مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال دهم، شماره اول، پیاپی سی‌ویکم، پائیز ۱۳۹۹ (۷۰-۶۱)

Crop Biotech.
Autumn (2020) 9(4): 61-70. DOI: 10.30473/cb.2021.55486.1823

سنتز زیستی نانوذرات نقره مبتنی بر عصاره گیاهان *Eucalyptus obliqua* و *Mentha spicata* و ارزیابی خصوصیات فیزیکی آن‌ها

منصوره رحمتیان [۱]، مهدی دادمهر [۲*]، ابوالفضل توسلی [۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. استادیار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/٦/١٤ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۳۰)

Biological synthesis of silver nanoparticle based on *Eucalyptus obliqua* and Mentha *spicata* plant extracts and evaluation of their physical properties

Mansureh Rahmatiyan[1], Mehdi Dadmehr[2*], Abolfazl Tavassoli[3]

1. M.Sc., Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran

2.Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Iran

3. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran

(Received: Sep. 4, 2020 - Accepted: Dec. 20, 2020)

چکیده

نانوذرات به دلیل خصوصیات متمایز خود استفاده گسترده ای در علوم مختلف از جمله بیوتکنولوژی، پزشکی و غیره دارند. بیش از نیمی از سهم تولید نانوذرات در دنیا به نانوذرات نقره اختصاص یافته که عمدتا به دلیل خاصیت ضد باکتری آنها می باشد. در روش‌های مرسوم شیمیایی برای سنتز نانوذرات نقره معمولا از ترکیبات احیا کننده ای استفاده می شود که سازگار با محیط زیست نبوده و گاهی سمی می باشند . توسعه روش های سنتز زیستی برای تهیه زیستی نانوذرات بسیار مهم و حیاتی به نظر می‌رسد. در این تحقیق از عصاره گیاهان اکالیپتوس (*Eucalyptus obliqua*) و نعناع (*Mentha spicata*) به عنوان عامل احیا کننده برای تولید بیولوژیک نانوذرات نقره استفاده گردید. با افزودن عصاره گیاهی به محلول نیترات نقره در دما و زمان‌های مختلف تولید نانوذرات نقره بررسی شد. تغییر رنگ از زرد کمرنگ به قهوه‌ای تیره نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره بود. همچنین وجود پیک جذبی (SPR) قوی در طول موج بین ٤٢٠ تا ٤٦٠ با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی UV/Visible نیز تأییدی بر تولید نانوذرات نقره بود. تشکیل این نانوذرات نیز توسط میکروسکوپ الکترونی SEM تأیید شد و نشان داده شد، نانوذرات تولید شده به وسیله گیاه نعناع در شرایط یکسان نسبت به اکالیپتوس بیشتر و پایدارتر بوده و این گیاه قابلیت بیشتری برای تولید نانوذرات نقره دارا بود. مورفولوژی ذرات سنتز شده به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM نیز تعیین و نانوذرات تشکیل شده کروی با اندازه ۱۰ تا ۲۰ نانومتر قابل مشاهده بودند. این نانوذرات نقره به عنوان ماده ضد باکتری دارای کاربردهای فراوانی در پزشکی و صنعت می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: اکالیپتوس، سنتز زیستی، ضد باکتری، نانوذرات نقره، نعناع.

Abstract

Nanoparticles are one of the most applicable materials in, science such as biotechnology, and medicine due to their distinguished characters. The previous studies indicated that over the half of total production of nanoparticles is dedicated to the conventional and bio inspired synthesis of silver nanoparticles. These nanoparticles have antimicrobial characteristics and widespread applications in medicine and industry. Conventional chemical methods for synthesis of silver nanoparticles usually use the reducing agents that they are not compatible to environment and sometimes toxic and the resulting nanoparticles cannot be involved in biological applications. So, green synthesis of nanoparticles is the process that based on green chemistry for the synthesis of bio-nanoparticle is very important. In this study, eucalyptus (*Eucalyptus obliqua*) and mint (*Mentha spicatae*) extracts of medicinal plants for biological production of silver nanoparticles was used as a reducing agent. By adding the extract to the solution of silver nitrate at different temperatures and incubation times silver nanoparticles were produced. Changing the color from pale yellow to dark brown was showed the production of silver nanoparticles. There is also the strong peak absorption (SPR) at wavelengths between 420 and 460 with using spectroscopy UV/Vis which indicate the production of silver nanoparticles. The size of the nanoparticles was determined by electron microscopy analysis (SEM and TEM). The average sizes of nanoparticles in both plants were between 10 and 20 nm. The produced nanoparticles by the mint plant at the same condition was more stable than eucalyptus that confirmed that mint has more ability to produce silver nanoparticles.

Keywords: Antibacterial, Biological synthesis, Eucalyptus, Mint, Silver nanoparticles.

