سنتز نانو ذرات نقره به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی (*Origanum majorana*) و بررسی اثرات ضد میکروبی آن

سمیه کاوسی و هاشم یعقوبی*

اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۶

چکیده

روشهای مختلف زیادی برای تولید نانوذرات نقره وجود دارد ولی استفاده از گیاهان بدلیل کم هزینه و سازگار محیط زیست بودن در سنتز نانوذرات بسیار مورد توجه قرار گرفته است در این مطالعه سنتز زیستی نانوذرات نقره بوسیله عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی و بررسی خصوصیات ضد میکروبی آن گزارش شده است. در این مطالعه از عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی به عنوان عامل کاهنده برای تولید زیستی نانو ذرات نقره استفاده شد. نانو ذرات حاصله برای تعیین اندازه ، خواص ساختاری، خواص اپتیکی، مورفولوژی و ریخت شناسی بترتیب با دستگاه‌های پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیلی (FESEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند و فعالیت ضد میکروبی آن بر علیه باکتری های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژنز و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی گردید. تشکیل نانو ذرات زیستی نقره در محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV) نشان داده شد. اندازه و مورفولوژی این نانو ذرات توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تعیین شد که شکل ذرات کروی و اندازه متوسط آنها در حدود ۷۰-۳۰ نانومتر است. نانو ذرات نقره زیستی دارای فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بودند. به نظر می رسد که سنتز سبز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان می تواند به افزایش ضد باکتریایی آنها کمک کند. در تحقیق حاضر نشان داده شد که خواص ضد باکتریایی عصاره های حاوی نانوذرات به شکل محسوسی افزایش یافت.

واژهای کلیدی: سنتز سبز ، مرزنجوش اروپایی و نانو ذرات نقره

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۵۷۹۸۷۳۵ ، پست الکترونیکی: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

مقدمه

امروزه تمایل به تولید و استفاده از مواد با ابعاد نانو متری با توجه به خصوصیات جالب این مواد روز به روز در حال افزایش است . از این‌رو، روش‌هایی برای تهیه و ساخت مواد نانو وجود دارد که از جمله می توان به قوس الکتریکی(پلاسما) (۵۰)، احیای شیمیایی(۶)، فرسایش لیزری (۴۸)و امواج میکروویو (۱۱و۴۴)اشاره کرد. ولی نانو ذرات حاصل از این روشها بدلیل استفاده از مواد خطرناک شیمیایی پرتو زایی انجام واکنش ها در شرایط خاص (دما و فشار) گران بودن مواد و زمان بر بودن و ایجاد خطرات بالقوه برای محیط زیست دارند(۳۵). از این رو نیاز به روشی با قیمت کم و بدون تولید مواد سمی و همچنین بدون آسیب های زیست محیطی رو به افزایش می باشد. یکی از روش های تولید نانو ذرات تولید به روش زیستی(سبز) است (۳۰ ، ۳۲ و ۳۴) و امروزه توجه به این روش برای تولید نانو ذرات رو به افزایش می باشد. به‌عنوان مثال، از جمله تلاش‌هایی که برای بیوسنتز نانوذرات انجام شده است، تولید نانوذرات به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. هر دو میکروارگانیسم‌های مرده

Archive of SID

www.SID.ir

و زنده برای تولید نانو ذرات از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. علاوه بر این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند مشکلات مربوط به سنتز نانوذرات و تثبیت آن‌ها در شرایط معتدل را همزمان حل کنند. به عنوان مثال در سنتز نانو ذرات طلا به‌روش شیمیایی، ممکن است منجر به حضور برخی از گونه‌های سمی جذب شده در سطح نانوذرات شود که دارای عوارض جانبی در برنامه‌های کاربردی و پزشکی خواهد بود. سنتز توسط میکروارگانیسم‌ها می‌تواند این مشکل را به‌طور بالقوه حل کند(۲۳ و ۳۷). روش‌های مختلفی برای بهره‌وری از روش‌های سنتز سبز برای نانوذرات فراهم شده است. چون سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از عوامل سبز به دلیل خواص متفاوت نوری، شیمیایی، فتوالکتروشیمی و الکترونیکی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. همچنین سنتز نانوذرات به‌روش سبز، روشی پاکیزه، غیر سمی و سازگار با محیط زیست است که مربوط به موجودات مختلفی از قبیل باکتری(۳۸)، قارچ (۷)،مخمر و گیاهان(۳۹) است. ازاین‌رو هر دو موجودات زنده‌ی تک‌سلولی و چندسلولی برای تولید درون سلولی و برون‌سلولی نانومواد به‌کار برده شدند.

گیاهان به علت سازگاری با محیط می‌توانند به طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون اینکه منجر به بروز آسیب‌های زیست محیطی شوند. هم چنین گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد، گزینه‌ای مناسب برای تولید نانوذرات به روش زیستی محسوب می‌شوند(۲۰). کاردا و همکارانش اولین بار در سال ۲۰۰۲، نانوذرات طلا را از عصاره گیاه یونجه در محیط غنی از سنتز کردند(۸). تاکنون تولید زیستی نانوذرات نقره به وسیله گیاهان مانند *Piper Longum*(۱۴) *Azadirachta indica* (۴۰) *Acalypha indica*(۱۷)، *Ocimum Sanctum*(۴)، *Catharanthus Roseus*(۲۸) و بسیاری دیگر از گیاهان انجام گرفته است.

گیاه، *Origanum majorana* نوعی مرزنجوش است که به آن مرزنجوش اروپایی نیز می گویند (شکل۱)، جزو طبقه گیاهان گلدار دولپه ای ها ، راسته نعناسانان ، تیره نعناعیان و سرده اوریگانوم و گونه ماژورانا است .

