تولید زیستی نانوپودر نقره و ارزیابی کاربردهای آن در تولید فراورده های بهداشتی

سعید جعفری راد[۱] *، لاله خدایی[۲]، جلال محمدی[۳]، رزاق محمودی[۴]، آیدا پارسا آذر[۵]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۱۱/۱۰، ش.ص ۶۹-۸۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۰۳)

چکیده

به دلیل کاربردهای بیولوژیکی و دارویی مختلف شناسایی شده برای نانوذرات نقره، سنتز نانوذرات نقره در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. روش فیتوسنتز، روشی با صرفه، دقیق و بی‌خطر برای محیط زیست است. در روش‌های شیمیایی همواره این احتمال وجود دارد که مقادیر جزیی از مواد حلال بر روی نانوذرات نقره باقی بماند. در این کار پژوهشی همه واکنش‌گرهای شیمیایی از گرید تجزیه‌ای هستند و بدون خالص سازی اضافی به‌کار گرفته شده‌اند. یک مسیر فیتوسنتزی با روش حرارتی کلاسیک با استفاده از گیاه نسترن وحشی برای تولید نانوذرات نقره استفاده شد. جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مورد استفاده از آزمون ۲،۲-دی فنیل- پیکریل هیدرازین (DPPH) استفاده گردید. برای بررسی اندازه، ریخت‌شناسی و ترکیبات شیمیایی پایدارکننده‌ی نانوذرات نقره، رسوب به‌دست آمده توسط فن‌های طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه(FTIR)، طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس(XRD)، طیف‌سنج انرژی انتشاری اشعه ایکس (EDX)، پراکندگی دینامیک نور(DLS) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد آنالیز قرار گرفت. نانوذرات نقره برای بررسی خلوص فازها، میزان بلورینگی و میانگین اندازه بلور ذرات به‌وسیله XRD شناسایی شدند. آنالیز عنصری نمونه‌های سنتز شده برای به‌دست آوردن اطلاعات ساختاری به‌وسیله روش SEM-EDX آنالیز شدند. با استفاده از طیف FT-IR می توان گفت گروه OH مسئول احیای و پوشاندن یون نقره می‌باشد که در نتیجه این کاهش، گروه کربونیل تقویت شده است. نتایج آنالیز SEM اندازه ذرات را بین ۴۰-۳۰ نانومتر نشان می‌دهد. خاصیت آنتی باکتریایی ذرات سنتز شده در برابر چهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژن، اشرشیا کولی و سالمونلا تیفیموریوم بررسی شد. نهایتا کرمی از عصاره نسترن وحشی و نانوذرات نقره سنتزشده از آن به روش سبز تهیه گردید. نتایج گویای آن است که تولید نانوذرات نقره به روش بیوسنتز گیاهی می‌تواند به عنوان روش دوست‌دار محیط زیست و ارزان برای تولید محصولات آرایشی-بهداشتی طبیعی مانند کرم به کار رود.

واژه‌های کلیدی: میوه نسترن وحشی، نانوذرات نقره، نانوکرم.

۱استادیار، مرکز تحقیقات علوم پایه، دانشگاه تبریز
۲ استادیار گروه داروسازی سنتی، دانشکده طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۳ دانشجوی دکترا، گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز
۴ دانشیار گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین
۵ دانشجو کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم پایه، دانشگاه تبریز
*-نویسنده مسئول : jafarirad@tabrizu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

پیشگفتار

با توجه به اینکه روش های سنتزی شیمیایی نانوذرات مشکل بوده و مقادیر بسیار زیادی حلال آلی سمی برای این کار مورد نیاز است و استفاده از نانوذرات تولید شده برای اهداف پزشکی به دلیل آلوده شدن در محیط حلال‌های آلی میسر نمی‌باشند[۱]؛ لذا استفاده از روش فیتوسنتز برای تولید نانوذرات به علت عدم سمیت نانو ذرات وکم هزینه بودن این روش و عدم آلودگی محیط زیست مناسب می‌باشد. علاوه بر آن، همه روش‌های سنتز شیمیایی گزارش شده سرعت‌های بسیار کندی دارند و معمولا چندین ساعت زمان برای کامل شدن واکنش به طول می‌انجامد[۲]. از طرف دیگر در صورت موفقیت در بیوسنتز کنترل شده نانو ذرات، این روش می‌تواند جایگزین مناسبی به جای روش‌های معمول سنتز شیمیایی شود؛ زیرا این فناوری جدید ساده، ارزان، سریع و سازگار با محیط زیست است. برای اولین بار عصاره گیاه شمعدانی (عصاره برگ، ساقه و ریشه) برای تولید خارج سلولی نانو ذرات طلا استفاده شد. شانکار و همکاران کاهش زیستی یون‌های طلا به نانوذرات طلا را با استفاده از عصاره برگ گل شمعدانی گزارش کردند[۳]. همچنین آن‌ها توانستند نانوذرات مثلثی و کروی طلا را با استفاده از عصاره لیمو تهیه کنند[۴]. نانوذرات نقره به دلیل کاربردشان در زیست‌فناوری مورد توجه قرار دارند. به عنوان مثال اخیرا گروهی از محققان یونانی و اسپانیایی توانسته‌اند با بهره‌گیری از عصاره برگ بوته توت‌فرنگی، نانوذرات نقره را سنتز نمایند. این محققان توانسته‌اند با استفاده از برگ توت‌فرنگی و نیترات نقره، نانوذرات نقره تولید کنند[۸-۱]. بنابراین بیوسنتز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهی روش ایده آلی به نظر می‌رسد.

