مقاله تحقیقی

بررسی اثر پارامترهای مختلف بر اندازه نانو ذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاه پونه *Mentha longifolia* (L.) Hudson

زهرا آقاجانی کلاکی[۱]، راحله صفایی جوان[۲*]، معصومه مهدوی اورتاکند [۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی
۲. گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی
۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی

***مسئول مکاتبات :** پست الکترونیکی: safaeijavan@gmail.com

محل انجام تحقیق: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۰

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۱- شماره ۳- پاییز ۱۳۹۵

چکیده

این مطالعه در رابطه با بهینه سازی سنتز سبز نانوذرات نقره با یک روش ساده، سریع و دوستدار محیط زیست و بررسی اثر ۴ پارامتر دما، غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره گیاهی و pH بر اندازه نانو ذرات سنتز شده است. به منظور تشخیص شرایط بهینه برای سنتز نانوذرات نقره، ۹ آزمایش با سه سطح توسط نرم افزار مینی تب و روش تاگوچی طراحی شدند، که شامل محلول نیترات نقره (۱، ۵ و ۱۰ میلی مولار به عنوان سطح ۱، ۲ و۳)، دما (۶۰، ۴۰ و ۸۰ °c به عنوان سطح ۱، ۲ و۳)، pH (۵، ۷و ۹ به عنوان سطح ۱، ۲ و ۳) و غلظت عصاره (۳، ۵ و ۷ ٪ به عنوان سطح ۱، ۲ و۳) بودند. نانوذرات نقره به روش سنتز سبز، توسط عصاره گیاه پونه، به عنوان عامل احیاکننده سنتز شدند. تغییر رنگ محلول تشکیل نانوذرات را تایید کرد. همچنین نانوذرات توسط طیف سنجی (UV-Vis)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و طیف سنجی فوریه مادون قرمز (FTIR) مورد ارزیابی قرار گرفتند. میانگین سایز نانوذرات تولید شده در هر آزمایش نیز توسط دستگاه زتاسایزر (Particle Size Analyzer) اندازه گیری شد. اسپکتروفتومتری پیک جذبی در طول موج ۳۴۰ نانومتر نشان داد. نتایج پارتیکل سایز آنالایزر نشان داد که اندازه نانوذرات، از ۲۱/۱ تا ۳۰۱ نانومتر می باشد. نتایج میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات سنتز شده کروی هستند. در این پژوهش با یک روش اصولی و سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره پونه، به عنوان یک روش جدید معرفی گردید. همچنین ثابت شد که با تاثیر pH، دما، غلظت نیترات نقره و غلظت عصاره گیاه می توان سعی در کنترل اندازه نانوذرات نقره داشت.

واژه های کلیدی: نانوذرات نقره، سنتز سبز، عصاره گیاه، گیاه پونه.

مقدمه

فناوری نانو باعث ایجاد تحول در حوزه های مواد، فناوری اطلاعات و ارتباطات پزشکی و ژنتیک خواهد شد. امروزه محصولات جدید مبتنی بر فناوری نانو بیش از پیش وارد بازار شده اند و نتایج تحقیقات در این زمینه به سرعت در حال تجاری شدن است. این فناوری موجب بهبود محصولات و فرآیند های تولید با مشخصات و کارکرد های جدید می شود. انتظار می رود که در سال های آینده، کاربرد های وابسته به فناوری نانو، تقریبا تمامی بخش های صنعتی را پوشش داده و به طور گسترده وارد بازار محصولات مصرفی شود. بنابراین با توجه به آینده درخشان این صنعت، کشورهای مختلف سرمایه گذاری های بزرگی در این زمینه انجام می دهند (۱).

استفاده از نانوذرات نقره در مقابله با عفونت ها روز به روز در حال افزایش است. زیرا نانوذرات نقره نسبت به آنتی بیوتیک ها دارای مزایایی می باشند که در زیر به تعدادی از آنها اشاره می شود. باکتری ها به نانو ذرات نقره مقاومت پیدا نمی کنند، زیرا این ذرات بر روی قسمت های مختلف و آنزیم های متعددی موثر هستند. نانوذرات نقره بر روی طیف گسترده ای از باکتری ها موثر هستند و بر روی سلولهای انسانی اثر سوء ندارند زیرا سلولهای انسانی به صورت بافت هستند. بر خلاف آنتی بیوتیک ها که پس از واکنش با سلول تغییر شکل یافته و بی اثر می شوند، نانوذرات نقره پس از اثر بر میکروب ها آزاد شده و بر میکرو ارگانیسم های دیگر تاثیر می گذارند. افزایش مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها باعث بروز مشکل جدی در سلامت عمومی می شود. بنابراین یک انگیزه قوی برای بهبود آنتی بیوتیک های جدید وجود دارد. اندازه و سایز نانو مواد شبیه و هم اندازه بسیاری از مولکول ها و ساختارهای زیستی می باشد. بنابراین نانو مواد می توانند برای تحقیقات و استفاده های بیو دارویی مفید باشند (۲).