شکل۱- مرزنجوش اروپایی (*Origanum majorana*)

پراکندگی جغرافیایی این گیاه در ایران، در خراسان، مازندران، گیلان، آذربایجان، گرگان،شمال کردستان و یزد زیاد است و دوره رویشی آن اوایل فروردین تا اواسط مرداد بوده که در مناطق جنگلی و روی دیواره های پرشیب ، گاهی میان صخره ها دیده می شود .این گیاه معمولاً تا ارتفاع ۲۵الی ۸۰ سانتی متری رشد کرده و برگ ها متقابل و بیضوی، بدون دندانه و گل هایی کوچک به رنگ سفید یا گلی و پوشیده از چهار ردیف براکته مایل به سفید دارد (شکل ۱). وجود براکته ها باعث می شود گل ها از نظرکلی، ظاهر کروی پیدا کنند این گیاه در سراسر جهان به عنوان یک ادویه ی بسیار پسندیده مورد استفاده قرار می گیرد و علاوه بر استفاده های سنتی در درمان بیماری های معده و روده کاربرد فراوانی دارد (۳۳). ترکیبات غالب شناسایی شده در این گیاه عبارتند از :لینالیل استات، سابینن، گاما - ترپینن و بتا -اوسمین از مونوترپن ها و بتا-کاریوفیلن، کاریوفیلن اکسید، گاما- المن از سزکویی ترپن ها(۴۵)در طب سنتی ایران و سرزمین‌های دیگر به عنوان ضدآسم، آرام بخش، ضدعفونی کننده و التیام دهنده زخم‌ها، ادرار آور و تأخیر در قاعدگی استفاده می‌شده است. امروزه از

Archive of SID

www.SID.ir

بخش‌های گیاه مرزنجوش و عصاره‌های بیوشیمیایی آن شامل گیاه کامل، برگ، اسانس، ریشه به طور معمول در صنایع غذایی به عنوان ادویه، در صنعت صابون‌سازی جهت معطر کردن و در فرآورده‌های آرایشی به عنوان مهار کننده اکسیداسیون لیپید استفاده می‌شود(۱۸ و ۴۹).

بررسی مطالعات نشان داده که سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره مرزنجوش کمتر شناخته شده است از این رو در این تحقیق سنتز سبز نانو ذرات نقره از گونه *Origanum majorana* مورد بررسی قرار گرفت .

مواد و روشها

جمع آوری و تهیه عصاره گیاه مرزنجوش: در ابتدا اندام های هوایی گیاه مرزنجوش اروپایی (تهیه شده از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج) با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند سپس در دمای اتاق قرار گرفته تا خشک شوند و پس از آن با قیچی و هاون به خوبی پودر شدند. ۵ گرم پودر تهیه شده از گیاه مرزنجوش را با ۱۰۰سی سی آب دیونیزه مخلوط شد و به مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای جوش روی هیتر قرار گرفت و بعد از سرد شدن با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد و عصاره آبی حاصل برای آزمایشات بعدی در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

سنتز نانو ذرات: ۱۰ سی سی از عصاره تهیه شده را با ۹۰ سی سی محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار مخلوط کرده و محلول را به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاهی بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. جهت مشاهده تغییرات رنگ بروی میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Uv-Vis) مدل shimadzu UV2550 ساخت ژاپن در محدوده ۳۰۰-۷۰۰ نانومتر بررسی مورد بررسی قرار گرفت. محلول حاوی نانو ذرات ساخته شده با دورrpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده سپس محلول رویی دور ریخته شد.

تعیین اندازه و مورفولوژی نانو ذرات: نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه مرزنجوش ، برای تعیین اندازه ، خواص ساختاری، خواص اپتیکی، مورفولوژی و ریخت شناسی بترتیب با دستگاه‌های پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیلی (FESEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. برای تعیین فازهای بلورین (کریستالی) نانوذرات نقره سنتز شده، همچنین اندازگیری ثابت‌های کریستالی نانوذرات نقره و محاسبه سایز بلورک‌ها از الگوی پراش اشعه ایکس، XRD نمونه‌ها استفاده شد. برای تهیه الگوی پراش اشعه ایکس از دستگاه پراش سنج پودری اشعه ایکس مدل Philips X'pert Pro ساخت کشور هلند با منبع لامپ آند مسی Cu Kα با طول موج $\lambda=1.5406A^{\circ}$ استفاده شد. برای تعیین اندازه و توزیع پراکندگی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه مرزنجوش ، میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل LEO-912AB با ولتاژ اعمالی 120 kV برای گسیل اشعه الکترونی استفاده شد. مورفولوژی و ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره توسط دستگاه میکروسکوپ الکترون روبشی میدان گسیلی (FESEM) مدل Mira-Xmu مورد بررسی قرار گرفت برای آماده‌سازی نمونه تصویر برداری، پودر نانوذرات با لایه بسیار نازکی از طلا پوشش داده می شود تا باعث رسانای سطحی شده طوری که مسیر باریکه‌های الکترونی برگشتی را تغییر ندهد همچنین پودر نانوذرات نقره بایستی روی یک سطح هادی که بیشتر از جنس آلومینیوم است پخش شده باشد.

اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره : سویه های میکروبی استاندارد اشریشیا کلی(ATCC 11303.) ، سودوموناس آئروژینوزا(ATCC 342.) ، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 6538) باسیلوس سرئوس (ATCC 12817) از سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران (IROST) تهیه شدند.جهت بررسی تعیین حداقل غلظت‌های باز دارنده یا MIC از روش رقت در لوله

