بهینه سازی سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی میوه زیره سیاه به روش تاگوچی

پریسا جعفری، معصومه مهدوی اورتاکند*، راحله صفایی جوان

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

***مسئول مکاتبات:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران
masumehmahdavi@gmail.com

محل انجام تحقیق: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۸

چکیده

در این تحقیق روشی سریع و ساده برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی میوه گیاه زیره سیاه (*Bunium persicum*) مورد بررسی قرار گرفت. برای مطالعه پارامترهای مطلوب سنتز نانوذرات نقره، طراحی تاگوچی به عنوان یک طراحی تجربی با استفاده از ۹ آزمایش در شرایط مختلف شامل غلظت نیترات نقره (۱، ۵، ۱۰ میلی‌مولار)، pH (۵، ۷ و ۹)، درجه حرارت (°C ۴۰، ۶۰°C، ۸۰ °C) و غلظت های مختلف عصاره آبی میوه زیره سیاه (۱، ۳، ۵ درصد وزنی/حجمی) در نظر گرفته شد. در این بررسی نانوذرات نقره با استفاده از واکنش نیترات نقره و عصاره آبی میوه زیره سیاه سنتز شدند. برای تأیید سنتز، طیف سنجی با اشعه ماوراء بنفش بین ۲۰۰ و ۸۰۰ نانومتر انجام شد. همچنین نانوذرات سنتز شده توسط زتاسایزر، میکروسکوپ الکترونی (SEM) نیز مشخصه یابی شدند. از نرم افزار Minitab (نسخه ۱۶) برای انجام محاسبات استفاده شد. حداکثر جذب ۳۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر UV-Visible نشان داده شد. عکس های اسکن شده میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده کروی است. پژوهش حاضر ثابت می کند که سنتز نانوذرات نقره می توانند در شرایط مطلوب با نیترات نقره و غلظت عصاره گیاه، pH و دما کنترل شوند. اندازه نانوذرات نقره سنتز شده ۲۱/۳ نانومتر به دست آمد که بسیار نزدیک به اندازه طراحی شده در روش تاگوچی است. سنتز سبز روش سریع و بی خطر برای استفاده در برنامه های مختلف بیوتکنولوژی است.

واژه های کلیدی: سنتز سبز، طراحی تاگوچی، نانوذرات نقره، *Bunium persicum*

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

مقدمه

نانوذرات به دلیل اندازه‌ی کوچک و در نتیجه بالا بودن نسبت سطح به حجم، سطح تماس بالایی با محیط و میکروارگانیسم ها پیدا می کند که این امر می تواند منجر به افزایش فعالیت بیولوژیک و شیمیایی آنها شود (۱،۲). روش های فیزیکی تولید نانوذرات نیازمند صرف انرژی بالایی بوده و روش های شیمیایی نیز معمولاً منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی و عدم استفاده از نانوذرات حاصل در کاربردهای زیستی می‌شوند. به همین دلیل در سال های اخیر بیوسنتز نانوذرات به وسیله گیاهان و میکروارگانیسم ها، به عنوان روش زیست سازگار و سبز مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. استفاده از عصاره برگ و میوه گیاهان می‌تواند جایگزینی برای روش های فیزیکی و شمیایی تولید نانوذرات باشد و امکان تولید در مقیاس وسیع و با هزینه کمتر را فراهم کند و مواردی مانند گیاهان، جلبک ها، قارچ ها، مخمر ها، باکتری ها و ویروس ها در بیوسنتز نانوذرات کاربرد دارند (۳،۴). با توجه به پیشرفت صنعت نیاز به تولید ترکیبات نانو برای انواع مصارف تجاری و کاربردی با روش های شیمی سبز و سازگار با محیط زیست رو به افزایش است. خصوصیات قابل توجه نانوذرات نقره نظیر: تاثیر زیاد و سریع، غیر سمی بودن، پایداری زیاد، غیر حساسیت زا بودن، سازگاری با محیط زیست، مقاومت در برابر حرارت و عدم ایجاد یا افزایش مقاومت باکتریایی موجب شده به عنوان یک جایگزین