* نویسنده مسئول: مهدی دادمهر

E-mail: mdadmehr@pnu.ac.ir

مقدمه

نانوتکنولوژی شامل مجموعه ای از فن آوری هاست که در طی آن بشر قادر است تا با شناخت دقیق ماهیت مواد، ساختار و خواص آن‌ها را در حد اتمی و مولکولی کنترل نماید و شامل طراحی، تولید و کاربرد نانومواد و فهم روابط و قوانین حاکم بین خواص فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و ابعاد آن‌هاست. امروزه نانوتکنولوژی به علت کاربرد وسیع و فراوان در علوم و صنایع با سرعت بالایی در حال رشد می‌باشد (Kavya *et al*., 2011). نانوتکنولوژی با ساختارهای متنوعی از مواد سر و کار دارد که ابعادی در محدوده یک میلیاردم متر دارند (Poole *et al*., 2003). نانوذرات عناصر اساسی و پایه‌ای در چارچوب نانوفناوری هستند (Vanaja and Annadurai, 2012)، که قطر حداقل یکی از ابعاد آن‌ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر است (Dubey *et al*., 2010). مهمترین خصوصیت این محصولات ریز، نسبت سطح به حجم بالای آن‌هاست که مهمترین ویژگی مسئول استفاده گسترده از آن‌ها در علوم مختلف از جمله بیوتکنولوژی، میکروبیولوژی، مکانیک، اپتیک، الکترونیک، و ... می‌باشد (Christian *et al*., 2008). در بین انواع مختلف نانوذرات، نانوذرات نقره از فواید فراوانی در زمینه‌های نانوتکنولوژی و نانوبیوتکنولوژی و پزشکی برخوردار هستند (Jagtap and Bapat, 2013). نانوذرات نقره به‌عنوان عوامل آنتی‌باکتریال، آنتی ویروس و ضدفساد توسعه پیدا کرده‌اند (Dinesh *et al*., 2012) و کاربردهای بالقوه‌ای در عرصه علوم پایه زندگی بشر به ویژه در پزشکی، شیمی موادغذایی، علم پزشکی قانونی، کشاورزی و لوازم آرایشی دارند (Vanaja and Annadurai, 2012). تمایل به تولید و استفاده از مواد با ابعاد نانومتری با توجه به خصوصیات جالب صنعتی این مواد روز به روز در حال افزایش است. روش‌های مختلفی از جمله روش‌های شیمیایی و فیزیکی برای سنتز نانوذرات نقره در اندازه‌های مختلف وجود دارد (Senapati *et al*., 2012). سنتز زیستی نانوذرات، تکنولوژی بالقوه‌ای است که از تلفیق علوم‌زیستی و نانوفناوری ظهور کرده است که با هدف تولید مواد در مقیاس نانومتر از طریق روش‌های زیستی سازگار محیط زیست در حال توسعه و پیشرفت است (Sahayaraj and Rajesh, 2011). روش‌های شیمیایی سنتز نانوذرات معمولا منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی و عدم استفاده از نانوذرات حاصل در کاربردهای زیستی می‌شود، همچنین روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیار گران قیمت و خطرناک هستند و ممکن است اثرات سمیت نیز در کاربردهای پزشکی داشته باشند. بنابراین توسعه یک فرآیند مبتنی بر شیمی سبز برای سنتز بیولوژیک نانو مواد بسیار مهم و حیاتی به نظر می‌رسد. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از میکروارگانیسم‌ها و گیاهان می‌تواند به رفع این مشکل کمک کند (Roy and Barik, 2010). استفاده از گیاهان سبز نیز برای تهیه زیستی نانوذرات نقره، یک فرصت هیجان انگیز و تا حد زیادی ناشناخته است و از مزایای این روش می‌توان به غیرسمی بودن، زیست سازگاری، ارزانی و تولید نانوذرات با خلوص بالا اشاره کرد (Salehi and Tamaskani, 2008). در سال‌های اخیر روش بیوسنتز با استفاده از عصاره گیاهان توجه بیشتری را نسبت به سایر روش‌های زیستی به خود اختصاص داده است (Choi *et al*., 2008). تاکنون مطالعات مختلفی از روش زیستی عصاره‌های گیاهان برای سنتز نانوذرات نقره و اثرات آنتی‌باکتریال آنها انجام شده است. برای مثال در سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ شمعدانی، نانوذرات به سرعت تشکیل شدند و اندازه پایدار آن‌ها بین ۱۶-۴۰ نانومتر به دست آمد (Shankar *et al*., 2003). همچنین در مطالعه دیگری، یون‌های طلا و نقره طی فرآیند بیوسنتز با استفاده از ترکیبات موجود در عصاره برگ

دارچین به نانوذرات تبدیل شدند، احیای یون‌ها به ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره نسبت داده شده است (Huang *et al*., 2007). در همین راستا تا کنون، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهان دارویی پنیرک (Beirami and Poorakbar, 2016)، بومادران (Karimi and Mohsenzadeh, 2012)، پونه (Prasad *et al*., 2011) و بسیاری دیگر از گیاهان انجام گرفته است. اکالیپتوس (*Eucalyptus*) یکی از جنس‌های اسانس‌دار خانواده مورد (*Myrtaceae*) محسوب می‌شود که بومی استرالیا بوده و گونه‌های مختلف آن در سایر نواحی گرمسیری جهان کاشته شده است. این درخت یکی از گیاهان دارویی رایج و گسترده مورد استفاده برای اسانس‌گیری است و دارای مصارف مختلف تجاری و صنعتی می‌باشد. نعناع (*Mint*) گیاهی علفی، پایا و چندساله و دارای ساقه‌های خزنده و زیرزمینی است که از تیره نعناعیان (*Labiatae*) می‌باشد. برخی منشأ آن را آسیا و برخی کشور انگلیس می‌دانند. در طب سنتی از گیاه نعناع به‌عنوان ضدنفخ، خنک‌کننده و مسکن استفاده می‌شود و در صنایع دارویی دارای کاربردهای فراوان می‌باشد. در این پژوهش به‌منظور سنتز سبز نانوذرات نقره از عصاره گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع استفاده شده است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره گیاهی