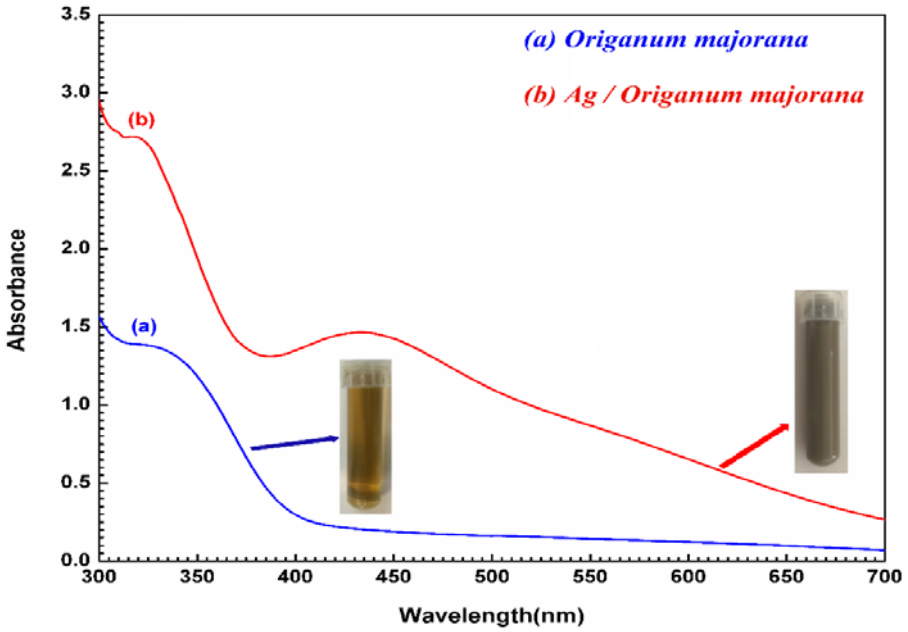
Archive of SID

www.SID.ir

استفاده شد. بدین منظور ۱۰ لوله آزمایش استریل آماده و از یک تا ۱۰ شماره گذاری شدند. یک میلی‌لیتر از عصاره استریل در لوله شماره یک و یک میلی‌لیتر در لوله شماره دو ریخته شد. سپس از محیط کشت مولر هینتون براث استریل به میزان یک میلی‌لیتر در لوله‌های شماره دو تا ۱۰ اضافه و سپس رقت سازی گردید. از سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند به هر لوله یک میلی‌لیتر اضافه شد. لوله ۱۰ به عنوان کنترل مثبت و حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت و یک میلی‌لیتر باکتری بود. لوله یک به عنوان کنترل منفی و حاوی یک میلی‌لیتر ماده ضدمیکروبی و یک میلی‌لیتر باکتری شد. لوله‌ها به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس لوله‌ها از نظر وجود کدورت بررسی شد. حداقل غلظتی که عصاره رشد باکتری را مهار بکند و لوله شفاف بود مشخص شد و میزان MIC از روی آن محاسبه گردید. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره در برابر باکتری از لوله‌های شفاف که رشد در آن‌ها مهار شده برای کشت در محیط جامد مولر هینتون آگار استفاده شد و پلیت‌ها ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. کم‌ترین غلظت عصاره که در آن غلظت هیچ باکتریی زنده نمانده بود بیان‌کننده میزان حداقل غلظت‌های کشنده یا MBC آن عصاره در نظر گرفته شد (۱۹،۱۶ و ۳۶).

نتایج

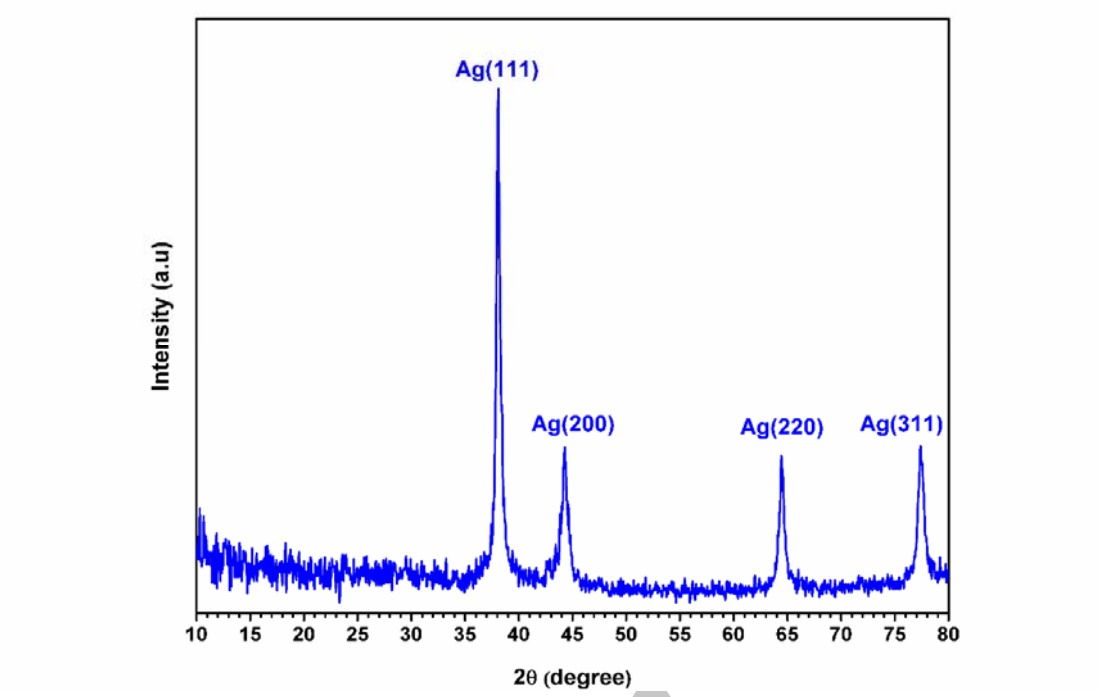
سنتز و طیف سنجی ماوراءبنفش–مرئی نانو ذرات: روش سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از احیای یون های نقره به وسیله عصاره گیاه مرزنجوش انجام شد.اولین نشانه تولید نانوذرات نقره تغییر رنگ محلول است. رنگ قهوه ای تیره حاصل بعد از ۲۴ ساعت نشان از تولید نانو ذرات نقره در محلول است . نتایج طیف سنجی ماوراءبنفش–مرئی عصاره گیاه مرزنجوش قبل و بعد از سنتز نانو ذرات نقره در شکل ۲ آورده شده است. پیک جذبی حداکثر در منحنی بدست آمده از عصاره پس از سنتز نانو ذرات نقره در محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر نشان از سنتز نانو ذرات نقره می باشد.



شکل ۲ - طیف اسپکتروفتومتر مرئی–فرابنفش نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش a) عصاره b) عصاره به همراه نقره

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳ - الگوی پراش اشعه ایکس، XRD نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش

تعیین ویژگی های فیزیکوشیمیایی نانوذرات نقره: شکل ۳، الگوی پراش اشعه ایکس، XRD نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود پیک‌های (۱۱۱) ، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱) در $2\theta=38.07°$، $44.26°$ ، $64.43°$ و $77.35°$ مربوط به ساختار FCC نانوذرات نقره می‌باشد که با الگوی استاندارد پراش اشعه ایکس نقره تطابق کامل دارد(۲۶).

پهنای کم الگوی پراش در نصف ماکزیمم پیک (۱۱۱) نشان دهنده بزرگ بودن سایز کریستالی نانوذرات نقره می‌باشد. سایز کریستالی نانوذرات نقره از رابطه شرر بدست می‌آید.

