بررسی ویژگی‌های ساختاری و ضد میکروبی نانو ذرات اکسید مس تولید شده با استفاده از عصاره گیاه‌گل بنفشه ایرانی

علی داوری[1]، وحید حکیم‌زاده[1*]، الهام مهدیان[1]، مصطفی شهیدی نوقابی[2]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲. گروه شیمی مواد غذایی، موسسه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *V.hakimzadeh@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶

چکیده

تولید زیستی نانو ذرات به علت دارا بودن ویژگی هایی مانند عدم نیاز به مصرف انرژی و سازگاری با محیط زیست مورد توجه محققین واقع شده است. در مطالعه حاضر تولید زیستی و اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات اکسید مس تولید شده با عصاره گیاه گل بنفشه مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا عصاره آبی گیاه گل بنفشه ایرانی با محلول نیترات مس ۵ آبه در غلظت نهایی ۱ میلی مولار مجاور شد. پس از تغییر رنگ، محلول‌های واکنش به وسیله روش های اسپکتروفتومتری و پراش پرتوی ایکس مورد بررسی قرار گرفتند. خاصیت ضد میکروبی نانو ذرات اکسید مس سنتز شده بر روی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)، با دو روش میکرودایلوشن و رقت در لوله تعیین شد. وجود نانوذرات اکسید مس بوسیله پراش پرتوی ایکس تایید شد. محلول‌های حاوی نانوذرات، دارای بیشینه چگالی نوری در طول موج ۲۶۶ نانومتر بودند. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه باکتری *اشرشیاکلی* کمترین حساسیت و باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین حساسیت را نسبت به نانو ذرات اکسید مس نشان دادند.

کلید واژه ها: گل بنفشه، نانوذرات، اکسید مس، ضد میکروبی.

مقدمه

نانو یک فناوری علمی است که بر پایه نانوذرات استوار است. نانوذرات موادی با ساختار سه بعدی می‌باشند که اندازه آن‌ها از ۱ تا ۱۰۰ نانومتر متغیر است. این مواد از ده‌ها و یا صدها اتم یا مولکول تشکیل شده‌اند که اندازه و اشکال مختلفی مثل بلوری، کروی، سوزنی، بی شکل را شامل می‌شوند (Huang et al., 2007). برای تولید نانو ذرات روش‌های مختلفی مانند واکنش‌های شیمیایی و فتوشیمیایی در میسل معکوس، تجزیه حرارتی ترکیبات با کمک‌گرفتن از پرتوها، روش‌های الکتروشیمیایی، سونوشیمیایی، پردازش با امواج میکرو وجود دارد، اما متاسفانه در اکثر روش‌هایی که منجر به تولید نانو ذرات می‌شود استفاده از مواد خطرناک نظیر حلال‌ها یک اجبار است (Prabha Dubey et al., 2010). از معایب دیگر این روش‌ها می‌توان به تولید کم نانوذرات، اتلاف انرژی زیاد و تخلیص مشکل و بی فایده اشاره نمود. از این رو نیاز به روشی با بازده بالا، قیمت کم، بدون تولید مواد سمی و بدون آسیب‌های زیست محیطی رو به افزایش می‌باشد (Chandran et al., 2006). یکی از روش‌های تولید نانوذرات، تولید به روش زیستی است و توجه به این روش برای تولید نانوذرات رو به افزایش می‌باشد. فهرستی عظیم از منابعی که در تولید زیستی نانو ذرات فلزی به‌کار می‌روند موجود است (Dubey et al., 2010). موادی مانند گیاهان، محصولات گیاهان، جلبک‌ها، قارچ ها، مخمرها، باکتری‌ها و ویروس‌ها در تولید زیستی نانو ذرات کاربرد دارند (Bar et al., 2009).

