین سمیت کمتری دارند و حتی در بعضی موارد غیرسمی در نظر گرفته می‌شوند [۶].

نانوبیوتکنولوژی سبز، به معنی سنتز نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و ویروس‌هاست و به دلیل کاربردهای گسترده نانوذرات و نانوکامپوزیت‌ها، تمایل زیادی برای سنتز آن‌ها به وجود آمده است [۸]. اگرچه روش‌های شیمیایی، نانوذرات خالص و همگنی را تولید می‌کنند، دارای معایبی از جمله عدم پایداری محلول، یکسان نبودن اندازه ذرات، ناخالص بودن نانوذرات، راندمان پایین و نیازمند به تجهیزات پیشرفته برای تولید است؛ به همین دلیل محققان به سیستم‌های زیستی تولید نانوذرات، که دارای حداقل خطرات زیست محیطی بوده و روش‌های تولید ساده و زیست سازگار دارند، روی آوردند. در این میان استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل اقتصادی بودن و عدم نیاز به انجام کشت‌های سلولی، بهتر از سایر فرایندهای بیولوژیک است که می‌تواند در مقیاس وسیع استفاده شود [۷، ۸].

طبق پژوهش‌های انجام‌شده، نانوذرات تولیدشده توسط گیاهان دارویی با ریسک بسیار کمتری می‌توانند به عنوان دارو در بدن انسان و حیوان به کار برده شوند [۹]. چوچاق یا زولنگ^۱ گیاهی از تیره چتریان، با پراکندگی در شمال ایران بوده که در طب سنتی و همچنین به عنوان طعم‌دهنده در غذاها کاربرد دارد [۱۰]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاه به چند روش مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد به دلیل وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره، این گیاه از فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است [۱۱].

با توجه به مطالب گفته‌شده و به منظور استفاده هم‌زمان اثرات گیاه زولنگ و خواص نانوذرات فلزی، اقدام به سنتز سبز نانو کامپوزیت نقره / آهن با استفاده از عصاره گیاه زولنگ کردیم. اهداف این پژوهش بررسی توانایی عصاره آبی گیاه زولنگ در احیای نانو کامپوزیت مغناطیسی نقره / آهن و بررسی فعالیت‌های ضدقارچی نانو کامپوزیت مذکور علیه قارچ‌های *F. thapsinum*، *C. albicans*، *P. oryzae*، *F. semitectum*، *C. glabrata* و *C. neoformans* است.

2. UV-vis Spectrometer
3. Field Emission Scanning Electron
4. X-Ray Diffraction

1. *Eryngium caucasicum*

فعالیت ضدقارچی آموغوتریسین بی روی قارچ‌های مورد مطالعه در **تصویر شماره ۵** نشان داده شده است. اندازه هاله‌های عدم رشد قارچ‌های مورد مطالعه تحت تأثیر تیمار نانوکامپوزیت نقره / آهن، یکسان نبوده و در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار وجود داشت. به طوری که قارچ *C. neoformans* حداکثر هاله عدم رشد را در برابر نانوکامپوزیت نقره / آهن سنتز شده با عصاره گیاه زولنگ داراست. همچنین بین غلظت‌های نانوکامپوزیت نقره / آهن (N_1) تفاوت معنی دار وجود داشت؛ به طوری که با افزایش غلظت، میانگین قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا کرده است. در ادامه بعد از معنی دار شدن اثرات اصلی، اثرات متقابل غلظت و سویه قارچ‌ها، مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در **جدول شماره ۱** نشان می‌دهد که غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوکامپوزیت نقره / آهن بیشترین تأثیر را روی قارچ *C. neoformans* با میانگین هاله عدم رشد $23/0 \pm 0/58$ میلی متر داشته است. همچنین بیشترین مقاومت قارچ‌ها به نانوکامپوزیت نقره / آهن در غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر، مربوط به *C. glabrata* و *C. albicans* بود که کمترین میانگین منطقه مهار برابر با $19 \pm 0/58$ میلی متر را داشتند. غلظت‌های متفاوت نانوکامپوزیت نقره / آهن (20 ، 40 ، 80 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر) روی همه قارچ‌های به کار برده شده اثر مهاری داشته، در حالی که قارچ *F. semitec-tum* در برابر آنتی بیوتیک شاهد آموغوتریسین بی مقاومت نشان داد؛ بنابراین ما دریافتیم که نانو کامپوزیت نقره / آهن سنتز شده با عصاره زولنگ دارای فعالیت ضدقارچی بالاست.

