www.jnm.iau-shahrood.ac.ir
نانومواد: ۲۶:۸ (۱۳۹۵) ۱۰۶-۹۹

# سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره آبی گیاه رزماری و بررسی خواص ضد میکروبی آنها

روح الله حیدری*[۱]، مرضیه رشیدی‌پور[۲] و مژگان آزادپور[۲]

۱- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد، ایران
۲- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

**تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۵/۰۲/۱۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۵/۰۳/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۵/۰٤/۱۲**

**چکیده**

در این مطالعه نانوذرات نقره توسط عصاره آبی رزماری به عنوان یک روش سبز سنتز شدند. پارامترهای موثر بر سنتز نانوذرات نقره از قبیل دما، pH عصاره، غلظت نیترات نقره و عصاره (نسبت وزن گیاه به حجم حلال) بررسی و بهینه شدند. شرایط بهینه برای سنتز نانوذرات نقره به این شکل است. غلظت نیترات نقره ۱ mM، غلظت عصاره ۲۰ g/L، pH برابر با ۹ و دمای ۴۵ °C. مشخصات نانوذرات نقره سنتز شده توسط تکنیک‌های اسپکتروسکوپی فرابنفش/مرئی، مادون قرمز، پراش اشعه ایکس، پراکندگی دینامیکی نور (Scattering Dynamic Light) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) بررسی شدند. آنالیزهای DLS و TEM نشان می‌دهند که نانوذرات نقره غالبا کروی شکل بوده و اندازه آنها در محدوده ۴۰- ۲۰ nm می‌باشند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نانوذرات سنتز شده برای چندین باکتری تعیین شدند. فعالیت ضد باکتری نانوذرات نقره سنتز شده با چندین داروی آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل مقایسه شد. روش سنتزی پیشنهادی دوست‌دار محیط زیست بوده و قابلیت استفاده برای تولید نانوذرات نقره در مقیاس بزرگ را دارد.

***واژه‌های کلیدی:*** **شیمی سبز، نانوذرات نقره، رزماری، ضد باکتری.**

## ۱- مقدمه

نانوتکنولوژی کاربرد علم برای کنترل مواد در سطح مولکولی است [۱]. رشد سریع در نانوتکنولوژی پایه و مرزهای کاربردی جدیدی در انواع علوم نانومواد و مهندسی از قبیل نانوبیوتکنولوژی، بیونانوتکنولوژی، انواع کوانتوم دات‌ها، پراکندگی رامان افزایشی- سطح SERS (Enhanced Raman Scattering Surface) و میکروبیولوژی کاربردی باز کرد [۵-۲]. وارد کردن ساختارهای با مقیاس نانو در ساختارهای بزرگتر نشان دهنده نقش مهم نانوتکنولوژی در اکثر تکنولوژی‌های کلیدی است. نانوذرات به واسطه اندازه بسیار کوچک‌شان و نسبت حجم به سطح بالا، که منجر

* **عهده‌دار مکاتبات:** روح الله حیدری
**نشانی:** خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی
**تلفن:** ۳۳۱۲۰۴۶۰-۰۶۶، **دورنگار:** ۳۳۱۲۰۴۶۰-۰۶۶، **پست الکترونیکی:** rouhollahheydari@yahoo.com