گیاهان و جلبک‌های زیادی وجود دارند که می‌توانند در تولید زیستی این نانوذرات با ارزش به کار روند. در تحقیق حاضر با توجه به گستردگی رویشی گیاه نسترن کوهی در ایران، برای اولین بار، میوه نسترن کوهی که غنی از متابولیت‌های ثانویه به ویژه آسکوربیک اسید می‌باشد، به عنوان ماده احیاکننده و پوشاننده کاتیون نقره انتخاب شد.

اخیرا گزارش‌های متعددی در مورد ثبت اختراع و تولید انواع فراورده‌های حاوی نانوذرات مانند کرم‌های ضدآفتاب و ضدچروک در منابع علمی مشاهده می‌گردد [۹]. این نوع کرم‌ها، در حقیقت نوعی ماسک نانویی در برابر پرتو ماورابنفش خورشید هستند که از چروک‌های ناشی از آفتاب جلوگیری می‌کنند و در ضمن هیچ آثاری از رنگ سفید ناشی از حضور ماده ضد پرتو ماورابنفش به دلیل ماهیت نانوذره بودن از خود بر جای نمی‌گذارند.

در این راستا گروه ما اخیرا اقدام به تولید کرم حاوی نانوذرات نقره بر روی پوست کرده است. نتایج نشان می‌دهد که می‌توان از نانوذرات نقره سنتز شده به عنوان عوامل ضد باکتریایی برای کاربردهای درماتولوژی استفاده کرد[۸].

مواد و روش ها

مواد

نیترات نقره، گونه گیاهی نسترن وحشی، آب دیونیزه، متانول، ۱و۱ دی فنیل پیکریل هیدرازین

دستگاه‌های موردنیاز

دستگاه FT-IR مدل TENSOR27 ساخت شرکت Brucker آلمان با واحد اندازه‌گیری cm^{-1} و محدوده طیفی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} و دقت اندازه‌گیری ۰/۱ cm^{-1} مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه پراش اشعه ایکس مدل D500 ساخت شرکت زیمنس آلمان، با منبع تابش Cu-Ka در طول‌موج ۱/۵۴ آنگستروم و ولتاژ ۴۰ کیلوولت در گستره زاویه پراش ۱۰-۸۰ درجه و در دمای محیط استفاده گردیده است. دستگاه DLS مدل Nanotrac Wave شرکت Microtrac مجهز به لیزر ۷۸۰ نانومتر برای تعیین اندازه، پایداری نانو ذرات و همچنین پراکندگی نانو ذرات از نظر اندازه آن‌ها استفاده‌شده است. دستگاه SEM دانشگاه تبریز با مارک MIRA3 FEG-SEM ساخت شرکت Tescan کشور چک مورد استفاده قرار گرفت. قدرت تفکیک این دستگاه تا ۱ نانومتر بوده و قدرت بزرگنمایی آن تا ۱ میلیون برابر با اعمال ولتاژ ۳۰ کیلو ولت می‌باشد. نمونه‌ها به وسیله چسب آلومینیومی تثبیت شده و در زیر میکرسکوپ قرار

Archive of SID

www.SID.ir

می‌گیرند، آون مدل ۳۴۹۱ ساخت شرکت بهداد با قابلیت تنظیم دما به دو قالب، درجه سانتیگراد و درجه فارنهایت برای خشک‌کردن نمونه‌های سنتز شده و همچنین در جریان عصاره‌گیری استفاده شده است. حمام امواج فراصوت VGT 1740 QTD ساخت کشور کره با قابلیت تنظیم دما، به‌منظور عصاره‌گیری و پراکنده کردن ذرات سنتز شده، برای انجام اندازه‌گیری اندازه ذره و انجام تست میکروبی مورد استفاده قرار گرفته است. ماکروویو، اوربیتال شیکر مدل OS4LD ساخت شرکت فن‌آوران سهند آذر با قابلیت هم زدن محلول‌ها، به مدت طولانی و با دورهای مختلف می‌باشد، روتاری مدل RV 10 ساخت شرکت IKA آلمان با قابلیت ایجاد خلأ و تنظیم دماهای مختلف برای نمونه‌های متفاوت، برای تغلیظ عصاره متانولی استفاده‌شده است.

واکنش فیتوسنتز به روش رفلاکس

برای تهیه عصاره، گیاه ذکر شده از از باغات شهرستان آذرشهر واقع در آذربایجان شرقی جمع آوری شده و در یک مکان تاریک در مدت ۳ هفته کاملا خشک گردید و سپس توسط هم زن برقی پودر گردید و برای عصاره گیری آمده شد. عصاره گیاه نسترن وحشی به روش خیساندن با حلال آب تهیه گردید. برای انجام واکنش مقادیر مشخصی از عصاره با نمک نقره در غلظت ۲ میلی مولار ترکیب شد. واکنش بر روی یک هیتر استیرر در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد در مدت زمان ۴۵ دقیقه انجام شد. طی این فرآیند عصاره گیاهی به عنوان واکنش‌گر کاهش و نیز پوشاننده کاتیون‌های نقره ایفای نقش می‌کند. محصول به‌دست‌آمده به‌طور کامل خشک شده و برای تخلیص چندین مرتبه با حلال‌های آلی هگزان نرمال، دی کلرومتان و اتیل استات شستشو داده شد.

