



Semnan University

Applied Chemistry Today

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>

ISSN: 2981-2437



Research Article

Green synthesis of metal nanoparticles using aqueous extract of *Moringa oleifera* L. and investigating their antioxidant and antibacterial properties

Mehran Noruzpour¹, Rasool Asghari Zakaria^{1,*}, Nasser Zare¹, Hossein Ali Ebrahimi², Hamed Parsa³, Shima Bourang¹

¹Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Plant Production and Genetics, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran

²Department of Pharmaceutics, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

³Department of Pharmacognosy, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 03/Dec/2023

Revised: 23/Jan/2024

Accepted: 25/Jan/2024

Keywords:

Antibacterial properties, Metallic nanoparticles, *Moringa oleifera*, green synthesis.

ABSTRACT

Moringa plant with the scientific name *Moringa oleifera* L. has important medicinal chemical compounds including flavonoids, which have antioxidant and anticancer properties. In this research, the properties of metal nanoparticles such as Iron, Copper, Zinc and Silver biosynthesized from the aqueous extract of *M. oleifera* plant have been studied, and then the antioxidant and antibacterial properties of the aqueous extract obtained from the aerial parts of this plant and the nanoparticles have been studied. The resulting metal was treated. The size and structure of metal nanoparticles obtained from *Moringa* plant aqueous extract were confirmed by scanning electron microscope (SEM) and X-ray diffraction (XRD), respectively. The amount of antioxidant activity was measured using the DPPH method and the antibacterial properties of *Moringa* plant aqueous extract and metal nanoparticles obtained from it were measured with the help of disk diffusion and MIC method on two types of bacteria *E. coli* and *S. aureus*. The highest amount of antioxidant activity (89.23%) was related to copper nanoparticles at a concentration of 500 µg/ml. As well as *E. coli* bacteria were more sensitive than *S. aureus* to the same concentrations of the used treatments and had bigger inhibition zone. Additionally, the diameter of the inhibition zone (in millimeters) was also dependent on the concentration and grew with increasing concentration. The use of copper nanoparticles (especially in higher concentrations) has more antibacterial properties. In terms of survival rate and growth of cultured bacteria using the MIC method, the IC₅₀ of *E. coli* bacteria compared to *S. aureus* bacteria in equal concentrations to the applied treatments was low, and the results demonstrated the high sensitivity of *E. coli* bacteria strain to *S. aureus* bacteria. According to the obtained results, a significant difference was observed between the aqueous extract obtained from the *M. oleifera* plant and the metal nanoparticles biosynthesized from it in terms of antioxidant and anticancer activity.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32548.2231>

© 2024 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Professor of organic chemistry. E-mail address: r-asghari@uma.ac.ir

How to cite this article: Noruzpuor, M., Asghari Zakaria, R., Zare, N., Ebrahimi, H. A., Parsa, H., & Bourang, S. (2024). Green synthesis of metal nanoparticles using aqueous extract of *Moringa oleifera* L. and investigating their antioxidant and antibacterial properties. *Applied Chemistry Today*, 19(71), 283-302. (in Persian)

سنتر سبز نانوذرات فلزی با استفاده از عصاره گیاه مورینگا (*Moringa oleifera* L.) و

بررسی خواص ضدباکتری و آنتی اکسیدانی

مهران نوروزپور^۱، رسول اصغری زکریا*^۱، ناصر زارع^۱، حسینعلی ابراهیمی^۲، حامد پارسا^۳، شیما بورنگ^۱

^۱دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۲دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس، دانشگاه علوم پزشکی واحد اردبیل، اردبیل، ایران

^۳دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی واحد اردبیل، اردبیل، ایران

| اطلاعات مقاله | چکیده |
|--|---|
| دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۱۲ | گیاه مورینگا با نام علمی <i>Moringa oleifera</i> L دارای ترکیبات شیمیایی مهم دارویی از جمله فلاونوئیدها است که دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی می باشد. در این پژوهش ویژگی های نانوذرات فلزی همچون آهن، مس، روی و نقره سنتر سبز شده از عصاره آبی گیاه <i>M. oleifera</i> مورد مطالعه قرار گرفته و در ادامه به خواص آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره آبی حاصل از اندام هوایی این گیاه و نانوذرات فلزی حاصل از آن پرداخته شد. اندازه و ساختار نانوذرات فلزی حاصل از عصاره آبی گیاه مورینگا به ترتیب به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تأیید شد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به کمک روش DPPH و خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه مورینگا و نانوذرات فلزی حاصل از آن به کمک روش دیفیوژن و MIC بر روی دو گونه باکتری <i>S. aureus</i> و <i>E. coli</i> سنجیده شد. طبق نتایج به دست آمده بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۸۹/۲۳ در صد) مربوط به نانوذره مس در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بود. همچنین باکتری <i>E. coli</i> نسبت به <i>S. aureus</i> نسبت به غلظت های برابر تیمارهای مورد استفاده حساس تر بوده و هاله های بزرگ تری را ایجاد کردند. از نظر میزان زندهمانی باکتری های کشت شده به کمک روش MIC نیز میزان <i>IC50</i> باکتری <i>E. coli</i> نسبت به باکتری <i>S. aureus</i> در غلظت های برابر تیمارهای اعمال شده پایین تر بوده و بیانگر حساسیت بالای سوبه باکتری <i>E. coli</i> نسبت به باکتری <i>S. aureus</i> بود. طبق نتایج به دست آمده بین عصاره آبی حاصل از گیاه <i>M. oleifera</i> و نانوذرات فلزی سنتر سبز شده از آن از نظر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی تفاوت معنی داری مشاهده شد. |
| بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۳ | |
| پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۵ | |
| کلمات کلیدی: | |
| سنتر سبز نانوذرات فلزی، گیاه مورینگا، باکتری های <i>S. aureus</i> و <i>E. coli</i> | |

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32548.2231>

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

۱- مقدمه

امروزه استفاده از فناوری نانو تأثیر بسیار مهمی در علوم مختلف از جمله پزشکی، مهندسی، مهندسی مواد، زیست شناسی، راه و ساختمان و غیره داشته است. با کاهش اندازه مواد به ابعاد نانو، بسیاری از خصوصیات شیمیایی، فیزیکی، مکانیکی، فضایی و بیولوژیکی، جذب نور و نقطه ذوب آن ها تحت تأثیر دارد [۱]. نانوذرات نقره، مس و روی از کارایی بالایی در کنترل میکروبوها دارند [۲]. میکروبوها در اثر استفاده مکرر از یک آنتی بیوتیک نسبت به آن مقاوم شده و مشکلات متعددی در مسیر رفع عفونت ایجاد می کنند. باتوجه به اینکه مقاومت دارویی برای نانوذرات به احتمال کمتری در مقایسه با آنتی بیوتیک ها رخ می دهد، لذا به