به تفاوت‌های فیزیکی و شیمیایی (از قبیل خواص مکانیکی، خواص فضایی و بیولوژیکی، جذب نور و نقطه ذوب) در خواص آنها در مقایسه با مواد بالکی شده مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند [۸-۶]. بنابراین طراحی و تولید موادی با کاربردهای جدید را می‌توان با کنترل شکل و اندازه در مقیاس نانومتر انجام داد. نانوذرات کاربردهای زیادی در زمینه‌های مختلف از قبیل تصویربرداری پزشکی، نانوکامپوزیت‌ها، فیلترها، تحویل دارو و هیپرترمی (Hyperthermia) تومورها دارند [۱۲-۹]. نانوذرات فلزی در پزشکی و داروسازی کاربردهای مهم زیادی دارند. نانوذرات نقره و طلا رایج‌ترین نانوذراتی هستند که برای کاربردهای بیوپزشکی و ظهور زمینه‌های علمی از نانوبیوتکنولوژی استفاده شده‌اند. برای نمونه، نانوذرات طلای پوشیده با الیگو نوکلوئید برای آشکارسازی پروئتین یا پلی نوکلئوتید با استفاده از روش‌های گوناگون شناسایی/آشکارسازی شامل میکروسکوپ نیروی اتمی AFM (Atomic Force Microscopy)، الکتروفورزژلی، کرنوکولومتری، آشکارسازی ولتامتری تقویت شده (Detection Amplified Voltammetric)، تصویربرداری رزونانس پلاسمای سطحی و اسپکتروسکوپی رامان استفاده می‌شوند [۱۳]. علاوه بر این، نانوذرات طلا در تعیین مقدار پروئتین [۱۴]، نانوتکنولوژی سرطان (به ویژه آشکارسازی سلول‌های سرطانی) [۱۵] و الکتروفورز مویینه [۱۶] کاربرد دارند. در زمینه پزشکی نانوذرات طلا به منظورهای متفاوتی استفاده می‌شوند. این نانوذرات می‌توانند به عنوان نشانگر در آزمایش تصویربرداری بیولوژیکی استفاده شوند. بعد از جذب سلولی، این نانوذرات می‌توانند به عنوان یک منبع حرارتی (چاقوهای حرارتی) قدرتمند و دقیق برای از بین بردن سلول‌های سرطانی استفاده شوند [۱۷]. همچنین نانوذرات طلا قادر به القای آپوپتوز (Apoptosis) در سرطان لنفوسیتی مزمن سلول B نیز می‌باشند [۱۸]. نانوذرات نقره نیز به دلیل کاربردهای گسترده در زمینه‌های مختلف علمی از قبیل مدارها، ردیابی در سیستم‌های زیستی، سنسورها، فیلترها، فیبرهای آنتی باکتریال، الکترودهای سل‌های الکتروشیمیایی و خواص ضد میکروبی مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند [۲۲-۱۹]. خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره باعث شده که این نانوذرات فلزی در زمینه‌های مختلفی از پزشکی، صنایع گوناکون، کشاورزی، صنایع بسته‌بندی، مواد آرایشی و بهداشتی و صنایع نظامی به کار گرفته شوند. نانوذرات نقره اثرات ضد میکروبی بالقوه‌ای در مقابل ارگانیسم‌های عفونی از قبیل E.Coil، Bacillus subtilis، Vibria cholera، Pseudomonas aeruginosa، Syphillis typhus و Staphylococcus aureus دارند [۲۳]. مدت‌هاست که نانوذرات به روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید می‌شوند، اما پیشرفت‌های اخیر نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌ها و سیستم‌های بیولوژیکی نقش حیاتی در تولید نانوذرات فلزی دارند. استفاده از ارگانیسم‌ها در این زمینه بدلیل موفقیت روزافزون و آسانی تشکیل نانوذرات توسط ارگانیسم‌ها خیلی سریع توسعه یافت. به هر حال، بیوسنتز نانوذرات فلزی یک روش دوست‌دار محیط زیست (شیمی سبز Green Chemistry) بوده که در آن از مواد شیمیایی گران قیمت، سمی و مضر استفاده نمی‌شود [۲۴]. برای مثال، تولید نانوذرات نقره توسط مواد شیمیایی (مثل هیدرازین هیدرات، سدیم بوروهیدرید، دی متیل فرمامید و اتیلن گلایکول) ممکن است منجر به جذب مواد شیمیایی مضری روی سطح نانوذرات شده که باعث سمی شدن این نانوذرات می‌شود. سنتز بیولوژیکی نانوذرات فلزی (به خصوص نانوذرات طلا و نقره) با استفاده از گیاهان (بافت گیاهی غیر فعال شده، عصاره گیاهان و گیاهان زنده) به عنوان یک روش مناسب جایگزین شده با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از عصاره گیاهان از لحاظ اقتصادی روش مقرون به صرفه‌ای می‌باشد، بنابراین این روش را می‌توان به عنوان یک روش اقتصادی و ارزشمند جهت تولید نانوذرات فلزی در مقیاس بزرگ به کار گرفت. گزارشات زیادی در مورد سنتز موفق نانوذرات نقره با استفاده از ترکیبات آلی-زیستی در مجلات به چاپ رسیده است.

مواد استخراج شده از بیوارگانیسم‌ها در سنتز نانوذرات نقره می‌توانند نقش کاهنده و محافظت کننده را باهم داشته باشند. احیای یون‌های $Ag^{+}$ بوسیله ترکیبی از بیومولکول‌های موجود در این استخراج‌ها از قبیل آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، آمینو اسیدها، پلی‌ساکاریدها و ویتامین‌ها انجام می‌شود که از نظر محیط زیست بی‌خطر می‌باشند. استخراج‌های گیاهی از دانه گیاه Coffea arabica، برگ Atrocarpus altilis، Althaea officinalis، Acalypha indica و دیگر گیاهان را می‌توان به عنوان واکنش دهنده‌های سبز در سنتز نانوذرات نقره استفاده کرد [۳۳-۲۵].