گیاهان به علت سازگاری با محیط می‌توانند به طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون این‌که منجر به بروز آسیب‌های زیست محیطی شوند. همچنین گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد گزینه‌ای مناسب برای تولید نانو ذرات به روش

زیستی محسوب می‌شوند (Shahverdi et al., 2007). نانوذرات اکسید مس که به روش زیستی تولید می‌شوند، دارای خصوصیاتی مانند میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا می‌باشند. با وجود این‌که اثرات ضد میکروبی اکسید مس بر روی باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس-ها به خوبی شناخته شده است، اما مکانیسم و روش اثر مس بر روی انواع میکروب ها هنوز ناشناخته است (Manonmani and Juliet, 2011). نانو ذرات اکسید مس موجب از هم گسستن اجزای ممانعت‌کننده موجود در غشای خارجی باکتری می‌شود که باعث آزاد شدن تصاعدی مولکول هایی نظیر لیپوپلی ساکارید و پورین از سیتوپلاسم می‌شود. نانو ذرات مس پس از نفوذ به داخل سلول باکتری آنزیم‌های آن را غیر فعال کرده و با تولید هیدروژن پراکسید باعث مرگ باکتری می‌شود (Mittal et al., 2013). روش‌های مختلفی برای سنتز نانو ذرات وجود دارد، اما روش‌های فیزیکی و روش‌های شیمیایی به دلیل ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی می‌توانند با روش‌های سبز که در آن مواد با اثرات زیان‌بار محیطی کمتری تولید یا مصرف می‌شوند، جایگزین گردند (Gnanasangeetha and Thambavani, 2013).

گیاه بنفشه با نام علمی *VIOLA ODORATA* متعلق به گیاهان خانواده بنفشگان از گل های زینتی ایران به شمار می رود و تاکنون خواص دارویی زیادی برای این گل گزارش شده است که از جمله می توان به اثرات ضد التهابی، ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ادرارآوری و خواب آوری اشاره کرد. همچنین، مطالعات اخیر نشان داده اند که گیاه بنفشه حاوی تعدادی ترکیبات سیکلوتیدی است که اثرات کشندگی سلولی قوی ایجاد می‌کند. مرتضویان و همکاران در سال ۱۳۹۱ در مطالعه ی خود بر روی اثرگل بنفشه دریافتند که گیاه بنفشه قادر است تکثیر سلول های رده سرطان گردن رحم را مهار کند. مطالعات اخیر نشان داده است که فلاونوئیدهای گوناگون مانند روتین و کرستین در گیاه بنفشه وجود دارد.

هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های ساختاری و ضد میکروبی نانو ذرات اکسید مس تولید شده با استفاده از عصاره گیاه گل بنفشه ایرانی می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه تجربی،گیاه گل بنفشه به طور مستقیم از کوه‌های شهر مشهد تهیه شد. به منظور تایید جنس و گونه گیاه بنفشه، گیاه مورد نظر توسط متخص گیاه شناسی بررسی شد. در ساخت کلیه محلول‌ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد.

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره آبی، ۲۰ گرم گیاه شسته شد و در دمای اتاق قرار داده شد تا کاملا خشک شد. گیاه مورد نظر بـه وسیله هاون چینینی خرد شد. ۵ گرم از گیاه خرد شده به وسیله ترازو توزین شد و در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتر ریخته شد و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر به آن اضافه گردید. این مخلوط برای مدت ۲ ساعت روی همزن در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. عصاره آبی با استفاده از کاغذ صافی با منافذ ۲۵ میکرونی صاف شد و در لوله فالکون ریخته و برای استفاده‌های بعدی در یخچال در دمای ٤ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس ۵۰ میلی لیتر عصاره تهیه شده را داخل یک بشر ریخته و مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول سولفات مس با غلظت ۱ میلی مولار به عصاره اضافه، سپس ۱۰ دقیقه قرار دادن روی همزن قرار داده شد و در نهایت واکنش در دمای اتاق پس از مدت ۱۲ ساعت (تغییر رنگ عصاره از رنگ آبی به رنگ زرد تیره) با ایجاد کدورت نشان‌دهنده تولید نانوذرات بود (Roy and Barik, 2010).

شناسایی نانو ذرات با استفاده از اسپکتروفتومتر

تعیین چگالی نوری محلول حاوی نانوذرات اکسید مس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu مدل Unicode 2100, US طول موج ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر و با دقت ۲۰ نانومتر انجام شد. حدود ۲۰۰ میکرولیتر از محلول زرد رنگ حاصل از برهمکنش عصاره گل بنفشه و

نمک مس به حجم ۱ میلی لیتر رسانده شد . پیک جذب در حدود طول موج ۲٦٦ نانومتر نشان دهنده وجود نانوذرات مس و در واقع سنتز آن است (Gardea-Torresdey et al., 2003).