عصاره گیاهی با استفاده از ۵ گرم برگ گیاه اکالیپتوس و نعناع به طور جداگانه بدست آمد. در ابتدا سطح برگ‌ها به وسیله شیر آب و سپس آب مقطر شست وشو داده شد و سپس به قطعات کوچک برش داده و در یک ارلن مایر ۳۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر ریخته شد و روی حرارت قرار گرفت تا به مدت ۵ دقیقه بجوشد. پس از گذشت این مدت، عصاره به دست آمده را از کاغذ صافی واتمن عبور داده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

بیوسنتز نانوذرات نقره

ابتدا برای تهیه یون‌های نقره، ۱۹۰ میلی‌لیتر محلول ۱ میلی‌مولار از نمک نیترات نقره تهیه ($AgNO_3$) گردید. بعد از آن، ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره برگی به آن اضافه شده و روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. عصاره گیاهی به دلیل فراوانی ترکیباتی همچون آلدهید، کتون، تریپنوئیدها و... منجر به احیای نمک نیترات نقره به نانوذرات نقره می‌شوند. در طی فرآیند سنتز یون‌های Ag^+ در معرض ترکیبات احیا کننده عصاره قرار گرفته و از این طریق کاهش نمک نیترات نقره شروع می‌شود. در این مرحله احیای یون های Ag^+ به نانوذرات نقره طی تغییر رنگ محلول از زرد به قهوه‌ای تیره قابل مشاهده و ارزیابی بود و برای اطمینان از سنتز سبز نانوذرات نقره، طیف‌سنجی انجام شد. در این آزمایش، به منظور بهینه سازی تولید نانوذرات، اثر سه دمای متفاوت ۲۵، ۵۵، ۹۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۶۰ دقیقه و همینطور اثر زمان در فاصله‌های ۵، ۱۵،۳۰، ۶۰،۹۰، ۱۲۰دقیقه، در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد بر سرعت سنتز و اندازه نانو ذرات نقره مورد بررسی قرار گرفت.

در ادامه نمونه‌ها تحت شرایط بیان شده، درون میکروتیوپ‌های ۲ میلی‌لیتری قرار گرفته و به مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۱۵۰۰۰ rpm در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند و سپس محلول رویی دور ریخته شد و به منظور شست و شو و پراکنده کردن نانوذرات ته‌نشین شده، با اضافه کردن آب دو بار تقطیر، عمل سانتریفیوژ ۳ بار تکرار گردید. پس از هر بار سانتریفیوژ فاز رویی جدا و به ماده ته‌نشین‌شده آب دو بار تقطیر اضافه گردید.

تعیین ویژگی‌های نانوذرات نقره

احیای زیستی یون‌های نقره عصاره آبی توسط اشعه ماوراءبنفش مرئی از طریق اندازه‌گیری میزان جذب با

استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible) در فاصله زمانی و دماهای مشخص شده مورد بررسی قرار گرفت به این صورت که مقدار ۲ میکرولیتر از نمونه‌های سانتریفیوژ شده حاوی نانوذرات نقره را در سل دستگاه و در جایگاه تعبیه شده آن قرار داده و میزان جذب آن در بازه طول موج ۵۰۰-۴۰۰ نانومتر بررسی گردید. سپس با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی SEM مورفولوژی و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت بطوریکه روکش نازکی از طلا روی نمونه خشک شده قرار گرفت و ویژگی‌های ریخت شناسی و اندازه نانوذرات مشخص گردید.

نتایج و بحث

بررسی تولید نانوذرات با استفاده از گرادیان دمایی

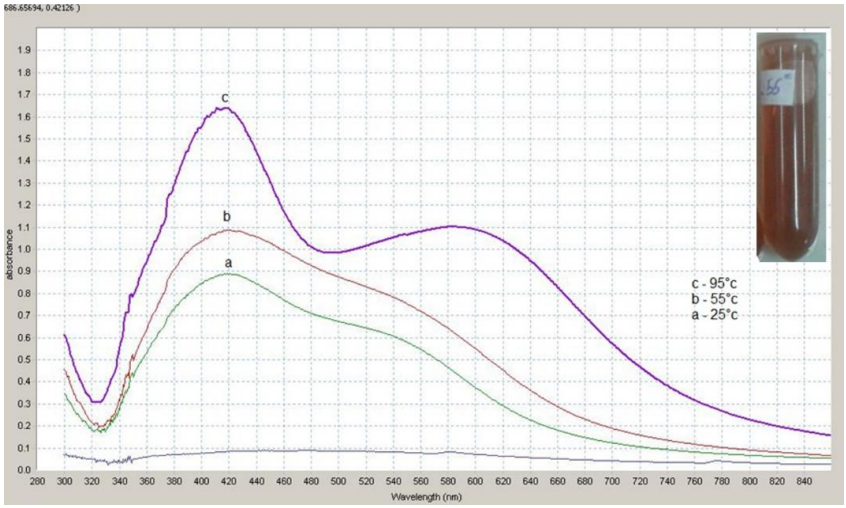
در اثر احیای یون‌های نقره و تولید نانوذرات، رنگ نمونه‌ها از زرد کمرنگ به قهوه‌ای تبدیل شد که با نتایج بدست آمده از منابع قبلی همخوانی داشت و نشان دهنده تولید نانوذرات نقره بود. پس از ایجاد تغییر رنگ در محیط واکنش و زمان و دماهای گفته شده، جهت اثبات وجود نانوذرات نقره در نمونه‌ها طیف جذبی از آن‌ها تهیه شد. یکی از جالب‌ترین ویژگی‌های نانوذرات فلزی خواص نوری آن‌ها است که متناسب با شکل و اندازه نانوذرات تغییر می‌کند. در نانوذرات فلزی تشدید پلاسمون سطحی مسئول خواص نوری منحصر به فرد آنهاست که تحت فاکتورهایی از قبیل اندازه نانوذرات، شکل نانوذرات، فاصله نانوذرات از همدیگر و ضریب شکست محیط پیرامون تغییر می‌کند (Yin *et al*., 1999).