در این مطالعه از عصاره استخراج شده گیاه رزماری توسط آب مقطر به عنوان عامل کاهنده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شد. عوامل موثر بر سنتز نانوذرات نقره از قبیل pH، دما، غلظت عصاره و نیترات نقره مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خواص آنتی باکتریال این نانوذرات در مقابل چندین باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- مواد

برای تنظیم pH از محلول آمونیاک شرکت مرک آلمان استفاده شد. نیترات نقره و فسفریک اسید نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. برای عصاره‌گیری از آب مقطر استفاده شد. گیاه رزماری استفاده شده در این طرح از مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی جمع‌آوری شد. نمونه گیاهی پس از شستشو توسط آب در سایه خشک شده و به صورت پودر مورد استفاده قرار گرفت.

### ۲-۲- دستگاه‌ها

به منظور عصاره‌گیری از گیاه رزماری از دستگاه اولتراسونیک استفاده شد. جهت انجام این کار مقدار معینی از گیاه خشک به همراه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۶ °C سونیکیت شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شده و جهت جداسازی کامل محلول از باقی‌مانده‌های گیاهی محلول در دور ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. طیف‌های فرابنفش/مرئی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Jenway (model 6505, UK) ثبت شد. برای شناسایی و بررسی کیفی نانوذرات سنتز شده از دستگاه‌های DLS مدل Malvern Zetasizer ساخت شرکت Malvern کشور انگلیس، FT-IR شرکت BRUKER (Model TENSOR 27, Germany)، پراش اشعه ایکس (X'Pert PRO) ساخت کشور تایلند و میکروسکوپ الکترونی عبوری ساخت شرکت Philips (مدل CM30) استفاده شد.

### ۲-۳- روش سنتز نانوذرات نقره

بررسی فازی و ساختاری پودرهای سنتز شده به ترتیب با استفاده از دستگاه XRD مدل XMD 300 با تابش طول موج $CuK_{\alpha}$ انجام شد. جهت بررسی مورفولوژی پودر از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مدل VEGA//TESCAN-LMU و با هدف مشخصه‌یابی مغناطیسی نمونه‌ها از دستگاه مغناطیس‌سنج نمونه مرتعش (VSM) مدل BHM-525 در دمای اتاق استفاده شد.

### ۲-٤- روش سنجش خاصیت آنتی باکتریال

باکتری‌های استاندارد (ATCC) از آزمایشگاه مرجع میکروب‌شناسی (بیمارستان بوعلی تهران) تهیه و در فریزر ذخیره گردیدند. یک کلون از هر سوش در محیط کشت‌های زیر کشت و مورد آزمایش‌های شناسایی قرار گرفتند. روش‌های مورد استفاده عبارت بودند از استافیلوکوکوس ارئوس (ATCC 25923)، سودوموناس ائروژینوزا (ATCC 27853)، باسیلوس سرئوس (ATCC 14579)، اشرشیا کولی (ATCC 25922) و پورتئوس ولگاریس (ATCC 49132).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی که با MIC نشان می‌دهند

(Minimum Inhibitory Concentration) در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد. به طور خلاصه ابتدا از محیط کشت مولرهنیتون براث ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد. سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر محلول عصاره حاوی نانوذرات نقره اضافه گردید و از خانه دوم به سوم به همین ترتیب تا خانه نهم رقیق شدند. در ردیف دیگری هم ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین مناسب با حساسیت باکتری مورد آزمایش اضافه شد. در آخر به همه چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی رقیق شده معادل لوله نیم مک فارلند اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C بوسیله پایه پلیت tray-reading stand که به همین منظور ساخته شده، کف پلیت زیر نور در آینه مشاهده می‌شود. وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری است را در جدول مخصوص یادداشت کرده و مطابق تعریف غلظت آخرین (رقیق‌ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده است معادل MIC قرار داده شده است. از محلول عصاره تنها، به عنوان شاهد استفاده شد.