مناسب برای آنتی بیوتیک ها به شمار روند (۵). سنتز نانوذرات توسط گیاهان، می‌تواند روشی ارزان و زیست سازگار باشد. گیاهان زیادی وجود دارند که قابلیت ساخت نانوذرات و استفاده در چنین صنعت ارزشمند و گران بهایی را دارند، ولی هنوز ناشناخته باقی مانده‌اند (۶). Ahmad و همکارانش در سال ۲۰۱۰ مطالعه ای بر روی سنتز سریع نانو ذرات نقره با استفاده از گیاهان دارویی ریحان انجام دادند. این گروه سنتز نانو نقره از ریشه خشک و ساقه ی گیاه *Ocimum sanctum* را مورد آزمایش قرار دادند. عصاره این گیاه به عنوان کاهنده در سنتز نانو ذرات نقره در دمای اتاق استفاده شد. آنها نشان دادند که بیوسنتز نانوذرات به شکل پایدار و کروی و با اندازه متوسط ۱۰ نانومتر انجام شد و این روشی ساده و سازگار با محیط زیست می‌باشد. همچنین آنها ثابت کردند که در این گیاه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی وجود دارد که نقش مهمی در شکل گیری ذرات نقره ایفا می‌کنند (۷). زیره سیاه یکی از گیاهان بومی کشور ماست که با توجه به این تحقیق، می تواند راهکاری مناسبی برای استفاده موثر از آن و روشی ارزان و زیست سازگار برای تولید نانوذرات نقره باشد.

در این پژوهش پارامتر های موثر در فرایند سنتز شامل غلظت نیترات نقره، pH، درجه حرارت و غلظت های مختلف عصاره آبی میوه زیره سیاه بررسی شد. ارتباط بین پارامتر های مذکور پیچیده است و آنالیز فرایند برای بهینه کردن فاکتورها، علاوه بر پر هزینه بودن کاری بسیار طاقت فرسا و وقت گیر است و چنانچه طراحی آزمایشات به صورت طرح عاملی کامل[1] صورت بگیرد برای بررسی ۴ پارامتر مذکور در ۳ سطح، ۸۱ آزمایش (3^4 آزمایش) باید انجام گیرد. از این رو آنالیز کردن با استفاده از روش های تجربی متداول کاری بسیار کم بازده خواهد بود. با استفاده از نرم افزار مینی تب ۱۶[2]و با روش تاگوچی، طراحی آزمایشات به روش آماری صورت گرفت. روش تاگوچی یک فعالیت اساسی مهندسی کیفیت طراحی و انجام آزمایشات است تا داده‌های لازم جهت انجام تجزیه و تحلیل جمع آوری گردد. تاگوچی[3] یک آزمـایش را به عنوان ایجاد تغییر دریک فرآیند جهت مطالعهء اثرات آن تعریف می‌کند. وی موثرترین شیوهء انجام آزمایشات را شیوهء چندعامل در هر زمان می داند. در این روش می‌توان با انجام کمترین تعداد آزمایش روش بهینه برای تولید نانوذره با بیش ترین خلوص را تعیین کرد (۸). اهدافی که در این مطالعه دنبال می‌شوند عبارتند از بررسی امکان بیوسنتز نانو ذرات نقره توسط عصاره گیاه زیره سیاه در شرایط آزمایشگاهی، بهینه سازی عوامل تاثیر گذار بر سنتز (pH، غلظت عصاره گیاهی، غلظت نیترات نقره و دما) و تعیین مشخصات نانو ذرات سنتز شده از لحاظ شکل و اندازه است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره آبی گیاه زیره سیاه

ابتدا میوه زیره سیاه خریداری شد و به کمک آسیاب به صورت پودر درآمد. برای تهیه عصاره آبی ۲۰ گرم از آن توزین و با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون ارلن مخلوط گردید. مخلوط حاصل در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه جوشانده شد. عصاره حاصل را یک بار با کاغذ واتمن شماره ۱ (۱۲۵میلی متر) و بار دیگر با کاغذ واتمن (۲۵ میلی متر) صاف نموده. سپس این عصاره در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد و برای سنتز نانوذرات نقره، با رقیق سازی استوک اولیه (۲۰درصد وزنی/حجمی) محلول های دیگر (۱، ۳ و ۵ درصد وزنی/حجمی) تهیه شدند.