نانوذرات نقره بـه دو روش شیمیایی و زیستی تولید می شوند. روش های شیمیایی و فیزیکی مورد استفاده جهت سنتز نانوذرات کلوئیدی نقره نظیر تولید با لیزر، کاهش شیمیایی، کاهش فتوشیمیایی و استفاده از رادیولیز همچنان در مرحله ی پیشرفت و اصلاح هستند و اغلب دارای مشکلاتی در مورد پایداری نانوذرات تولیدشده، کنترل رشدکریستال و نیز تجمع کردن ذرات با اندک تغییرات دما و pH و... می باشند (۳).

مزیت نانوذرات تولید شده توسط فرآیند های زیستی، این است که در جدیدترین تکنولوژی روز دنیا (نانوتکنولوژی)، نانو مواد و نانو ساختارهایی تولید می شود که منطبق بر اصول شیمی سبز باشد. شیمی سبز به محیط زیست، مصرف انرژی، سلامت تولید کننده و مصرف کننده و کاهش ریسک تولید، توزیع، بسته بندی و مصرف کالا مورد نظر، توجه ویژه ای دارد (۴).

در طـی مراحل ساخت زیسـتی نـانو ذرات، اگـر آنهـا بـه صورت خارج سـلولی بـا اسـتفاده از گیاهـان و یـا عصاره آن ها تولید شود، بیشـتر سـودمند اسـت و می توان ساخت آن ها را در یک روش کنترل شده بر اسـاس انـدازه، میـزان پـراکنش و شکل برای مقاصد مختلف تنظـیم کـرد (۵).

گیاهان به علت سازگاری با محیط می توانند به طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون اینکه منجر به بروز آسیب های زیست محیطی شوند. همچنین گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد گزینه ای مناسب برای تولید نانوذرات به روش زیستی محسوب می شوند. تـاکنون تولیـد زیسـتی نانوذرات نقره به وسیله گیاهانی ماننـد *Ocimum*، *Artemisia nilagirica*، *Piper longum*، *AcalyphaindicaAzadirachta*، *Catharanthus roseus*، *sanctumindica* و بسیاری از دیگر گیاهان انجام گرفته است (۴).

پلی ساکارید گیاهان دارای عوامل بسیاری از جمله گروه های هیدروکسیل و دسته ترکیبات آلی بوده که قادرند محلول هایی حاوی نمک فلزات را احیاء نمایند. بنابراین در بسیاری از مقالات به استفاده از عصاره های گیاهی برای سنتز نانوذرات اشاره شده است. همچنین در سنتز به کمک عصاره گیاهان به دلیل عدم استفاده از عوامل شیمیایی خارجی، نانو ذرات سنتز شده به کمک عصاره گیاه، می تواند دارای عوارض کمتری در مصارف پزشکی باشد (۶).

نام علمی پونه، از واژه لاتین پولکس به معنای شپش بر گرفته شده است. رومیان قدیم از پونه برای دفع شپش استفاده می کرده اند. مالیدن برگ های تازه پونه بر روی پوست، حشرات را دفع کرده و همچنین حیوانات خانگی را از آلوده شدن به شپش حفظ می کند. مواد موثره پونه عمدتا در سر شاخه های گلدار وجود دارد و سر شاخه های گلدار و برگ گیاه پونه دارای خواص درمانی است. ترکیب گیاه پونه به طور عمده به عنوان ضد نفخ، ضد اسپاسم و ضد التهاب در ایران مصرف می شود. به طور سنتی جوشانده این گیاه برای درمان فیبروز و سرطان گردن رحم مورد استفاده قرارمی گیرد (۷).

اعضای مختلف این گیاه دارای تانن و مواد رزینی و پکتینی و قند و اسانس می باشند که این اسانس در اغلب روغن ها حل می شود اما در گلیسیرین نامحلول است (۷).

در این تحقیق به کمک عصاره برگ های گیاه پونه و محلول نیترات نقره، نانوذرات نقره سنتز شده است. به منظور بررسی اثر پارامترهای موثر بر سنتز شامل دمای واکنش، pH واکنش، غلظت عصاره گیاه و غلظت محلول نیترات نقره ۹ آزمایش توسط نرم افزار مینی تب طراحی و انجام گردیده است.

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده

نیترات نقره از شرکت Merck با وزن مولکولی ۱۶۹/۸۷ تهیه شد. گیاه پونه از بازار تجریش خریداری و توسط متخصص گیاه شناسی تایید گردید.