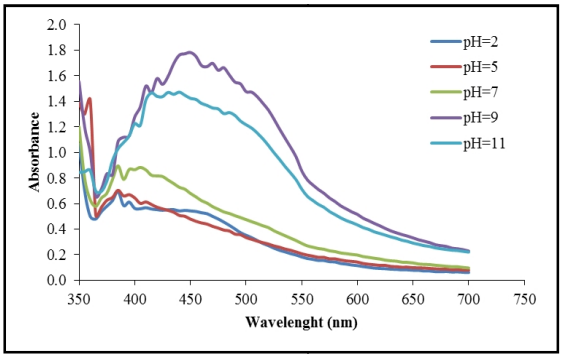
به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) همه چاهک‌های فاقد کدورت جداگانه بر محیط مولرهینتون آگار کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از عصاره حاوی نانوذرات نقره که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد. جهت آزمایش دیسک دیفیوژن باکتری‌ها روی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شدند. دیسک‌های عصاره حاوی نانوذرات نقره ۶ میلی‌متری بودند و ۴۰ میکرولیتر عصاره حاوی نانوذرات نقره حل شده در بافر سالین از قبل روی آنها قرارگرفته بود. دیسک‌های آنتی بیوتیک را روی محیط کشت قرار داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ °C قطر هاله عدم رشد را از پشت پلیت با خط‌کش اندازه‌گیری کرده و نتایج حاصل از آنتی بیوتیک‌ها با جدول استاندارد (NCCLS) مقایسه شدند. دیسک ۱۰ µg پنی سیلین و جنتامیسین و ۵ µg سیپروفلوکساسین به عنوان کنترل بسته به شکل باکتری به کار برده شدند. آزمایشات سه بار تکرار شده و نتایج به صورت میانگین این سه بار تکرار ارائه گردیده است.

## ۳- نتایج و بحث

بهینه‌سازی فاکتورهای مهم در سنتز نانوذرات می‌تواند مورفولوژی و دیگر خواص نانوذرات را کنترل کند. این اصلاحات به همراه استفاده از روش‌های دوست‌دار محیط زیست برای تولید نانوذرات با ویژگی‌های مورفولوژیکی و اندازه‌های دلخواه ممکن است توانایی محققان را برای غلبه بر محدودیت‌های زیادی که در این زمینه وجود دارد آسان‌تر سازد. در همین راستا چندین پارامتر موثر در این روش سنتزی مورد ارزیابی و بهینه‌سازی قرار گرفتند.

### ۳-۱- اثر pH

به منظور بررسی اثر pH روی تشکیل نانوذرات نقره محلول‌هایی از عصاره گیاه رزماری در pHهای مختلف اسیدی و بازی تهیه شدند. برای تهیه محلول‌هایی با pHهای اسیدی و بازی به ترتیب از اسید فسفریک و آمونیاک استفاده شد. بعد از مخلوط کردن عصاره و محلول نیترات نقره pH مخلوط تنظیم شد و به منظور اطمینان از تشکیل نانوذرات بعد از مدت زمان ۴ ساعت طیف مرئی این محلول در ناحیه ۳۵۰-۷۰۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. با توجه به منابع قبلی محلول‌های حاوی نانوذرات نقره در محدوده بین ۴۱۰-۴۳۰ nm دارای یک طول موج ماکزیمم می‌باشند. نتایج مربوط به این بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطوری که از شکل ۱ مشاهده می‌شود در pH برابر با ۹، میزان تشکیل نانوذرات نسبت به دیگر pHها بیشتر می‌باشد. بنابراین در آزمایشات بعدی این این pH به عنوان pH بهینه در نظر گرفته شد.



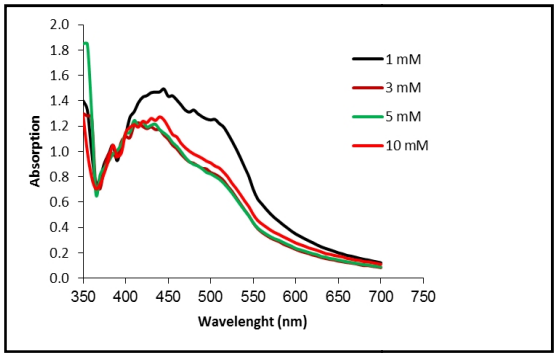

**شکل ۱: اثر pHهای مختلف روی تشکیل نانوذرات نقره برای عصاره رزماری.**

## ۳-۲- غلظت نقره نیترات

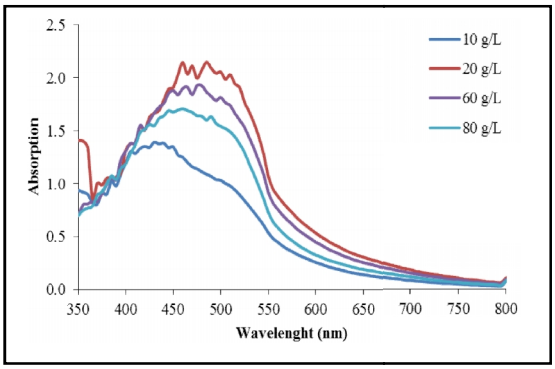
به منظور بررسی اثر غلظت نقره نیترات روی تشکیل نانوذرات نقره محلول‌هایی از عصاره گیاه رزماری در غلظت‌های مختلف نقره نیترات تهیه شدند. غلظت‌های مختلف نقره نیترات شامل ۱، ۳، ۵ و ۱۰ mM به عصاره استخراج شده اضافه شد. بعد از مخلوط کردن عصاره (pH معادل ۹) و محلول نیترات نقره به منظور اطمینان از تشکیل نانوذرات بعد از مدت زمان ۴ ساعت طیف مرئی این محلول در ناحیه ۳۵۰-۷۰۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. نتایج مربوط به این بررسی در شکل ۲ آورده شده است. همانطوری که از این شکل مشاهده می‌شود در محلول ۱ mM از نقره نیترات میزان تشکیل نانوذرات نسبت به دیگر غلظت‌ها بیشتر می‌باشد. بنابراین در آزمایشات بعدی این غلظت به عنوان غلظت بهینه در نظر گرفته شد.