نظر می‌رسد استفاده از نانوذرات در کنترل باکتری‌ها و قارچ‌ها از کارآیی بهتری برخوردار باشد [۳]. نانوذرات را می‌توان به دو گروه بزرگ نانوذرات آلی و نانوذرات معدنی تقسیم کرد. تفاوت نانوذرات آلی و معدنی به حضور اتم‌های کربن فراوان در نانوذرات آلی نسبت داد. از نانوذرات معدنی می‌توان به نانوذرات طلا، پلاتین و نقره (نانوذرات فلزی نجیب)، نانوذرات مس و آهن (نانوذرات فلزی) و دی‌اکسیدتیتانیوم و اکسیدروی (نانوذرات نیمه‌هادی) اشاره نمود [۴]. روش‌های متعددی جهت سنتز نانوذرات فلزی ابداع شده است، که می‌توان به سنتز آنها به کمک مواد شیمیایی، استفاده از ریزموجوداتی مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها و سنتز سبز با استفاده از عصاره‌های گیاهی اشاره نمود [۵]. اگرچه بیشترین نانوذرات سنتز شده در سال‌های اخیر از طریق سنتز شیمیایی بوده است، با این حال مخاطرات زیست محیطی و همچنین هزینه بالای سنتز آنها از جمله معایب این روش محسوب می‌گردد [۶]. سنتز سبز نانوذرات فلزی با خواص ضد میکروبی به دلیل زیست‌سازگاری بیشتر آن بر سلول‌های بدن در مقایسه با نانوذرات فلزی سنتز شده از روش‌های شیمیایی و همچنین استفاده از مواد آلی کمتر، از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است [۷]. استفاده از عصاره و اسانس گیاهان در سنتز نانوذرات (سنتز سبز) به دلیل وجود تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه همانند پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، تریپنوئیدها، کوئینون‌ها، تانن‌ها و غیره است که در فرآیند احیاء زیستی یون‌ها دخیل هستند [۸]. انواع مختلفی از نانوذرات مبتنی بر آهن اکسید شامل مگنتیت‌ها (Fe_3O_4)، هماتیت ($\alpha-Fe_2O_3$) و ماگمیت‌ها ($\gamma-Fe_2O_3$) و فریت‌های مخلوط (MFe_2O_4)، که در آن M می‌تواند Co، Mn، Ni یا Zn باشد) هستند [۹]. از $SPION^1$ ، می‌توان در MRI^2 ، MPI^3 ، تحویل هدفمند داروها، پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها و اسیدهای نوکلئیک، هایپرترمی، حسگر زیستی، ترمیم بافت و جداسازی زیست مولکول‌ها استفاده کرد [۱۰]. نانوذرات آهن اکسید به ویژه نانوذرات سوپر پارامغناطیسی (Fe_3O_4) به دلیل سمیت پایین، زیست‌سازگارپذیری خوب و عدم حفظ ویژگی مغناطیسی بعد از حذف میدان مغناطیسی خارجی، در اکثر پژوهش‌های علمی مورد آزمایش قرار می‌گیرد [۱۱]. همچنین، می‌توان نانوذرات مغناطیسی آهن اکسید را با گروه‌هایی مانند $-NH_2$ ، $-COOH$ ، $-OH$ عامل‌دار نمود [۱۲]. فدیان‌بهبهانی و بوعدار در سال ۲۰۱۹ با بررسی تولید و خواص ویژگی‌های نانوذرات آهن اکسید از عصاره آبی جلبک دریایی، بیان کردند که نانوذرات تولید شده دارای اندازه‌ای بین ۲۵ الی ۴۵ نانومتر می‌باشند و همچنین از نظر ماهیت مغناطیسی، ابرپارامغناطیس و مغناطیس نرم هستند. آنها هم‌چنین گزارش دادند که با توجه به رنگ نانوذرات (پودر سیاه رنگ)، دمای واکنش و هم‌چنین بررسی پیک‌های XRD می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین مقدار نانوذرات تهیه شده از نوع Fe_3O_4 می‌باشد [۱۳]. فردود و رضانی در سال ۲۰۱۸ با بررسی نتایج حاصل از عکس‌های SEM بیان کردند که نانوذرات آهن، مس و نقره سنتز سبز

۱- نانوذرات آهن اکسید سوپر پارامغناطیس

۲- تصویربرداری رزونانس مغناطیسی

۳- تصویربرداری ذرات مغناطیسی

شده از گیاه علف چای (*Hypericum perforatum*) دارای اندازه‌های مابین ۳۲ الی ۳۸ نانومتر می‌باشد و از خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردارند [۱۴]. CuNPs^۴ به دلیل خواص مکانیکی، الکتریکی، مغناطیسی و حرارتی خود مورد توجه محققان و دانشمندان قرار گرفته‌اند و در تصفیه آب، سیستم‌های انتقال حرارت و پوشش‌های ضد میکروبی برای ابزارهای جراحی استفاده می‌شوند. علاوه بر این، از نانوذرات مس در بسیاری از زمینه‌ها از جمله کشاورزی، صنعتی، زیست محیطی و پزشکی استفاده می‌شود [۱۵]. مانند سایر مواد زیستی، نانوذرات مس نیز می‌توانند اثرات سمی در موجودات زنده داشته باشند. سمیت ایجاد شده توسط این ذرات به غلظت آن‌ها و مسیر ورود بستگی دارد. سمیت ناشی از نانوذرات مس به دلیل تنش اکسیداتیو است که در سیتوپلاسم و هسته تجمع می‌یابد و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود [۱۶]. در سالیان اخیر از نانوذرات فلزی مس و نقره سنتز سبز شده به روش سبز به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود از جمله خواص ضد میکروبی، درمان زخم‌ها و التیام سوختگی‌های شدید جهت درمان برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان و آگزمای پوستی استفاده شده است [۱۷]. از نانوذرات نقره به عنوان عامل ضدباکتری در پوشش مواد بهداشتی استفاده می‌شود [۱۸]. نانوذرات نقره به دلیل خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و فعالیت ضدتوموری قوی خود در مقایسه با سایر نانوذرات فلزی توجهات بیشتری را به خود جلب نموده است [۱۹]. تأثیر نانوذرات نقره بر ریزموجودات عفونی از قبیل *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* به اثبات رسیده است [۲۰]. از دیگر خواص مهم وجود یا عدم وجود خواص آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتز شده است. سینگ و کومار با بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه شاه‌تره (*Fumaria officinalis*) و نانوذرات مس و نقره سنتز سبز شده از آن به کمک روش DPPH، بیان کردند که با افزایش غلظت عصاره آبی و نانوذرات سنتز سبز شده میزان خواص آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد [۲۱]. متولی‌زاده و همکاران، بیان کردند که با افزایش غلظت نانوذرات نقره و مس سنتز سبز شده از عصاره آبی گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*)، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش می‌یابد [۲۲].

گیاه مورینگا با نام علمی *Moringa oleifera* L. شناخته شده‌ترین گونه خانواده *Moringaceae* است [۲۳]. برگ‌های این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی مهم دارویی از جمله کربوهیدرات‌ها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، استروئیدها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، کوئینون‌ها، ترکیبات فنولی و آلکالوئیدها هستند که جهت پیشگیری و درمان سرطان، فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۴]. عصاره آبی برگ، میوه و دانه *M. oleifera* سرشار از ترکیبات فلاونوئیدی، کارتوئیدی، ترکیبات فنلی و سایر ترکیبات بیوشیمیایی مهمی است که توانایی مهار آسیب‌های اکسیداتیو DNA و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا دارد [۲۵]. لکتین محلول در عصاره آبی جدا شده از دانه، پوست ساقه و برگ‌های *M. oleifera* اثرات مهارکنندگی بر رشد و بقا و گونه‌های مختلف باکتری‌های بیماری‌زا دارد [۲۶]. عصاره اتانول پوست و ریشه گیاه *M. oleifera* دارای فعالیت‌های ضدباکتری و ضدقارچی

است [۲۷]. عصاره آبی حاصل از پوست ساقه این گیاه اثر ضد باکتریایی علیه *E. coli* دارد [۲۸]. پیگزونو و همکاران با بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ *M. oleifera* بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی از جمله باکتری‌های *E. coli*، *S. aureus*، *Vibrio parahaemolyticus*، *Enterococcus faecalis*، *Pseudomonas aeruginosa*، *enteritidis* و *Salmonella Aeromonas caviae* گزارش کردند که سویه‌های *S. aureus*، *P. aeruginosa* و *S. enteritidis* به تمامی تیمارها مقاوم هستند، اما عصاره حاصل، از تکثیر باکتری‌های *E. coli*، *V. parahaemolyticus*، *E. faecalis* و *A. caviae* جلوگیری کرد [۲۹].

با توجه به خواص دارویی و درمانی گیاه *M. oleifera* و همچنین نبود گزارش‌هایی مبنی بر تولید نانوذرات فلزی از گیاه *M. oleifera*، این تحقیق با هدف سنتز سبز نانوذرات فلزی آهن، مس، روی و نقره با استفاده از عصاره آبی این گیاه و بررسی خواص بیوفیزیکی و ضدباکتریایی آن‌ها انجام گرفت.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد گیاهی

منبع گیاهی مورد استفاده در این آزمایش از نمونه گیاهان *M. oleifera* رشد یافته از بذور تهیه شده از مرکز تحقیقات بذور استان خوزستان (شهرستان دزفول) در مرکز گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی جمع‌آوری شدند. سرشاخه‌های جوان فاقد بیماری و مناسب از نظر ظاهری انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه برگ‌های هدف پس از جداسازی در دمای 25°C خشک شدند.