دستگاه ها و تجهیزات مورد استفاده

- دستگاه سانتریفیوژ WiseSpin CF-10 ساخت کره جنوبی
- همزن مغناطیسی (استیرر) IKa مدل RH B KT/C از آلمان
- دستگاه pH متر MARTINI مدل MI151 از ایتالیا
- دستگاه FTIR با نام Thermo Nicolet IR100 از آمریکا
- دستگاه سونیکیتور WiseClean از کره جنوبی
- دستگاه زتاسایزر Malvern3600 Instruments Ltd از انگلستان
- دستگاه اسپکتروفوتومتر SHIMADZU Prestige-21 از ژاپن
- دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی KYKY (EM3200) از چین

تهیه عصاره گیاهی

برگ های تازه و شاداب گیاه پونه جدا گردیده و کاملا با آب مقطر شسته شد. سپس به مدت ۴ روز در دمای اتاق خشک گردیدند و بعد از آن به کمک آسیاب به صورت پودر در آمدند. مقدار مورد نیاز از برگ های خشک شده گیاه را در مقدار لازم از آب دیونیزه ریخته و مخلوط حاصل در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه جوشانده شد. به این ترتیب ۳ عصاره با درصد های ۳، ۵ و ۷٪ طبق آزمایشات طراحی شده توسط روش تاگوچی تهیه شدند. عصاره حاصل یک بار با کاغذ واتمن شماره ۱ (۱۲۵میلی متر) و بار دیگر با کاغذ واتمن (۲۵ میلی متر) صاف شده و برای استفاده های بعدی در دمای ۴ درجه سانتی گراد ذخیره گردید (۱۰).

طراحی آزمایشات جهت بررسی اثر پارامترهای مختلف بر اندازه نانوذرات تولید شده

جهت بررسی اثر پارامترهای مختلف بر اندازه نانوذرات تولید شده، ۹ آزمایش طراحی و انجام شد. این پارامترها شامل غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره، دما و pH می باشند که هر کدام در سه سطح در نظر گرفته شدند. هر آزمایش با شرایطی که در جدول ۱ نشان داده شده است، انجام شد. بنابراین هر ردیف نشان دهنده ی شرایط یک آزمایش می باشد. پس از انجام آزمایشات، سایز ذرات تولید شده به عنوان پاسخ در نظر گرفته شده است. جهت انجام محاسبات آماری و مدلینگ از نرم افزار Minitab (Version16) استفاده شده است.

سنتز نانوذرات نقره

طبق آزمایشات طراحی شده ، نیترات نقره ۱، ۵ و ۱۰ میلی مولار (به عنوان سطح ۱ و ۲و ۳) تهیه گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول نیترات نقره به ۷ میلی لیتر عصاره گیاه به صورت قطره قطره اضافه شد. محلول حاصل توسط آب دیونیزه به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. به منظور کاهش یون های نقره، محلول مورد نظر به مدت ۲ ساعت توسط استیرر در شرایط تاریکی و سرعت ۱۵۰rpm و دمای خواسته شده ۴۰، ۶۰، ۸۰ درجه سانتی گراد (به عنوان سطح ۱و ۲و ۳) حرارت داده شد. pH محلول نیز توسط محلول HCL و NaOH ۰/۱ نرمال روی pHهای خواسته شده (۵و ۷ و ۹ به عنوان سطح ۱و ۲و ۳) تنظیم گردید. تغییر رنگ محلول از زرد به قهوه ای تیره، نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره بود. تعیین چگالی نوری محلول حاوی نانوذرات نقره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر انجام شد. سپس برای از بین بردن ناخالصی های احتمالی، محلول مورد نظر سه مرتبه و با سرعت ۱۰،۰۰۰ دور در دقیقه، هر بار به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب حاصله در دمای اتاق خشک شده و برای استفاده بعدی بسته بندی و ذخیره شد (۱۱).

ارزیابی و مشخصه یابی نانو ذرات نقره سنتز شده

برای بررسی تشکیل نانوذرات نقره، طیف های UV-Vis با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی ثبت گردید. به این منظور، حدود ۲ ساعت پس از شروع واکنش، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول قهوه ای رنگ حاصل از برهم کنش عصاره گیاه پونه و نیترات نقره به حجم یک میلی لیتر رسانده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در بازه طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر بررسی شد (۵).

مطالعه و بررسی مورفولوژی و ریز ساختار نمونه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام شد. از آنجایی که نمونه های مورد بررسی برای تصویربرداری SEM باید به صورت خشک تهیه گردند، رسوب حاصل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردید و به صورت پودر در آمد. سطح نمونه هایی که با میکروسکوپ SEM بررسی می شوند باید دارای هدایت الکتریکی باشند تا ایجاد شارژ ساکن نکنند، زیرا در این صورت الکترون های بعدی با شارژ ساکن و بارهای همنام برخورد کرده، دفع یا منحرف می شوند، در نتیجه تصویر حاصل ناپایدار می گردد. بنابراین نمونه ها بر روی پایه های میکروسکوپ فیکس شدند و توسط دستگاه، لایه ای از طلا روی آنها را پوشاند تا هدایت الکترونی پیدا کنند و الکترون ها سطحی دفع شوند، درنتیجه وضوح تصاویر نیز بهبود یابد (۸).