## ۳-۳- غلظت عصاره

جهت بررسی اثر غلظت عصاره روی تشکیل نانوذرات نقره، محلول‌هایی از عصاره گیاه رزماری در غلظت‌های مختلف حاوی ۱۰، ۲۰، ۶۰ و ۸۰ g/L از گیاه تهیه شدند. سپس غلظت بهینه شده نقره نیترات به عصاره‌های استخراج شده اضافه شد. سپس عصاره و محلول نیترات نقره با یکدیگر مخلوط شده و بعد از مدت زمان ۴ ساعت طیف مرئی این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. نتایج این آزمایش در شکل ۳ آورده شده است. همانطوری که از




**شکل ۲: اثر غلظت نقره نیترات روی تشکیل نانوذرات نقره برای عصاره رزماری.**

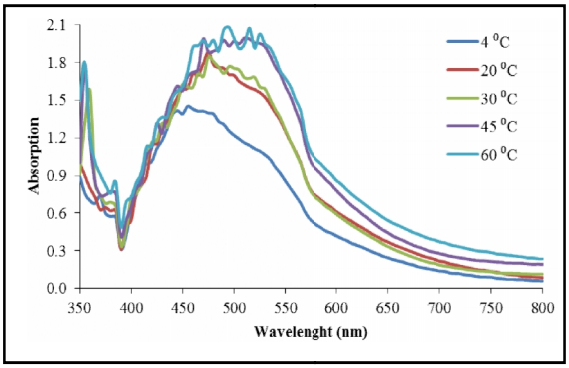



**شکل ۳: اثر غلظت عصاره روی تشکیل نانوذرات نقره برای عصاره رزماری.**

این شکل پیداست، در محلول ۲۰ g/L از عصاره میزان تشکیل نانوذرات نسبت به دیگر غلظت‌ها بیشتر می باشد. بنابراین در آزمایشات بعدی این غلظت به عنوان غلظت بهینه در نظر گرفته شد.

## ۳-٤- اثر دما

جهت بررسی اثر دما از دماهای ۴، ۲۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ °C استفاده شد. بعد از مخلوط کردن عصاره و محلول نیترات نقره بعد از مدت زمان ۴ ساعت طیف مرئی این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. نتایج مربوط به این بررسی در شکل ۴ آورده شده است. همانطوری که از شکل مشاهده می‌شود، در دماهای ۴۵ و ۶۰ °C میزان تشکیل نانوذرات نسبت به دیگر دماها بیشتر می‌باشد. با توجه به اینکه در این دو دما تفاوت فاحش نبود، دمای ۴۵ °C به عنوان دمای بهینه انتخاب شد.

