

سنتز سبز نانوذرات نقره در عصاره میوه زیتون تلخ و بررسی خاصیت ضد باکتریایی آن

سمیه شمس^{۱*} و شهرام پورسیدی^۲

*۱- نویسنده مسوول: کارشناس ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، (sshams89@ymail.com)

۲- استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۶

چکیده

امروزه تولید نانوذرات نقره به روش‌های شیمیایی مختلفی انجام می‌گیرد که دارای معایبی از جمله عدم پایداری محلول و نیازمند تجهیزات پیشرفته برای تولید است. به همین دلیل محققان به سیستم‌های سبز تولید نانوذرات، که دارای حداقل خطرات زیست محیطی بوده و روش‌های تولید ساده دارند، روی آورده‌اند. نانوذرات نقره به روش سنتز سبز با استفاده از عصاره میوه نارس زیتون تلخ سنتز شدند و تأثیر غلظت عصاره و نیترات نقره بر میزان جذب نانوذره نقره در آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. پراش اشعه ایکس به منظور تایید ساختار کریستالی نانوذرات استفاده شد، اندازه و توزیع اندازه ذرات توسط میکروسکوب الکترونی عبوری مورد بررسی قرار گرفت، سپس خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده با استفاده از روش دیسک بررسی شدند. سنتز نانوذراتی به طور نسبی موندی‌سپرس، شش ضلعی و با میانگین اندازه ۲۰ نانومتر در عصاره میوه نارس زیتون تلخ تایید شد، اثر متقابل غلظت نیترات نقره و عصاره بر میزان جذب معنی دار گردید و نانوذرات سنتز شده از لحاظ خاصیت ضد باکتریایی بر علیه استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا موثر بوده است. با توجه به اینکه مقاومت آنتی بیوتیکی یکی از مشکلاتی است که برای از بین بردن این باکتری‌ها مطرح است لذا نانومواد به عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن این باکتری‌ها می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. اما باید میزان مقاومت سوبه‌های بالینی در مقایسه با سوبه‌های استاندارد مورد بررسی قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: سنتز سبز، عصاره، نانوذره نقره، ضد باکتریایی

مقدمه

در ارتباط با استفاده از مواد خطرناک موجود در فرآیندهای سنتز، بسیاری از محققان به منظور کاهش عوامل تثبیت کننده در سنتز نانو ذرات نقره طیف گسترده‌ای از حلال‌های سازگار با محیط زیست را استفاده می‌کنند. روش‌های سنتز سبز به دنبال استفاده از واکنش دهنده‌های سازگار با محیط زیست است (رائو و همکاران^۱، ۲۰۰۶). از جمله مزیت استفاده از گیاهان در سنتز نانوذرات می‌توان استفاده آسان، امنیت زیستی و دارا بودن تنوع وسیعی از متابولیت‌ها که در عمل کاهش یون دخیل هستند را نام برد. گیاهان بسیاری به منظور

روش‌های شیمیایی سنتز نانوذرات معمولاً منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی و عدم استفاده از نانو ذرات حاصل در کاربردهای زیستی می‌شود، همچنین روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیار گران قیمت و خطرناک هستند و ممکن است اثر ناسازگاری در کاربرد پزشکی داشته باشند. سنتز نانو ذره با استفاده از میکروارگانیزم‌ها و گیاهان می‌تواند به رفع این مشکل کمک کنند (روی و همکاران^۱، ۲۰۱۰؛ انکاموار و همکاران^۲، ۲۰۰۵). در پاسخ به نگرانی از خطرات بالقوه

3- Rao et al.

1- Roy et al.

2- Ankamwar et al.

ایکس (بانکار و همکاران^{۱۰}، ۲۰۱۰) استفاده شده است و در نهایت تایید نهایی وجود نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (روی و همکاران، ۲۰۱۰؛ شانکار و همکاران، ۲۰۰۴؛ لوکمان و همکاران^{۱۱}، ۲۰۱۰) به انجام رسیده است. در این پژوهش به منظور سنتز سبز نانوذرات نیز از روش اسپکتروفوتومتری، پراش اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی استفاده شد و سپس خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده بر علیه استافیلوکوکوس ارئوس^{۱۲} و سودوموناس آئروژینوزا^{۱۳} مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره و سنتز نانوذره

به منظور تهیه عصاره میوه نارس زیتون تلخ از روش خیساندن در حرارت استفاده شد. ۵۰ گرم میوه نارس با استفاده از الکل ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه، سپس هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ۵ دقیقه و ۳ بار شستشو ضد عفونی و سپس آسیاب گردید، ۵۰۰ میلی لیتر آب دی یونیزه دو بار استریل به پودر حاصل افزوده شد و به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در حال هم زدن بر روی همزن حرارت داده شد. مایع حاصل دو بار با دور rpm ۲۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ، فاز رویی جدا و عصاره بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۰/۴۵ میکرومتر صاف گردید. غلظت ۵، ۱۰، ۲۰ درصد به صورت ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم پودر میوه در ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار یونیزه تهیه شد و مورد تیمار قرار گرفت. به منظور سنتز از پودر نیترات نقره شرکت مرک^{۱۴} آلمان استفاده گردید و تیمار ۲۰ میلی لیتر عصاره با غلظت‌های ۱، ۲، ۳ میلی مولار نیترات نقره در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی گراد و pH= ۵/۶ انجام شد. سپس به منظور بررسی اثر عوامل مختلف بر میزان جذب طول