روش مورد استفاده در آزمون‌های میکروبی

به‌منظور بررسی خاصیت آنتی میکروبی نانوذرات نقره، آزمایش تعیین حساسیت آنتی میکروبی انتخاب گردید که روش انتخابی ما روش انتشار در پلیت بوده است که در این روش، هاله ممانعت رشد به طریق انتشار خارجی آنتی‌بیوتیکی از یک منبع مثل چال هائی که در لایه آگار ایجاد کردیم به یک سطحی از محیط آگار در پلیت‌ها وارد می‌گردد. اندازه هاله منطقه ممانعت رشد اطراف هر چاله نشان‌دهنده فعالیت آنتی میکروبی است که این روش معمول‌ترین شکل ارزیابی مواد ضدمیکروبی است و به نام آزمون کربی–بایر معروف است. اساس این روش، انتقال ماده آنتی باکتریال به درون دیسک است. دراین روش ابتدا دیسک‌های استریل را در محلول عصاره انداخته و بعد از خیس خوردن، از آن‌ها استفاده می‌شود. ابتدا، بر روی محیط مولر هینتون آگار چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی متر ایجاد و پس از کشت باکتری از سوسپانسیون مک فارلند توسط سواپ استریل در هر چاهک حدود ۹۰ میکرولیتر از رقت‌های نانوذرات نقره تلقیح شد. در نهایت پتری دیش‌های تلقیح شده در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک‌ها با کولیس اندازه‌گیری می‌شود[۱۰]. در این آزمایش چهارنوع باکتری شایع لیستریامونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکولی و سالمونلاتیفیموریوم بررسی شد.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

برای تهیه محلول، ۸ میلی‌گرم ۲،۲-دی فنیل-پیکریل هیدرازین (DPPH) به دقت توزین شده و با استفاده از متانول مطلق به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. عمل احیا شدن در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر، در دمای اتاق و پس از گذشت ۵ دقیقه از شروع واکنش صورت می‌گیرد[۱۳-۱۱] (جدول ۱).

جذب نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت ، بعد از ۳۰ دقیقه در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. نمونه‌های با غلظت بیش‌تر عصاره متانولی جذب کم‌تری در ناحیه ۵۱۷ نانومتر از خود نشان می‌دهند؛ زیرا با آنتی‌اکسیدان‌های موجود درDPPH به دلیل بالاتر بودن ماده مؤثر گیاه در غلظت‌های عصاره برهمکنش داشته و به‌صورت رادیکال آزاد باقی نخواهد بود. میزان I٪ با استفاده از معادله ۱محاسبه می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱- آماده‌سازی غلظت نهایی نمونه‌ها برای سنجش DPPH

	غلظت نمونه (mg/ml)	جذب در ۵۱۷ نانومتر	%RC
۱	۱/۰۰۰	۰/۰۱۰	۹۸/۵
۲	۰/۵۰۰	۰/۰۲۰	۹۷/۰
۳	۰/۲۵۰	۰/۰۸۵	۸۷/۴
۴	۰/۱۲۵	۰/۱۴۸	۷۸/۱
۵	۰/۰۶۲	۰/۲۴۴	۶۳/۹
۶	۰/۰۳۱	۰/۳۱۰	۵۴/۱
۷	۰/۰۱۵	۰/۳۷۳	۴۴/۸
۸	بلانک	۰/۶۷۶	-

در معادله، I٪ بیانگر غلظت ۵۰ درصد برای احیای DPPH یا جلوگیری از رشد رادیکال‌های آزاد است و A_{Blank} جذب محلول DPPH است.

$$I\%=[(A_{blank}-A_{sample})/A_{blank}]100 \qquad (1)$$

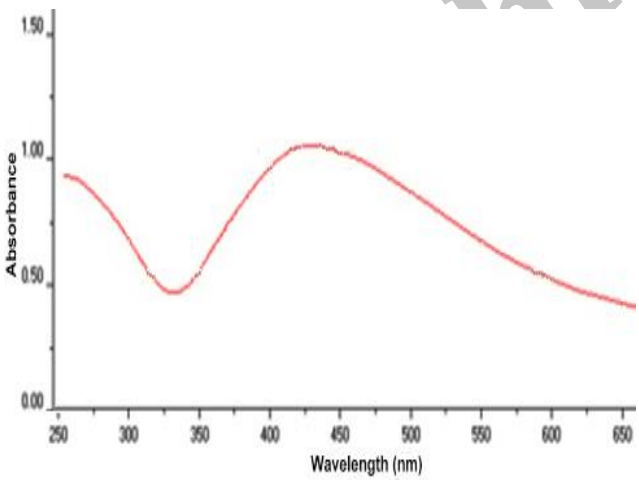
ساخت کرم پایه چربی دوست حاوی نانو ذرات

برای ساخت کرم از پایه کرم چربی دوست اهدایی کارخانه آذر زیبافر استفاده شد. مراحل ساخت و آمیزه کاری کرم مطابق با روش مرسوم شامل حرارت دهی، امولسیون سازی ونهایتا خنک سازی اجرا شد. به طور خلاصه روند ساخت کرم در این کار پژوهشی به این قرار بود: از آنجایی که امولسیون‌های روغن در آب متداول‌ترین پایه قابل شستشو با آب در تهیه کرم‌ها هستند؛ لذا از آن‌ها برای تهیه کرم استفاده شده است. به این ترتیب، می‌توان به عنوان الگویی برای انتخاب پایه مناسب، مواد به کار رفته در فرمولاسیون عمومی کرم شامل موم زنبور عسل (۱۰٪) ، پارافین مایع (۸۵٪)، ستیل الکل(شکل ۱٪) و لانولین (۴٪) را برشمرد. در فاز آبی عصاره، محلول نانو ذره نقره و در فاز روغنی موم زنبور عسل، پارافین مایع، لانولین و ستیل الکل قرار دارد. pH پایه کرم در حوالی ۶/۵ و دما در ۷۰ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. پس از رسیدن به دمای مذکور، عصاره آبی نیز به دمای ۴۵ رسانده شد. سپس فاز آبی به فاز روغنی افزوده شد و به شدت عمل همزدن تا رسیدن به دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی گراد ادامه یافت. به این ترتیب با ایجاد تغییراتی در فرمول پایه، فرمولاسیون نانوکرم تهیه گردید.