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos(\theta)}$$

که در رابطه فوق $k=0.9$ فاکتور شکلی بوده، λ طول موج پرتو ایکس و معادل $1.5406A^{\circ}$ می‌باشد. β پهنای کامل در نصف ماکزیمم پیک پراش و θ زاویه مربوط به پیک پراش می‌باشد. از محاسبه رابطه شرر، سایز کریستالی نانو-ذرات ۳۰ nm بدست می‌آید که با تصاویر TEM همخوانی خوبی دارد.

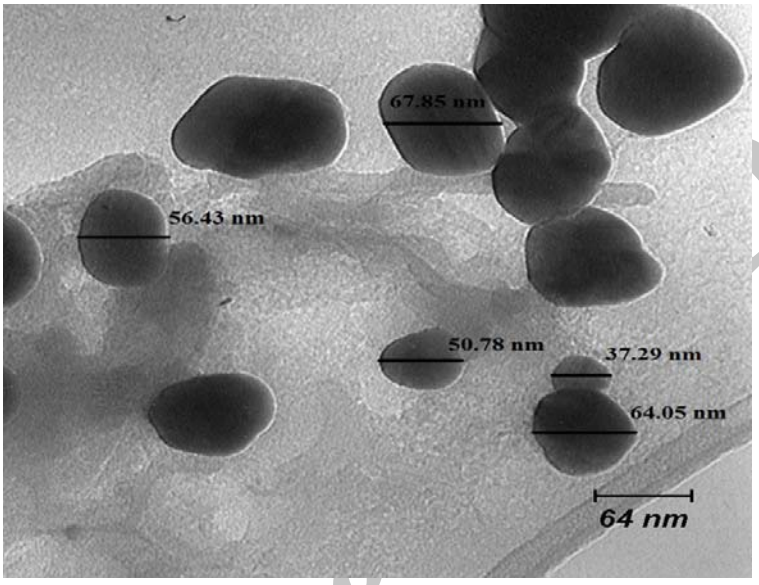
شکل ۴ ، نشان دهنده میکروسکوپ الکترونی عبوری، TEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش می‌باشد. همانطور که از تصاویر مشخص است نانوذرات نقره در تصویر تیره‌تر بوده و شکل کروی دارند و از توزیع مناسبی برخوردار هستند و اطراف نانوذرات زمینه‌ای روشن مشاهده می‌شود که مربوط به حلال است، بدلیل اینکه چگالی حلال در مقابل عبور نور از چگالی نانوذرات نقره کمتر بوده و به همین دلیل نانوذرات نقره در تصویر، تیره‌تر و حلال، روشن‌تر مشاهده می‌شود. اندازه ی نانو ذرات باتوجه به تصویرTEM ، قطری در محدوده ۳۰ nm تا ۷۰nm دارند که با توزیع لانگ نرمال، قطر میانگین در حدودnm ۴۰ است.

شکل ۵، تصاویر میکروسکوپ الکترون روبشی گسیل میدانی، FESEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش را با بزرگنمایی‌های مختلف 2µm، 1µm، 500nm و 200nm نشان می‌دهد که همه این بزرگنمایی‌ها

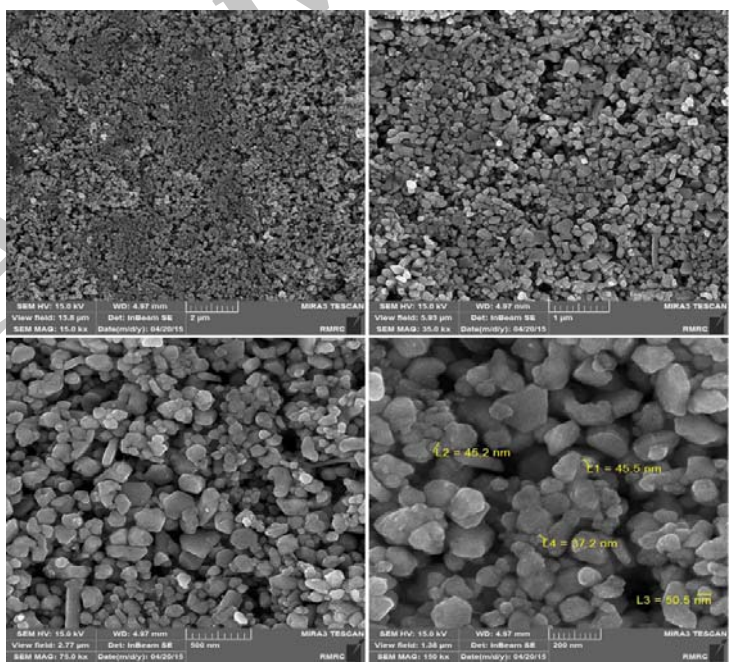
Archive of SID

www.SID.ir

مربوط به یک نمونه می‌باشد. تصویر FESEM نشان دهنده ابعاد نانومتری ذرات نقره بوده و بیانگر شکل تقریبا کروی در همه بزرگنمایی‌ها می باشد. تعیین سایز نانوذرات از طریق FESEM دقیق نمی‌باشد، چون قدرت تفکیک FESEM نسبت به TEM پایین است و به این دلیل برای بیان سایز میانگین از آنالیز TEM استفاده می‌شود. مطابق تصاویرFESEM اندازه تجمعی نانوذرات بین ۳۰nm تا ۷۰nm متغیر است.



شکل ۴ - تصویر میکروسکوپ الکترون عبوری نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش



شکل ۵- تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی گسیل میدانی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش با بزرگنماهایی مختلف

www.SID.ir

سویه های میکروبی و روش بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره: کمترین غلظت مهار کنندگی و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذرات و عصاره *Origanum majorana* بر روی سویه‌های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس تعیین گردید. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود در این مطالعه کمترین مهار کنندگی نانوذره و عصاره برای باکتری اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب معادل ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذره و عصاره به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر، در حالی که کمترین مهار کنندگی نانوذره و عصاره برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به ترتیب معادل ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذره و عصاره به ترتیب ۲۰و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد.