بهینه سازی سنتز نانوذرات نقره با روش تاگوچی

جهت بهینه سازی پارامتر های دخیل در سنتز نانوذرات نقره از یک روش طراحی آزمایشات استفاده شد. فاکتورها و سطوح انتخاب شده در جدول ۱ آورده شده است. این فاکتورها 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 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.

1- Full factorial
2 - minitab 16
3 - Taguchi

جدول ۱ - متغیرهای مستقل و سطوح تجربی آنها جهت ارزیابی راندمان سنتز نانوذرات نقره به روش تاگوچی.

آزمایش	pH	دما (^oC)	عصاره (٪)	نیترات نقره (mmol)
۱	۵	۴۰	۱	۱
۲	۵	۶۰	۳	۵
۳	۵	۸۰	۵	۱۰
۴	۷	۴۰	۳	۱۰
۵	۷	۶۰	۵	۱
۶	۷	۸۰	۱	۵
۷	۹	۴۰	۵	۵
۸	۹	۶۰	۱	۱۰
۹	۹	۸۰	۳	۱

سنتز نانوذرات نقره به روش سبز

طبق آزمایشات طراحی شده به روش تاگوچی، 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 ۱۵۰ rpm و دمای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. PH محلول نیز توسط محلول HCL و NaOH ۰/۱ نرمال روی PHهای ۵، ۷ و ۹ 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.

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 زیره سیاه و نیترات نقره به حجم یک میلی لیتر رسانده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (SHIMADZU Prestige-21, Japan)، در بازه طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر بررسی شد. مطالعه و بررسی مورفولوژی و ریز ساختار نمونه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM KYKY (EM3200) 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. 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. 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 (Malvern3600 Instruments Ltd., Malvern,UK) در دانشگاه تهران مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج

نتایج طراحی آزمایشات به روش تاگوچی

در این پژوهش سنتز نانوذرات نقره با استفاده از نیترات نقره و عصاره گیاه زیره سیاه به عنوان احیاکننده، به منظور تولید نانوذرات با سایز حداقل، بهینه سازی شد. این فرایند با استفاده از روش

تاگوچی صورت گرفت. پس از انجام آزمایش های طراحی شده توسط روش تاگوچی، 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 زیره سیاه، شرایط آزمایش ۷ می باشد. این آزمایش در pH=9، دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و در حضور غلظت ۵ درصد وزنی/حجمی عصاره گیاه و ۵ میکرومولار از نیترات نقره انجام شد. نتایج حاصل در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲ - نتایج آنالیز میانگین قطر نانوذرات سنتز شده.

آزمایش	pH	دما (°C)	عصاره (٪)	نیترات نقره (µm)	نتایج پارتیکل سایز آنالایزر	
					Intensity (%)	Diam(nm)
۱	۵	۴۰	۱	۱	۱۰۰	۱۳۵
۲	۵	۶۰	۳	۵	۱۰۰	۲۲۰
۳	۵	۸۰	۵	۱۰	۱۰۰	۲۲۰
۴	۷	۴۰	۳	۱۰	۱۰۰	۲۷۴
۵	۷	۶۰	۵	۱	۹۰/۶ ۹/۴	۱۶۸۰ ۲۰۰
۶	۷	۸۰	۱	۵	۱۷/۱ ۸۲/۹	۹۰/۶ ۲۲/۱
۷	۹	۴۰	۵	۵	۱۰۰	۲۱/۳
۸	۹	۶۰	۱	۱۰	۱۰۰ ۶۳/۹	۸۴/۵ ۲۶۲
۹	۹	۸۰	۳	۱	۲۳/۴ ۱۲/۷	۳۱۹۰ ۸۵