نتایج و بحث

طیف سنجی اسپکتروفتومتری UV-VIS

طیف سنجی UV-VIS یک تکنیک قابل توجه برای تایید شکل گیری نانوذرات نقره در محلول آبی می‌باشد. در این طیف قله‌ای موجود در ناحیه ۴۳۴ نانومتر با جذب بالا دیده می‌شود که خاص نانوذرات نقره می‌باشد. همچنین رنگ قهوه‌ای تیره بسته به شدت رنگ و اندازه نانوذرات نقره در محیط به وجود آمده است (شکل ۱) [۱۴-۱۷].



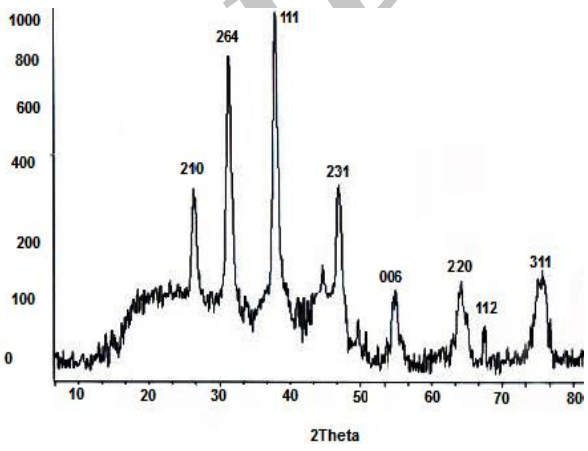
شکل ۱- طیف جذبی UV-Vis نانوذرات نقره سنتز شده

ارزیابی پراش اشعه ایکس

Archive of SID

www.SID.ir

پراش اشعه ایکس برای تعیین ساختار اتمی، تعیین بلورینگی، اندازه حوزه کریستالی نانوذرات نقره استفاده می‌شود که برای بررسی تشکیل شدن و نوع فاز جامدات پودری، روشی مطمئن و قابل اعتماد است. با توجه به شکل ۲ پیک هائی در زوایای 2θ برابر با $27/88^o$، $32/29^o$، $38/13^o$، $46/30^o$، $56/41^o$، $64/46^o$، $67/59^o$ و $76/93^o$ به ترتیب مربوط به صفحات بلوری ۲۱۰، ۲۶۴، ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۳۱، ۲۲۰، ۱۱۲ و ۳۱۱ است که با فاز نقره فلزی مطابقت داشته و نشان دهنده تولید نانوذرات نقره با ساختار مکعبی با وجوه پر است[۲] [۱۸]. الگوی XRD به وضوح نشان می دهد که نانوذرات سنتز شده به روش سبز به صورت کریستال وجود دارند.



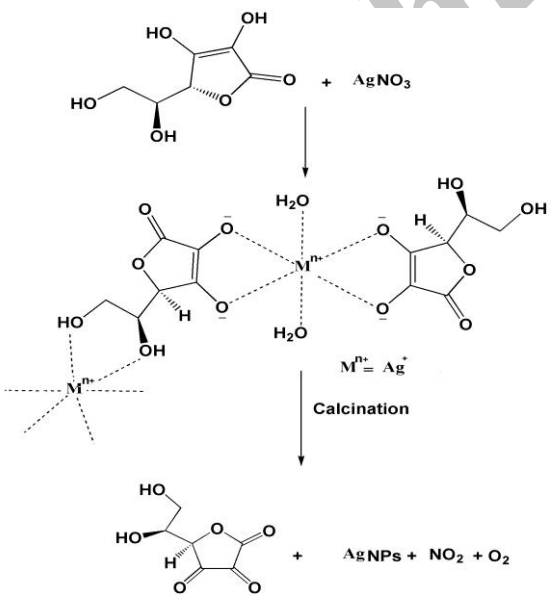
شکل ۲- پراش اشعه ایکس نانوذرات نقره سنتز شده

مکانیسم پیشنهادی برای سنتز نانوذرات نقره با استفاده از الگوی FTIR

همان‌گونه که ذکر شد، فیتوسنتز نانو ذرات نقره در ابتدا با آماده‌سازی عصاره گیاه آغاز گردید که در این مرحله عصاره گوشت میوه گیاه نسترن وحشی تهیه می‌شود. در مرحله بعد کاهش کاتیون نقره با استفاده از روش سبز (کاهنده‌های طبیعی موجود در عصاره) انجام گرفت. واکنش با افزایش نیترات نقره بی رنگ به عصاره زرد کم رنگ شروع می‌شود. با سپری شدن زمان واکنش رنگ محلول تیره‌تر شده و به قرمز پر رنگ تبدیل می‌گردد. در مورد مکانیسم احتمالی تشکیل نانو ذرات نقره با استفاده از عوامل کاهنده گیاهی باید به این نکته اشاره شود که عصاره گوشت میوه نسترن وحشی به دلیل محتوای بالای متابولیت‌های ثانویه در این عصاره گیاهی پتانسیل بالایی دارد. لازم به ذکر است که بر اساس گزارشات موجود، آسکوربیک اسید در بین سایر متابولیت‌های میوه نسترن وحشی، از نظر کمی مقادیر بیش‌تری را به خود اختصاص داده است.

از سوی دیگر اندازه‌گیری پتانسیل تعادلی عصاره نسترن وحشی مقدار ۰/۱۵۳ ولت نسبت به الکترود شاهد کالومل نشان می‌دهد. درحالی که پتانسیل اکسایشی کاتیون نقره برای گرفتن تک الکترون برابر ۰/۸۰ ولت می‌باشد؛ بنابراین از نظر ترمودینامیکی انجام واکنش اکسایش/کاهش امکانپذیر است. لازم به ذکر است که آسکوربیک اسید موجود در عصاره یکی از مواد دارای ظرفیت الکترون‌دهندگی بالا بوده و می‌تواند به وسیله تشکیل کمپلکس با کاتیون نقره، امکان اجرای فرایند اکسایش/کاهش در مرحله بعد را فراهم آورد. بنابراین الکترون‌های آزاد شده از آسکوربیک اسید به احتمال قوی باعث کاهش کاتیون‌های نقره می‌شود[۲۰ و ۱۹].