۲-۲- عصاره‌گیری

فرایند عصاره‌گیری در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه محقق اردبیلی و به کمک آب مقطر (دو بار تقطیر شده) توسط فیلترهای متخلخل و نسبت ۱۵:۱ (یک گرم نمونه گیاهی به ۱۵ میلی‌لیتر حلال) انجام شد. نمونه حاصل پس از عبور از کاغذ صافی در 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و نمونه رویی به عنوان عصاره نهایی گیاهی برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳- سنتز سبز نانوذرات فلزی

۲-۳-۱- سنتز سبز نانوذره آهن

جهت سنتز سبز نانوذرات آهن از روش حسن و همکاران با کمی تغییرات استفاده شد [۳۰]. در ابتدا مقدار $3/33$ گرم از نمک آهن (III) کلرید ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) و $1/59$ گرم از نمک آهن (II) کلرید ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) به داخل بالن سه دهانه 250 میلی‌لیتری ریخته و 100 میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. به یک دهانه دماسنج و از دهانه دیگر گاز نیتروژن با فشار مناسب به درون ظرف دمیده شد. سپس محتویات ظرف با استفاده از دستگاه همزن برقی مغناطیسی هم‌زده شده و دمای ظرف تا 80°C بالا

برده شد. سپس در بازه زمانی ۳۰ دقیقه‌ای و هر ۱۰ دقیقه یک مرتبه ۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه (*M. oleifera*) به صورت قطره قطره به محلول اضافه شد. سپس میزان ۶۰ میلی‌لیتر NaOH یک مولار به آن اضافه شده و بعد از تغییر رنگ محلول محتویات بالن به بشر انتقال داده و با استفاده از آهن‌ربای قوی نانوذرات سنتز شده از کف بشر جمع‌آوری و مورد شستشو قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ نمونه‌های حاصل (۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه) به مدت زمان ۱۲ دقیقه، ترکیب ته‌نشین شده از لوله‌های آزمایشی جمع‌آوری شدند. جهت حذف آب موجود در نمونه‌ها، پس از ۲۴ ساعت استقرار در دمای 80°C - توسط دستگاه Freeze-dry به مدت سه ساعت خشک شدند.

۲-۳-۲- سنتز سبز نانوذره مس

سنتز سبز نانوذرات مس به روش آکینته و همکاران با کمی تغییرات انجام شد [۳۱]. بدین منظور ابتدا ۱۰ مولار سولفات مس به ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه اضافه شد. سپس محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت و در دمای 50°C توسط دستگاه شیکر (۶۰ دور در دقیقه) تکان داده شدند. در انتها ترکیب ته نشین شده حاصل از سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه) نمونه‌ها، جداسازی و پس از شستشو توسط بافر فسفات (۲ میلی‌لیتر) و خشک شدن توسط دستگاه Freeze-dry تا زمان استفاده در دمای 80°C - نگهداری شدند.

۲-۳-۳- سنتز سبز نانوذره نقره

جهت سنتز سبز نانوذرات نقره ابتدا یک مولار نیترات نقره به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شده و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه شیکر قرار گرفت. سپس ۱۰ میلی‌لیتر عصاره گیاهی به آن اضافه شد. پس از ۳۰ الی ۴۰ دقیقه محلول مورد نظر تغییر رنگ داد. سپس محلول مورد نظر در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای 25°C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از حذف محلول رویی رسوب مورد نظر برای سه مرتبه توسط بافر فسفات (۲ میلی‌لیتر) شستشو و پس از خشک شدن توسط دستگاه Freeze-dry، جهت آزمایشات بعدی در دمای 80°C - نگهداری شد [۳۲].

۲-۳-۴- سنتز سبز نانوذره روی

برای سنتز سبز نانوذرات روی ابتدا ۰/۰۲ مولار $\text{ZnC}_4\text{H}_6\text{O}_4^5$ به ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شده اضافه و به کمک همزن برقی مغناطیسی به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه در طی چند مرحله به آن اضافه گردید. پس از ۱۰ دقیقه و به صورت قطره قطره یک میلی‌لیتر NaOH پنج مولار به آن اضافه شد تا pH محلول به ۱۲ افزایش یابد. با افزایش pH محلول، رنگ آن به شیری-زرد تغییر نموده و تا ۴ ساعت فرآیند هم‌زدن ادامه یافت. طبق نظر سایر محققین [۳۳] با افزایش دمای دستگاه همزن برقی مغناطیسی به 50°C ذراتی به رنگ شیری روشن در محلول مشاهده می‌شود که

بیانگر سنتز نانوذرات روی است. سپس محلول مورد نظر به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰ دور در دقیقه) شد. در نهایت رسوب نهایی جمع‌آوری شده و توسط دستگاه Freeze-dry خشک شدند. ترکیب نهایی برای آزمایش‌های بعدی در دمای 80°C - نگهداری شد [۳۴].

۲-۴- بررسی ساختار نانوذرات سنتز سبز شده

شکل و اندازه نانوذرات آهن، مس، روی و نقره توسط دستگاه SEM^۶ (شرکت LIBRA Zeiss SMT، مدل 120 PLUS by Carl، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. همچنین ساختار نانوذرات با استفاده از دستگاه XRD^۷ (Bruker D8 DISCOVER ساخت کشور آلمان) بررسی شد.

۲-۵- سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات فلزی حاصل از آن به کمک روش

DPPH

برای این منظور از عصاره آبی گیاه *M. oleifera* در غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر در یک میلی‌لیتر متانول) و نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتز شده از عصاره آبی گیاه در غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در یک میلی‌لیتر متانول) به یک میلی‌لیتر DPPH اضافه شد [۳۵]. سپس میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها پس از مدت ۳۰ الی ۴۵ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای 25°C توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (BIORAD, SmartspecTM plus، آمریکا) و در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. از آسکوربیک‌اسید در غلظت‌های (۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر آب مقطر) به عنوان استاندارد به DPPH اضافه شد. درصد ظرفیت روبش رادیکالی (RSA) به کمک فرمول (۱) محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{RSA (\%)} = [1 - \frac{S}{SB}] \times 100$$

در این رابطه S: میزان جذب نمونه عصاره + DPPH، SB: میزان جذب نمونه عصاره + متانول و C: میزان جذب کنترل (متانول + DPPH) است.

۲-۶- سنجش فعالیت ضد میکروبی

۲-۶-۱- روش انتشار دیسک

بدین منظور ابتدا باکتری *S. aureus* به عنوان باکتری گرم مثبت و *E. coli* به عنوان باکتری گرم منفی بر اساس غلظت مکارلند به درون پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت جامد، کاملاً پخش شد. پس از ایجاد چاهک‌های کوچک بر روی پتری‌های حاصل

۶- میکروسکوپ الکترونی روبشی

۷- پراش اشعه ایکس

عصاره‌ی آبی گیاه *M. oleifera* در غلظت (۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر)، نانوذره آهن حاصل از عصاره آبی گیاه در غلظت (۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و نانوذرات مس، نقره و روی در غلظت (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) درون این چاهک‌ها اضافه شده و سپس دیسک‌های استریل شده توسط اشعه UV روی هر کدام از این چاهک‌ها قرار داده شدند. در انتها نمونه‌ها به انکوباتور با دمای 37°C انتقال داده شده و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. از دیسک‌های حاوی تتراسایکلین به عنوان شاهد استفاده شد [۳۶].