بحث

همان طور که مطالعات نشان داده، برای تأیید نانوذرات، از روش‌های مشخصه‌یابی نانوذرات استفاده می‌کنند. به همین دلیل ما از روش‌های *UV XRD* و *FESEM* برای تأیید سنتز نانوکامپوزیت نقره / آهن استفاده کردیم. طیف‌سنجی *UV-Vis* یکی از اولین روش‌ها برای آنالیز نانوکامپوزیت نقره / آهن است. احیای یون‌های فلزی به نانوکامپوزیت به وسیله اسپکتروفتومتر مرئی فرابنفش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان‌دهنده یک ماکزیمم جذبی در ناحیه ۴۲۵ نانومتر بود که متعلق به نانوذرات نقره است. این پیک نشان‌دهنده احیای یون‌های نقره با استفاده از عصاره زولنگ است. وجود پیک نانوذرات نقره در طول موج ۴۲۵ نانومتر با نتایج حاصل از پژوهش نصر و همکاران و همچنین موترمان و همکاران مشابه است [۱۳، ۱۴].

نتایج آنالیز *XRD* در این آزمایش نشان داد که حضور همه پیک‌ها با نمونه استاندارد نانوکریستال‌های آهن و نقره کاملاً هم‌خوانی دارد و صحت سنتز نانوکامپوزیت نقره / آهن را برای ما اثبات کرده است و نتایج آنالیز *XRD* در این آزمایش با نتایج کولکرانی و همکاران در سال ۲۰۱۷ و عطارد و همکاران در سال ۲۰۱۶ کاملاً هم‌خوانی داشت. همان طور که در **تصویر شماره ۲** نشان داده شد تیزی پیک‌ها گویای

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، تست نرمال بودن آن‌ها انجام شد و پس از اطمینان از حالت توزیع نرمال، نسبت به تجزیه و تحلیل آن‌ها اقدام شد. برای آنالیز داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. برای تمامی آزمایش‌ها سه تکرار در نظر گرفته شد. برای مقایسه میانگین‌های تیمارها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

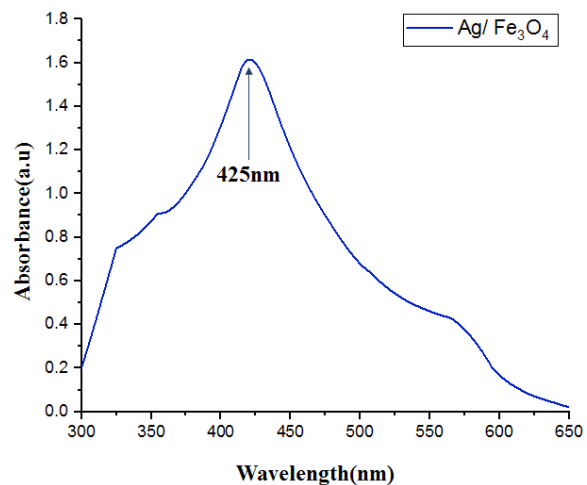
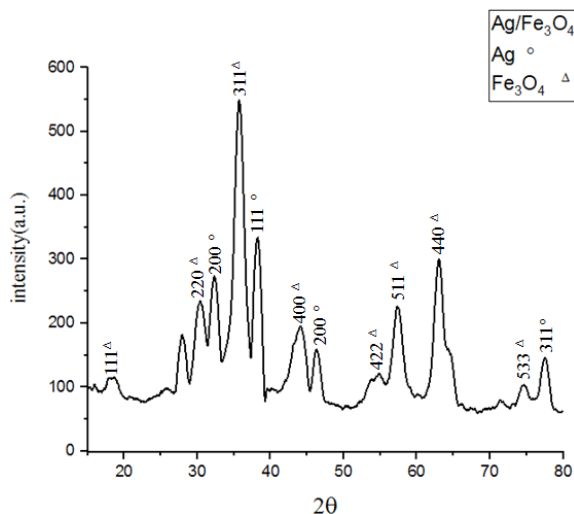
یافته‌ها

همان طور که مطالعات نشان داده، اولین نشانه ساخت نانوکامپوزیت با تغییر رنگ محلول مذکور در اثر اضافه کردن عصاره به نانوذرات آهن و نقره همراه است. اولین ابزار برای تأیید ساخت نانوکامپوزیت، آنالیز طیف‌سنجی *UV* است. بدین منظور از دستگاه اسپکتروسکوپی در محدوده طول موجی ۳۰۰-۶۵۰ نانومتر استفاده شد. همان گونه که در **تصویر شماره ۱** نشان داده شده، حداکثر جذب در حوالی ۴۲۵ نانومتر ظاهر شد که نشان از حضور Ag دارد.