نتایج الگوی FTIR عصاره آبی میوه نسترن وحشی در مقایسه با نانوذرات نقره سنتز شده موید این مطلب است. در شکل ۳ و ۴ این موضوع نشان داده شده است.

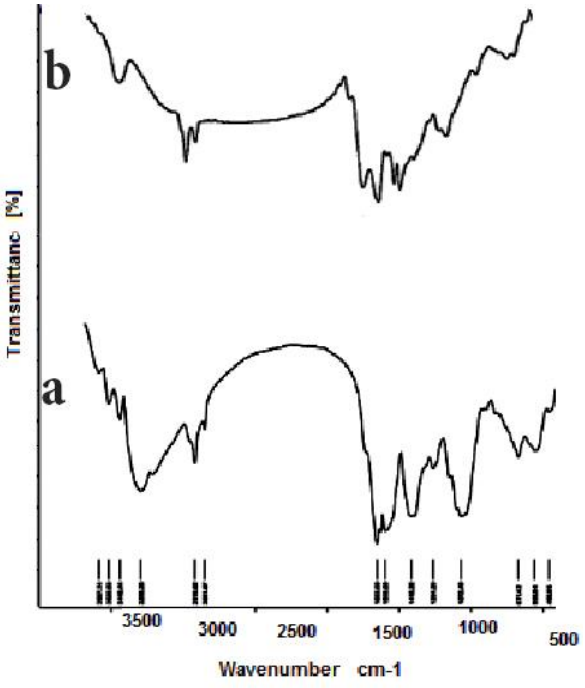


شکل ۳- مکانیسم پیشنهادی فرایند کاهش کاتیون نقره به وسیله عصاره گیاهی و تهیه نانوذرات نقره[۲۰]

[2] -Faces center cubic

www.SID.ir

همچنین تجزیه و تحلیل گروه‌های عاملی با استفاده از آنالیز FTIR به منظور شناسایی گروه‌های عاملی در عصاره نسترن وحشی انجام شد (شکل ۴). باندهایی در نواحی ۱۰۲۵تا $1200cm^{-1}$ مربوط به باند کششی C-O است، باندهای موجود در ۱۴۴۵ و $1438\ cm^{-1}$ مربوط به باند کششی C-N ناشی از حضور آلکالوییدهای گیاهی، باند $1635\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی C=C، باند $1741\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی C=O، باند نواحی ۲۸۹۰ و $2920\ cm^{-1}$ مربوط به کشش نامتقارن پیوندی C-H است. پیک موجود در $3449\ cm^{-1}$ ارتعاشات کششی O-H را نشان می‌دهند که به دلیل وجود گروه هیدروکسیل آسکوربیک اسید در عصاره مشاهده می‌شود. در آنالیز FTIR نانوذرات نقره سنتز شده تقریبا همان الگوی مربوط به آنالیز عصاره مشاهده می‌شود، با این تفاوت که پیک مربوط به ارتعاشات کششی O-H تا حدود زیادی ضعیف‌تر شده که این موضوع حاکی را می‌توان به اکسیده شدن گروه هیدروکسیل موجود در آسکوربیک اسید به وسیله کاتیون نقره موجود در محیط نسبت داد.

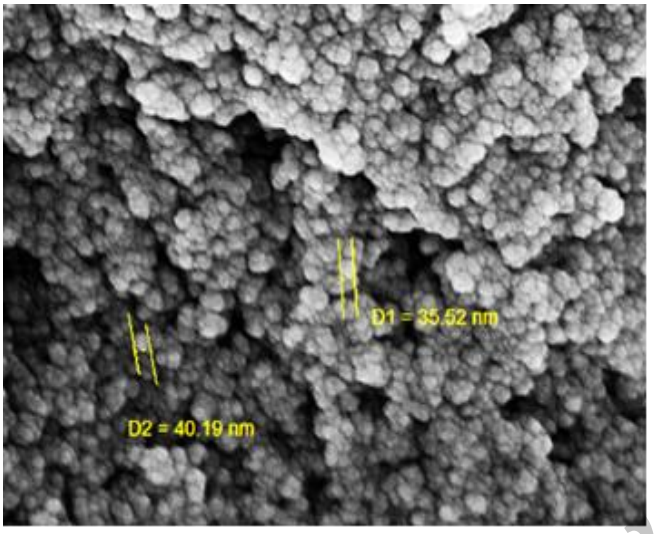


شکل ۴– a) الگوی FTIR عصاره آبی میوه نسترن وحشی، b) نانوذرات نقره سنتز شده

بررسی اندازه ذرات اکسید

آنالیز SEM

تصویر SEM نانوذرات نقره سنتز شده در شکل ۵ نشان داده شده است. از این تکنیک برای تعیین اندازه و ریخت شناسی ذرات استفاده می‌شود. با توجه به تصویر، قطر نانوذرات سنتز شده بین ۳۰ تا ۴۰ نانومتر قرار دارد که در محدوده مقیاس نانو می‌باشد.