۲-۶-۲- بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی^۸ (MIC)

MIC عبارت است از حداقل غلظتی که می‌تواند از رشد واضح و قابل مشاهده باکتری‌ها جلوگیری کند. بدین منظور، ۲۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع به فالكون ۵۰ میلی‌لیتری در شرایط استریل منتقل شد سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (باکتری *S. aureus* به عنوان باکتری گرم مثبت و *E. coli* به عنوان باکتری گرم منفی) به محیط کشت اضافه گردید و پس از مخلوط شدن کامل با محیط کشت به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ی آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات فلزی سنتز سبز شده از آن به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی اضافه گردید. پس از اینکه عصاره‌های گیاهی مدنظر به طور جداگانه با ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع مخلوط شد، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته شده و به چاهک دوم منتقل شد و عمل مخلوط کردن تکرار شد. مجدداً ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم انتقال یافت، این عمل تا چاهک انتهایی پلیت ۹۶ خانه انجام گرفت (چاهک شماره ۱۲) و در نهایت از چاهک ۱۲ میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شده و دور ریخته شد. پلیت ۹۶ خانه حاوی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به انکوباتور با درجه حرارت مناسب منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. فرایند مورد نظر برای نانوذره آهن با غلظت ۴۰ میلی‌گرم و نانوذرات مس، نقره و روی با غلظت ۱۰ میلی‌گرم به جای عصاره آبی گیاه مذکور آغاز شد. آخرین رقت از عصاره یا نانوذره که بتواند مانع از کدورت محیط یا به عبارت دیگر رشد باکتری شود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. میزان تغییرات کدورت هر کدام از چاهک‌ها توسط دستگاه الیزاریدر بررسی شد [۳۷].

۲-۷- طرح آزمایشی و تجزیه آماری

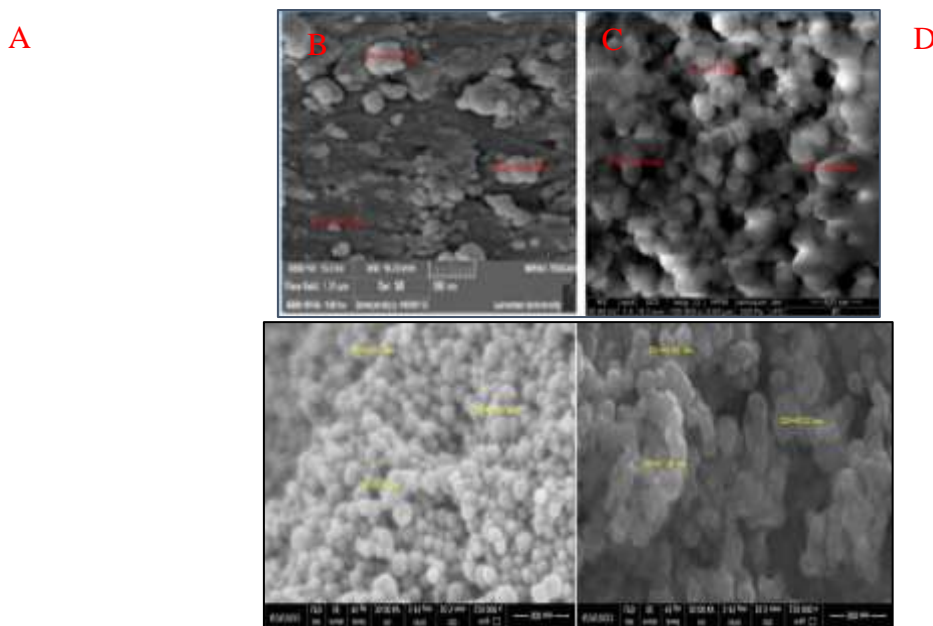
آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین داده‌ها با سطح احتمال یک درصد استفاده از نرم‌افزار SPSS ver. 26 انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. هم‌چنین میزان زنده‌مانی توده‌های باکتری به کمک نرم‌افزار GraphPad Prism8 بررسی شد.

۸- حداقل غلظت مهارکنندگی لاتین نوشته شود

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج SEM

ریخت‌شناسی نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در شکل ۱-A، B، C و D آمده است. هر چه اندازه قطر نانوذرات سنتز شده کوچک‌تر باشند سطح تماس افزایش یافته و خواص آن‌ها (از جمله خواص ضدباکتریایی) افزایش می‌یابد. طبق نتایج به دست آمده اندازه نانوذرات سنتز شده آهن اکسید ۲۳/۱۲، ۲۲/۴۵ و ۳۳/۹۱ نانومتر با میانگین ۲۶/۵۰ نانومتر بود، می‌توان گفت که نانوذرات مذکور در بازه ۲۰ الی ۳۵ نانومتری بودند. نانوذرات مس نیز در اندازه‌های ۳۳/۶۵، ۳۶/۲۳ و ۴۳/۱۲ نانومتر با میانگین ۳۸ نانومتر مشاهده شدند، که بازه اندازه آن‌ها نیز می‌تواند بین ۳۰ الی ۴۵ نانومتر متغییر باشد. همچنین نانوذرات روی اکسید در اندازه‌های ۲۸/۵۰، ۱۹/۵۴ و ۱۸/۳۴ نانومتر و نانوذرات نقره نیز در اندازه‌های ۳۰/۱۸، ۳۵/۲۴ و ۴۰/۶۰ نانومتر بودند که می‌توان ادعا نمود که اندازه نانوذرات روی در بازه ۱۵ الی ۳۰ و نقره ۲۵ الی ۴۵ نانومتر پراکنده هستند. طبق نتایج به دست آمده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانوذرات سنتز شده آهن اکسید، مس، روی اکسید و نقره اشکال هندسه‌ای نسبتاً یکنواخت با اندازه‌های متجانس تشکیل یافته‌اند (شکل ۲). نانوذرات نمایانگر پایداری خوب و تمایل به ایجاد اجتماعات بزرگ هستند.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از نانوذرات (A آهن اکسید، B مس، C روی اکسید و D نقره سنتز شده

۳-۳- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات فلزی حاصل از آن به روش DPPH

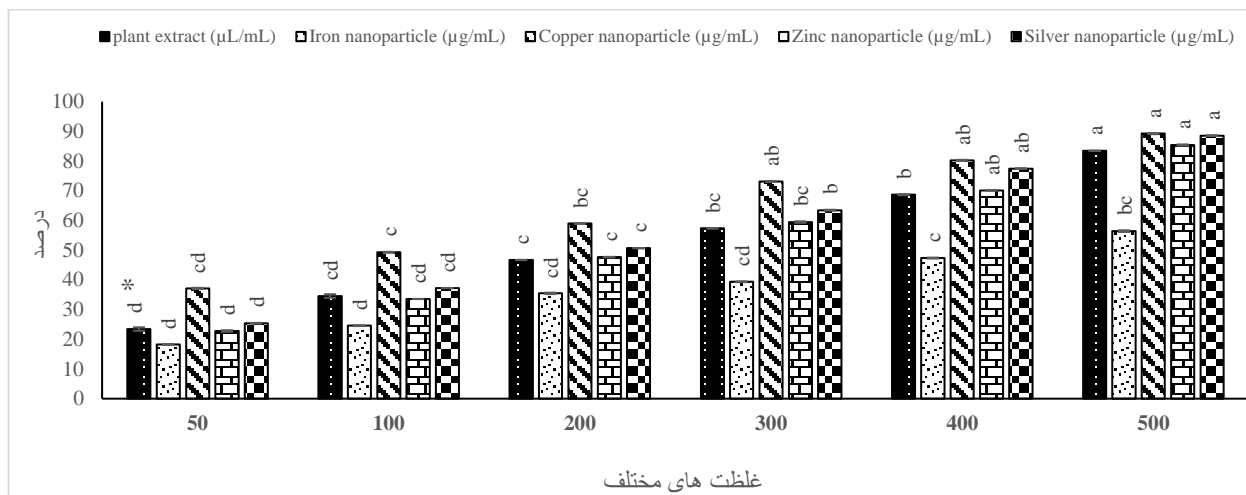
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره حاصل از آن به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره سنتز سبز شده از آن قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین مربعات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره سنتز سبز شده از آن

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|--------------------------------------|------------|----------------|
| بین تیمارهای مختلف | ۲۹ | ۱۴۲۹/۳۷** |
| بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی | ۵ | ۱۰۶۴/۴۵** |
| بین غلظت‌های مختلف نانوذره آهن‌اکسید | ۵ | ۱۴۹۳/۹۷** |
| بین غلظت‌های مختلف نانوذره مس | ۵ | ۱۷۰۹/۰۷** |
| بین غلظت‌های مختلف نانوذره روی‌اکسید | ۵ | ۱۶۴۳/۸۵** |
| بین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره | ۵ | ۱۷۳۲/۷۸** |
| خطا | ۶۰ | ۰/۱۳ |
| ضریب تغییرات (درصد) | - | ۱۴/۱۲ |

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

طبق نتایج حاصل (شکل ۲)، مشخص شد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات ذکر شده وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (۸۹/۲۳ و ۸۸/۵۶ درصد) به ترتیب مربوط به نانوذره مس و نقره در غلظت ۵۰۰ میکروگرم به دست آمد. همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذره مس سنتز سبز شده از عصاره آبی گیاه *M. oleifera* در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌داری بیشتر از نانوذرات آهن در همان غلظت بود. اما از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین نانوذرات روی، نقره و مس و همچنین عصاره آبی گیاه مورینگا در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. عصاره‌های قسمت‌های مختلف از جمله دانه‌ها، پوست ساقه و برگ‌های گیاه *M. oleifera* خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند [۴۵]. طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص شد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات سنتز سبز شده آهن، مس، نقره و روی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش یافت (شکل ۲).