جهت تعیین ساختار کریستالی نانوکامپوزیت، آنالیز طرح پراش اشعه ایکس در محدوده زاویه $10 < 2\theta < 80$ انجام شد. بر اساس **تصویر شماره ۲** و شاخص میلر در سطوح ۲۰۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۱۱ که به ترتیب مربوط به زوایای $32/6$ ، $38/2$ ، $44/7$ ، $57/35$ بود، تشکیل نانوکریستال‌های نقره اثبات شد. همچنین پیک‌های شاخص در زاویه 2θ $18/9$ ، $30/4$ ، $35/75$ ، $43/4$ ، 54 ، $57/25$ ، 63 و $74/9$ درجه به ترتیب مربوط به شاخص میلر 111 ، 220 ، 311 ، 400 ، 422 ، 511 و 440 و 533 بودند که وجود نانوکریستال‌های اکسید آهن اثبات شد. به طور کلی نتایج نشان داد که حضور همه پیک‌ها با نمونه استاندارد نانوکریستال‌های نقره و آهن کاملاً هم‌خوانی دارد و صحت سنتز نانوکامپوزیت نقره / آهن را برای ما اثبات کرده است.

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی در **تصویر شماره ۳** نشان داده شده است. سایز مشخص شده در تصویر *FESEM*، نشان‌دهنده قرار داشتن آن‌ها در مقیاس نانو است. نانوکامپوزیت نقره / آهن دارای نانوذرات کروی و اندازه نانوکامپوزیت شناسایی شده دارای رنجی از $26/3$ تا $42/6$ نانومتر است. میانگین سایز نانوکامپوزیت نقره / آهن مشخص شده در حدود $34/2$ نانومتر است.

در **تصویر شماره ۴** اثر غلظت‌های مختلف نانوکامپوزیت نقره / آهن بر روی قارچ‌ها نشان داده شده است. آزمایش بررسی فعالیت ضدقارچی نانوکامپوزیت نقره / آهن روی شش سویه قارچ انجام شد و میانگین هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها (به صورت خطای استاندارد $\pm$ میانگین) در **جدول شماره ۱** نشان داده شده است. اثرات اصلی در بررسی خواص ضدقارچی در این مطالعه، غلظت‌های نانوکامپوزیت و شش سویه قارچ هستند.



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

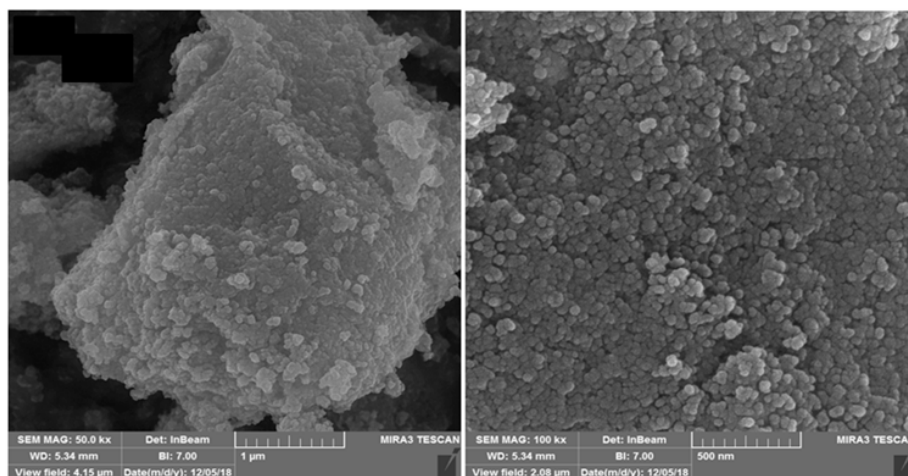
تصویر ۱. طیف جذبی نانوکامپوزیت نقره / آهن توسط عصاره گیاه زولنگ

تصویر ۲. بررسی الگوی پراش پرتو X نانوکامپوزیت نقره / آهن

نانوذره با یکدیگر بهره جست. ترکیب نانوذرات در صورت انتخاب صحیح آن‌ها می‌تواند فوایدی چون استفاده از غلظت‌های پایین‌تر نانوذرات در حالت ترکیبی (نانوکامپوزیت) نسبت به نانوذرات در حالت منفرد و در نتیجه کاهش مقدار مهارکنندگی آن‌ها و جلوگیری از بروز مقاومت میکروبی به هریک از نانوذرات (عوامل ضد میکروبی) در حالت منفرد داشته باشد [۲۰]. در این راستا، برخی مطالعات نشان داده‌اند نانوذرات نقره در ترکیب با برخی نانوذرات مرسوم جهت کنترل عوامل میکروبی، دارای خاصیت سینرژیتی بوده و کارایی حالت ترکیبی آن‌ها از حالت منفرد هریک از آن‌ها بیشتر می‌شود. به طور کلی، خاصیت سینرژیتی ترکیب نانوذرات می‌تواند نیاز به غلظت‌های بالای عوامل ضد میکروبی در جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهد و در نتیجه عوارض جانبی استفاده از دزهای بالای آن‌ها نیز کاهش می‌یابد [۲۱].