جدول ۱- نتایج بررسی MIC و MBC ایجاد شده توسط عصاره و نانوذرات نقره تولید شده به روش سبز بر روی سویه های باکتریایی گرم مثبت و منفی

سویه های باکتریای		عصاره آبی خالص مرزنجوش (Origanum majorana.)	نانوذرات تولیدی توسط عصاره آبی مرزنجوش (Origanum majorana.)
اشریشیا کلی ATCC 11303	MIC (µg/ml)	۱۰	۵
	MBC (µg/ml)	۲۰	۱۰
سودوموناس آئروژینوزا ATCC 342	MIC (µg/ml)	۱۰	۵
	MBC (µg/ml)	۲۰	۱۰
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538	MIC (µg/ml)	۲۰	۱۰
	MBC (µg/ml)	۴۰	۲۰
باسیلوس سرئوس ATCC 12817	MIC (µg/ml)	۲۰	۱۰
	MBC (µg/ml)	۴۰	۲۰

بحث و نتیجه گیری:

امروزه با فن آوری نانو توانسته اند نقره فلزی را به شکل ذراتی با سایز کمتر از ۱۰۰ نانومتر به وجود آورند نانو ذرات نقره یا نانو نقره حاوی حدود ۱۰۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰ اتم های نقره است .فن آوری نانو نقره باعث بوجود آمدن انقلابی شگرف در مواد ضد باکتریایی است که جهت گیری اصلی برای گسترش محصولات نانونقره بوده و دارای مزایای بسیار زیادی نسبت به مواد شیمیایی می باشند. نقره فلزی با روش های گوناگون فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی مانند: تخلیه شارژ، احیاء شیمیایی، سونو شیمی، پرتو افکنی و سنتز کریوکمیکال (شیمی سبز) به ذرات بسیار ریزی تا اندازه نانو تبدیل می شوند(۲۵ و ۴۶) در این میان بیشترین کاربرد را روش احیاء شیمیایی دارد که بر اساس نوع ماده احیا کننده و همچنین نوع ماده پایدار کننده ای که مورد استفاده قرار گرفته، دارای تنوع بسیار زیادی می باشند. از معایب روشهای فیزیکی و شیمیایی استفاده از مواد

Archive of SID

www.SID.ir

خطرناک شیمیایی که نقش عوامل احیایی و تثبیت کننده را ایفا می کنند (۳۷) انجام واکنش ها در شرایط خاص (دما و فشار) گران بودن مواد، زمان بر بودن و ایجاد خطرات بالقوه برای محیط زیست که این مواد شیمیایی در طبیعت به صورت تجزیه نشده باقی مانده و در نهایت موجب آلودگی شیمیایی محیط زیست می شوند (۳۵) از دیگرمعایب این روش ها میزان تولید پایین و انرژی های بالا در طی فرآیند واکنش است (۳۱) ولی در روش سنتز سبز یون های فلزات با استفاده از ترکیبات گیاهی بدون نیاز به سورفکتانت، بدون نیاز به شرایط خاص(دما و فشار) و سایر عوامل پایدار کننده در یک واکنش ساده به نانو ذره تبدیل می شوند. مواد و ترکیبات فعال زیستی در عصاره های گیاهان از جمله فلاونوئیدها و سایر متابولیت های موثر فعال محلول در آب می توانند برای احیا یون های فلزی به نانو ذرات در دمای اتاق مورد استفاده قرار گیرند (۲۰). از این رو در این تحقیق نحوه سنتز سبز نانو ذره نقره با عصاره مرزنجوش اروپایی و اثرات ضد باکتریایی آن مورد بررسی قرار گرفت. یکی از جالب ترین ویژگی های نانوذرات فلزی خواص نوری آنها است که متناسب با شکل و اندازه نانوذرات تغییر می کند. در شکل ۲ تغییر رنگ مشاهده شده به قهوه ای تیره در عصاره مرزنجوش یک نشانه واضح از تشکیل نانو ذرات نقره در واکنش بود (۱۳). در نانوذرات فلزی تشدید پلاسمون سطحی مسئول خواص نوری منحصر به فرد آنهاست. طیف Uv-Vis ثبت شده به طور کامل نشان دهنده افزایش ارتعاشات پلاسمون سطحی در طول موج ۴۵۰ نانومتر است(۴۷). پلاسمون سطحی برانگیختگی نوسانات تجمعی بار در فصل مشترک فلز و دی الکتریک است هنگامی که فرکانس نور برخوردی به نانوذرات فلزی، با فرکانس پلاسمون سطحی برابر باشد، تشدید پلاسمون سطحی اتفاق می افتد. در واقع الکترون های آزاد موجود در نانو ذرات نقره با جذب نور مرئی برانگیخته می‌شود و به یک تراز انرژی بالاتر می روند ولی چون الکترون در حالت برانگیخته ناپایدار است بنابراین دوباره به تراز انرژی پایه برمی گردد یک فوتونی را از خود ساطع می کند. البته فرکانس تشدید پلاسمون سطحی در نانوذرات فلزی به شکل، اندازه و محیطی که نانوذرات در آن قرار دارند بستگی دارد(۲۴و ۴۱).

شکل ۲ نشان داد که طول موج ماکزیمم در حدود ۴۲۰ نانومتر که با نتایج سایر محققین هم خوانی دارد (۸ ، ۲۰،۱۴و ۳۹) در این مطالعه با استفاده از روش XRD از وجود و سنتز نانوکریستال های نقره توسط عصاره گیاه مرزنجوش اطمینان حاصل شد. با استفاده از الگوی XRD اندازه کریستال ها مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که اندازه کریستال در حدود ۳۰ نانومتر بود. الگوی XRD با نیترات نقره چهار پیک مجزا در زاویای ۱۱۱و۲۰۰و۲۲۰و۳۱۱ را نشان می دهد که این یافته کاملا با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققین هم خوانی دارد (۴۰،۳۹،۲۰،۱۷ و ۴۷).

شکل (TEM/SEM) جهت بررسی شکل و اندازه نانوذرات تولیدی از میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری را نشان می دهد که نانو ذرات نقره به اشکال کروی و در محدوده۳۰ nmتا ۷۰nm است

نتیجه مطابق با نتیجه حاصل از پژوهش سایر محققین همخوانی دارد (۲۰،۱۷،۱۴،۸ و ۳۹) البته لازم به ذکر است که تغییرات دما و pH و مدت زمان و غلظت های مختلف بر هم کنش محلول نمکی و عصاره گیاهی می تواند بر روی دامنه تغییرات اندازه نانو ذرات تاثیر داشته باشد(۲۴) .