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 دوم یعنی ۶۰ درجه سانتی گراد افزایش اندازه نانوذرات مشاهده می شود ولی افزایش دما به ۸۰ درجه سانتیگراد قطر نانوذرات را کاهش می‌دهد. 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 باعث افزایش اندازه نانوذرات می‌شود ولی با رسیدن به سطح سوم اندازه نانوذرات کاهش می-یابد.

بررسی نمودار اثر خالص برای نسبت سیگنال[1]به اختلال[2]

در روش تاگوچی برای بیان قابلیت اثرگذاری هر متغیر می توان از نسبت S/N استفاده کرد که در آن N فاکتور اختلال بوده و بیانی از دشوار بودن کنترل کمیت مورد بررسی است و S فاکتور سیگنال

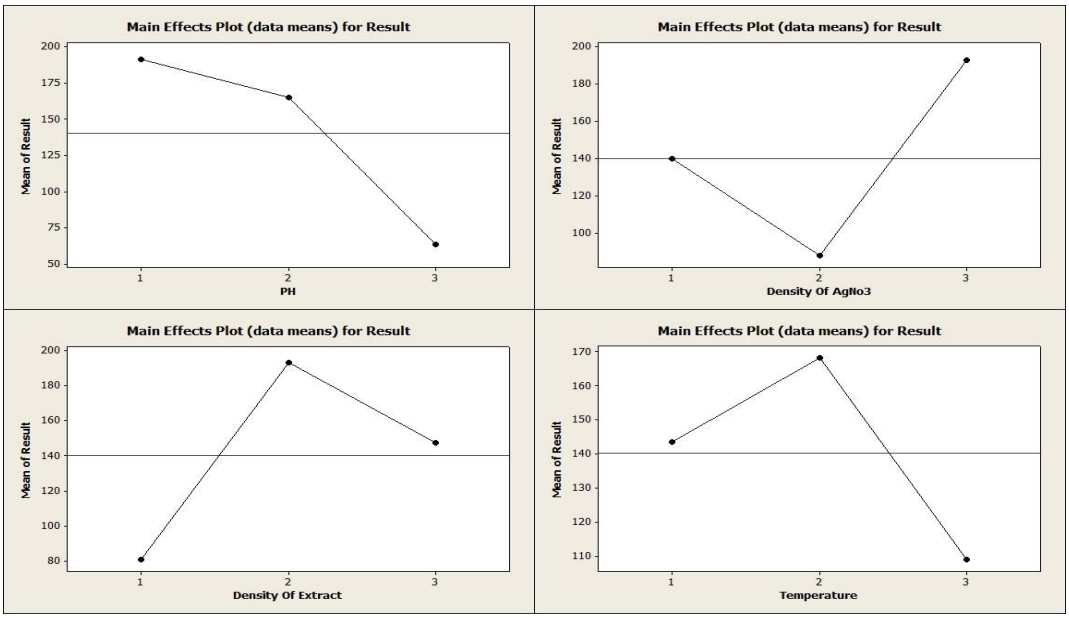
1- Nise factor

2- Signal factor

نام دارد و کنترل ساده متغیر مورد بررسی را نشان می‌دهد (۹). منطق تاگوچی جهت مشخص نمودن شرایط بهینه و تاثیر پارامترهای مختلف بر سایز نانوذرات نقره سنتز شده، به کار گرفته شد. در این بررسی هرچه نسبت S/N پایین‌تر باشد، بهتر است چون نانوذرات کوچک‌تری سنتز می‌شود. شکل ۲ مقدار نسبت S/N را در سنتز نانوذرات نقره به روش سنتز سبز توسط عصاره گیاه زیره سیاه را 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)

$$\frac{S}{N} = -10\log\frac{(\frac{1}{y_1^2}+\frac{1}{y_2^2}+\cdots+\frac{1}{y_n^2})}{n}$$



شکل ۱ - نمودار اثر اصلی 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.