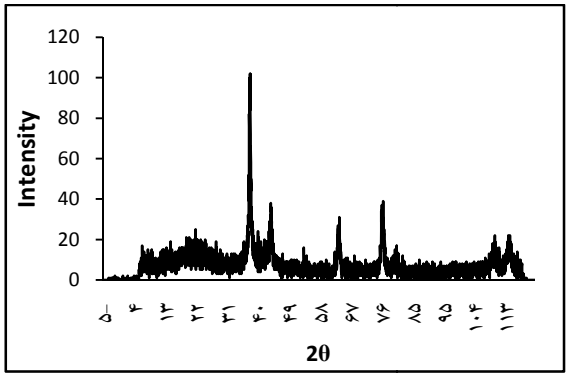



**شکل ٤: اثر دما روی تشکیل نانوذرات نقره برای عصاره رزماری.**

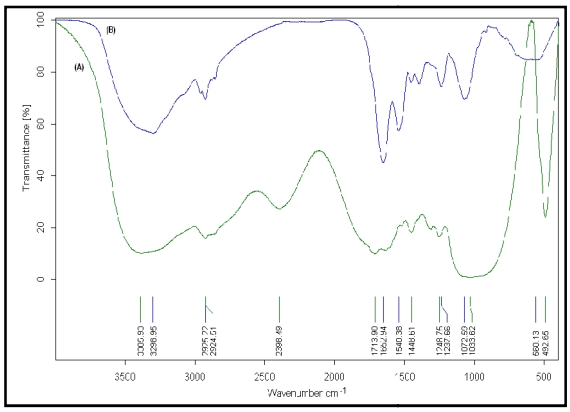
## ۳-۵- شناسایی نانوذرات سنتز شده

بعد از بهینه کردن شرایط سنتز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه رزماری یک نمونه تحت شرایط بهینه نهایی سنتز شد و جهت تایید نهایی مورد آنالیز XRD قرار گرفت. شکل ۵ الگوی XRD نانوذرات سنتز شده را نشان می‌دهد که به طور کامل با الگوی مرجع ذرات نقره فلزی تطابق دارد [۳۴]. چهار پیک اصلی ظاهر شده در مقادیر 2θ برابر با ۳۸، ۴۴، ۶۴، ۷۷ و ۷۹ به ترتیب منطبق بر فازهای (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) صفحه های fcc برای ساختار مکعبی کریستال‌های نقره می‌باشند.

طیف FT-IR این نانوذرات نیز در شکل ۶ نشان داده شده است. طیف FT-IR نشان می‌دهد که نانوذرات نقره دارای لایه‌هایی از ترکیبات موجود در عصاره می‌باشند که می‌توانند به پایداری نانوذرات کمک کنند. با توجه به مشابه بودن الگوی طیفی برای عصاره خشک شده رزماری و نانوذرات نقره می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات حاوی ترکیبات موجود در عصاره می‌باشند که معمولا به صورت لایه‌ای اطراف نانوذرات قرار می‌گیرند. باندهای نشان داده شده در ۳۲۹۸ و ۲۹۲۵ $cm^{-1}$ را می‌توان به ترتیب به ارتعاشات کششی آمین‌های نوع اول و دوم نسبت داد. ارتعاشات خمشی مربوط به آمین‌های نوع اول و دوم به ترتیب در ۱۶۵۲ و ۱۵۴۰ $cm^{-1}$ مشاهده می‌شوند. وجود این باندها می‌تواند دلیلی بر حضور پروتئین‌ها در ساختار نانوذرات باشد. حضور این مواد به صورت لایه‌های در اطراف نانوذرات منجر به افزایش پایداری این نانوذرات می‌شود.




**شکل ۵: الگوی XRD نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره رزماری.**




**شکل ٦: طیف‌های FT-IR، A) عصاره خشک شده رزماری و B) نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره رزماری.**

تصویر TEM نیز نشان دهنده شکل و اندازه تقریبی نانوذرات سنتز شده می‌باشد (شکل ۷). با توجه به مقیاس روی تصویر TEM می‌توان نتیجه گرفت که اندازه تقریبی این نانوذرات بین ۱۰ تا ۲۰ nm می‌باشد. همچنین واضح است که شکل این نانوذرات کروی می‌باشد.

به منظور بررسی دقیق‌تر اندازه ذرات توسط دستگاه DLS نیز تعیین شد. نتایج در شکل ۸ نشان می‌دهد که بیشترین پراکندگی بین ۲۰ تا ۴۰ nm می‌باشد. از سوی دیگر میزان پتانسیل زتا برای این نانوذرات ۲۵/۳- می‌باشد که نشان دهنده پایداری نانوذرات در فاز محلول می‌باشد.

## ۳-٦- خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات نقره

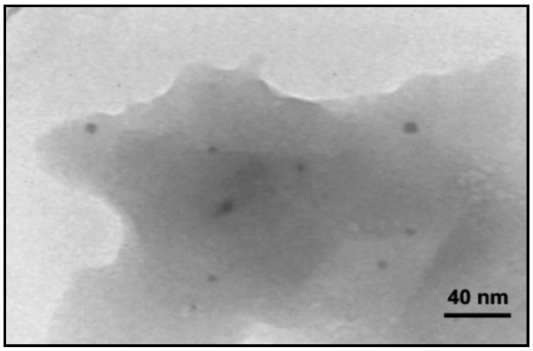
تست ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده توسط عصاره گیاه رزماری طبق روش گفته شده در بخش تجربی با استفاده از