وجود اثرات ضد میکروبی قوی در فرآورده های گیاهی دارای اهمیت ویژه ای است چراکه امروزه یکی از معضلات مهم علم پزشکی بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها در بسیاری از عوامل پاتوژن رایج است .مقاومت آنتی بیوتیکی به سرعت پیش رونده به عنوان یک نگرانی بهداشت عمومی شناخته شده که در نتیجه استفاده زیاد یا اشتباه آنتی بیوتیک رخ می دهد(۱۲) مقاومت آنتی بیوتیکی رو به رشد باعث

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش هزینه مراقبت های بهداشتی به دلیل طولانی شدن دوره درمان (شامل بستری شدن) و نقاهت، همراه با شکست درمان آنتی بیوتیکی، نیاز به ساخت عوامل آنتی بیوتیکی جدید، به کار بردن روش های جد ی تر و گسترده تر کنترل عفونت در جهت پیشگیری از گسترش پاتوژن های مقاوم به آنتی بیوتیک می شود. مسأله دیگر در درمان با آنتی بیوتیک بروز عوارض جانبی کشنده و خطرناکی هم چون واکنش های ازدیاد حساسیت شدید(شوک آنافیلاکتیک)، مهار رشد سلول های مغز استخوان، نارسایی کبد و نارسایی کلیه در برخی بیماران است. اگر چه این عوارض ممکن است در درصد کمی از بیماران رخ دهند ولی به دلیل خطرناک و کشنده بودن از لحاظ پزشکی دارای اهمیت هستند. با پیشرفت علم نانو تکنولوژی و ایجاد نانو ذرات نقره و اثبات خاصیت ضد میکروبی این نانو ذرات استفاده از آنها روز به روز در پزشکی و علوم مربوط آن به طور چشمگیری افزایش پیدا کرده است(۲،۱ و ۲۲) مجموعه این موارد در کنار درمان آنتی بیوتیکی، می تواند انگیزه مهمی برای محققین در جهت مطالعه برای یافت، خالص سازی و استانداردسازی نانو فراورده های گیاهی موثر (که سمیت انتخابی بهتری نسبت به آنتی بیوتیک ها دارند) مانند مرزنجوش باشد. در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی گیاه مرزنجوش اروپایی و نیز نانوذرات نقره تهیه شده توسط عصاره این گیاه بر روی سویه‌های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس تعیین گردید.

خواص ضدباکتری و ضد قارچی عصاره گیاه مرزنجوش در بسیاری از کارهای محققین گزارش شده است. یافته های این بررسی ها علاوه بر اثر مهاری بر ضد میکروب های پاتوژن انسانی، اثر مهاری بر ضد برخی پاتوژن های گیاهی، حیوانی و همچنین عوامل فساد مواد غذایی را گزارش کرده اند(۹ و ۴۳)، ولی تا به حال هیچ مطالعه ای در خصوص تاثیر نانو ذره تولید شده با بهره گیری از عصاره این گیاه صورت نگرفته است. بر طبق بررسی جامع کالمبا و کونیکا در سال ۲۰۰۳، این گیاه همراه با آویشن، مریم گلی، مرزه، میخک و کافور جزء قوی ترین گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی معرفی شده اند(۱۵). در مطالعه های دیگر نشان داده شد باکتری های عامل عفونتهای بیمارستانی حساسیت بالایی نسبت به مرزنجوش داشته و بسته به نوع میکروب و غلظت اسانس یا عصاره گیاه، اثرات باکتریوستاتیک یا باکتریسیدال دارند .در این بررسی ها اثر اسانس مرزنجوش بر باکتری های پاتوژن شامل باسیلوس آنتراسیس، اشریشیا کلی، هلیکوباکترپیلوری ،کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس آزمایش شد مرزنجوش بر ضد تمام ارگانیزم های آزمایش شده اثر مهاری داشت این محقیقین پیشنهاد کردند که مرزنجوش به تنهایی یا در ترکیب با آنتی بیوتیک های دیگر ممکن است در پیشگیری یا درمان عفونت های شدید مخصوصاً آن هایی که به سختی درمان می شوند و یا مقاوم به آنتی بیوتیک هستند، مفید باشد(۲۹) پنالور و همکاران اثر اسانس چندین گیاه از جمله مرزنجوش را بر ضد گونه های متعددی از سالمونلا و اشرشیاکلی که از مرغ و خوک جدا شده بودند، بررسی نمودند. در بین اسانس ها، اسانس مرزنجوش قوی ترین اثر را بر ضد ۴ گونه سالمونلاو اشرشیاکلی داشت .آنالیز اسانس ها مشخص نمود اسانس های دارای درصدهای بالاتر عناصر فنلی(کارواکرول و تایمول) در مقایسه با اسانسهای حاوی ترکیبات الکلی منوترپنی لینالل، ظرفیت های مهاری بالاتری داشتند(۲۷). بررسی مشابه دیگرنشان داده بود اسانس مرزنجوش دارای اثر ضد میکروبی برضد سالمونلا تیفی می باشد و غلظت ۱ درصد اسانس رشد میکروب را مهارمی کند(۵).

سوکمن و همکاران، اثر ضدمیکروبی اسانس گونه های مرزنجوش را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۳۵ باکتری و ۱۸ قارچ بررسی شدند. از این میکروب ها، ۲۷باکتری و ۱۲ قارچ به اسانس مرزنجوش حساس بودند و رشد آن ها توسط اسانس مهار شد(۴۲).