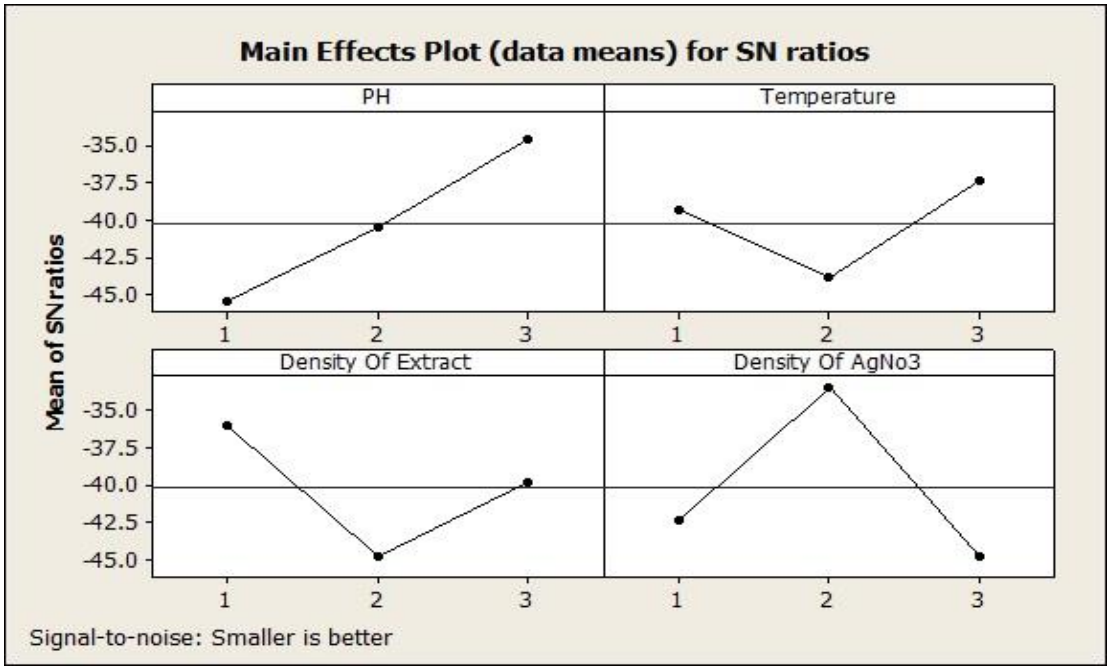
پیش بینی پارامترهای بهینه توسط منطق تاگوچی

در منطق تاگوچی، می توان شرایط بهینه و تاثیر پارامترهای مختلف بر سایز نانوذرات نقره سنتز شده را توسط رابطه (۲) پیش بینی نمود (۹).

در این معادله T/N میانگین سایز نانوذرات به دست آمده از تمام آزمایشات طراحی شده را نشان می دهد. T مجموع نتایج به دست آمده را نشان میدهد و N تعداد کلی آزمایشات انجام شده است. Y مقدار تخمین زده شده سایز نانوذرات در شرایط بهینه می باشد. همچنین C، S و t و T به ترتیب نتایج میانگین در سطوح بهینه غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره گیاه، دما و pH می باشند. طبق محاسبات ما، سایز نانوذرات در شرایط بهینه ۳۵ نانومتر تخمین زده شد.

رابطه (۲)

$$Y = \frac{T}{N} + \left(C - \frac{T}{N}\right) + \left(S - \frac{T}{N}\right) + \left(t - \frac{T}{N}\right) + \left(T - \frac{T}{N}\right)$$



شکل ۲ - مقدار نسبت S/N را در سنتز نانوذرات نقره به روش سنتز سبز توسط عصاره گیاه زیره سیاه نشان می دهد.