**جدول ۱: متوسط (n= ۳) غلظت MBC و MIC (بر حسب µg/mL) برای تعدادی از باکتری‌های بررسی شده.**

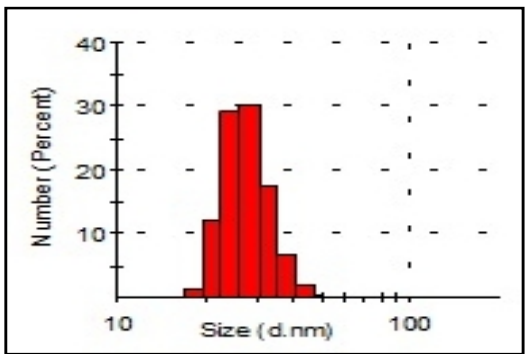
| نمونه | Staphylococcus aureus | | Bacillus cereus | | Proteus vulgaris | | Pseudomonas aeruginosa | | Escherichia coli | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC |
| عصاره رزماری حاوی AgNPs | 0.005 | 0.005 | 0.004 | 0.002 | 0.01 | 0.01 | 0.0002 | 0.0001 | 0.005 | 0.0025 |
| شاهد | - | - | - | - | 0.04 | 0.04 | - | - | - | - |
| کنترل آنتی بیوتیک* | 0.06 | 0.006 | 1.25 | 0.375 | 1.2 | 2.5 | 0.005 | 0.025 | 0.5 | 0.5 |

*کنترل آنتی بیوتیک برای استافیلوکوکوس ارئوس و باسیلوس سرئوس، پنی سیلین، اشرشیاکولی و پروتئوس ولگاریس، سیپروفلوکساسین و سودوموناس و جنتامایسین استفاده شد.

پنج باکتری مختلف انجام شد. در این بررسی از عصاره رزماری به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطوری که از نتایج مشاهده می‌شود. عصاره حاوی نانوذرات نقره روی تمام باکتری‌های تست شده دارای اثر کشندگی می باشد. از سوی دیگر عصاره تنها روی باکتری پورتئوس ولگاریس اثر ضد باکتری دارد.




**شکل۷: تصویر TEM نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره رزماری.**




**شکل ۸: نمودار پراکندگی اندازه ذرات برای نانوذرات سنتز شده توسط عصاره آبی رزماری.**

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حضور نانوذرات نقره باعث ایجاد و افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره آبی رزماری می‌شود. در مطالعه مشابهی که توسط Krishnaraj و همکارانش انجام شد مقدار MIC برابر با ۱۰ µg/mL را برای نانوذرات نقره سنتز شده توسط برگ گیاه Acalypha indica روی باکتری‌های Escherichia coli و Vibrio cholera به دست آوردند [۳۰]. در این مطالعه ابعاد نانوذرات نقره سنتز شده بین ۲۰ تا ۳۰ nm گزارش گردید. در مطالعه دیگری نانوذرات نقره با ابعاد بین ۲۰ تا ۳۰ nm با استفاده از عصاره دانه Coffea Arabica تهیه شدند که دارای فعالیت ضد باکتریایی قابل قبولی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس و اشرشیاکولی بودند [۳۳].

در غلظت‌های MBC تعیین شده قطر هاله عدم رشد برای چند باکتری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در جدول ۲ لیست شده‌اند. نتایج، میانگین ۳ اندازه‌گیری تکراری می‌باشند. داده‌های به دست آمده اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره رزماری را اثبات می‌کنند.

## ۴- نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که می‌توان از گیاه رزماری در سنتز سبز نانوذرات نقره استفاده کرد. علاوه بر اینکه در روش گزارش شده از هیچ‌گونه حلال سمی در فرآیند سنتز استفاده نمی‌شود از نظر اقتصادی نیز

**جدول ۲: نتایج قطر هاله عدم رشد برای چندین باکتری.**

| Bacteria | Zone of inhibition (mm) |
|---|---|
| Escherichia coli | 20±0.55 |
| Pseudomonas aeruginosa | 16±0.52 |
| Bacillus cereus | 19±0.44 |

مقرون به صرفه می‌باشد. از آنجائیکه نانوذرات نقره در این روش به طریق سنتز سبز تهیه می‌شوند قابلیت استفاده در فرآورده‌های دارویی را دارا می‌باشند. همچنین اثر ضد باکتریایی این نانوذرات روی چندین باکتری مختلف بررسی گردید که نتایج نشان می‌دهند که این نانوذرات را می‌توان به عنوان یک محصول ضد باکتری فرموله کرد. اثرات ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده توسط عصاره با چندین آنتی بیوتیک مقایسه شد که نتایج رضایت‌بخش می‌باشند.

## سپاسگزاری

مولفین لازم می‌دانند که بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد جهت تامین اعتبار مالی این مطالعه اعلام نمایند.