ویژگی رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) نانوذرات نقره موجب جذب نور در محدوده طول موج ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر می باشد. به منظور تعیین دمای بهینه برای سنتز نانوذرات نقره در بستر عصاره گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع در شرایط دمایی متفاوت ۲۵، ۵۵، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفتند. همانطور که از نمودارها مشخص است طیف جذبی در حدود ۴۲۰ تا۴۶۰ نانومتر و در محدوده طول موج مربوط به نانوذرات نقره می‌باشد و در زمان ثابت ۶۰ دقیقه با افزایش دما میزان جذب افزایش یافته یافته است. با بررسی دقیق نمودار ۱ و ۲ مشخص می شود که تیمارهای دمایی اعمال شده باعث افزایش جذب به میزان به ترتیب ۰/۹، ۱/۱ و ۱/۶۵ در دماهای ۴۵، ۵۵ و ۹۵ درجه در اکالیپتوس (شکل ۱) و با همین روند نیز افزایش جذب در نعناع به ترتیب میزان ۰/۵، ۰/۹ و ۱/۲ در دماهای ۴۵، ۵۵ و ۹۵ شد (شکل ۲). اگر چه حداکثر جذب در دمای ۹۵ درجه مشاهده شد اما اضافه شدن یک پیک جذبی دیگر در محدوده ۵۸۰ نانومتر در مورد نانوذرات سنتز شده به‌وسیله عصاره اکالیپتوس و جذب مجدد در محدوده ۵۴۰ نانومتر باعث شد برای اطمینان از انجام دقیق آزمایش سنتز نانوذرات، دمای ۵۵ درجه به عنوان دمای بهینه بیوسنتز در نظر گرفته شد.

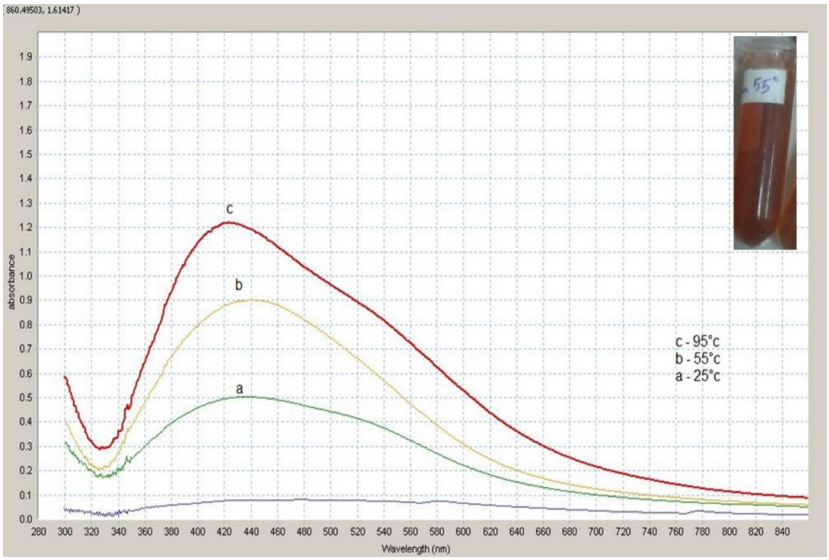
بررسی تولید نانوذرات با توجه به زمان نگهداری

به منظور تعیین بهترین زمان برای سنتز نانوذرات طیف‌سنجی گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع در دمای ثابت ۵۵ درجه سانتی‌گراد و در فواصل زمانی مشخص شده (۵، ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰)، پیک جذبی مربوط به پلاسمون سطحی در محدوده طول موج های۴۲۰ تا ۴۶۰ نانومتر مربوط به نانوذرات نقره اندازه گیری شد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است با گذشت زمان میزان جذب در گیاه اکالیپتوس روند افزایشی پیدا می کند. جذب در ۵ دقیقه اول حدود ۰/۶۵ بوده و به طور پیوسته افزایش یافته تا در ۱۲۰ دقیقه پس از واکنش به حداکثر جذب حدود ۱/۵ رسیده و در گیاه نعناع هم به همین صورت بوده و همانطور که در شکل ۴ مشخص است جذب در ابتدا حدود ۰/۶ بوده و در پایان آزمایش به ۱/۳ رسیده و تقریباً