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 (شکل۳).

در این معادله T/N میانگین سایز نانوذرات به دست آمده از تمام آزمایشات طراحی شده را نشان می دهد. T مجموع نتایج به دست آمده را نشان میدهد و N تعداد کلی آزمایشات انجام شده است. Y مقدار تخمین زده شده سایز نانوذرات در شرایط بهینه می باشد. همچنین C، S و t و T به ترتیب نتایج میانگین در سطوح بهینه غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره گیاه، دما و pH می باشند. طبق محاسبات ما، سایز نانوذرات در شرایط بهینه ۳۵ نانومتر تخمین زده شد.

شکل ۳ – الف - محلول حاوی عصاره میوه زیره سیاه و نیترات نقره قبل از سنتز نانوذره. ب. محلول حاوی عصاره میوه زیره سیاه و نیترات نقره پس از سنتز نانوذره. ج. شرایط مختلف مورد بررسی در آزمایشات بهینه سازی.

نتایج آنالیز نانوذرات سنتز شده با استفاده از اسپکتروسکپی فرابنفش

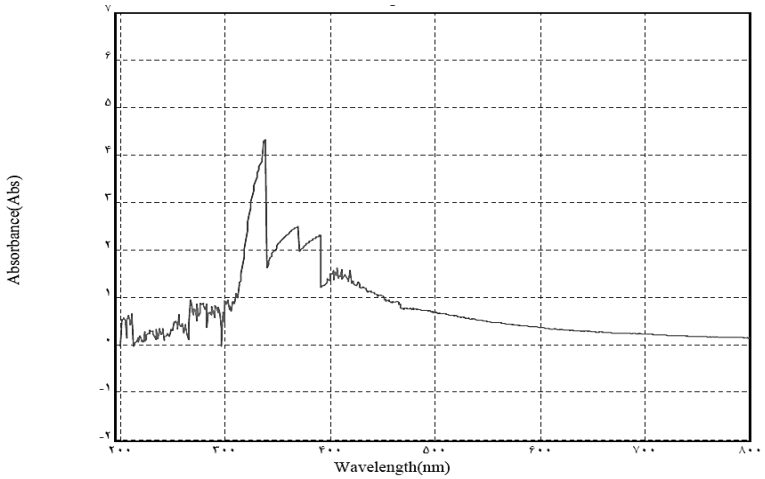
محلول حاوی نانوذرات با استفاده از روش اسپکتروسکپی فرابنفش در دامنه ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر اسکن شد. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود در ۳۴۰ نانومتر پیک شارپی دیده می‌شود نشان دهنده سنتز نانوذرات نقره است.

آنالیز نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

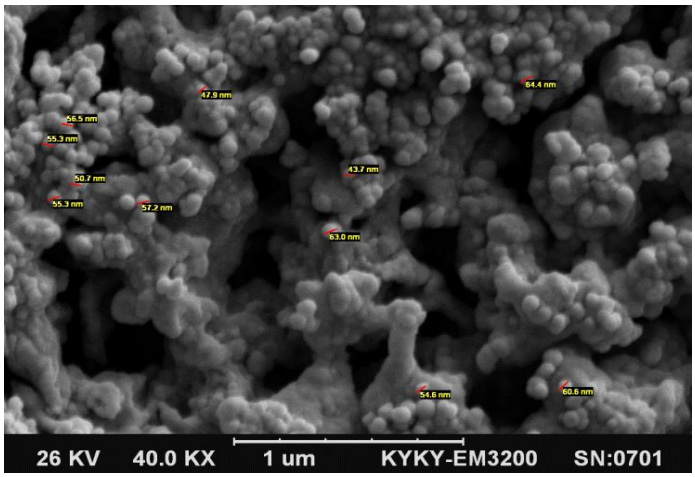
تصاویر حاصل از روش SEM سنتز نانوذرات با شکل کروی با سطحی صاف را تایید کرد (شکل ۵).