شکل ۲- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، نقره و روی حاصل از آن به کمک روش مهار رادیکال آزاد (DPPH). * حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) است.

۳-۴- بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره

سنتز سبز شده از آن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اندازه هاله تولید شده در پلیت‌های حاوی دو گونه باکتری، گرم منفی (*E. coli*) و گرم مثبت (*S. aureus*) به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت تأثیر نوع عامل بازدارنده (عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره سنتز سبز شده از آن) و غلظت‌های مختلف استفاده شده از عوامل بازدارنده قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین مربعات فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن‌اکسید، مس، روی‌اکسید و نقره سنتز سبز شده از آن

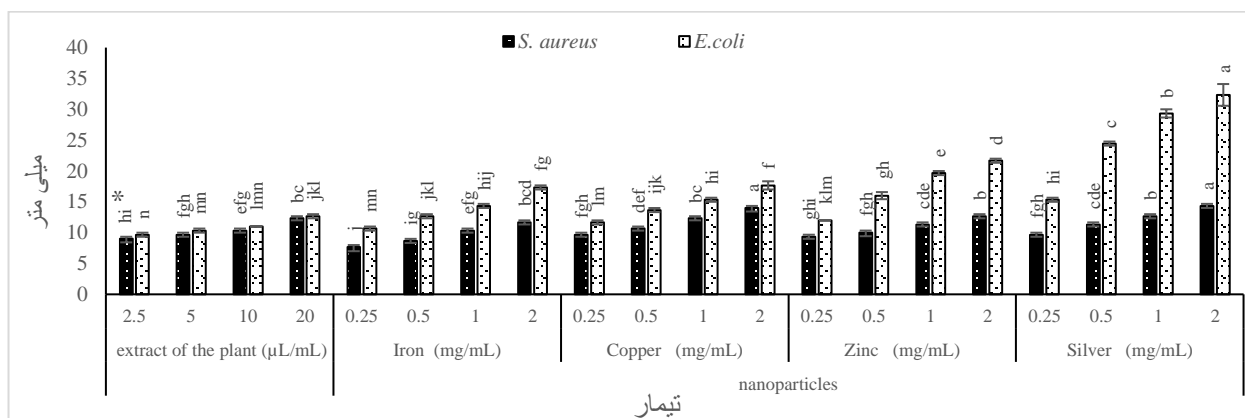
| میانگین مربعات | | درجه آزادی | منابع تغییر |
|----------------|------------------|------------|--------------------------------------|
| <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | | |
| ۱۱۹/۷۴** | ۹/۵۱** | ۱۹ | بین تیمارهای مختلف |
| ۴/۹۷** | ۶/۲۲** | ۳ | بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی |
| ۲۳/۸۶** | ۹/۴۱** | ۳ | بین غلظت‌های مختلف نانوذره آهن‌اکسید |
| ۱۹/۴۱** | ۱۰/۸۸** | ۳ | بین غلظت‌های مختلف نانوذره مس |
| ۵۴/۴۴** | ۶/۵۵** | ۳ | بین غلظت‌های مختلف نانوذره روی‌اکسید |
| ۱۶۵/۴۴** | ۱۱/۷۷** | ۳ | بین غلظت‌های مختلف نانوذره نقره |
| ۰/۸۸ | ۰/۴۸ | ۴۰ | خطا |
| ۱۰/۲۸ | ۸/۷۵ | - | ضریب تغییرات (درصد) |

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

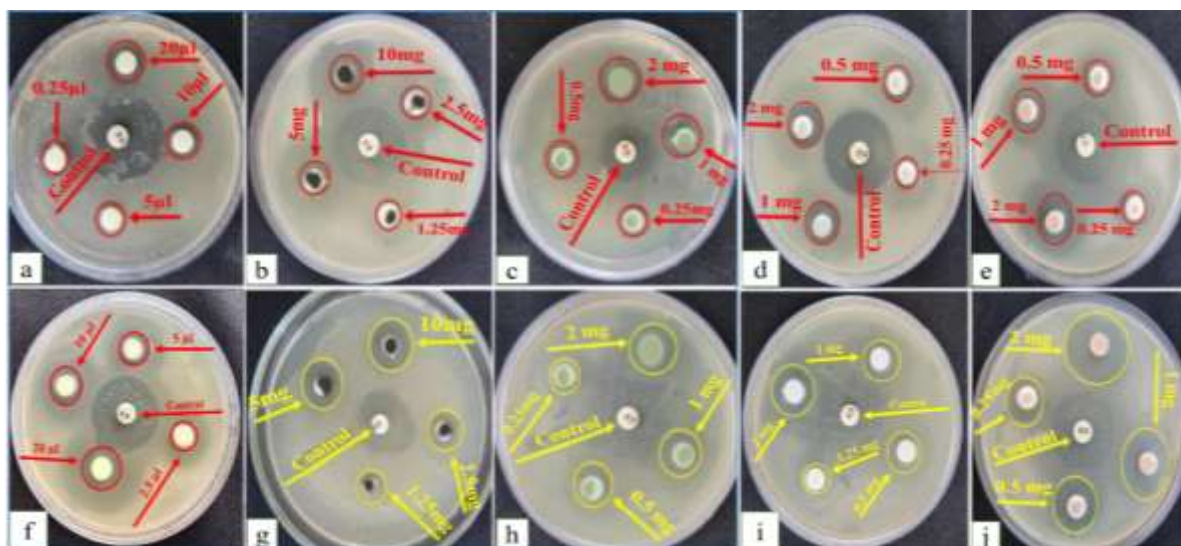
همان‌طوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بین دو گونه باکتری (باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus*) از نظر حساسیت در برابر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، روی و نقره اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده