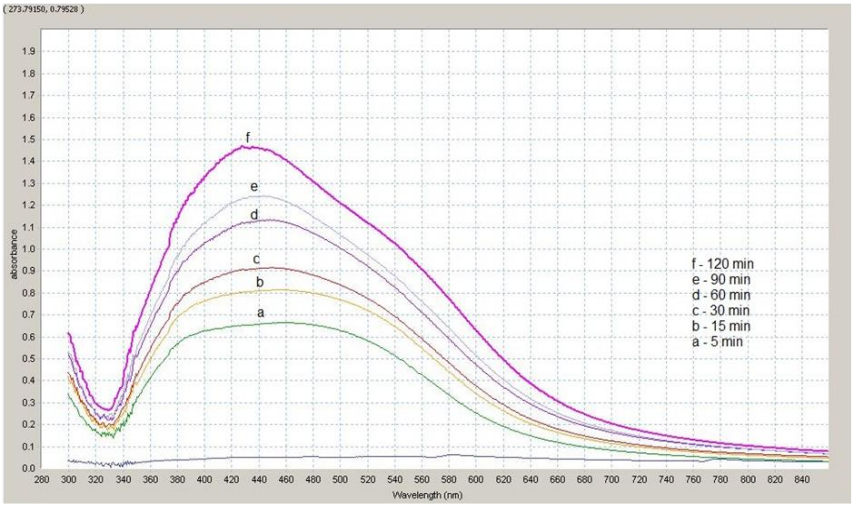
دوبرابر شده است.



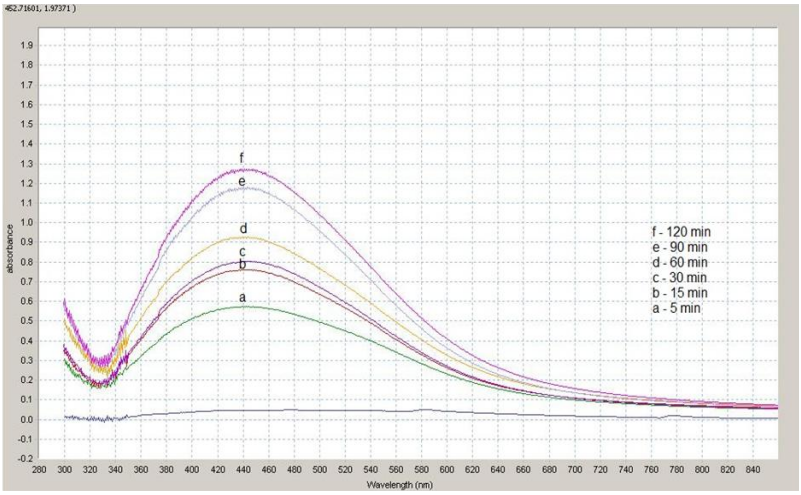
شکل ۱. طیف جذبی نانوذرات نقره سنتز شده به‌وسیله عصاره اکالیپتوس در دماهای ۲۵، ۵۵ و ۹۵ (تصویر داخل نانوذرات سنتز شده)



شکل ۲. طیف جذبی نانوذرات نقره سنتزشده به‌وسیله عصاره نعناع در دماهای ۲۵، ۵۵ و ۹۵ (تصویر داخل نانوذرات سنتز شده)



شکل ۳. نمودار جذب نانوذرات نقره سنتز شده به‌وسیله عصاره گیاه اکالیپتوس در زمان های انکوباسیون مختلف



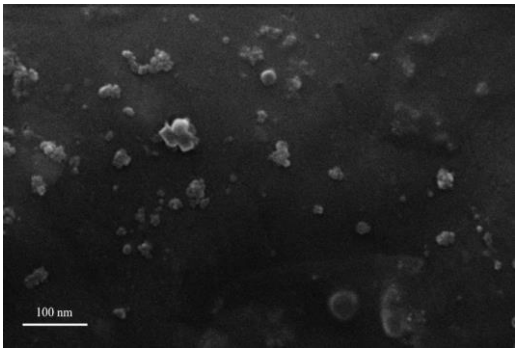
شکل ۴. نمودار جذب نانوذرات نقره سنتزشده به‌وسیله عصاره گیاه نعناع در زمان‌های انکوباسیون مختلف

آنالیز SEM

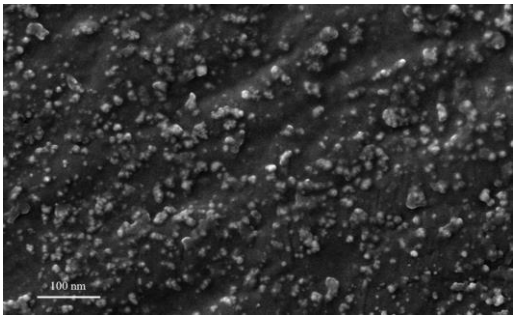
به منظور بررسی مورفولوژیکی نانوذرات تولید شده، تصویربرداری به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی نگاره SEM انجام شد. شکل‌های ۵ و ۶ تصاویر SEM نانوذرات نقره تهیه‌شده به‌وسیله گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع را در بالاترین پیک جذب پلاسمون سطحی در طیف‌سنجی آزمایش‌های انجام شده، نشان می‌دهد. ابعاد نانوذرات تولیدشده در هر دو نمونه بین ۱۰ تا ۲۰ نانومتر می‌باشد. همانطور که از تصاویر مشخص است، به هم چسبیدگی نانوذرات تولیدشده به‌وسیله گیاه اکالیپتوس (شکل۵)، بیشتر از نعناع (شکل ۶) است و نانوذرات بیشتری به‌وسیله گیاه نعناع تولید شده است و این موضوع نشان می‌دهد قدرت تولید نانوذرات در شرایط یکسان به‌وسیله گیاه نعناع بیشتر از اکالیپتوس می‌باشد و این گیاه پتانسیل بالاتری برای تولید نانوذرات دارا می‌باشد.