## مراجع

[1] S. Senapati, *PhD thesis*, University of Pune, Pune, 2005.
[2] H. Klefenz, *Engineering in Life Sciences*, **4**, 2014, 211.
[3] D. Goodsell,"*Bionanotechnology: Lessons from Nature*", Willey-Less, New Jersey, 2004.
[4] W.C.W. Chan, S. Nie, *Science*, **281**, 1998, 2016.
[5] Z. Tian, *Annual Review of Physical Chem.*, **55**, 2004, 197.
[6] G. Schmid, *Chemical Reviews*, **92**, 1992, 1709.
[7] A.J. Hoffman, G. Mills, H. Yee, M. Hoffmann, *the Journal of Physical Chemistry B*, **96**, 1992, 5546.
[8] V.L. Colvin, M.C. Schlamp, *Nature*, **370**, 1994, 354.
[9] M. Tan, G. Wang, Z. Ye, J. Yuan, *Journal of Luminescence*, **117**, 2006, 20.
[10] H.Y. Lee, Z. Li, K. Chen, A.R. Hsu, C. Xu, J. Xie, S. Sun, X. Chen, *Journal of Nuclear Medicine*, **49**, 2008, 1371.
[11] D. Pissuwan, S.M. Valenzuela, M.B. Cortie, *Trends in Biotechnology*, **24**, 2006, 62.
[12] S. Panigrahi, S. Kundu, S. Ghosh, S. Nath, T. Pal, *Journal of Nanoparticle Research*, **6**, 2004, 411.
[13] R.A. Sperling, P.R. Gill, F. Zhang, M. Zanella, W.J. Parak, *Chemical Society Reviews*, **37**, 2008, 1896.
[14] D. Tang, R. Yuan, *Biosensors and Bioelectronics*, **22**, 2007, 1116.
[15] C.D. Medley, J.E. Smith, Z. Tang, Y. Wu, S. Bamrungsap, W. Tan, *Analytical Chemistry*, **80**, 2008, 1067.
[16] W.L. Tseng, M.F. Huang, Y.F. Huang, H.T. Chang, *Electrophoresis*, **26**, 2005, 3069.
[17] I.H. El-Sayed, X. Huang, M.A. El-Sayed, *Cancer Letters*, **239**, 2006, 129.
[18] P. Mukherjee, R. Bhattacharya, N. Bone, Y.K. Lee, C.R. Patra, S. Wang, L. Lu, C. Secreto, P.C. Banerjee, M.J. Yaszemski, N.E. Kay, D. Mukhopadhyay, *Journal of Nanobiotechnology*, **5**, 2007, 4.
[19] S. Kotthaus, B.H. Gunther, R. Hang, H. Schafer, *IEEE Transactions on Components, Packaging, and Manufacturing Technology Part A*, **20**, 1997, 15.
[20] G. Cao, "*Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*", Imperial College Press, London, 2004.
[۲۱] امید رمضانی ازغندی، محمد جواد مغربی، علی‌رضا تیمورتاش، "تاثیر نانوذرات طلا و نانولوله‌های کربنی در بیوسنسور گلوکز اکسیداز و بهینه‌یابی شرایط به کمک روش تاگوچی"، نشریه نانومواد، شماره ۲۴، ۱۳۹۴، ۲۱۹-۲۰۷.
[22] T. Klaus-Joerger, R. Joerger, E. Olsson, C.G. Granqvist, *Trends in Biotechnology*, **19**, 2001, 15.
[23] N. Duran, P.D. Marcato, S. De, I.H. Gabriel, O.L. Alves, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, **3**, 2007, 203.
[24] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **28**, 2003, 313.
[25] M. Rashidipour, R. Heydari, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **4**, 2014, 112.
[26] A.K. Mittal, Y. Chisti, U.C. Banerjee, *Biotechnology Advances*, **31**, 2013, 346.
[27] D. Mubarak-Ali, N. Thajuddin, K. Jeganathan, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **85**, 2011, 360.
[28] T. Santhoshkumar, A.A. Rahuman, G. Rajakumar, S. Marimuthu, A. Bagavan, C. Jayaseelan, A.A. Zahir, G. Elango, C. Kamaraj, *Parasitology Research*, **108**, 2011, 693.
[29] S. Iravani, *Green Chemistry*, **13**, 2011, 2638.
[30] C. Krishnaraj, E.G. Jagan, S. Rajasekar, P. Selvakumar, P.T. Kalaichelvan, N. Mohan, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **76**, 2010, 50.
[31] H. Korbekandi, G. Asghari, M. R. Chitsazi, R. Bahri Najafi, A. Badii, S. Iravani, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology: An International Journal*, **44**, 2016, 209.
[32] V. Ravichandran, S. Vasanthi, S. Shalini, S.A. Ali-Shah, R. Harish, *Materials Letters*, **180**, 2016, 264.
[33] V. Dhand, L. Soumya, S. Bharadwaj, S. Chakra, D. Bhatt, B. Sreedhar, *Materials Science and Engineering C*, **58**, 2016, 36.
[34] R. Heydari, M. Rashidipour, *International Journal of Breast Cancer*, **2015**, 2015, 1.