شکل ۵- تصویر SEM نانوذرات نقره سنتز شده

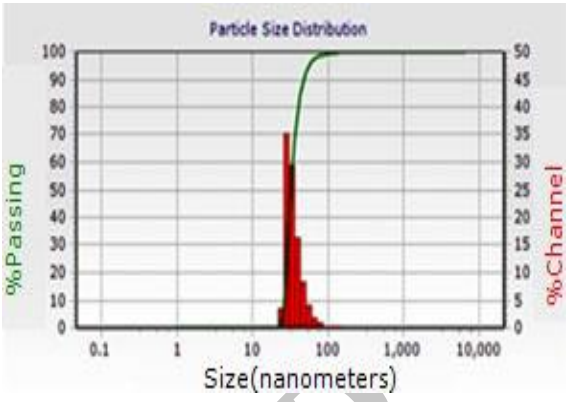
آنالیز DLS

طیف پراکندگی دینامیکی نور نشان‌دهنده توزیع اندازه ذرات می‌باشد. برای اندازه‌گیری اندازه نانو ذرات در محیط مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد[۲۱ و ۲۰]. این روش برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا میکرون به کار می‌رود که در شکل ۶ نشان داده شده است. در این تصویر با توجه به نمودار پراکندگی اندازه ذرات، محدوده اندازه تمام ذرات بین ۳۵ تا ۵۰ نانومتر است که ۹۲/۳۲ درصد از این نانوذرات زیر ۱۰۰ نانومتر و ۳۵ درصد از نانوذرات زیر۵۰ نانومتر هستند. قطر به‌دست‌آمده با این روش، مربوط به کره‌ای با ضریب انتقالی معادل ذره‌ی مورد اندازه‌گیری است. ضریب نفوذ انتقالی به‌اندازه‌ی ذره، ساختار سطحی، غلظت و نوع یون‌های موجود در محیط بستگی دارد. این بدین معناست که اندازه‌ی به‌دست‌آمده با این روش می‌تواند

Archive of SID

www.SID.ir

بزرگ‌تر از مقدار حاصل از روش میکروسکوپ الکترونی باشد.



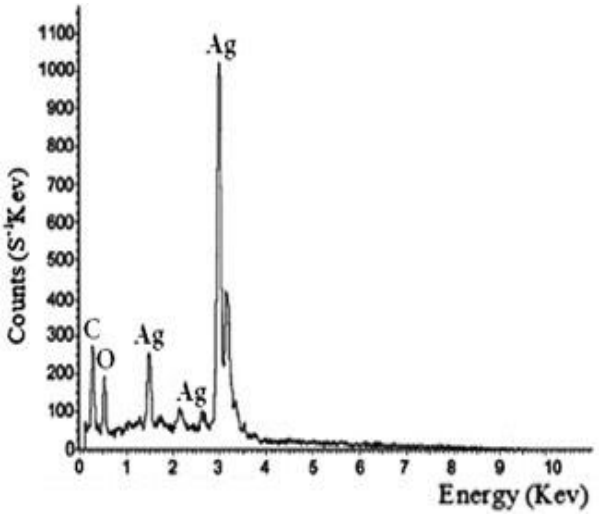
شکل ۶- نمودار DLS نانوذرات نقره سنتز شده

بررسی کمی ساختار نانو ذرات نقره به وسیله طیف سنج انرژی انتشاری اشعه ایکس

طیف سنج انرژی انتشاری اشعه ایکس یا EDX حضور سیگنال مربوط به عنصر مورد نظر را تأیید می‌کند. محور عمودی تعداد شمارش اشعه ایکس و محور افقی انرژی در مقیاس KeV را نشان می‌دهد. شکل۷ حضور نقره را در ترکیب سنتز شده نشان می‌دهد که تایید کننده سنتز نانوذرات نقره می‌باشد و حداکثر جذب آن در حدود KeV ۳ است. همچنین تجزیه و تحلیل عناصر نشان می دهد که بیش‌ترین عنصر پس از نقره، اکسیژن و کربن است که این عناصر احتمالا از بیومولکول‌های بافت گیاهی در عصاره آبی نسترن وحشی در لابلای نانوذرات باقیمانده است.

بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره سنتز شده

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که نانو ذرات سنتز شده با استفاده از عصاره آبی در برابر سالمونلا تیفیموریوم (Salmonella Typhimurium) بیش‌ترین فعالیت آنتی باکتریایی را دارند. کم‌ترین فعالیت آنتی-باکتریایی نانو ذرات در **برابر** لیستریا مونوسیتوژن (Listeria moncytogenes) مشاهده شده است.



شکل ۷- آنالیز عنصری EDX نانو ذرات

در آزمایش انجام‌شده با کاهش غلظت، خاصیت آنتی-باکتریایی کاهش پیداکرده است که تأثیر نانو ذرات سنتز شده در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا را نشان می‌دهد و به نظر می‌رسد که پودر نانو ذرات نقره حاصل از این پژوهش، دارای فعالیت آنتی‌باکتریایی نسبتاً خوبی در برابر باکتری‌های غذایی بیماری‌زا هستند. در بعضی از گزارش‌های علمی احتمال می‌دهند که علت فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات نقره مربوط به یون‌های مثبت نقره باشد که به شدت رشد باکتری را از طریق سرکوب آنزیم‌های تنفسی سرکوب می‌کنند [۱۸]. در گزارش‌های دیگری که نانو ذرات اکسید مس با استفاده از عصاره آبی شاه‌تره به صورت زیستی سنتز شده‌اند، نتایج نشان می‌دهد که این نانو ذرات در برابر استافیلوکوکوس اورئوس بیش‌ترین فعالیت آنتی باکتریایی را نشان می‌دهند[۲۰]. همچنین، کم‌ترین فعالیت آنتی باکتریایی نانو ذرات اکسید روی سنتز شده با استفاده از عصاره میوه گیاه نسترن وحشی در برابر لیستریا مونوسیتوژن مشاهده شده است[۲۱]. در این آزمایش با کاهش غلظت، خاصیت آنتی باکتریایی کاهش پیداکرده است که تأثیر نانو ذرات سنتز شده در مهار رشد باکتری های بیماری زا را نشان می‌دهد[۲۱].