آنالیز TEM

به منظور بررسی دقیق تر نانوذرات سنتز شده در این روش سنتز سبز با استفاده از عصاره گیاهی، بررسی خصوصیات مورفولوژیکی نانوذرات تولید شده در عصاره نعناع، به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری نیز انجام شد تا بررسی نانوذرات با دقت بیشتر صورت گیرد. شکل ۷، نانوذرات سنتزشده را نشان می دهد که در حدود ابعاد تعیین‌شده به‌وسیله تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و اندازه ۲۰-۱۰ نانومتر بود. همچنین نانوذرات به شکل کروی و پراکنده در شکل قابل مشاهده می‌باشند که تهیه کامل و موفقیت آمیز آنها را بیان می‌کند.

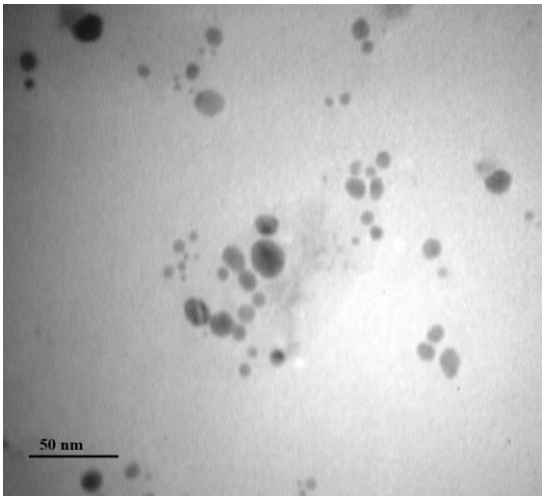


شکل ۵. تصویر نانوذرات نقره تولید شده در شرایط بهینه به‌وسیله عصاره اکالیپتوس



شکل ۶ تصویر نانوذرات نقره تولید شده در شرایط بهینه

به‌وسیله عصاره نعناع



شکل ۷. تصویر TEM نانوذرات نقره سنتز شده طی سنتز سبز به‌وسیله عصاره گیاهی

اساس سنتز نانوذرات، احیای یون‌های نمک آن‌ها و در واقع خنثی شدن بار الکتریکی است. تولید نانوذرات فلزی و نانوساختارها به علت خواص نوری، شیمیایی، فتوشیمیایی و الکتریکی غیر معمولی که دارند جالب توجه است. فلزاتی مانند طلا و نقره که رزونانس پلاسمون سطحی قویی دارند بسیار حائز اهمیت هستند. ذرات نانوکریستال نقره کاربردهای عمده‌ای در تشخیص‌های بیومولکول، خواص ضدمیکروبی، درمان، کاتالیز و غیره دارند. یک پروتکل کم‌هزینه و سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذرات نقره استفاده از گیاهان و عصاره آن‌ها می‌باشد. با توجه به مشکلات عمده‌ای که در روش‌های شیمیایی و فیزیکی برای تولید نانوذرات وجود دارد نیاز به روش‌هایی آسان، کم‌هزینه، ایمن، غیرسمی، سازگار با محیط زیست وجود دارد (Song and Kim, 2009). همچنین نانوذرات تولید شده توسط گیاهان دارویی با ریسک کمتری می‌توانند در موارد متعددی از جمله نقش آنتی باکتری آنها بخصوص در کاربردهای زیستی و پزشکی باشد. بدلیل ارزان و دسترسی آسان روش‌های زیستی مخصوصا گیاهی نسبت به سایر روش‌ها از منظر اقتصادی نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد و به دلیل نداشتن مشکلات گوناگون سایر روش‌ها مورد توجه جدی قرار بگیرد .تولید نانوذرات در غلظت بالا و رهاسازی بی رویه و غیراستاندارد آن‌ها در طبیعت ممکن است مشکلاتی برای محیط زیست و سلامت انسان، حیوان، گیاه، میکروارگانیسم ها ایجاد نماید که تولید زیستی آنها می‌تواند تا حد زیادی از اثرات سو محیطی بکاهد. اما در نهایت ماهیت نانوذرات صرف نظر از روش‌های تولیدی به دلیل نفوذپذیری بالا، بالقوه خطرات خاص خود را دارد و رعایت ایمنی‌های لازم را می‌طلبد.

اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره توسط بسیاری از محققان مورد بررسی قرار گرفته و پتانسیل موثر آن ها بر علیه طیف وسیعی از میکرب ها از جمله باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها به اثبات رسیده است (Saravanan & Nanda, 2009). نانوذرات نقره با عناصر ساختمانی از غشای سلول باکتری‌ها واکنش می دهند و منجر به آسیب سلولی می‌شوند، پتانسیل ضد باکتریایی یون نقره در میکروارگانیسم‌ها نشان دادند که که یون های نقره به داخل سلول‌های باکتریایی نفوذ می کنند و بر روی زیرواحدهای پروتئینی ریبوزوم ها و بسیاری از آنزیم‌های مهم سلول‌های باکتریایی اثر می‌گذارند (Tian *et al*., 2007). در این پژوهش، تولید نانوذرات نقره به‌وسیله عصاره گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع انجام شده است. این آزمایش با استفاده از عصاره گیاهان دارویی ذکرشده و نمک نیترات نقره در زمان و دماهای متفاوت و بدون استفاده از هرگونه ماده شیمیایی یا پایدار کننده، نانوذرات نقره تولید شدند که نشان دهنده سرعت و قابلیت بالای این روش و بی‌نیازی از هرگونه مواد شیمیایی برای تولید نانوذرات است که با نتایج حاصل از پژوهش‌های Song and Kim (۲۰۰۹) و Sathyavathi و همکاران (۲۰۱۰) مشابهت داشت.