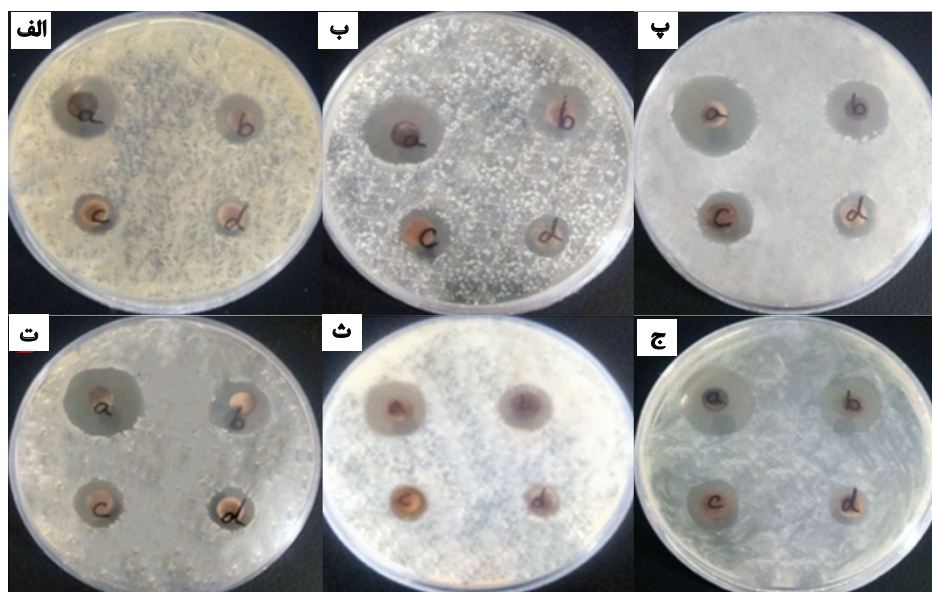
ویژگی کریستالی نانو سنتز شده است [۱۵، ۱۶]. نتایج به‌دست‌آمده از طیف FESEM در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که نانوکامپوزیت نقره / آهن دارای اندازه بین ۲۶/۳ تا ۴۲/۶ نانومتر و میانگین سایز در حدود ۳۴/۲ نانومتر و کروی شکل است. نانو آهن سنتز شده از عصاره *Platanus orientalis* توسط دوی و همکاران در سال ۲۰۱۹ دارای شکل کروی و میانگین سایز ۳۸ نانومتر بود [۱۷]. همچنین نانوکامپوزیت نقره / آهن سنتز شده از عصاره *Platanus orientalis* توسط سجادی و همکاران در سال ۲۰۱۷ دارای شکل کروی و سایز ۶۰ نانومتر بود [۱۸]. نتایج حاصل از FESEM در این آزمایش با نتایج محققان نامبرده شده مطابقت خوبی داشت.

نانوذرات با فعالیت ضد میکروبی به خصوص نانوذرات فلزی به عنوان کلاس جدیدی از مواد بیوپزشکی به‌ویژه افزایش سطح بهداشت عمومی در زندگی روزمره ظهور پیدا کرده‌اند [۱۹]. برای افزایش خاصیت ضد میکروبی نانوذرات، می‌توان از ترکیب دو



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۳. تصویر FESEM نانوکامپوزیت نقره / آهن به ترتیب در بزرگ‌نمایی ۱ میکرومتر و ۵۰۰ نانومتر