تعیین توزیع اندازه نانوذرات نقره توسط دستگاه زتا سایزر انجام گردید. بدین منظور یک میلی لیتر آب مقطر به رسوب حاوی نانوذرات نقره اضافه نموده و به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه سونیکیت شد. سپس توسط دستگاه زتا سایزر مورد آنالیز قرار گرفت.

طیف های مادون قرمز (IR) نمونه ها با استفاده از دستگاه FTIR ثبت شد. برای این کار، رسوب حاصل از بر هم کنش عصاره گیاه پونه و نیترات نقره سه مرتبه و با سرعت ۱۰،۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیده و رسوب حاصله به مدت یک روز در دمای اتاق خشک گردید (۶).

نتایج

نتایج بررسی اثر پارامترهای مختلف بر اندازه نانوذرات نقره

در این پژوهش سنتز نانوذرات نقره با استفاده از نیترات نقره و عصاره گیاه پونه به عنوان احیاکننده، به منظور تولید نانوذرات با سایز حداقل، بهینه سازی شد. پس از انجام آزمایش‌های طراحی شده، میانگین قطر نانوذرات با استفاده از دستگاه زتاسایزر اندازه گیری شد. نتایج حاصل نشان داد بهترین شرایط و پارامترها برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه پونه، شرایط آزمایش ۸ (نیترات نقره ۱۰ mM، عصاره گیاه ۳٪، دما ۶۰C° و pH=۹) می باشد. نتایج حاصل در جدول ۱ آمده است.

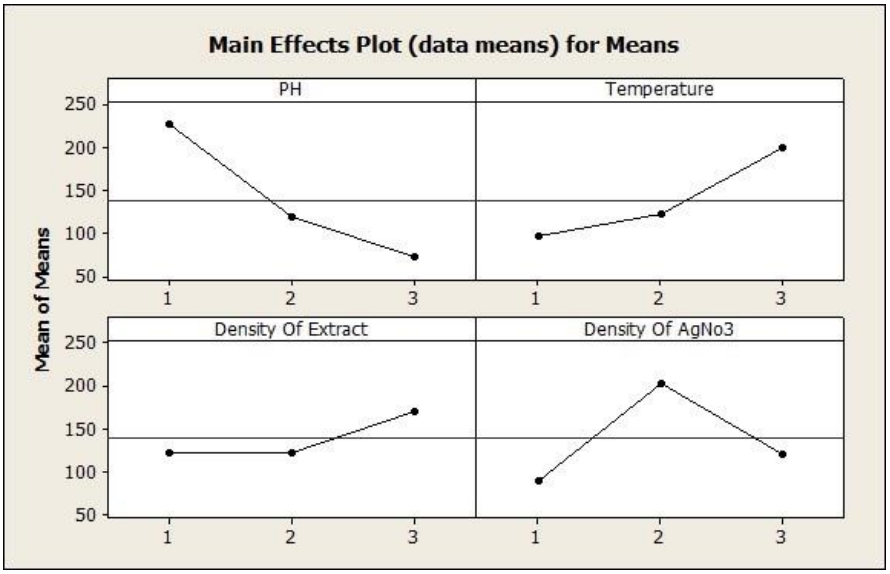
جدول ۱ - اندازه نانوذرات سنتز شده در آزمایشات طراحی شده توسط روش طراحی آزمون تاگوچی.

سایز نانوذرات نقره سنتز شده (nm)	D غلظت نیترات نقره	C غلظت عصاره	B دما	A pH	شماره آزمایش
۱۲۰	۱	۱	۱	۱	۱
۲۶۰	۲	۲	۱	۲	۲
۳۰۱	۳	۳	۱	۳	۳
۴۱/۷	۳	۲	۲	۱	۴
۸۴/۲	۱	۳	۲	۲	۵
۲۲۸	۲	۱	۲	۳	۶
۱۲۶	۲	۳	۳	۱	۷
۲۱/۱	۳	۱	۳	۲	۸
۶۸/۱	۱	۲	۳	۳	۹

بررسی اثر خالص پارامترها

در این مطالعه اثر غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره، دمای واکنش و pH روی اندازه نانوذرات تشکیل شده در سه سطح مجزا بررسی گردید. نمودار اثر اصلی برای نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز در شکل ۱ نشان داده شده است. این نمودار جهت نشان دادن رابطه بین متغیر ها و پاسخ دریافت شده یعنی اندازه نانوذرات تشکیل شده، استفاده شده است. همانطور که مشاهده می شود در ارتباط با فاکتور pH، با افزایش این فاکتور از سطح ۱ (pH=۵) تا سطح ۳ (pH=۹)، کاهش اندازه ذرات مشاهده می شود. این نتایج نشان می دهد تغییر این فاکتور بر روی تغییرات پاسخ دریافتی موثر می باشد. فاکتور دما نیز به طور واضحی بر روی پاسخ تاثیر دارد. با افزایش دما از سطح اول یعنی ۴۰ درجه سانتی گراد تا سطح سوم یعنی ۸۰ درجه سانتی گراد افزایش اندازه نانوذرات مشاهده می شود. نتایج این مطالعات نشان داد که اندازه نانوذرات تشکیل شده در سطح متوسط

غلظت نیترات نقره، افزایش یافته است. همچنین تغییر سطح ۱ به ۲ در مورد فاکتور غلظت عصاره تاثیری بر سایز ذرات به دست آمده نداشته است. در حالی که در غلظت بالای عصاره (سطح سوم) اندازه ذرات افزایش یافته است.