شد. به طوری که باکتری *E. coli* در اکثر موارد نسبت به تیمارهای اعمال شده حساس تر از باکتری *S. aureus* بود (شکل ۳ و ۴). به طور کلی با افزایش غلظت تیمارهای اعمال شده، اندازه هاله‌ها افزایش داشت این مورد در هر دو گونه باکتری *E. coli* و *S. aureus* صادق بود (شکل ۳). طبق نتایج به دست آمده بزرگترین هاله (۳۲/۳۳ میلی‌متر) مربوط به دیسک حاوی ۲ میلی‌گرم نانوذره نقره سنتز سبز شده در پلیت حاوی باکتری *E. coli* مشاهده شد (شکل ۴-F). طبق نتایج به دست آمده (شکل ۳)، در مورد باکتری *S. aureus*، خاصیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتز سبز شده از آن وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، به طور معنی‌داری افزایش یافت. هم‌چنین بین باکتری *E. coli* و *S. aureus* در تیمار با نانوذرات آهن، مس، روی و نقره در غلظت‌های برابر اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده شد. این در حالیست که بین باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* تیمار شده با غلظت‌های برابر عصاره آبی گیاه *M. oleifera* اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد. اندازه هاله‌های ایجاد شده در محیط کشت حاوی باکتری *E. coli*، با افزایش غلظت نانوذرات آهن، مس، روی و نقره از ۰/۲۵ به ۰/۵ و ۱ به ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تغییر معنی‌داری نداشت. این در حالیست که با افزایش غلظت نانوذرات ذکر شده از ۰/۲۵ به ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر اندازه هاله‌های ایجاد شده در محیط کشت حاوی *S. aureus* به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). گزارش شده است که عصاره آبی گیاه *M. oleifera* حاوی اثرات ضدباکتری و قارچ‌کشی قدرتمند است [۴۶]. که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. در این پژوهش مشخص شد که ممانعت از رشد باکتری‌ها در هر دو گونه *E. coli* و *S. aureus* توسط عصاره آبی گیاه *M. oleifera* وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش می‌یابد (شکل ۳ و شکل ۴-A و F). هم‌چنین مشخص شد که در غلظت‌های برابر عصاره آبی حاصل، باکتری‌های *E. coli* نسبت به باکتری *S. aureus* حساس تر است. جهان و همکاران در سال ۲۰۲۲، با بررسی تأثیر خواص ضدباکتریایی نانوذرات مس، آهن و نقره سنتز سبز شده بیان کردند که باکتری‌های گرم منفی (*E. coli*) نسبت به گرم مثبت (*S. aureus*) در برابر نانوذرات سنتز سبز شده حساس تر بودند [۴۷]، که با نتایج حاصل از پژوهش ما مطابقت دارد، به طوری که باکتری *S. aureus* نسبت به باکتری *E. coli* در برابر غلظت‌های برابر نانوذرات مس، آهن و نقره سنتز سبز شده از عصاره آبی گیاه *M. oleifera* مقاومت بیشتری داشتند (شکل ۳ و ۴). نانوذرات مس و نقره با هدف قرار دادن غشاء سلولی باکتری پتانسیل غشایی پلازما را ناپایدار می‌کند که این امر باعث کاهش سطح آدنوزین‌تری فسفات (ATP) درون سلول باکتری شده و موجب مرگ آن می‌شود [۴۸]. هم‌چنین نانوذرات نقره با ایجاد پیوند با گروه‌های عاملی پروتئین‌های موجود در باکتری‌ها موجب تغییر در شکل و فعالیت آن‌ها و در نتیجه باعث مرگ آن‌ها می‌شود [۴۹]. علاوه بر این، نانوذرات فلزی به خصوص نقره، روی و مس با ورود به درون سلول باکتری موجب تغییر در فعالیت آنزیم‌های کلیدی و در نتیجه مرگ باکتری‌ها می‌شوند [۵۰]. کارن و همکاران با بررسی تأثیر نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره آبی گیاه آقطی (*Sambucus nigra*) بر باکتری‌های کشت شده بیان کردند که این نانوذرات از رشد باکتری *E. coli*

ممانعت می‌کند [۵۱]. همچنین کاستاندو و همکاران گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه بهار نارنج (*Citrus aurantium*) رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* را مهار می‌کنند که با نتایج ما در این پژوهش مطابقت دارد [۵۲]. اندازه هاله‌های تولید شده در پلیت حاوی باکتری *E. coli* و *S. aureus* توسط نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره آبی گیاه *M. oleifera* در غلظت‌های برابر به طور معنی‌داری بزرگ‌تر از نانوذرات آهن، مس و روی سنتز شده توسط همان عصاره آبی بود (شکل ۳ و شکل ۴-E و J).



شکل ۳- اندازه هاله ناشی از فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتز شده * حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) است



شکل ۴- اندازه هاله: a, b, c, d, e) به ترتیب عصاره آبی گیاه *M. oleifera*، نانوذرات آهن، مس و روی و نقره سنتز شده روی باکتری *S. aureus* (f, g, h, i, j) به ترتیب عصاره آبی گیاه *M. oleifera*، نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتز شده روی باکتری *E. coli*. همچنین از دیسک‌های حاوی تتراسایکلین به عنوان شاهد در هر دو گونه باکتری استفاده شد.

۵-۳- بررسی MIC

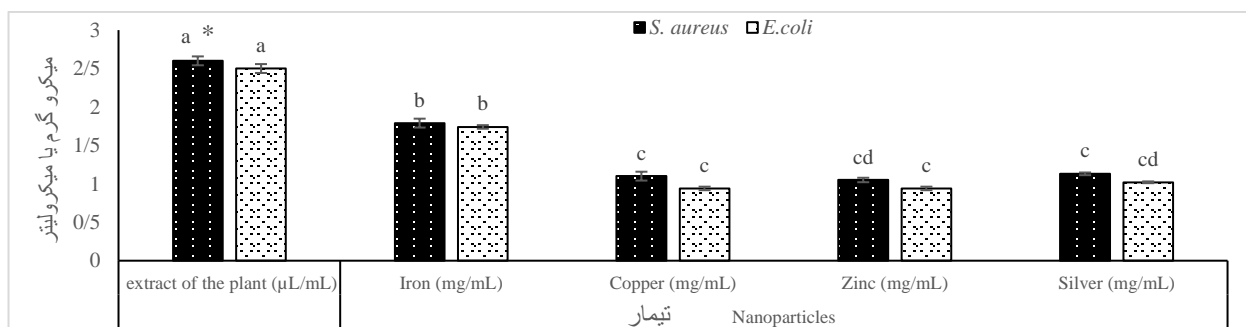
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان زنده‌مانی (IC_{50}) دو گونه باکتری، *E. coli* و *S. aureus* به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت تأثیر عوامل بازدارنده رشد (رشد عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، نقره و روی سنتز سبز شده از آن) قرار گرفت (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین مربعات تأثیر عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، نقره و روی سنتز سبز شده از آن بر میزان زنده‌مانی (IC_{50}) باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus*

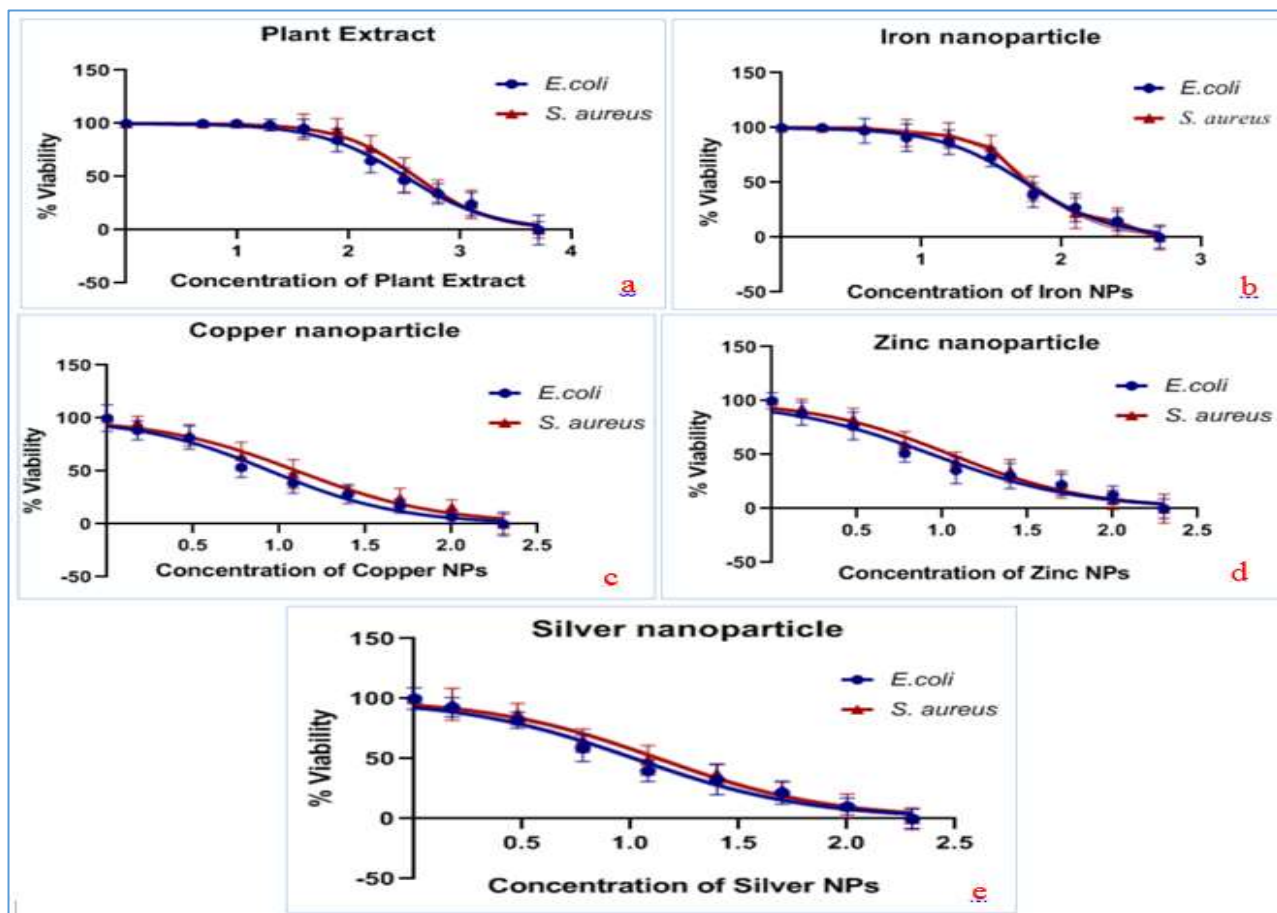
| میانگین مربعات | | درجه آزادی | منابع تغییر |
|----------------|------------------|------------|---------------------|
| <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | | |
| ۱/۴۱** | ۱/۳۴** | ۴ | بین تیمارهای مختلف |
| ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۷ | ۱۰ | خطا |
| ۳/۸۵ | ۵/۴۶ | - | ضریب تغییرات (درصد) |