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

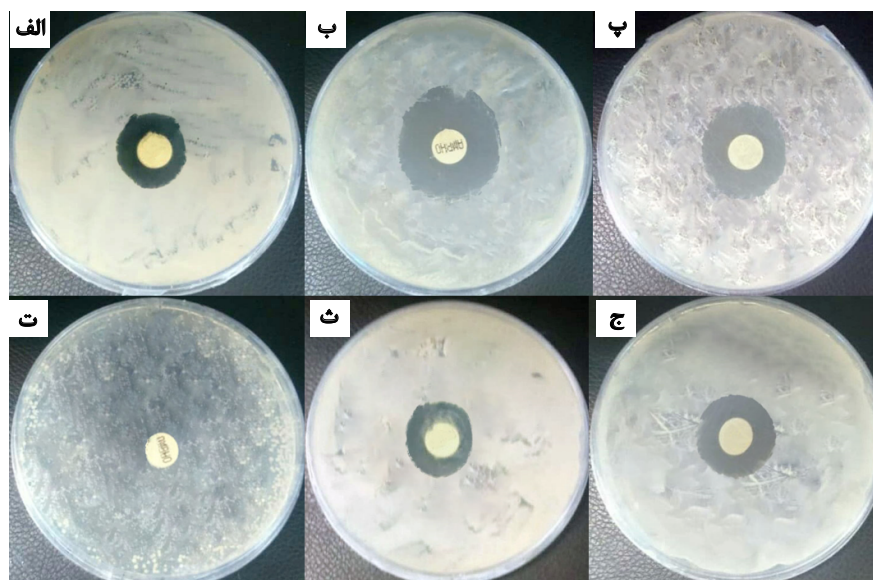
تصویر ۴. فعالیت ضدقارچی نانوکامپوزیت نقره / آهن بیوسنتز شده از عصاره آبی گیاه زولنگ (کاندیدا البیکنز الف، کاندیدا گلابرانا ب، کریپتوکوکوس نئوفورمانس پ، فوزاریوم سمیتکتوم ت، فوزاریوم تاپسینوم ث، پیریکولاریا اوریزا ج) (a=150µg/ml، 80 µg/ml، d=20µg/ml و c=40µg/ml، b=µg/ml)

و واژن حضور داشته باشد. این قارچ می‌تواند باعث عفونت کاندیدیازیس در انسان شده و به عنوان مهم‌ترین علت مرگ‌ومیر در بیماران مبتلا به ایدز، سرطان و پیوند مغز استخوان مطرح شود [۱۵].

افزایش مقاومت دارویی در بین گونه‌های *Candida* تهدیدی

مطالعات نشان داده *C. neoformans* یک پاتوژن مهم انسانی و فرصت‌طلب است که در بیماران مبتلا به ایدز باعث آسیب به سیستم عصبی مرکزی و ایجاد مننژوآنسفالیت شده که در صورت عدم درمان به‌موقع باعث مرگ فرد می‌شود [۲۲].

قارچ *Calbicans* می‌تواند در دستگاه گوارش، مخاط دهان



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۵. فعالیت ضدقارچی آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین بی روی قارچ‌های مورد مطالعه (کاندیدا البیکنز الف، کاندیدا گلابرانا ب، کریپتوکوکوس نئوفورمانس پ، فوزاریوم سمیتکتوم ت، فوزاریوم تاپسینوم ث، پیریکولاریا اوریزا ج)

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف نانوکامپوزیت نقره / آهن در مقابل انواع قارچ‌ها قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر)

آنتی‌بیوتیک	میانگین $\pm$ انحراف معیار				
	غلظت نانوکامپوزیت نقره / آهن (میلی گرم بر میلی لیتر)				
آمفوتریسین بی	۱۵۰	۸۰	۴۰	۲۰	میکروارگانیزم
_____	۲۱/۵ $\pm$ ۰/۲۹	۱۷/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۴/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۱/۲ $\pm$ ۰/۴۴	فوزاریوم سمیتیکوم
۲۸/۰ $\pm$ ۰/۶۰	۱۹/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۴/۵ $\pm$ ۱/۰۴	۱۱/۸ $\pm$ ۰/۷۳	۹/۱۷ $\pm$ ۰/۱۷	کاندیدا گلابراتا
۲۳/۰ $\pm$ ۰/۴۴	۱۹/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۳/۸ $\pm$ ۰/۶۰	۱۲/۳ $\pm$ ۰/۳۳	۹/۸ $\pm$ ۰/۱۷	کاندیدا آلیکانتز
۲۳/۰ $\pm$ ۰/۱۷	۱۹/۷ $\pm$ ۰/۳۳	۱۷/۲ $\pm$ ۰/۶۰	۱۳/۳ $\pm$ ۰/۶۷	۱۰/۵ $\pm$ ۰/۲۹	پیریکولاریا اوریزا
۲۲/۰ $\pm$ ۰/۴۴	۲۰/۰ $\pm$ ۱/۱۶	۱۶/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۳/۸ $\pm$ ۰/۶۰	۱۱/۲ $\pm$ ۰/۶۰	فوزاریوم تاپسینوم
۲۵/۰ $\pm$ ۰/۲۹	۲۳/۰ $\pm$ ۰/۵۸	۱۷/۲ $\pm$ ۰/۷۳	۱۳/۸ $\pm$ ۰/۴۴	۱۱/۲ $\pm$ ۰/۴۴	کریپتوکوکوس نوئوفورمانس