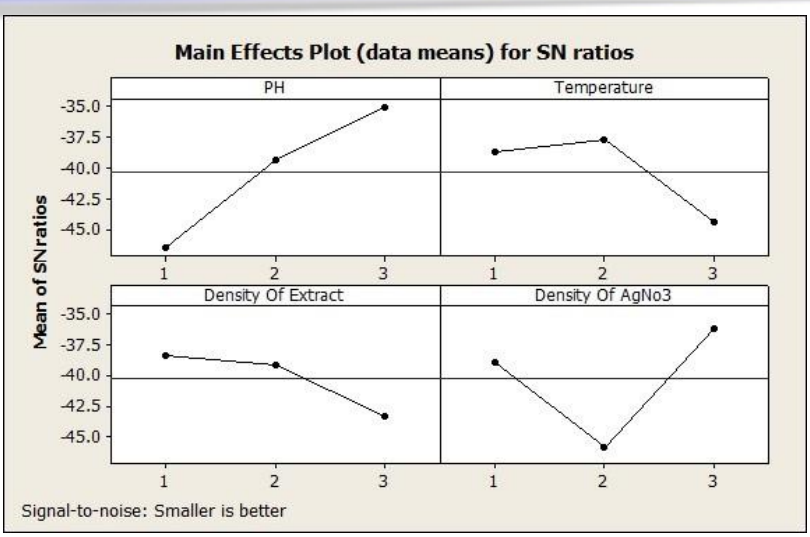
شکل ۱ - نمودار اثر اصلی برای نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز. این نمودار رابطه بین متغیر ها و پاسخ دریافت شده یعنی اندازه نانوذرات تشکیل شده را نشان می دهد.

بررسی نمودار اثر خالص برای نسبت سیگنال به نویز

جهت مشخص نمودن تاثیر پارامترهای مختلف بر سایز نانوذرات نقره سنتز شده، داده های تجربی به دست آمده با مشخصات "هر چه کوچک تر، بهتر " بررسی شدند. در این بررسی مقدار نسبت S/N پایین تر مناسب تر جهت سنتز نانوذرات کوچک تر می باشد. شکل ۲ مقدار نسبت S/N را در سنتز نانوذرات نقره به روش سنتز سبز توسط عصاره گیاه پونه نشان می دهد. نسبت S/N با استفاده از رابطه (۱) به دست آمده است و داده ها نشان می دهد که این نمودار بر عکس نمودار اثر خالص پارامترها می باشد. نتایج مطالعات نسبت S/N نشان می دهد، در نسبت بالاتر S/N سایز ذرات کمتری به دست می آید. به عبارت دیگر شرایط بهینه پارامترهای آزمایش طبق این نمودار در سطح ۳، pH سطح ۲، دما سطح ۱و سطح ۳ غلظت نیترات نقره می باشد.

رابطه (۱)

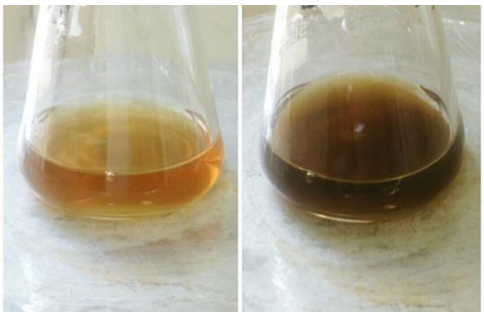
$$S/N = \frac{-10\log\left(Y_1^2+Y_2^2+\cdots+Y_n^2\right)}{n}$$



شکل ۲ - نسبت S/N در سنتز نانوذرات نقره به روش سبز توسط عصاره گیاه پونه.

مشخصه یابی نانوذرات سنتز شده

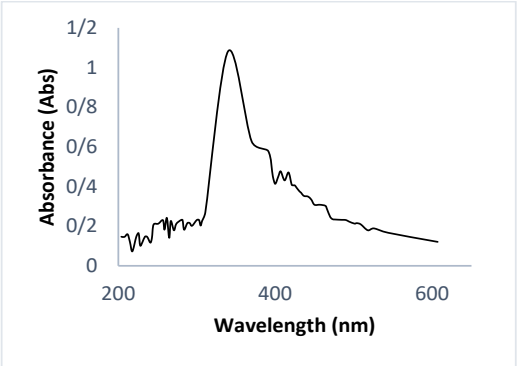
تغییر رنگ: مشاهده تغییر رنگ تدریجی محلول واکنش از زرد به قهوه ای تیره، اولین مرحله در تایید سنتز نانوذرات نقره می باشد (شکل ۳).