بررسی ساختار نانوذرات اکسید مس توسط XRD

طیف پراش اشعه ایکس (XRD) از نمونه‌های نانو ذرات اکسید مس با استفاده از Bruker AXSD8 (D8 FOCUS 2200 V Bruker AXS, Bruker Optik Gmbh, Ettlingen, Germany) در $l = 1.5418$ Å و در محدوده ۲۰ تا ۸۰ آنگستروم انجام شد (Guin et al., 2015).

بررسی اثر ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده به روش انتشار دیسک

تعیین قطر هاله

سویه های باکتری استاندارد *اشریشیاکلی* (ATCC ۱۱۳۰۳) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538) روی مولر هینتون آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد، سپس غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید مس سنتز شده در آب دیونیزه (۱۰۰ ،۵۰، ۲۵ میکروگرم بر میکرولیتر) روی دیسک‌های ٦ میلی-متری بلانک (شرکت پادتن طب) استریل شده در اتوکلاو ریخته و پس از انکوباسیون به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌مترگزارش گردید. دیسک‌های آنتی بیوتیک آمیکاسین، وانکومایسین ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (شرکت پادتن طب) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی

بررسی حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) به روش میکرو دایلوشن انجام شد. در این روش با استفاده از میکرو پلیت ۹۶خانه غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید مس در مقابل باکتری‌ها قرار داده شد و رشد باکتری‌ها در مقابل نانوذرات مس سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت. به این صورت که ابتدا در ۹٦ خانه میکروپلیت به مقدار مساوی ۹۵ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث ریخته شد. به لوله اول به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر نانو ذرات اکسید مس با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر اضافه شد که بعد از مخلوط شدن، رقت نانو ذره مورد نظر در لوله اول به نصف رسید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از لوله اول برداشته و به لوله دوم اضافه شد. چاهک آخر حاوی ۱۹۵ میکرولیتر مولر هینتون براث و ۵ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی ولی فاقد ترکیب مورد آزمایش بود این چاهک به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. غلظت نهایی چاهک ۲۰۰ میکرولیتر بود. سپس به تمام چاهک‌ها به غیر از چاهک شماره 12، ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک‌فارلند تلقیح شد. پس از بسته شدن درب، میکروپلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای $37\ ^oC$ انکوبه شدند. آنگاه کدورت چاهک‌ها به صورت چشمی خوانده شد و رشد یا عدم رشد باکتری در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Kermanshah H et al.,2011).

جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی نانو ذره (MBC)، چاهک‌های فاقد کدورت که در آن‌ها رشد مهار شده بود به کمک لوپ استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت کشت داده شد و انکوبه شد. کمترین غلظتی از نانو ذره که هیچ باکتری در آن زنده نماند به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Krishnaraj et al.,2010).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱٦ و آنالیز واریانس یک طرفه (oneway-ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون تی تست در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

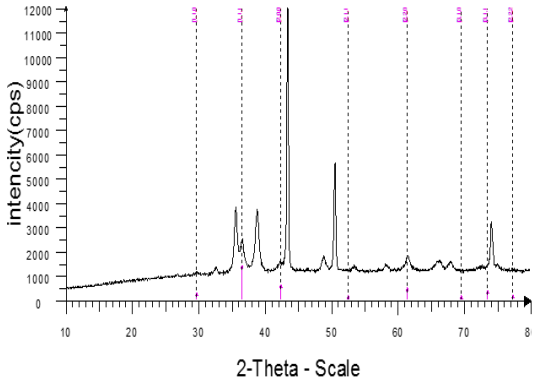
سنتز نانو ذرات

نتایج نشان داد درصورت استفاده از غلظت های کمتر پیش ماده محلول یون فلزی به دلیل ایجاد هسته‌های

کوچک تر کمپلکس در نهایت منجر به ایجاد نانو ذرات با اندازه کمتر می شود.