Archive of SID

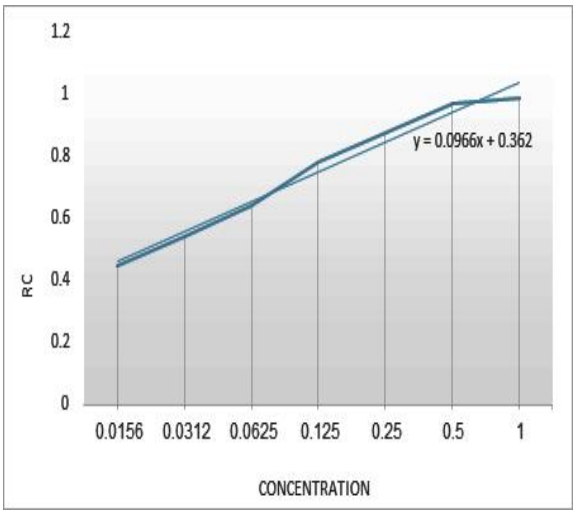
www.SID.ir

جدول ۲- نتایج آزمون آنتی باکتریایی که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری توسط نانوذرات نقره

	باکتری	قطر هاله بر حسب (mm) برای چهار غلظت (mg/ml)			
		۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵
۱	Salmonella Typhimurium	۷	۵/۵	۴/۵	۳
۲	Listeria moncytogenes	۴	-	-	۱/۵
۳	Staphylococcus aureu	۶	۵	۴	۳
۴	Escherichia coli	۴	-	۵	۳

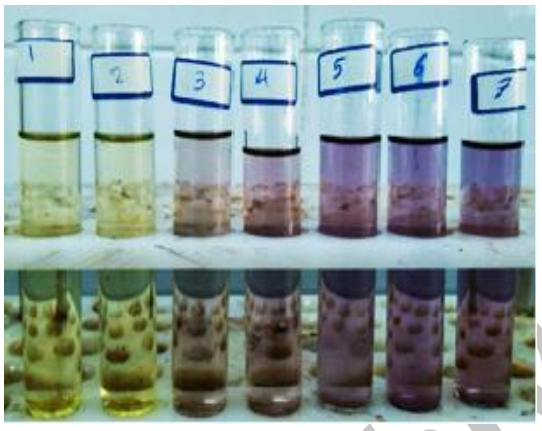
بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نسترن وحشی

در شکل ۸ مقدار معادله خط به دست آمده از نمودار به منظور تعیین غلظت مهار ۵۰ درصد برای تعیین قدرت آنتی اکسیدانی میوه گیاه نسترن وحشی ارایه شده است. به این منظور جذب نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت، بعد از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.



شکل ۸- فعالیت به دام اندازی رادیکال DPPD

نمونه‌های با غلظت بیش‌تر عصاره متانولی جذب کم‌تری در ناحیه ۵۱۷ نانومتر از خود نشان می‌دهند؛ زیرا به دلیل بالاتر بودن ماده مؤثر گیاه در غلظت‌های بالاتر، DPPH با آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره برهمکنش داشته و به‌صورت رادیکال آزاد باقی نخواهد ماند. بدین ترتیب متناسب با غلظت عصاره تغییر رنگ‌های مختلفی در محلول مشاهده می‌شود (شکل ۹) با توجه به این نمودار می‌توان دریافت که عصاره گیاه نسترن از پتانسیل بالایی جهت تبدیل یک رادیکال آزاد به مولکول خنثی برخوردار است و در نتیجه از این عصاره می‌توان در فیتوسنتز نانوذرات نقره استفاده کرد.



شکل ۹- تصاویر تغییر رنگ در غلظت مختلف از محلول متانولی عصاره

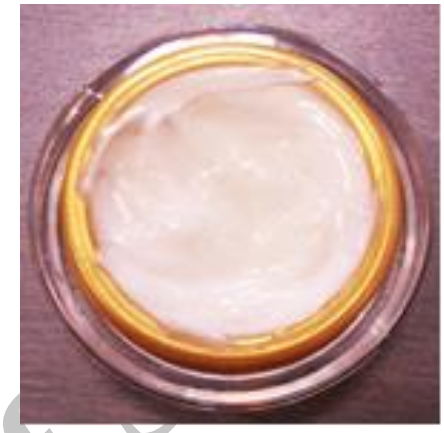
طراحی و فرمولاسیون کرم حاوی نانوذرات و عصاره گیاهی

همان‌گونه که در بخش تجربی اشاره شد، از آنجایی که امولسیون‌های روغن در آب متداول‌ترین پایه قابل شستشو با آب در تهیه کرم‌ها هستند؛ لذا از آن‌ها برای تهیه کرم استفاده شد. به این ترتیب با ایجاد تغییراتی در فرمولاسیون پایه، فرمولاسیون کرم حاوی نانوذرات نقره تهیه شد. نظر به این که کرم‌ها و سایر فرآورده‌های موضعی محتوی آب دارای مواد قابل تجزیه به وسیله باکتری‌ها هستند؛ بنابراین باید این فرآورده‌ها، در مقابل خطر آلودگی میکروبی محافظت گردند و از اینرو افزودن

Archive of SID

www.SID.ir

محافظ‌ها به فرمولاسیون کرم‌ها توصیه شده است. با توجه به آن که در فرمولاسیون کرم تهیه شده نانوذرات نقره ضد باکتری وجود دارد، به نظر می‌رسد که نیازی به افزودن محافظ‌های متداول به فرمولاسیون کرم تولید شده در این کار پژوهشی نباشد[۲۲]. تصویر کرم تولید شده در شکل ۱۰ نشان داده شده است.



شکل۱۰- نمایی از فرم نهایی کرم تهیه شده حاوی نانوذرات نقره

به این ترتیب با توجه به تصویر، کرمی به رنگ سفید مایل به کرمی با امولسیون آب در روغن با نرم کنندگی، درخشندگی، یکنواختی فازی- ذره ای و دوام مناسب به دست آمد که بعد از گذشت ۲۴ ماه (مدت زمان متداول انقضا) از زمان آمیزه کاری هیچ تغییر فیزیکومکانیکی، رئولوژیکی یا دو فازی شدن در آن ملاحظه نمی‌شود.