شکل ۳ - تغییر رنگ محلول واکنش، نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره است. شکل سمت چپ: محلول عصاره گیاه پونه، شکل سمت راست: محلول حاوی عصاره گیاه پونه و نیترات نقره پس از ۲ ساعت و تشکیل نانوذرات نقره.

بررسی طیف جذبی نانوذرات نقره سنتز شده

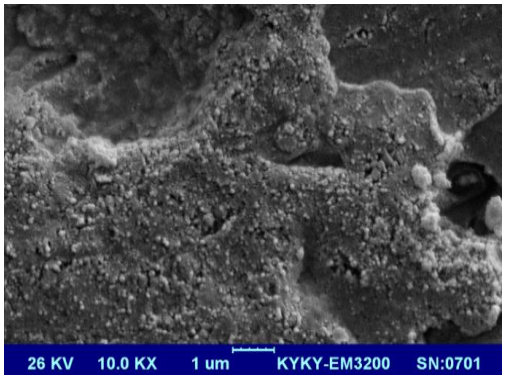
پیک جذبی ناشی از پلاسمون سطحی نانوذرات نقره مطابق شکل ۴ حداکثر پیکی در طول موج ۳۴۰ نانومتر نشان می دهد.



شکل ۴ - طیف اسپکتروفتومتری محلول حاوی نانوذرات نقره تولید شده توسط عصاره گیاه پونه.

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

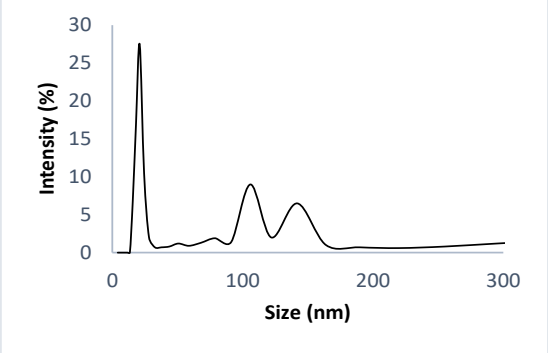
مورفولوژی محصول نهایی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شد. عکس های SEM بیانگر تولید نانوذراتی کروی با سطحی صاف می باشد (شکل ۵).



شکل ۴- تصویر SEM نشان دهنده ذرات کروی.

اندازه گیری دقیق سایز نانوذرات توسط زتاسایزر

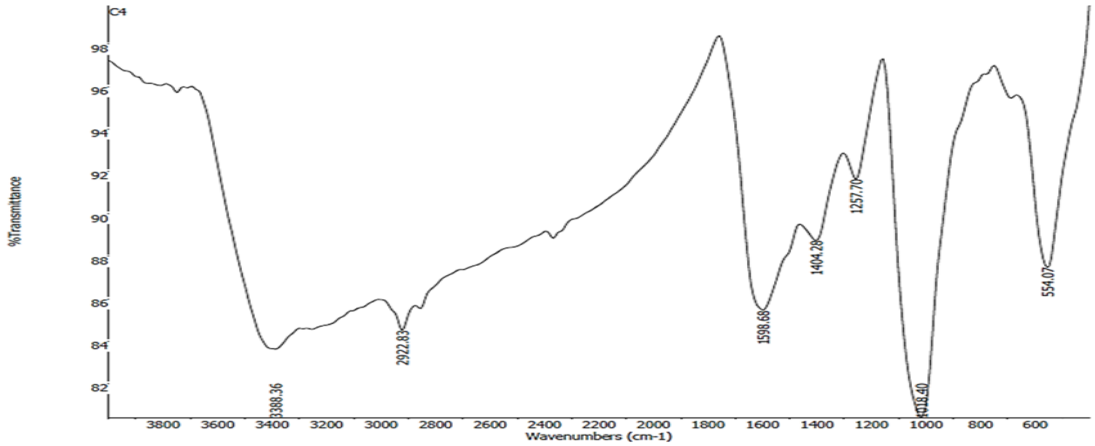
نتایج پارتیکل سایز آنالایزر نشان داد که اندازه نانوذرات سنتز شده از ۲۱/۱ تا ۳۰۱ نانومتر متغیر است (شکل ۶).



شکل ۶ - نمودار پارتیکل سایز آنالایزر. این نمودار توزیع اندازه نانوذرات سنتز شده در آزمایش بهینه را نشان می دهد که بر اساس آن میانگین کوچک ترین ذرات ۲۱/۱ نانومتر می باشد.

تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

خصوصیات نانوذرات با استفاده از FTIR مشخص گردید. شکل ۷ نمودار حاصل از طیف سنجی نانوذرات را نشان می دهد. طیف حاصل از رسوب نانوذرات به دست آمده توسط عصاره گیاه پونه پیک هایی در محدوده ۳۳۸۸/۳۶، ۲۹۲۲/۸۳، ۱۵۹۸/۶۸، ۱۴۰۴/۲۸، ۱۲۵۷/۷۰، ۱۰۱۸/۴۰و ۵۵۴/۰۷ cm^{-1} نشان می دهد. پیک موجود در ۳۳۸۸ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی OH گروه های الکل می باشد. پیک موجود در ۲۹۲۲ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C-H گروه های آلیفاتیک موجود در عصاره گیاه است و همچنین پیک های موجود در cm^{-1} ۱۵۹۸، ۱۴۰۴، ۱۲۵۷، ۱۰۱۸ و ۵۵۴ مربوط به ارتعاشات کششی آلکن ها و ارتعاشات خمشی C-H می باشد.



شکل ۷ - نمودار FTIR نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاه پونه.

بحث و نتیجه گیری

استفاده از گیاهان برای سنتز نانوذرات نقره به دلیل عدم استفاده از مواد آلاینده و سمی و بنابراین دوست دار محیط زیست و همچنین اقتصادی و به صرفه بودن، مورد توجه زیادی قرار گرفته است. عصاره برگ گیاهان دارای پلی فنیل هایی مانند فلاونوئیدها هستند که عوامل قدرتمندی برای احیاء در سنتز نانوذرات نقره محسوب می شوند. بنابراین امروزه، استفاده از عصاره گیاهان در سنتز نانو ذرات فلزی خصوصاً نقره، مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (۶).

در همه ی آزمایشات، عصاره فیلتر شده گیاه پونه در ترکیب با نیترات نقره ($AgNO_3$)، شروع به تغییر رنگ از زرد به قهوه ای تیره نمود که این تغییر رنگ نشان دهنده شکل گیری نانوذرات نقره می باشد (۱۲).

در این تحقیق ۴ پارامتر موثر بر واکنش (غلظت عصاره گیاهی، غلظت نیترات نقره، دما و pH) با در نظر گرفتن مشخصه کیفی " هر چه کوچکتر، بهتر" بررسی شدند. برای بررسی ۴ پارامتر مذکور در ۳ سطح ۸۱ آزمایش (3^4 آزمایش) باید انجام می گرفت. سطوح بهینه پارامترها به صورت A3 (pH=۹)، B2 (دما=۶۰°C)، C1 (غلظت عصاره گیاه پونه=۳ ٪) و D3 (غلظت نیترات نقره= ۱۰ mM) تعیین شد. Velhal و همکارانش در سال ۲۰۱۵، طی تحقیقشان با عنوان بهینه سازی سنتز زیستی نانوذرات نقره با استفاده از قارچ *Asperillus terrerus* توسط روش تاگوچی، تایید

کردند که غلظت نیترات نقره، مقدار ماده اولیه و دما نقش قابل توجهی در کنترل سایز نانوذرات نقره تولید شده دارند. آن ها با این روش موفق شدند نانوذرات کروی با میانگین سایز ۱۸/۲ نانومتر تولید کنند (۱۳).

با استفاده از طیف سنجی UV-Vis فرآیند واکنش را در محلول حاوی عصاره گیاه پونه به همراه نیترات نقره را در طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر ثبت کردیم که پیک جذبی در محدوده ۳۴۰ نانومتر بود که مطابق با نتایج تئوری و مربوط به نانوذرات نقره کوچکتر از ۲۵ نانومتر می باشد (۹). تصاویر بدست امده از طریق میکروسکوپ الکترونی و نمودار به دست آمده از دستگاه زتا سایزر، نشان داد که اندازه نانوذرات سنتز شده بین ۲۱ تا ۳۰۱ نانومتر متغیر بود و اندازه نانوذرات در شرایط بهینه ۲۱/۱ نانومتر گزارش شد. مورفولوژی نانوذرات سنتز شده یکسان، کروی با سطحی صاف بود. همانطور که Poinern و همکارانش در سال ۲۰۱۳، با استفاده از عصاره برگ *Eucalyptus macrocarpa* نانوذراتی کروی تولید کردند که اندازه ای بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر داشتند (۱۴).

نانوذرات سنتز شده توسط دستگاه FTIR نیز مشخصه یابی شدند. هدف از این بررسی شناسایی گروه های عاملی و ترکیبات آلی موجود در نمونه بود که پیک های به دست آمده با نتایج (Jayapria& Lalitha, 2013) همسو بود (۱۵).