بررسی ساختار نانوذرات اکسید مس توسط XRD

طیف XRD نشان‌دهنده حضور نانوذرات اکسید مس سنتز شده از عصاره گل بنفشه ایرانی می‌باشد. پیک ۴۳/۱۵ درجه از اهمیت بیشتری برخوردار است. بر طبق طیف گزارش شده در محدوده ۵۲۰ نانومتر بیانگر حضور نانوذرات اکسید مس تشکیل شده در عصاره گیاه می‌باشد (شکل ۱)



شکل ۱- ساختار نانوذرات با XRD

نتایج نشان داد کـه نانو ذرات اکسید مس سنتز شده از عصاره گیاه گل بنفشه دارای خاصیت ضد باکتریایی بیشتری بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* می‌باشد. بیشترین هاله عدم رشد مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم بـر میلی لیتر نـانو ذرات اکسید مس سنتز شده و کمترین هاله رشد مربوط به غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۱). میانگین قطر هاله عدم رشد نانو ذره سنتز شده در تمامی غلظت‌ها بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از میانگین قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک وانکومایسین و آمیکاسین می‌باشد. همچنین میانگین قطر هاله عدم رشد نـانو ذره سنتز شده در تمامی غلظت‌ها بر باکتری *اشریشیاکلی* بیشتر از میانگین قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک وانکومایسین می‌باشد که دارای اختلاف معنی دار است ($p<0.05$). قطر هاله عدم رشد آنتی-بیوتیک آمیکاسین علیه باکتری *اشرشیاکلی* بیشتر از قطر هاله مربوط به نانوذرات می‌باشد.

بررسی خاصیت ضد میکروبی

جدول ۱ - نتایج میانگین قطر هاله عدم رشد نانو ذرات سنتز شده با عصاره آبی گیاه گل بنفشه بر باکتری ها

سویه باکتری	غلظت نانوذرات			آنتی بیوتیک ها	
	۱۰۰	۵۰	۲۵	واکومایسین	آمیکاسین
استافیلوکوکوس اورئوس	$2۷\pm0/1٤^{a}$	$26\pm0/34^{b}$	$25\pm0/28^{c}$	$22\pm0/6^{d}$	$14\pm0/5^{e}$
اشریشیاکلی	$1٤\pm0/٦٥^{a}$	$12\pm0/022^{b}$	$11\pm0/6^{c}$	$10\pm0/14^{d}$	$21\pm0/3^{e}$

حروف مختلف در یک ردیف نشاندهنده اختلاف معنی‌دار است ($p<0.05$).

نتایج تعیین MIC و MBC با دو روش میکرودایلوشن و رقت لوله در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد تاثیر نانو ذرات سنتز شده با عصاره گل بنفشه بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* تاثیر بیشتری در مقابسه با *اشریشیاکلی* دارد.

جدول ۲- نتایج تعیین MIC و MBC نانوذرات سنتز شده با عصاره آبی گیاه گل بنفشه با روش میکرودایلوشن و روش رقت لوله

سویه	میکرودایلوشن		رقت لوله	
	MIC	MBC	MIC	MBC
استافیلوکوک اورئوس	۰/۸۵	۱/٦۲	۱/٦۲	۱/٦۲
اشریشیاکلی	۳/۱٦	٦/۳۱	۳/۱٦	۳/۱٦

نتایج بر اساس µg/m گزارش شده است

بحث

در این پژوهش نحوه سنتز سبز نـانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره آبی گیاه گل بنفشه ایرانی و اثرات ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش تغییر رنگ مشـاهده شده از آبی کمرنگ به زرده تیره در اثر برهمکنش عصاره گیاهی و محلول نمک مس کاملا با نتایج حاصل از پژوهش Reddy و همکاران (۲۰۱۴) مشابه بوده و اولین نشانه از تولید نانوذرات اکسید مس محسوب می‌شود. نقـره در حالت توده‌ای دارای پیک جذبی در طول مـوج ۲٦٦ نانومتر است، نشان‌دهنده تشکیل نانو ذرات اکسید مس و مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانو ذرات مس می‌باشد که بـه القای الکترون آزاد در نانو ذرات نسبت داده می‌شود. در این پژوهش، وجود پیک نانو ذرات مس در طول موج ۲٦٦ با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققین همخوانی داشت (Haji Rastamloo et al., 2018).