تغییر رنگ مشاهده شده از زرد کم رنگ به قهوه‌ای تیره تا سیاه در اثر برهم‌کنش عصاره گیاهی و محلول نمک نیترات نقره با نتایج حاصل از پژوهش Ahmad و همکاران (۲۰۱۰) و Reddy and Gandhi (۲۰۱۰) مشابه بود و اولین نشانه از تولید نانوذرات نقره محسوب می‌شود. نتایج آنالیزها نیز سنتز نانوذرات نقره را تأیید می‌کند. تغییر رنگ و طیف جذبی حاصله از اسپکتروفتومتری UV/Visible محلول عصاره گیاهی و نیترات نقره در دما و زمان‌های مختلف و وجود پیک جذبی قوی در حدود ۴۲۰ تا ۴۶۰ نانومتر تأییدی بر تولید نانوذرات نقره می‌باشد که بسیار مشابه نتایج Song and Kim (۲۰۰۹) و Roopan و همکاران (۲۰۱۳) می‌باشد. افزایش میزان جذب مشاهده‌شده در طیف جذبی حاصله از اسپکتروفتومتری UV/Visible در طول زمان و دمای بالاتر به علت افزایش میزان تبدیل یون نقره به نانوذرات نقره بوده و نشان‌دهنده تبدیل یون‌های نقره به نانوذرات نقره در طول زمان مشخص است (Krishnaraj *et al*., 2010). تغییر رنگ و پیک مشاهده‌شده در طول موج بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتری در طیف اسپکتروسکوپی مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی SPR، ناشی از نوسانات جمعی الکترون‌های آزاد القا شده به وسیله تعامل با میدان الکترومغناطیسی است که برای هر نوع ذرات در هر اندازه، اختصاصی و مختص خود آن نانوذرات می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM، نانوذرات نقره را در اندازه‌های محدوده نانومتر را نشان می‌دهد. اندازه این ذرات در هر دو نمونه بین ۱۰ تا ۲۰ نانومتر می‌باشد که در محدوده نانومتری و بالطبع دارای خواص شیمیایی و فیزیکی خاص بوده و کاربرد فراوان در زمینه‌های مختلف از جمله دارویی و پزشکی برای آن متصور است. یکی از مهمترین نتایج این تحقیق تولید نانوذرات نقره سنتز شده به‌وسیله عصاره گیاه نعناع بود که تاکنون گزارشی در این خصوص وجود دناشت و برای اولین بار گزارش شده است. نکته جالب توجه این بود که نانوذرات تولید شده به‌وسیله نعناع در مقایسه با نانوذرات تولید شده به‌وسیله اکالیپتوس که گزارش قبلی در مورد تولید آن وجود داشت (Dubey *et al*., 2009). فراوانی بیشتر و تراکم بالاتری داشتند. در این میان با توجه به تولید نانوذرات بیشتر توسط گیاه نعناع و پایداری کم نانوذرات تولید شده به‌وسیله گیاه اکالیپتوس، گیاه نعناع از قابلیت بالاتری نسبت به تولید نانوذرات برخوردار می‌باشد. از محدودیت‌های این روش، پراکنش زیاد نانوذرات در اندازه‌های مختلف می‌باشد که با روش‌های مختلف از قبیل تغییرات دما، مدت زمان، غلظت‌های مختلف و ... برهم‌کنش محلول نمکی و عصاره گیاهی می‌توان دامنه تغییرات اندازه نانوذرات را کاهش داد و به یک شرایط بهینه دست پیدا کرد. در این پژوهش نانوذرات نقره با روشی زیستی و دوستدار طبیعت و بدون استفاده از هرگونه مواد شیمیایی مضر تولید گردید. استفاده از پتانسیل عظیم طبیعت می‌تواند در تولید نانوذرات بدون آسیب به محیط زیست کمک نماید. به طور کلی مزیت تولید گیاهی نانوذرات بر سایر روش‌های زیستی بی‌خطربودن و همچنین قابلیت‌های بالای گیاهان دارویی است که بسیار قابل اعتماد و سالم‌تر از باکتری، قارچ و مخمر برای تولید نانوذرات است (Bose and Chatterjee, 2015).

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان از عصاره گیاهان دارویی اکالیپتوس و نعناع به عنوان روشی ساده، کم‌هزینه و بدون نیاز به استفاده از مواد مخرب محیط زیست و سریع برای سنتز زیستی نانوذرات نقره استفاده کرد. در این مطالعه سنتز نانوذرات نقره به روشی بیولوژیک و بدون استفاده از حلال‌های شیمیایی به عنوان کاهش دهنده و پایدار کننده انجام شد و نانوذرات نقره با اندازه‌های ۱۰ تا ۲۰ نانومتر تولید شدند و همچنین با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM نشان داده شد که فراوانی نانوذرات تولید شده در گیاه نعناع به مراتب بیشتر و با تراکم بالاتر بود و از این

جهت گیاه نعناع دارای قابلیت بالاتری برای تولید نانوذرات نقره نسبت به اکالیپتوس می‌باشد. مورفولوژی و شکل نانوذرات با دقت و بزرگنمایی بیشتر به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری نیز مورد بررسی قرار گرفت و نانوذرات کروی سنتز شده به وضوح در شکل قابل مشاهده بودند. این نتیجه مشاهده‌شده ممکن است به دلیل حضور بیشتر ترکیبات موثر در احیای یون‌های موجود در محلول واکنش برای تولید نانوذرات نقره باشد. نانوذرات تشکیل‌شده را می توان در کاربردهای مربوط به ویژگی‌های ضد باکتریایی آنها به‌کار برد. ویژگی بسیار مهم این نانوذرات نسبت به انواع شیمیایی عدم استفاده از هرگونه ماده احیاکننده شیمیایی در فرآیند سنتز آنها می‌باشد که قابلیت سازگاربودن با محیط زیست بالا و عدم سمیت به آنها داده است.