با افزایش آگاهی نسبت به شیمی سبز و فرآیند های زیستی، استفاده از روش های سازگار با محیط زیست در تهیه غیر سمی نانو مواد زیستی ضروری به نظر می رسد. اگرچه روش های گوناگون زیستی برای تهیه زیستی نانوذرات فلزی شناخته شده اند اما استفاده از موجودات زنده و یا دیگر واسطه ها برای تهیه نانوذرات فلزی، گران قیمت و همراه با محدودیت است. بنابراین تهیه بیولوژیکی آن ها آسان تر بوده و بنابراین سنتزنانوذرات با کنترل اندازه و شکل در روش های ارائه شده از اهمیت بیشتری برخوردار است. در سال های اخیر، تحقیقاتی مبتنی بر استفاده از عصاره گیاهان برای تهیه نانوذرات فلزی ارائه شده اند. عصاره گیاه پونه می تواند به عنوان یک جایگزین مناسب، مقرون به صرفه و ایمن از نظر شیمی سبز به جای استفاده از مواد شیمیایی سمی و پر خطر، معرفی گردد.

در این پژوهش با یک روش اصولی و سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره پونه، به عنوان یک روش جدید معرفی گردید. همچنین ثابت شد که با تاثیر pH، دما، غلظت نیترات نقره و غلظت عصاره گیاه می توان اندازه نانوذرات نقره تولید شده را کنترل نمود. نانوذرات نقره سنتز شده کروی بوده و دارای ابعاد ۲۱/۱ نانومتر بودند.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد بوده است. نویسندگان از کلیه پرسنل آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا تشکر ویژه دارند.

منابع مورد استفاده

۱. کرکج، ا. صلوتی، م. سروری، ر. خدیوی درخشان، ف. ۱۳۹۱.تولید زیستی نانوذرات نقره توسط باکتری باسیلوس جداسازی شده از معدن مس سونگسون. مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. ۱۷(۳): ۱۴۲-۱۴۷.

۲. صفائیان، ش.، مقدم، ز.، حسینی، ه.، اسماعیلی، ا.، ۱۳۹۲. مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جداشده ازروده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی. علوم و تکنولوژی محیط زیست ۱۵(۴): ۷۴-۶۷.

۳. رمضانی، ف. کاظمی، ب. جبالی، ع.، ۱۳۹۳. سنتز بیولوژیک نانوذره نقره. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی ۹(۳): ۱۰۷-۱۱۱.

۴. نیکبخت، م. پورعلی، پ. ۱۳۹۴. بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره تولید شده به وسیله عصاره آبی و متانولی گیاه عناب. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی ۲۵(۲): ۱۱۲-۱۱۸.

۵. کریمی، ج. محسن زاده، س. ۱۳۹۲. تولید گیاهی نانو ذرات نقره توسط گیاه دارویی بومادران، مجله علوم پزشکی رازی ۲۰(۱۱۱): ۶۵-۶۹.

۶. سائری، م. عزیزی، م. عموآقایی، ر. ۱۳۹۴. تاثیر غلظت پیش ماده فلزی بر شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده توسط عصاره گیاه، مواد پیشرفته در مهندسی ۳۴(۴): ۱تا ۱۴.

۷. ایرانپور، م.، ۱۳۹۱. بررسی اثر هیدروالکلی گیاه پونه بر سیستم ایمنی در موش کوچک آزمایشگاهی. پایان

نامه کارشناسی ارشد علوم جانوری. دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان.

۸. خسروی اقبال، ر.، اخوان سپهی، ع.، خنافری، آ. ۱۳۸۹. بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس و مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر روی سلول رویشی و اسپور باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس. مجله علمی-پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه ازاد اسلامی ۲(۷): ۳۷-۴۴.

۹. شیره بند، غ. ۱۳۹۳. کاربرد عصاره متانولی Achillea conferta برای سنتز نانوذرات نقره و بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی آن ها. پایان نامه کارشناسی ارشد. واحد علوم دارویی. دانشگاه آزاد اسلامی.

10. Shanmugavadivu, M., Kuppusamy, S., Ranjithkumar, R., 2014. Synthesis of pomegranate peel extract mediated silver nanoparticles and its antibacterial activity. American Journal of Advanced Drug Delivery 2(2): 174-182.

11. Agrawal, P., Mehta, K., Vashistha, P., Sudarshan, Bhat, P., Goutham Vishnu, B. V., 2014. Green synthesis of silver nanoparticles and their application in dental filling materials. International Journal of Innovative Research in Science Engineering and Technology 3(5):13038-13052.

12. Ahmed, S., Saifullah, Ahmad, M., Swami, B. L., Ikram, S., 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. Journal of Radiation Research and Applied Sciences 9: 1-7.

13. Velhal S., Latpate R., Kulkarni S., Jaybhaye R., 2015. Taguchi design for parameter optimization of size-controlled synthesis of silver nanoparticles. International Journal of Emerging Technologies in Computational and Applied Sciences 12(2): 144-149.

14. Poinern, G., Chapman, P., Shah, M., Fawcett, D., 2013. Green biosynthesis of silver nanocubes using the leaf extracts from Eucalyptus macrocarpa. Nano Bull 2 (1): 1–7.

15. Jayapriya, E., Lalitha, P., 2013. Synthesis of silver nanoparticles using leaf aqueous extract of Ocimum basilicum. International Journal of Chem Tech Research (5)6: 2985-2992.