نتایج بررسی خواص ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده از عصاره آبی گیاه گل بنفشه ایرانی نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس سنتز شده با افزایش غلظت نانوذرات افزایش می‌یابد به طوری‌که در غلظـت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* میانگین قطر هاله عدم رشد به ترتیب برابر با ۲۷/۱٤ و ۱٤/٦٥ را نشان دادند. قدرت مهار آنتی بیوتیک آمیکاسین در قیاس با غلظت‌های مختلـف نانوذره سنتز بیشتر بود. Etemadi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند آنتی‌بیوتیک قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به غلظت های مختلف نانوذرات نقره سنتز شده از عصـاره گیاه چای سبز بـر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* را نشان داد. در مطالعه‌ای که توسط Brian و همکاران (۲۰۱٦) انجام شـد، مشاهده شد که نانوذرات اکسید مس سنتز شـده از عصاره آبی گیاه *adefera Moringa* میانگین قطر هاله عـدم رشد ۱۵/۱±۰/۱٤ و ۱۲± ۷/۰۱۵/ را به ترتیب بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* نشان داد. آنها نشان دادند که نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره آبی گیاه *akoingii Murray* بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* میانگین قطر هاله عدم رشد به ترتیب برابر بـا ۰/۱٤± ۱۳ و ۰/۳۵± ۷/۲۵ را نشان دادند. بررسی خواص ضد باکتریایی نانو ذرات سنتز شـده از عصاره آبی گیاه گل بنفشه نشان داد که *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *اشریشیاکلی* از حساسیت بیشتری برخوردار بود که با نتایج پژوهش Arokiyaraj و همکاران (۲۰۱٦) نیز مطابقت دارد.

از علل حساسیت پایین‌تر *اشرشیاکلی* می‌تواند به این دلیل باشد که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی چون *اشرشیاکلای* به‌طور غالب از لیپو پلی‌ساکارید (LPS) مستحکم تشکیل‌شده‌اند که سد مقاومی در برابر نانو ذره محسوب می‌شود. اصول مکانیسم اثرات سمی نانو ذرات بخوبی شناخته نشده است ولی تحقیقات اخیر، این اثرات سمی را با سطح تماس زیاد نانو ذرات، نفوذ پذیری آن‌ها به داخل سلولها و ارگانیسم‌ها، ایجاد آسیب غشایی، آسیب به DNA، ایجاد التهاب در سلول و تغییر در تعاملات سلولی مرتبط می‌دانند (Sanaeimehr et al.,2018).

مکانیسم عمل ضد میکروبی اکسید مس شبیه سایر نانوذرات می‌باشد و عمدتا از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می‌کند (Chen et al.,2013). فعالیت ضد باکتریایی یکی از ویژگی‌های شناخته شده نانوذرات نقره است. مکانیسم فعالیت ضد باکتریایی در مطالعات متعددی گزارش شده است. نانو ذرات فلزی اکسید مس به غشای سلول باکتری‌ها متصل شده و سوراخ می‌شوند تا عملکرد و نفوذپذیری و تنفس سلول را به هم ریخته و در نتیجه سلول‌ها را نابود کنند. ذرات اکسیژن فعال (ROS) یا گونه‌های رادیکال اکسیژن، که می‌تواند با به دست آوردن الکترون‌ها از نانوذرات مس ساخته شود، بـه کمک استرس اکسیداتیو، آسیب DNA را تحت تأثیر قرار داده است. یون مس ساخته شده از نانو ذرات اکسید مس همچنین ممکن است باعث اختلال در تولید ATP و تکثیر DNA شود. فسفات و تیول ها در اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای

آمینه حاوی نیتروژن، اکسیژن و گوگرد (گروه‌های اهداکننده الکترونی) یک مجتمع را با یون های مس تشکیل می‌دهند.