Archive of SID

www.SID.ir

در بررسی دیگری مشاهده شد اسانس مرزنجوش قویاً مانع رشد میکروب های تولید شده در غذا شامل *L. monocytogenes*، *S. enteritidis*، *E. coli* *S. typhimurium* و *B. cereus*، *S. aureus* شد(۳). نتایج بدست آمده در این تحقیق با مطالعات صورت گرفته در مورد عصاره گیاه مرزنجوش همخوانی دارد ولی نانو ذرات نقره حاصله با استفاده از عصاره این گیاه دارای اثرات مهاری بهتری نسبت به عصاره گیاه مرزنجوش بر روی باکترهای گرم منفی و مثبت بود که شاید دلیل آن را می توان ناشی از این دانست که نانو ذرات نقره پتانسیل غشایی پلاسما را ناپایدار می کند که نتیجه آن کاهش سطح (ATP)آدنوزین تری فسفات درون سلول می باشد این عمل با هدف قرار دادن غشاء سلول باکتری انجام می شود و باعث مرگ باکتری می گردد(۱۰). نانو ذرات نقره موجب از هم گسستن اجزای ممانعت کننده موجود در غشاء خارجی باکتری می شود که باعث آزاد شدن تصاعدی مولکولهایی نظیر (LPS) لیپو پلی ساکارید و پورین ها از غشاء سیتو پلاسمی می شود. همچنین نانو نقره فقط به سطح غشاء سلولی نمی چسبد بلکه به درون سلولها هم نفوذ می کند .نانو نقره پس از نفوذ به داخل سلول باکتری آنزیمهای آن را غیر فعال کرده و با تولید هیدروژن پراکسید باعث مرگ باکتری می شودو نیز نانو ذرات نقره بعد از چسبیدن به سطح غشاء سلولی ، سیستم تنفسی را به صورت برهمکنش آنزیم با زنجیره تنفسی باکتری با +Ag تخریب می کنند(۱۰ و ۲۱). لذا مجموعه ای از عوامل ذکر شده باعث شده که نانو ذرات نقره حاصله با استفاده از عصاره این گیاه دارای اثرات مهاری بهتری نسبت به عصاره گیاه مرزنجوش بر روی باکترهای گرم منفی و مثبت از خود نشان دهد. با توجه به مطالعات فوق می توان نتیجه گرفت گیاه مرزنجوش به علت خواص بالای دارویی می تواند به عنوان گزینه‌ای مناسب در تولید نانوذرات به روش سبز مطرح باشد .در میان روشهای تولید نانوذرات، روش تولید سبز روشی پاک، ارزان، کم خطر و سازگار با محیط زیست محسوب می شود .نانوذرات نقرهای که با این روش تولید می شوند به علت عدم به کارگیری مواد شیمیایی خطرناک پتانسیل این را دارند تا در صنایع مرتبط با سلامت انسان مانند بهداشت و درمان مورد استفاده قرار گیرند و نیز نانو ذرات نقره حاصله با استفاده از عصاره این گیاه دارای اثرات مهاری بهتری نسبت به عصاره گیاه مرزنجوش بر روی باکترهای گرم منفی و مثبت بود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات سلول های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل که ما را در اجرای هر چه بهتر تحقیق یاری کردند صمیمانه کمال سپاسگزاری و قدردانی را داریم .

منابع

1. Atiyeh, B.S., Costagliola, M., Hayek, S.N. and Dibo, S.A. (2007). Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. Burn; 22: 139–148.
2. Chen, X. and Schluesener, H.J. "Nano-silver: a nanoproduct in medical application. Toxicol Lett. 2008; 34: 1–12.
3. Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas GJ, Haroutounian SA. (2004). Essential oils of Satureja, Origanum, and Thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. J. Agric. Food Chem; 52: 8261 - 7.
4. Daizy Philipa, C. Unnib.(2011) Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (Ocimum sanctum) leaf. Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures; 43: 1318–1322
5. Dakhili M, Zahraei Salehi T, Torabi Goodarzi M, Khavari A.(2006). Evaluation of antimicrobial effects of four medicinal plants against Salmonella Typiymurium and comparison them with common antibiotics in veterinary medicine. J. of Med. Plants; 20: 21 - 6.

Archive of SID

www.SID.ir

6. Faure C, Derre A, Neri W. (2003). Spontaneous formation of silver nanoparticles in multilamellar vesicles. J Phys Chem B; 107: 4738-4746.
7. Gajbhiye M, Kesharwani J, Ingle A, Gade A, Rai M. (2009). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their a- ctiveity against pathogenic fungi in com- bination with fluconazole. Nano med NBM; 5:382-6.
8. Garda-Torredey J.L. (2002). Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants.NanoLetter; 2(4): 397-401
9. Horosova K, Bujnakova D, Kmet V. (2006). Effect of oregano essential oil on chicken lactobacilli and E. coli. Fol. Microbiol. (Praha); 51: 278 - 80.
10. Hwang, E.T., Lee, J.H., Chae, Y.J., Kim, Y.S., Kim, B.C., Sang, B.and Gu, M.B. (2008). Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria; 4: 746–750.
11. Is Fatimah (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using extract of Parkia speciosa Hassk pods assisted by microwave irradiation. Journal of Advanced Research; 7(6): 961–969
12. Jansen WTM, van der Bruggen JT, Verhoef J, Fluit AC. (2006). Bacterial resistance: a sensitive issue, complexity of the challenge and containment strategy in Europe. Drug Resist Update; 9: 123 - 33.
13. Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R., Venckatesh, R. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles from extracts of Padina tetrastromatica leaf. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures; 7(3): 991 – 998.
14. Justin Packia Jacob, J.S. Finub, Anand Narayanan. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using Piper longum leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces; 91: 212–214
15. Kalemba D, Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med.Chem; 10: 813 -29
16. 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 University of Dental Journal; 4: 232-237.
17. 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. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces; 76 : 50–56
18. LaGow B. (2004). PDR for herbal Medicine. Third edition,Thomson PDR, USA, pp: 808 -9, 609 - 10.
19. Mahmoudi R, Ehsani A.,Tajik H.,Akhonzade Basti A., Khosrowshahi A.(2011). Antimicrobial effects of Mentha Longifolia L.Essential oil and Lactobacillus casei against staphylococcus aureus in Iranian White Cheese. Archive of SID; 3(1): 147-161.
20. Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Biotechnol Adv; 31(2): 346-56.
21. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A. and Ramirez,J.T. (2005).The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology; 16: 2346–2353.
22. Mostader M., Salari H., Mozafari H. and Farahmand A. (2016).Evaluation the qualitative and quantitative essential oil of Calendula officinalis and its antibacterial effects. J of cellular and molecular researches; 29: 291-301(Persian)
23. Noguez, C. (2007). Surface plasmons on metal nanoparticles: the influence of shape and physical environment. J. Phys. Chem; 10:3806-3819.
24. Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V.,Fitzpatrick, J. and Ausman, K.(2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Part Fibre Toxicol; 2: 38–43.
25. Owen E A, William G I. (1954). J.Sci Intrum; 31:17-26.
26. Penalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, Romero R, Perea A.(2005). Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. APMIS; 113: 1 -6.
27. Ponarulselvam S., C. Panneerselvam, S. Thangamani. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using leaves of Catharanthus roseus Linn. G. Don and their antiplasmodial activities. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine; 2 :574-580

Archive of SID

www.SID.ir

28. Preuss HG, Echard B, Enig M, Brook I, Elliott TB. (2005). Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-posetive and gram-negative bacteria. Mol Cell Biochem; 272: 29 - 34.