اندازه گیری اندازه نانوذرات توسط زتاسایزر

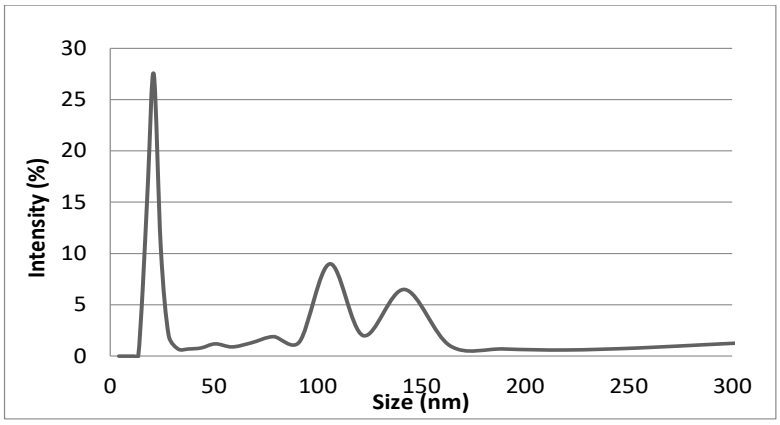
نتایج پارتیکل سایز آنالایزر نشان داد که در شرایط بهینه، نانوذراتی با میانگین اندازه ۲۱/۳ نانومتر تولید شده است (شکل ۶).



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



شکل ۵ - تصویر SEM از نمونه نانوذرات نقره سنتز شده با شکل کروی.



شکل ۶ - نمودار پارتیکل سایز آنالایزر.

بحث و نتیجه‌گیری

در همه‌ی آزمایشات، عصاره فیلتر شده گیاه زیره سیاه در ترکیب با نیترات نقره ($AgNO_3$)، تغییر رنگ از زرد به قهوه‌ای را نشان داد که دلیلی بر شکل گیری نانوذرات نقره می باشد (۶). 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 ازمایش) باید انجام می گرفت. نرم افزار مینی تب ۱۶ و روش تاگوچی، ترکیبی از شیوه های ریاضی و آماری برای استفاده در تحقیقات تجربی است که برای رسیدن به پاسخ (اندازه ذره)، ۸۱ آزمایش مذکور را بر اساس داده های آزمایشگاهی پیش می‌کند (۸،۹). به این ترتیب بهترین نتایج یعنی حداقل اندازه نانوذرات در شرایطی با pH=9، دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۵ درصد عصاره گیاه و ۵ میکرومولار از نیترات نقره به دست آمد. طیف سنجی UV-Vis حداکثر جذب محلول حاوی عصاره گیاه زیره سیاه به همراه نیترات نقره را در ۳۴۰ نانومتر نشان داد. Shanmugavadivu1 و همکارش در سال ۲۰۱۴، در طی تحقیقشان بر روی سنتز نانوذرات نقره توسط عصاره انار، پیک مشابهی را در ۳۷۰ نانومتر مشاهده نمودند (۱۰). تصاویر بدست آمده 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 ۲۱/۳ نانومتر گزارش شد. مورفولوژی نانوذرات سنتز شده یکسان، کروی با سطحی صاف بود. 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 (۱۱). در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان به‌عنوان منابع پایدار و در دسترس در تهیه نانوذرات نقره زیست‌سازگار و بررسی اثر ضدمیکروبی آن، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است (۱۲-۱۴). با توجه به اینکه برخی از گیاهان دارویی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، بنابراین می توانند به عنوان یک عامل کاهنده با منبع بیولوژیکی استفاده شوند (۵). گیاه زیره سیاه دارای اثرات ضد آنتی اکسیدان و پلی فنول است. ترکیبات اسانس زیره سیاه شامل γ-terpinene، cuminaldehyde، ρ-cymene و γ-terpinen-7-al است (۱۵). این ترکیبات فیتوشیمیایی در گیاه باعث احیا موثر نمک نقره به نانوذرات نقره می شود. ترکیبات فنولی دارای گروه های هیدروکسیل و کربوکسیل هستند که قادر به اتصال فلزات می باشند (۱۶). بنابراین، به نظر می رسد روش سنتز نانوذره نقره توسط زیره سیاه از مزایای بسیاری برخوردار است.