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

C. albicans, C. tropica- cumini در برابر چهار پاتوژن مختلف C. neoformans و C. parapsilosis [۵].

نانوکامپوزیت نقره / آهن، پتانسیل بسیار خوبی در تهیه داروهای مورد استفاده در برابر بیماری‌های قارچی دارد. مکانیسم ضدقارچی نانوکامپوزیت مورد مطالعه، احتمالاً به دلیل تعامل مستقیم بین نانوکامپوزیت Ag/Fe₃O₄ و سطوح سلولی است که بر نفوذپذیری غشا در جایی که یون‌های آهن و نقره وارد می‌شوند تأثیر می‌گذارد و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های قارچی می‌شود. تولید گونه‌های اکسیژن فعال از نانوکامپوزیت Ag/Fe₃O₄ قادر به واکنش شیمیایی با گروه‌های عملکردی آلی کیتین و سایر پلی‌ساکاریدها بر روی دیواره‌های سلولی قارچ‌ها هستند، در نتیجه منجر به مهار رشد سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند [۱۷]. همچنین نانوکامپوزیت سنتز شده، می‌تواند به عنوان عامل ضدقارچی برای استفاده تجاری در زمینه کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد. چنین مطالعاتی توانایی ایجاد فرمولاسیون‌های خوب قارچ‌کش با داشتن ذرات نانو را دارد.

به طور کلی، با توجه به تفاوت‌هایی که در نتایج تحقیقات مختلف روی مهارکنندگی نانوذرات روی میکروب‌ها وجود دارد، مهارکنندگی نانوذرات روی میکروب‌ها، احتمالاً تحت تأثیر عواملی از جمله اندازه، غلظت نانوذرات و نوع ترکیبات احیاکننده نانو موجود در عصاره، قرار دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره گیاه زولنگ دارای پتانسیل احیاکنندگی آهن و نقره و قادر به سنتز نانوکامپوزیت Ag/Fe₃O₄ است که توسط روش‌های مختلف سنتز نانو کمپوزیت تأیید شد. همچنین در سال‌های اخیر توجه به سمت تولید داروهایی که بتواند رشد چندین نوع قارچ را کنترل کند تمرکز یافته که خوشبختانه نانو کامپوزیت سنتزی

نوظهور برای بیماران بوده و در میان بیماران سرطانی، یکی از رایج‌ترین گونه‌های کاندیدا، C. glabrata است که باعث مقاومت دارویی به داروهای مولتی آزلو، اکینوکاندین و مقاومت چنددارویی می‌شود (مقاومت در برابر حداقل دو کلاس داروی ضد قارچ) [۲۳]. قارچ P. oryzae عامل ایجادکننده بیماری بلاست برنج بوده که منجر به کاهش ۳۰ درصدی عملکرد در سراسر جهان می‌شود [۲۴].

قارچ Fusarium، باعث میکوزهای فرصت‌طلبانه در انسان می‌شوند. بیشتر بیماری‌های Fusarium از طریق خاک منتقل می‌شوند [۲۵]. به طور معمول، F. thapsinum به عنوان پاتوژن سورگوم در نظر گرفته می‌شود، اما از موز، بادام زمینی، ذرت و علف‌های بومی نیز جداسازی شده است [۲۶]. بنابراین با توجه مطالب گفته‌شده مهار رشد قارچ‌های مورد بررسی به‌خصوص پیدا کردن ترکیبی که روی چندین قارچ به طور هم‌زمان تأثیر داشته باشد مهم است که نانوکامپوزیت نقره / آهن سنتز شده این ویژگی منحصر به فرد را داشته است.

کولکارانی و همکاران در سال ۲۰۱۷ دریافتند که نانوذرات Fe₂O₃ در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار خوبی علیه Calbicans دارند، در حالی که در این آزمایش نانوکامپوزیت Ag/Fe₂O₃ مهار بسیار خوبی در غلظت ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر روی این قارچ نشان داده است [۱۵].