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

طبق نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* میزان IC_{50} (غلظتی که می‌تواند حداقل ۵۰ درصد جمعیت باکتری (*S. aureus* و *E. coli*) را از بین ببرد) ثبت شده بین عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات فلزی حاصل از آن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به عبارتی دیگر جهت از بین بردن حداقل ۵۰ درصد باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* به غلظت بالاتری از عصاره آبی گیاه مورینگا در مقایسه با نانوذرات ذکر شده نیاز است. هم‌چنین از نظر میزان IC_{50} بین نانوذرات فلزی نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد به طوری‌که نانوذره آهن سنتز سبز شده به طور معنی‌داری میزان IC_{50} بیشتری نسبت به سایر نانوذرات داشت (شکل ۵ و شکل ۶). به طور کلی همان‌طوریکه در شکل ۶ مشاهده می‌شود، باکتری *E. coli* در مقایسه با باکتری *S. aureus* در برابر غلظت‌های برابر عصاره آبی گیاه *M. oleifera* و نانوذرات سنتز سبز شده از آن حساس‌تر بوده و میزان IC_{50} کمتری نسبت به باکتری *S. aureus* دارد اما این اختلاف معنی‌دار نبود. بیشترین ($2/6$ میکرولیتر در میلی‌لیتر) و کمترین ($0/94$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) میزان IC_{50} برای هر دو باکتری *S. aureus* و *E. coli* به ترتیب مربوط به عصاره آبی گیاه مورینگا و نانوذرات مس و روی سنتز سبز شده از آن بود.



شکل ۶- میزان IC_{50} باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه *M. oleifera*، نانوذره سنتز سبز شده آهن، مس، روی و نقره. * حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) است



شکل ۷- زنده‌مانی باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه *M. oleifera* (a)، نانوذره سنتر سبز شده آهن (b)، مس (c)، روی (d) و نقره (e)

۴- بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از فنآوری نانو در پزشکی، مهندسی، مهندسی مواد، زیست‌شناسی، راه و ساختمان و غیره بسیار اهمیت دارد. طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش بین عصاره آبی حاصل از گیاه *M. oleifera* و نانوذرات آهن، مس، روی و نقره سنتر سبز شده از آن از نظر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی داری داشت. به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۹/۲۳ درصد) مربوط به نانوذرات مس بود. نانوذرات فلزی از خواص بالایی در کنترل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را دارد. در این پژوهش مشخص شد که نانوذرات مس و نقره سنتر سبز شده از عصاره آبی گیاه مورینگا در مقایسه با نانوذرات آهن و روی از خواص ضدباکتریایی بالایی برخوردارند. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به هزینه بالای تجهیزات و ترکیبات آزمایشی اشاره نمود که امکان تکرار آزمایش را محدودتر می‌نماید. عدم تکرارپذیری آزمایش می‌تواند به عنوان یک نقطه ضعف پژوهش حاضر باشد. همچنین آزمایش تنها در شرایط آزمایشی (*In vitro*) انجام شده است که می‌تواند به عنوان یکی از نقاط ضعف پژوهش حاضر مطرح شود. اما از نقاط قوت این پژوهش می‌توان به طیف وسیع تیمارهای آزمایشی، استفاده از ترکیبات با منشاء

گیاهی جهت مقابله با باکتری‌ها و استفاده از دو نوع باکتری مختلف اشاره نمود. علاوه بر این پیشنهاد می‌شود آزمایش مورد نظر در طیف گسترده‌ای از انواع باکتری‌ها استفاده شود.

۵- فهرست منابع و مآخذ

- [1] Kirtane, A. R., Verma, M., Karandikar, P., Furin, J., Langer, R., & Traverso, G. (2021). Nanotechnology approaches for global infectious diseases. *Nature Nanotechnology*, 16(4), 369-384.
- [2] Tao, H., Wu, T., Aldeghi, M., Wu, T. C., Aspuru-Guzik, A., & Kumacheva, E. (2021). Nanoparticle synthesis assisted by machine learning. *Nature reviews materials*, 6(8), 701-716.
- [3] Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 7202.
- [4] Manzano, M., & Vallet-Regí, M. (2020). Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. *Advanced functional materials*, 30(2), 1902634.
- [5] Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., . . . Camins, A. (2020). Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview. *Nanomaterials*, 10(2), 292.
- [6] Zheng, W., Zhou, Q., & Yuan, C. (2021). Nanoparticles for oral cancer diagnosis and therapy. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2021.
- [7] Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336.
- [8] Zhang, D., Ma, X.-l., Gu, Y., Huang, H., & Zhang, G.-w. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer. *Frontiers in Chemistry*, 8.
- [9] Alphanđéry, E. (2019). Biodistribution and targeting properties of iron oxide nanoparticles for treatments of cancer and iron anemia disease. *Nanotoxicology*, 13(5), 573-596.
- [10] Ajinkya, N., Yu, X., Kaithal, P., Luo, H., Somani, P., & Ramakrishna, S. (2020). Magnetic iron oxide nanoparticle (IONP) synthesis to applications: present and future. *Materials*, 13(20), 4644.
- [11] Solovyova, A. Y., Elfimova, E. A., & Ivanov, A. O. (2021). Magnetic properties of textured ferrocomposite consisting of immobilized superparamagnetic nanoparticles. *Physical Review E*, 104(6), 064616.
- [12] Surpi, A., Shelyakova, T., Murgia, M., Rivas, J., Piñeiro, Y., Greco, P., . . . Dediu, V. A. (2023). Versatile magnetic configuration for the control and manipulation of superparamagnetic nanoparticles. *Scientific Reports*, 13(1), 5301.
- [13] Fadian Behbahani, N., & Buazar, F. (2019). Green synthesis and characterization of magnetic Iron oxide nanoparticles using a marine *Sargassum ilicifolium* seaweed. *Journal of Marine Science and Technology*, 18(1), 25-32.