با افزایش آگاهی نسبت به شیمی سبز و فرآیندهای زیستی، استفاده از روش های سازگار با محیط زیست در تهیه نانو مواد زیستی ضروری به نظر می رسد. اگرچه، روش های گوناگون 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 سنتز نانوذرات با کنترل اندازه و شکل در روش های ارائه شده از اهمیت بیشتری برخوردار است. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، عصاره گیاه زیره سیاه 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.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوامی‌باشد

منابع مورد استفاده

1. Prabhu, S., Poulose, E.K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. International Nano Letters 2 (1): 110.
2. Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 59 (4): 587–590.
3. Gordon, O., Slenters, T. V., Brunetto, P. S., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., Otto, M., Landmann, R., Fromm, K. M., 2010. Silver coordination polymers for prevention of implant infection: thiol interaction, impact on respiratory chain enzymes, and hydroxyl radical induction. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 54 (10): 4208–4218.
4. Veerasamy, R., Zi Xin, T., Gunasagaran, S., Foo Wei Xiang, T., Fang Chou Yang, E., Jeyakumar, N., Dhanaraj, S.A., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. Journal of Saudi Chemical Society 15: 113-20.
5. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B., Ikram, S. A., 2016. Review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. Journal of Advanced Research 7(1): 17-28.
6. Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P. T., Mohan, N., 2010. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 76: 50-6.
7. Ahmad, N., Sharma, S. K., Alam, M. D., Singh, V. N., Shamsi, S. F., Mehta, B. R., Fatma, A., 2010. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 81: 81-6.
8. Ross, P. J., Taguchi, G., 1988. Techniques for Quality Engineering. McGraw-Hill, New York.
9. Ross, P. J., 1996. Taguchi techniques for quality engineering. 2nd ed. McGraw-Hill, Singapore.
10. Shanmugavadivul, M., Kuppusamy, S., Ranjithkumar, R., 2014. Synthesis of pomegranate peel extract mediated silver nanoparticles and its antibacterial activity. Ajadd 2 (2): 174–182.
11. 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.
12. Ibrahim, H. M., 2015. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. Journal of Radiation Research and Applied Sciences 8(3): 265-75.
13. Mariselvam, A. J. A., Ranjitsingh, A., Usha Raja Nanthini, K., Kalirajan, C., Padmalatha, M. P., 2014. Green synthesis of silver nanoparticles from the extract of the inflorescence of *Cocos nucifera* (Family: Arecaceae) for enhanced antibacterial activity. Spectrochim Part A: Mol Biomol Spectrosc 129: 537–541.
14. Mohasseli, L., Pourseyedi, S., Zolala J., 2013. Antibacterial activity of silver nanoparticles produced in the plant *Sesamum indicum* seed extract by the green method against bacteria *staphylococcus epidermidis* and *salmonella typhi*. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 6 (5): 587-591.
15. Rustaie, A., Keshvari, R., Samadi, N., Khalighi-Sigaroodi, F., Reza, M., Ardekani, S., Khanavi, M., 2016. Essential oil composition and antimicrobial activity of the oil and extracts of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.: Wild and Cultivated Fruits. PHARM 22 (4): 296-301.
16. Nazeruddin, G. M., Prasad, N. R., Prasad, S. R., Shaikh, Y. I., Waghmare, S. R., Adhyapak, P., 2014. *Coriandrum sativum* seed extract assisted in situ green synthesis of silver nanoparticle and its antimicrobial activity. Industrial Crops and Products 60: 212- 216.