در تحقیق حاضر آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین بی احتمالاً به علت وجود ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک مذکور در قارچ F. semitec- tum قادر به مهار آن نبوده، در حالی که نانوکامپوزیت سنتز شده توانست رشد این قارچ را مهار کند. این مطالعه اولین گزارش از فعالیت‌های ضدقارچی نانوکامپوزیت Ag/Fe₃O₄ سنتز شده با عصاره زولنگ است. همچنین، نتایج ما مطابقت خوبی با نتایج نشان داده‌شده اثر ضدقارچی AgNPs از عصاره‌ی بذر Syzygium

اثر مهاری روی رشد تمام قارچ‌های مورد مطالعه داشته و حتی در یک مورد آنتی‌بیوتیک استاندارد نتوانسته اثر مهاری داشته باشد؛ در حالی که نانو کامپوزیت سنتزی اثر مهاری داشت. از جمله مزیت‌های این روش سنتز را می‌توان استفاده از عصاره گیاهی برای سنتز نانو کامپوزیت دانست که به عنوان روش سبز مطرح است و دارای مزایایی از جمله زیست سازگاری، مقرون به صرفه بودن و اجتناب از حضور حلال‌های سمی است. به طور کلی نانو کامپوزیت نقره / آهن سنتز شده با عصاره گیاه زولنگ، دارای خاصیت ضدقارچی است و می‌تواند در تحقیقات نیمه‌صنعتی به عنوان یک کاندیدای مناسب برای تولید یک ترکیب ضدقارچی جدید مورد بررسی قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کمیته اخلاق دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل این مقاله را تأیید کرده است (کد اخلاق: IR.AUSMT.REC.1400.10).

حامی مالی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده دوم در گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل بوده است. معاونت پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل حامی مالی این پژوهش بوده است.

مشارکت نویسندگان

طراحی آزمایش و نوشتن مقاله: مجتبی رنجبر؛ آنالیز آماری و ویرایش: مصطفی گواهی؛ انجام آزمایشات: زهرا دهقان.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به دلیل حمایت مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