REFERENCES

Ahmad N, Sharma S, Alam MK, Singh V, Shamsi S, Mehta B, Fatma A (2010) Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. Colloids Surf. B: Biointerfaces81:81-86.

Andeani JK, Kazemi H, Mohsenzadeh S, Safavi A (2011) Biosynthesis of gold nanoparticles using dried flowers extract of Achillea wilhelmsii plant. Dig. J. Nanomater. Bios. 6:1011-1017.

Beyrami Miavaghi M, Pourakbar L (2016) Phytosynthesis of silver nanoparticles by medicinal plant Malva neglecta. Qom Univ. Med. Sci. J. 10: 38-44.

Bose D, Chatterjee S (2015) Antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles using Vasaka (*Justicia adhatoda* L.) leaf extract. Indian j. microbiol. 55:163-167.

Choi O, Deng KK, Kim N-J, Ross Jr L, Surampalli RY, Hu Z (2008) The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. Water res. 42: 3066-3074.

Christian P (2008) Von Der Kammer; F.; Baalousha; M.; Hofmann; T. Ecotoxicology 17: 326-343.

Dinesh S, Karthikeyan S, Arumugam P (2012) Biosynthesis of silver nanoparticles from Glycyrrhiza glabra root extract. Arch. Appl. Sci. Res. 4:178-187.

Dubey SP, Lahtinen M, Sillanpää M (2010) Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of Rosa rugosa. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp. 364: 34-41.

Huang J, Li Q, Sun D, Lu Y, Su Y, Yang X, Wang H, Wang Y, Shao W, He N (2007) Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf. Nanotechnology 18: 105104.

Jagtap UB, Bapat VA (2013) Green synthesis of silver nanoparticles using Artocarpus heterophyllus Lam. seed extract and its antibacterial activity. Ind. crops prod. 46: 132-137.

Karimi J, Mohsenzadeh S (2013) Plant synthesis of silver nanoparticles by Achillea wilhelmsii Pharmaceutical plant. Razi J. Med. Sci. 20: 64-69.

Kaviya S, Santhanalakshmi J, Viswanathan B, Muthumary J, Srinivasan K (2011) Biosynthesis of silver nanoparticles using Citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc. 79:594-598.

Krishnaraj C, Jagan E, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan P, Mohan N (2010) Synthesis of silver nanoparticles using Acalypha indica leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids Surf. B: Biointerfaces 76:50-56.

Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK

(2008) Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. J. nanoparticle res. 10:507-517.

Nanda A, Saravanan M (2009) Biosynthesis of silver nanoparticles from Staphylococcus aureus and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med. 5:452-456.

Poole Jr CP, Owens FJ (2003) Introduction to nanotechnology. John Wiley & Sons.

Prasad T, Elumalai E (2011) Biofabrication of Ag nanoparticles using Moringa oleifera leaf extract and their antimicrobial activity. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 1:439.

Reddy G, Gandhi N (2012) Environmental friendly biosynthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles by using Senna Saimea plant leaf aqueous extract. Int. J. Iins. Pharm. Life Sci. 2:186-193.

Roopan SM, Madhumitha G, Rahuman AA, Kamaraj C, Bharathi A, Surendra T (2013) Low-cost and eco-friendly phyto-synthesis of silver nanoparticles using Cocos nucifera coir extract and its larvicidal activity. Ind. Crops Prod. 43:631-635.

Roy N, Barik A (2010) Green synthesis of silver nanoparticles from the unexploited weed resources. Int. J. Nanotechnol. 4:95.

Sahayaraj K, Rajesh S (2011) Bionanoparticles: synthesis and antimicrobial applications. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances 23:228-244.

Salehi M, Tamaskani F (2008) Pretreatment effect of nanosilver on germination and seedling growth of wheat under salt stress. Proceeding of 1th Iranian Congress in Seed Sciences and Technology Iran: Gorgan, p 358.

Sathyavathi R, Krishna MB, Rao SV, Saritha R, Rao DN (2010) Biosynthesis of silver nanoparticles using Coriandrum sativum leaf extract and their application in nonlinear optics. Adv. sci. lett. 3:138-143.

Senapati S, Syed A, Moeez S, Kumar A, Ahmad A (2012) Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga Tetraselmis kochinensis. Mater. Lett. 79:116-118.

Shankar SS, Ahmad A, Sastry M (2003) Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. Biotechnol. prog. 19:1627-1631.

Song JY, Kim BS (2009) Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. Bioprocess biosyst. eng. 32:79.

Tian J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, Chiu JF, Tam PK (2007) Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. ChemMedChem 2:129-136.

Vanaja M, Annadurai G (2013) Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. Appl. Nanosci. 3:217-223.

Yin H, Langford R, Burrell R (1999) Comparative evaluation of the antimicrobial activity of ACTICOAT antimicrobial barrier dressing. J. burn care rehabil. 20:195-200.