29. Rao, P., Chandraprasad, M.S., Lakshmi, Y.N., Rao, J., Aishwarya, P. and Shetty, S. (2014). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Lemon Extract and Its Antibacterial Activity. International Journal of Multidisciplinary and Current Research; 2: 165-169.

30. Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Gnanajobitha, G., Paulkumar, K., Vanaja, M., Kannan, C., Annadurai, G. (2013).Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using Turbinaria conoides and its characterization. Journal of Nanostructure in Chemistry; 3: 44-50.

31. Rezaei A., Pourali P. and Yahyaei B. Assessment of the cytotoxicity of gold nanoparticles produced by Bacillus cereus on hepatocyte and fibroblast cell lines. (2016). J of cellular and molecular researches; 29: 291-301(Persian)

32. Sadeghi, B., Rostami, A. and Momei, S.S. (2015). Facile Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Seed Aqueous Extract of *Pistacia atlantica* and Its Antibacterial Activity.Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy; 134: 326-332.

33. Sahayaraj, K.; Rajesh, S. (2011). Bionanoparticles: synthesis and antimicrobial applications. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances; 44: 228-244

34. Salehi M., Reisnia N. and Mehrabian S. (2011). Antibacterial effect of external shell of Pistacia Vera extract. Journal. Islamic Azad University Microbial Biotech Research; 3(1): 53-59.

35. Senapati, S., Syde, A., Moeez, S., Kumar, A., Ahmah, A. (2012). Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga Tetraselmis kochinensis. Materials Letters; 2:275-281

36. Shahverdi AR, Minaeian S, Shahverdi HR, Jamalifar H, Nohi AA. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using cult-ureesupernatants of Enterobacteria: a no- vel biological approach. Proc Biochem; 42:919-23.

37. Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. (2002). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachtaindica) leaf broth. J Colloid Interface Sic; 275:496–502.

38. Shankara Shiv, Akhilesh Raia, Absar Ahmadb, Murali Sastrya. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. Journal of Colloid and Interface Science; 275: 496–502

39. Singh, P.K., Bhardwaj, K., Dubey, P., Prabhune, A. (2015). UV-Assisted Size Sampling and Antibacterial Screening of *Lantana camara* Leaf Extract Synthesized Silver Nanoparticles. RSC Advances; 5: 24513-24520.

40. Sokmen M. (2004). In Vitro Antioxidant, Antimicrobial, and Antiviral Activities of the Essential oil and Various Extracts from Herbal Parts and Cullus Cultures of Origanum acutidens. J. Agric. food Chem; 52: 3309 - 12.

41. Soylu EM, Soylu S, Kurt S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato ate blight disease agent Phytophthora infestans. Mycopathologia; 161: 119 - 28.

42. Speth TF, Varma RS. (2011). Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures. Accounts Chem Res; 44: 469-478.

43. Suleiman Afsharypour, S. Ebrahim Sajjadi, Mahboobeh Erfan-Manesh. (1997). Volatile Constituents of Origanum majorana ssp. viride (syn. O. heracleoticum) from Iran. Planta Med; 63(2): 179-180

44. Susan, W.P.W., Willie, J.J.M., Carla, A.H., Werner, I.H.,Heugens, E.H.W., Roszek, B., Bisschops, J., Gosens, I. et al.(2009). Nano-silver-a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment." Nanotoxicology; 3: 109–138.

45. Thangaraju, N.; Venkatalakshmi, R.P.; Chinnasamy, A. (2012). Synthesis of silver nanoparticles and the antibacterial anticancer activities of the crude extract of Sargassum polycystum C. Agardh. Nano-Biomedical Engineering; 4(2): 89-94.

46. Tsuji T, Kakita T, Tsuji M. (2003). Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water. Appl Surf Sci; 206: 314-320.

47. Zargari A. (1987). Iranian Medicinal Plants, Tehran University Press, Tehran; 4: 51 – 59

48. Zhang YH, Chen F, Zhuang JH. Tang Y, Wang D.(2002). Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. Chem Commun; 23: 2814-2815.

Archive of SID

www.SID.ir

Synthesis of Silver Nanoparticles Using Green Method of Plant Extract European Marjoram (*Origanum majorana*) and Their Antibacterial Effects

Kavoosi S. and Yaghoubi H.

Biology Dept., Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, I.R. of Iran

Abstract

There are many different methods for the production of silver nanoparticles (Ag-NPs) but, using of plants in the synthesis of nanoparticles due to a cost effective and eco-friendly approach has been extensively noticed. In this study, the biosynthesis of silver nanoparticles by using extract of *Origanum majorana* and its antimicrobial properties has been reported. In this study, the extract of *Origanum majorana* as the reducing agent is used for the biosynthesis of silver nanoparticles. Reduction of Ag^{+} ion was obtained after 24 h by using extract of *Origanum majorana* in presence of 1 mM silver nitrate ($AgNo_3$) solution. The size, structural, optical and morphological properties of nanoparticles have been analyzed by facility of: X-ray Diffraction, Field Emission Scanning (Transmission) Electron Microscope. The antimicrobial activities of the silver nanoparticles against Bacillus cereus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus was investigated. UV-Vis spectrum exhibit an absorption band at around 400-450 nm suggestion the formation of biological Ag nanoparticles. Size and morphological properties of nanoparticles was performed by TEM which show that particles have spherical shape with diameter of about 30-70 nm. Silver nanoparticles presented the antimicrobial activity against Gram positive and Gram negative bacteria. It seems that green Synthesis of nanoparticles using plant extracts can help to increase their antibacterial effect. In the present study it was shown that the antibacterial properties of nanoparticles to increase considerably.

Keywords: Green Synthesis**,** *Origanum majorana,* Silver nanoparticle

Archive of SID

www.SID.ir