تحقیقات نشان می دهد که عصاره‌ها و اسانس ها نفوذپذیری غشا را افزایش داده و ترکیبات آن در غشا حل شده و باعث تورم و کاهش عملکرد غشا می‌شوند. بطور کلی فرآورده‌های گیاهی منجر به گرانوله‌شدن سیتوپلاسم، گسیختگی غشای سیتوپلاسمی، غیرفعال شدن یا ممانعت از فعالیت آنزیم های درون سلولی و برون سلولی موثر در رشد میکروارگانیسم‌ها و متلاشی‌شدن دیواره سلولی می‌شوند. عصاره ها و اسانس ها اثرات ضد میکروبی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشاء سلولی اعمال می‌کنند. بررسی‌های صورت گرفته در خصوص مکانیسم عمل عصاره‌ها و اسانس‌ها ثابت نموده است که این ترکیبات نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهند. اجزاء عصاره و اسانس با نفوذ در غشا منجر به متورم شدن غشا گردیده و فعالیت آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند و در نهایت منجر به مرگ سلول خواهند شد (Holley & Patel, 2005).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این پژوهش پتانسیل بالای عصاره آبی گیاه گل بنفشه ایرانی را در احیای یون‌های فلزی اکسید مس و تبدیل آن‌ها به اتم‌های مس در ابعاد نانومتریک نشان می‌دهد. وجود فعالیت ضد میکروبی بالای نانو ذرات اکسید مس سنتز شده به ویژه علیه باکتری‌های گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم‌منفی *اشرشیاکلی* استفاده از آن‌ها را در زمینه های مختلف به منظور از بین‌بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا پیشنهاد می‌کند.

بنابراین باتوجه به عوارض آنتی‌بیوتیک‌ها و از طرفی، تولید و نگهداری خیلی ارزان‌تر و ساده تر نانو ذرات اکسید مس از داروهای رایج، این ماده می‌تواند جایگزین مناسبی برای آن‌ها باشد. روش استفاده شده در این پژوهش برای سنتز نانو ذرات اکسید مس از عصاره گیاه گل بنفشه ایرانی به جهت استفاده از منابع زیست محیطی بی‌خطر به عنوان یک روش سبز محسوب می‌گردد و بسیاری از مزایایی این روش مانند زیست سازگاری، مقـرون به صرفه بـودن، اجتناب از حضور حلال‌های سمی، زائد و فعالیت ضد میکروبی و سایر کاربردهای زیست پزشکی و علوم صنایع غذایی اجازه می‌دهد تا این روش در مقیاس بزرگ تجاری بکار رود.

منابع

1. Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., De, S.P., Misra, A. 2009. Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. J Coll Sur A. 339: 134-139.
2. Chandran, SP., Chaudhary. M., Pasricha, R., Ahmad, A., Sastry, M. 2006. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract. Biotechnol Prog. 22, 577–83.
3. Dubey, Sh. P., Lahtinen, M., Sillanpaa, M. 2010. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. Process Biochem. 45: 1065-1071.
4. Dubey, Sh., Lahtinen, M., Sillanpaa, M. 2010. Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of Rosa rugosa. J Coll Sur A. 364: 34-41.
5. Gardea-Torresdey, J.L., Parsons, J.G., Dokken, K., Peralta-Videa, J., Troiani, H.E., Santiago, P., Jose-Yacaman., M. 2003. Alfalfa sprouts a natural source for the synthesis of silver nanoparticlels, Langmuir 19: 1357-1361.
6. Huang, J., Li, Q., Sun, D, et al. 2007. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf. Nanotechnol. 18:104-14.
7. Manonmani, V., Juliet, V. 2011. Biosynthesis of Ag nanoparticles for the detection of pathogenic bacteria in food. IPEDR. 14: 307- 311.