- [1] Prakash P, Gnanaprakasam P, Emmanuel R, Arokiyaraj S, Saravanan M. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimosa pudica* Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013; 108:255-9. [DOI:10.1016/j.colsurfb.2013.03.017] [PMID]
- [2] Maity D, Mollick MM, Mondal D, Bhowmick B, Bain MK, Bankura K, et al. Synthesis of methylcellulose-silver nanocomposite and investigation of mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydr Polym*. 2012; 90(4):1818-25. [DOI:10.1016/j.carbpol.2012.07.082] [PMID]
- [3] Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res*. 2000; 52(4):662-8. [DOI:10.1002/1097-4636(20001215)52:43.0.CO;2-3]
- [4] Parashar UK, Saxena PS, Srivastava A. Bioinspired synthesis of silver nanoparticles. *Dig J Nanomater Bios*. 2009; 4(1):159-66. <https://www.semanticscholar.org/paper/BIOINSPIRED-SYNTHESIS-OF-SILVER-NANOPARTICLES-Parashar-Saxena/055506648e99e562d7b5c3d2119dadae379e6534>
- [5] Jalal M, Azam Ansari MA, Alzohairy MA, Ali SG, Khan HM, Almatroudi A, et al. Anticandidal activity of biosynthesized silver nanoparticles: Effect on growth, cell morphology, and key virulence attributes of *Candida* species. *Int J Nanomed*. 2019; 14:4667-79. [DOI:10.2147/IJN.S210449] [PMID] [PMCID]
- [6] Giri SK, Das NN, Pradhan GC. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles using waste iron ore tailings for adsorptive removal of dyes from aqueous solution. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Asp*. 2011; 389(1-3):43-9. [DOI:10.1016/j.colsurfa.2011.08.052]
- [7] Kumar A, Malik F, Bhushan S, Sethi VK, Shahi AK, Taneja SC, et al. An essential oil and its major constituent isothermally induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome c and apical death receptors in human leukemia HL-60 cells. *Chem Biol Interact*. 2008; 171(3):332-47. [DOI:10.1016/j.cbi.2007.10.003] [PMID]
- [8] Pattanayak M, Nayak PL. Green synthesis and characterization of zero valent iron nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (Neem). *World J Nanosci Nanotechnol*. 2013; 2(1):6-9. [DOI:10.5829/idosi.wjnst.2013.2.1.21132]
- [9] Elumalai K, Velmurugan S. Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.). *Appl Surf Sci*. 2015; 345:329-36. [DOI:10.1016/j.apsusc.2015.03.176]
- [10] Khoshbakht K, Hammer K, Pistrick K. *Eryngium caucasicum* Trautv. cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran). *Genet Resour Crop Ev*. 2007; 54(2):445-8. [DOI:10.1007/s10722-006-9121-5]
- [11] Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv at flowering stage. *Pharmacogn Res*. 2009; 1(6):435-9. <http://www.phcogres.com/text.asp?2009/1/6/435/58040>
- [12] Dehghan Z, Ranjbar M, Govahi M. [Green synthesis of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite using *Euphorbia peplus* Linn leaf extract and evaluation of its catalytic activity (Persian)]. Paper presented at: The International Conference on Medicinal Plant Organic Farming, Natural and Medicinal Materials. 13 March 2019; Amol University of Special Modern Technologies, Iran. <https://civilica.com/doc/899425/>
- [13] Nasar MQ, Khalil AT, Ali M, Shah M, Ayaz M, Shinwari ZK. Phytochemical analysis, *Euphorbia procera* CA Mey. Mediated green synthesis of silver nanoparticles, their cytotoxic and antimicrobial potentials. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55(7):369. [DOI:10.3390/medicina55070369] [PMID] [PMCID]
- [14] Muthuraman MS, Nithya S, Christena LR, Vadivel V, Subramanian NS, Anthony SP. Green synthesis of silver nanoparticles using *Nardostachys jatamansi* and evaluation of its anti-biofilm effect against classical colonizers. *Microb Pathog*. 2019; 126:1-5. [DOI:10.1016/j.micpath.2018.10.024] [PMID]
- [15] Kulkarni S, Jadhav M, Raikar P, Barretto DA, Vootla SK, Raikar US. Green synthesized multifunctional Ag@Fe₂O₃ nanocomposites for effective antibacterial, antifungal and anticancer properties. *New J Chem*. 2017; 41(17):9513-20. [DOI:10.1039/C7NJ01849E]
- [16] Atarod M, Nasrollahzadeh M, Sajadi SM. Green synthesis of Pd/RGO/Fe₃O₄ nanocomposite using *Withania coagulans* leaf extract and its application as magnetically separable and reusable catalyst for the reduction of 4-nitrophenol. *J Colloid Interface Sci*. 2016; 465:249-58. [DOI:10.1016/j.jcis.2015.11.060] [PMID]
- [17] Devi HS, Boda MA, Shah MA, Parveen S, Wani AH. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Platanus orientalis* leaf extract for antifungal activity. *Green Process Synth*. 2019; 8(1):38-45. [DOI:10.1515/gps-2017-0145]
- [18] Sajjadi M, Nasrollahzadeh M, Sajadi SM. Green synthesis of Ag/Fe₃O₄ nanocomposite using *Euphorbia peplus* Linn leaf extract and evaluation of its catalytic activity. *J Colloid Interface Sci*. 2017; 497:1-3. [DOI:10.1016/j.jcis.2017.02.037] [PMID]
- [19] Zhang X, Yan S, Tyagi RD, Surampalli RY. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*. 2011; 82(4):489-94. [DOI:10.1016/j.chemosphere.2010.10.023] [PMID]
- [20] Ruden S, Hilpert K, Berditsch M, Wadhvani P, Ulrich AS. Synergistic interaction between silver nanoparticles and membrane-permeabilizing antimicrobial peptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(8):3538-40. [DOI:10.1128/AAC.01106-08] [PMID] [PMCID]
- [21] Jafari A, Ghane M, Arastoo S. Synergistic antibacterial effects of nano zinc oxide combined with silver nanocrystals. *Afr J Microbiol Res*. 2011; 5(30):5465-73. [DOI:10.5897/AJMR11.392]
- [22] Nielsen K, Cox GM, Litvintseva AP, Mylonakis E, Malliaris SD, Benjamin DK, et al. *Cryptococcus neoformans* α strains preferentially disseminate to the central nervous system during coinfection. *Infect Immun*. 2005; 73(8):4922-33. [DOI:10.1128/IAI.73.8.4922-4933.2005] [PMID] [PMCID]
- [23] Alexander BD, Johnson MD, Pfeiffer CD, Jiménez-Ortiguosa C, Catania J, Booker R, et al. Increasing echinocandin resistance

- in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations Clin Infect Dis. 2013; 56(12):1724-32. [DOI:10.1093/cid/cit136] [PMID] [PMCID]
- [24] Skamnioti P, Gurr SJ. Against the grain: Safeguarding rice from rice blast disease. Trends Biotechnol. 2009; 27(3):141-50. [DOI:10.1016/j.tibtech.2008.12.002] [PMID]
- [25] Suga H, Hyakumachi M. Genomics of phytopathogenic fusarium. Appl Mycol Biotechnol. 2004; 4:161-89. [DOI:10.1016/S1874-5334(04)80009-1]
- [26] Chang X, Li H, Naeem M, Wu X, Yong T, Song C, et al. Diversity of the seedborne fungi and pathogenicity of fusarium species associated with intercropped soybean. Pathogens. 2020; 9(7):531. [DOI:10.3390/pathogens9070531] [PMID] [PMCID]