- [14] Fardood, S. T., & Ramazani, A. (2018). Black tea extract mediated green synthesis of copper oxide nanoparticles. *Journal of Applied Chemical Research*, 12(2), 8-15.
- [15] Lin, Y.-X., Zhang, S.-N., Xue, Z.-H., Zhang, J.-J., Su, H., Zhao, T.-J., . . . Chen, J.-S. (2019). Boosting selective nitrogen reduction to ammonia on electron-deficient copper nanoparticles. *Nature Communications*, 10(1), 4380.
- [16] Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, 8(6), 151.
- [17] Noor, S., Shah, Z., Javed, A., Ali, A., Hussain, S. B., Zafar, S., . . . Muhammad, S. A. (2020). A fungal based synthesis method for copper nanoparticles with the determination of anticancer, antidiabetic and antibacterial activities. *Journal of Microbiological Methods*, 174, 105966.
- [18] Nakamura, S., Sato, M., Sato, Y., Ando, N., Takayama, T., Fujita, M., & Ishihara, M. (2019). Synthesis and application of silver nanoparticles (Ag NPs) for the prevention of infection in healthcare workers. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3620.
- [19] Guilger-Casagrande, M., & Lima, R. d. (2019). Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 287.
- [20] Pryshchepa, O., Pomastowski, P., & Buszewski, B. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 284, 102246.
- [21] Singh, J., Kumar, V., Kim, K.-H., & Rawat, M. (2019). Biogenic synthesis of copper oxide nanoparticles using plant extract and its prodigious potential for photocatalytic degradation of dyes. *Environmental research*, 177, 108569.
- [22] Motavalizadehkakhky, A., Amarloo, F., & Zhiani, R. (2020). Investigating antioxidant properties and antimicrobial of nanocomposite films containing synthesized silver nanoparticles by green way in food packaging.
- [23] Milla, P. G., Peñalver, R., & Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of *Moringa oleifera* in bakery products. *Plants*, 10(2), 318.
- [24] Dhakad, A. K., Ikram, M., Sharma, S., Khan, S., Pandey, V. V., & Singh, A. (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy Research*, 33(11), 2870-2903.
- [25] Sultana, S. (2020). Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. *Metabolism open*, 8, 100061.
- [26] Ajagun-Ogunleye, M. O., & Ebuehi, O. A. T. (2020). Evaluation of the anti-aging and antioxidant action of *Ananas sativa* and *Moringa oleifera* in a fruit fly model organism. *Journal of Food Biochemistry*, 44(11), e13426.

- [27] Valenga, M. G. P., Boschen, N. L., Rodrigues, P. R. P., & Maia, G. A. R. (2019). Agro-industrial waste and *Moringa oleifera* leaves as antioxidants for biodiesel. *Industrial Crops and Products*, 128, 331-337.
- [28] Dehshahri, S., Wink, M., Afsharypuor, S., Asghari, G., & Mohagheghzadeh, A. (2012). Antioxidant activity of methanolic leaf extract of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori. *Research in pharmaceutical sciences*, 7(2), 111.
- [29] Peixoto, J. R. O., Silva, G. C., Costa, R. A., Vieira, G. H. F., Fonteles Filho, A. A., & dos Fernandes Vieira, R. H. S. (2011). *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(3), 201-204.
- [30] Hassan, D. F., & Mahmood, M. B. (2019). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles using *Escherichia coli*. *Iraqi Journal of Science*, 453-459.
- [31] Akintelu, S. A., Oyebamiji, A. K., Olugbeko, S. C., & Latona, D. F. (2021). Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100176.
- [32] Singh, R., Hano, C., Nath, G., & Sharma, B. (2021). Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Carissa carandas* L. and their antioxidant and antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Biomolecules*, 11(2), 299.
- [33] Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A. (2020). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties. *Scientific Reports*, 10(1), 19996.
- [34] Dappula, S. S., Kandrakonda, Y. R., Shaik, J. B., Mothukuru, S. L., Lebaka, V. R., Mannarapu, M., & Amooru, G. D. (2023). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of *Andrographis alata*: Characterization, optimization and assessment of their antibacterial, antioxidant, antidiabetic and anti-Alzheimer's properties. *Journal of Molecular Structure*, 1273, 134264.
- [35] Brindhadevi, K., Samuel, M. S., Verma, T. N., Vasantharaj, S., Sathiyavimal, S., Saravanan, M., . . . Duc, P. A. (2020). Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs)-induced antioxidants and photocatalytic degradation activity from hybrid grape pulp extract (HGPE). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28, 101730.
- [36] Chandrasekaran, M., Kim, K. D., & Chun, S. C. (2020). Antibacterial activity of chitosan nanoparticles: A review. *Processes*, 8(9), 1173.
- [37] Alshareef, F. (2021). Protocol to Evaluate Antibacterial Activity MIC, FIC and Time Kill Method. *Acta Scientific MICROBIOLOGY (ISSN: 2581-3226)*, 4(5).
- [38] Schwaminger, S. P., Syhr, C., & Berensmeier, S. (2020). Controlled synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles: magnetite or maghemite? *Crystals*, 10(3), 214.

- [39] Ssekatawa, K., Byarugaba, D. K., Angwe, M. K., Wampande, E. M., Ejobi, F., Nxumalo, E., . . . Kirabira, J. B. (2022). Phyto-mediated copper oxide nanoparticles for antibacterial, antioxidant and photocatalytic performances. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*, 820218.
- [40] Dağlıoğlu, Y., & Yılmaz Öztürk, B. (2019). A novel intracellular synthesis of silver nanoparticles using *Desmodemus* sp.(Scenedesmaceae): different methods of pigment change. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, *30*, 611-621.
- [41] Andhare, D. D., Patade, S. R., Kounsalye, J. S., & Jadhav, K. (2020). Effect of Zn doping on structural, magnetic and optical properties of cobalt ferrite nanoparticles synthesized via. Co-precipitation method. *Physica B: Condensed Matter*, *583*, 412051.
- [42] Mali, S. C., Raj, S., & Trivedi, R. (2019). Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Enicostemma axillare* (Lam.) leaf extract. *Biochemistry and biophysics reports*, *20*, 100699.
- [43] Deepty, M., Srinivas, C., Kumar, E. R., Mohan, N. K., Prajapat, C., Rao, T. C., . . . Sastry, D. (2019). XRD, EDX, FTIR and ESR spectroscopic studies of co-precipitated Mn-substituted Zn-ferrite nanoparticles. *Ceramics International*, *45*(6), 8037-8044.
- [44] Kouhbanani, M. A. J., Beheshtkhoo, N., Taghizadeh, S., Amani, A. M., & Alimardani, V. (2019). One-step green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using aqueous leaf extract of *Teucrium polium* and their catalytic application in dye degradation. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, *10*(1), 015007.
- [45] Islam, Z., Islam, S., Hossen, F., Mahtab-ul-Islam, K., Hasan, M. R., & Karim, R. (2021). *Moringa oleifera* is a prominent source of nutrients with potential health benefits. *International Journal of Food Science*, 2021.
- [46] Pakade, V., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2013). Comparison of antioxidant activity of *Moringa oleifera* and selected vegetables in South Africa. *South African journal of science*, *109*(3), 1-5.
- [47] Jahan, S., Shahjahan, M., Rasna, S., Aktar, M., Sultana, S., Ahmed, S., . . . Nahar, S. (2022). Antibacterial Effect of *Moringa (Moringa oleifera)* Leaf Ethanolic Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Mymensingh Medical Journal: MMJ*, *31*(4), 976-982.
- [48] Jeevanandam, J., Krishnan, S., Hii, Y. S., Pan, S., Chan, Y. S., Acquah, C., . . . Rodrigues, J. (2022). Synthesis approach-dependent antiviral properties of silver nanoparticles and nanocomposites. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 1-23.
- [49] Islam, M. A., Jacob, M. V., & Antunes, E. (2021). A critical review on silver nanoparticles: From synthesis and applications to its mitigation through low-cost adsorption by biochar. *Journal of Environmental Management*, *281*, 111918.
- [50] Ahmed, R. H., & Mustafa, D. E. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles mediated by traditionally used medicinal plants in Sudan. *International Nano Letters*, *10*(1), 1-14.

- [51] Karan, T., Gonulalan, Z., Erenler, R., Kolemen, U., & Eminagaoglu, O. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using Sambucus ebulus leaves extract: characterization, quantitative analysis of bioactive molecules, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Molecular Structure*, 136836.
- [52] Castañeda-Aude, J. E., Morones-Ramírez, J. R., De Haro-Del Río, D. A., León-Buitimea, A., Barriga-Castro, E. D., & Escárcega-González, C. E. (2023). Ultra-Small Silver Nanoparticles: A Sustainable Green Synthesis Approach for Antibacterial Activity. *Antibiotics*, 12(3), 574. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/3/574>