8. Prabha Dubey, Sh., Lahtinen, M., Sarkka, H., Sillanpaa, M. 2010. Bioprospective of *Sorbus aucuparia* leaf extract in development of silver and gold Nanocolloids. J Coll Sur. 80, 26-33.
9. Roy, N., Barik, A. 2010. Green synthesis of silver nanoparticles from the unexploited weed resources. J Nanotechnol Appl: 95-101.
10. Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R., and Minaian, S. 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Nanomedicine Nanotechnol Biol Med. 3, 168-171.
11. Guin R, Banu A, Kurian G. 2015. Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Desmodium Gangeticum* Aqueous Root Extract. Int J Pharm Pharmace Sci. 7(1).
12. Etemadi M, Mohebbi-Kalhori D, Azizian Shermeh O, Qasemi A. 2017. Photosyntetize of nanoparticle of Ag with aqua extract of green tea and antibacterial effect. J Fasa Uni Med Sci. 7: 39- 52.
13. Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol Adv; 31(2):346-56.
14. Gnanasangeetha D, Thambavani DS. 2013. One pot synthesis of zinc oxide nanoparticle chemical and green method. Razi J Med Sci. 1:1-8 30.
15. Bunghez I. 2012. Antioxidant silver nanoparticles green synthesized using ornamental plants. J Adv Mat; 14:1016-22.
16. Reddy NJ, Nagoor Vagoor Vali D, Ranimand Rani Ss. 2014. Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by piper longum fruit mater. Sci Eng Mater Biol. 1(34):115-122.
17. Haji Rastamloo B, Ziyani R, Omrani Sh. 2018. Biosynthesis of silver nanoparticles by using Salvia officinalis extract and evaluation of antioxidant activity and their antimicrobials against bacteria of food corruption. J Food Sci Technol. 11(2):108-118.
18. Brian MO, hemachitra P, Deepa R, selvi VS. 2016. Synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity from Moringa Oleifera, murraya Koingii and Ocimum sanctum against *E.coli* and *S.aureus*. Der Pharmacia Lettre. 8(10):150-160.
19. Arokiyaraj S, Vincent S, Saravanan M. 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using Rheum Palmatum root extract and Their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 45(2):372-379.
20. Chen T, Zhao T, Wei D, Wei Y, Li Y, Zhang H. 2013. Core-shell nanocarriers with Cu quantum dots-conjugated Au nanoparticle for tumor-targeted drug delivery. Carbohydr Polym. 92(2):1124-32.
21. Sanaeimehr Z, Javadi I, Namvar F. 2018. Antiangiogenic and antiapoptotic effects of green-synthesized zinc oxide nanoparticles using *Sargassum muticum* algae extraction. Cancer Nanotechnol. 9(1):3.
21.Kermanshah H, Hashemi KS, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi M, Jabal AF. 2011. Antibacterial effect of hydro alcoholic extract of *Saliva officinalis* and *Mentha longifoliaon* three bacteria cause tooth decay *in vitro*. Shaheed Beheshti Uni Den J. 4: 232-237.
22. Krishnaraj C, Jagan E.G. Jagan, S. Rajasekar, P. Selvakumar, P.T. Kalaichelvan, N. Mohan. 2010. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. J Coll Surf B: Biointerfaces. 76: 50–56.

Investigation of structural and antimicrobial properties of copper oxide nanoparticles produced using Iranian violet extract

Davari A[1], Hakimzadeh V[1*], Mahdian E[1], Shahidi-Noghabi M[2]

1. Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

2. Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

[*]**Corresponding Author:** *V.hakimzadeh@yahoo.com*

Received: 7 October 2020 Accepted: 5 January 2021

Abstract

The bio-production method has been respected due to the lack of energy consumption and environmental compatibility. In this study, the green synthesis of copper oxide nanoparticles from the extract of Iranian flower and its antibacterial properties compared to two common antibiotics was investigated. First, aqueous extract of flower prepared and admixed with CuO solution at a concentration of 1 mM. After changing the color of the extract, the reaction product was examined by spectrophotometric and X-ray diffraction. Finally, the antibacterial properties of synthesized nanoparticles were investigated using the disk diffusion method. Also, the MIC and MBC were determined by microdilution and dilution in the tube. The synthesized copper oxide nanoparticles showed the most absorbance at 266 nm and had a spherical shape with an average size of 50-80 nm. The results of the antibacterial studies showed that the synthesized copper oxide nanoparticles had more antibacterial activity against *staphylococcus aureus* than *Escherichia coli*. The extract of the Iranian violet flower can reduce CuO ion to copper oxide nanoparticles. Also, synthesized copper oxide nanoparticles have good antibacterial activities.

Keywords: Nanoparticles, Iranian violent, Copper oxide, Antibacterial activity.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

Copyright © 2021 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.