نتیجه‌گیری

در این کار پژوهشی عصاره آبی میوه گیاه نسترن وحشی برای بیوسنتز نانوذرات نقره به کار رفت که نشان از توان مواد قطبی استخراج شده به وسیله حلال آب، در الکترون دهندگی و تشکیل کمپلکس با یون فلزی دارد. روش سنتز گیاهی می‌تواند به عنوان روش دوست‌دار محیط زیست و ارزان برای تولید فراورده‌های آرایشی و بهداشتی حاوی نانوذرات به کار رود. فرمولاسیون کرم مورد استفاده در این پژوهش در نوع خود جدید می‌باشد. از طرف دیگر پیش بینی می‌شود، کرم تولید شده به دلیل به کارگیری روش سبز و عدم استفاده از حلال های آلی به طور بالقوه در زمینه‌های بالینی کارکردهای فراوانی داشته باشد. البته تأیید این موضوع نیازمند تحقیقات گسترده‌تر بافتی و سلولی است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه تبریز به دلیل حمایت مالی از این کار پژوهشی تشکر می‌نمایند. همچنین از مدیریت شرکت محترم آذر زیبافر به جهت اهدا پایه کرم قدردانی می‌شود.

References:

[1] A. T. Harris and V. Bali. "On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants". Journal of Nanoparticle Research, 2008; 10(4): 691-695.

[2] S. Iravani, "Green synthesis of metal nanoparticles using plants". Green Chemistry 2011; 13(10): 2638-2650.

[3] K. N. Thakkar, S. S Mhatre and R. Y Parikh. "Biological synthesis of metallic nanoparticles". Nanomedicine: NBM 2010; 6(2): 257-262.

[4] D. Bhattacharya and R. K. Gupta. "Nanotechnology and potential of microorganisms". Critical Reviews in Biotechnology, 2005; 25(4): 199-204.

[5] D. I. Mandal, M. E. Bolander, D Mukhopadhyay, G. Sarkar and P. Mukherjee. "The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application". Applied

Archive of SID

www.SID.ir

Microbiology and Biotechnology 2006; 69(5): 485-492.

[6] J. Kasthuri, K. Kathiravan and N, Rajendiran. "Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach". Journal of Nanoparticle Research 2009; 11(5): 1075-1085.

[7] S. S. Shankar, A. Ahmad, R. Pasricha and M. Sastry. "Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes". Journal of Materials Chemistry. 2003;13(7):1822-6.

[8] S. Ahmed, M. Ahmad, B. L. Swami and S. Ikram. "Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract". Journal of Radiation Research and Applied Sciences. 2016 31;9(1):1-7.

[9] H. S. Lee, U. J. Suh, D. S. Kil, K. Cho, "Fabrication method of ZnO nano-particle and fabrication method of ZnO nano-fluid using thereof "patent No: US 8,512,672 B2

[10] V. V. T. Padil and M. Černík. "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application". International Journal of Nanomedicine 2013; 8: 889-898.

[11] W. Brand–Williams and M. Cuvelier, C. Berset. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". LWT - Food Science and Technology 1995; 28(1): 25-30.

[12] M. C. Foti, E. R. Johnson, M. R. Vinqvist, J. S. Wright, L. R. Barclay and K. U. Ingold. "Naphthalene diols: a new class of antioxidants intramolecular hydrogen bonding in catechols, naphthalene diols, and their aryloxyl radicals". The Journal of Organic Chemistry 2002; 67(15): 5190-5196.

[13] W. Gregor, G. Grabner, C. Adelwöhrer, T. Rosenau and L. Gille. "Antioxidant properties of natural and synthetic chromanol derivatives: study by fast kinetics and electron spin resonance spectroscopy". The Journal of Organic Chemistry 2005; 70(9): 3472-3483.

[14] A. Bankar, B. Joshi, A. R. Kumar and S. Zinjarde. "Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles". Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2010; 368: 58-63.

[15] M. Dubey, S. Bhadauria and B. Kushwah. "Green synthesis of nanosilver particles from extract of Eucalyptus hybrida (safeda) leaf". Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 2009; 4: 537-543.

[16] S. S. Shankar, A. Ahmad and M. Sastry. "Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles". Biotechnology Progress 2003; 19: 1627-1631.

[17] N. A. Begum, S. Mondal, S. Basu, R. A. Laskar and D. Mandal. "Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts". Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2009; 71: 113-118.

[18] V, Kumar, S. C. Yadav and S. K. Yadav. "Syzygium cumini leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization". Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2010; 85: 1301-1309.

[19] E. M. Wenzig, U. Widowitz, O. Kunert, S. Chrubasik, F. Bucar, E. Knauder and R. Bauer, "Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (Rosa canina L.)

Archive of SID

www.SID.ir

preparations". Phytomedicine 2008; 15: 826-835.

[20] S. Jafarirad, M. Mehrabi, B. Divband and M. Kosari-Nasab. "Biofabrication of zinc oxide nanoparticles using fruit extract of rosa canina and their toxic potential against bacteria: a mechanistic approach" Materials Science and Engineering: C 2016; 59, 296–302.

[21] S. Jafarirad and S. Poorgholi. "Application of CuO nanoparticles which synthesized using Fumaria officinalis plant extract in preparing hair color to enhance health". Nanomaterials 2015; 7: 95-103.

۲۲- م. ابارشی؛ ا. عبدی "بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره و نانوکامپوزیت های پلی اتیلن-نقره" مجله مواد نوین، دوره ۶، شماره ۲۲، زمستان ۱۳۹۴، صفحه ۱۵۹-۱۶۸.

Archive of SID

www.SID.ir