بررسی نقش آنها در سنتز نانوذره در حال بررسی هستند برای مثال عصاره برگ گیاه چریش^۱ برای سنتز خارج سلولی فلز خالص نقره و نانوذره دو فلزی نقره/ طلا مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از عصاره برگ چریش در جهت سنتز نانوذره از مزیت تشکیل سریع نانوذرات طلا و نقره با غلظت‌های بالا برخوردار است (شانکار و همکاران^۲، ۲۰۰۴). نانوذرات نقره و نانوذرات طلای کروی و مثلثی با استفاده از بیومس برگ خشک شده *Cinnamomum camphora* همراه با پیش‌ماده‌های نقره و طلا در دمای محیط سنتز شده‌اند (هوانگ و همکاران^۳، ۲۰۰۷). سنتز نانوذره با استفاده از گیاهانی همچون سلمه تره^۴ (داویدی و همکاران^۵، ۲۰۱۰)، دارچین (فیلیپ و همکاران^۶، ۲۰۱۰) و عصاره میوه لیمو (پرتنا و همکاران^۷، ۲۰۱۱) به انجام رسیده است. عصاره میوه انگور هندی پتانسیل سنتز خارج سلولی نانوذرات طلا و نقره را دارد (انکاموار و همکاران، ۲۰۰۵). عصاره به دست آمده از پوست موز با توجه به دارا بودن پلیمرهایی مانند لیگنین، همی سلولز و پکتین می‌تواند در سنتز نانوذرات نقره استفاده شود (هپی اماگا و همکاران^۸، ۲۰۰۷). تشکیل نانوذرات مثلثی با استفاده از عصاره آلوئه ورا نیز مشاهده شده است (چندران و همکاران^۹، ۲۰۰۶). سنتز درصد بالایی از ذرات طلای مثلثی به شکل نازک، تخت، و تک بلوری با استفاده از عصاره برگ لیمو توسط شنکر و همکاران به انجام رسیده است. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که به منظور تایید سنتز نانوذرات از روش‌های اسپکتروفوتومتری (روی و همکاران، ۲۰۱۰)، پراش اشعه

- 1- *Azadirachta indica*
- 2- Shankar *et al.*
- 3- Huang *et al.*
- 4- *Chenopodium album*
- 5- Dwivedi *et al.*
- 6- Philip *et al.*
- 7- Prathna *et al.*
- 8- Happi Emaga *et al.*
- 9- Chandran *et al.*

- 10- Bankar *et al.*
- 11- Lukman *et al.*
- 12- *Staphylococcus aureus*
- 13- *Pseudomonas aeruginosa*
- 14- MERCK

تهیه شد، سپس به مدت ۱۰ دقیقه به منظور وضوح بهتر ذرات، نمونه با استفاده از دستگاه التراسونیک تفکیک گردید، نمونه بر روی لایه فورم وار پوشیده شد و بر روی گرید میکروسکوب قرار گرفته و تصاویر با بزرگ‌نمایی-های مختلف به همراه مقیاس در تصویر گرفته شد. میکروسکوب استفاده شده در این پژوهش مدل LEO912-AB ساخت شرکت لئو^{۱۰} آلمان می‌باشد. بررسی وجود ساختار کریستالی نانوذرات سنتز شده با در نظر گرفتن طول موج اشعه X در $\lambda = 1/54.05 \text{ \AA}$ و محدوده‌ی زاویه‌ی براگ ($2\theta \leq 80^\circ \leq 30^\circ$) توسط دستگاه پراش اشعه ایکس مدل PANalytical, X PERTPRO ساخت کشور هلند انجام شد.

تهیه محیط کشت و بررسی اثرات ضد باکتریایی

به منظور تهیه محیط کشت ۲/۵ گرم پودر ال بی^{۱۱} و ۲ گرم پودر آگار با استفاده از آب دوبار یونیزه به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی-گراد و فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو انجام شد، سپس میزان ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت به هر پتری‌دیش اضافه گردید. در این بررسی سویه‌های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس PTU 1431 و سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430 به عنوان سویه‌های استاندارد استفاده شد. به منظور تهیه سوسپانسیون باکتری از محیط کشت ال بی مایع استفاده شد، با استفاده از لوپ، کلونی از باکتری‌های استاندارد به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع اضافه گردید، بطری‌های شیشه‌ای حاوی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب در دمای بهینه ۳۷ و ۳۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتر شیک شدند، پس از گذشت این زمان تغییر رنگ محیط ال بی مایع به شیری رنگ نشانه دهنده‌ی رشد باکتری و غلظت ۰/۵ تا ۱ است. پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های رشد کرده به

موج تعریف شده نانو ذره نقره در گیاه زیتون تلخ آزمایش فاکتوریل با دو عامل (A) و (B) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن غلظت‌های نیترات نقره به عنوان عامل (A) با سه سطح (a₁) ۱mM، mM (a₂) و ۲ (a₃) و غلظت‌های مختلف عصاره به عنوان عامل (B) با سه سطح زیتون تلخ (b₁) ۱/۵٪، (b₂) ۱۰٪، (b₃) ۲۰٪ در دمای اتاق در شرایط آزمایشگاه انجام و تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار سس^۱ و برنامه اکسل^۲ انجام شد. مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم افزار ام اس تاسی^۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این تحقیق از دستگاه‌هایی همچون اسپکتروفوتومتر مرئی- ماورابنفش^۴، میکروسکوپ الکترونی عبوری^۵، پراش اشعه ایکس^۶ به منظور بررسی وجود نانو ذره سنتز شده با کمک عصاره میوه نارس زیتون تلخ استفاده شد. طیف جذبی نانوذرات سنتز شده توسط اسپکتروفوتومتر مرئی- ماورابنفش مدل Scan drop 250- 211FO75 ساخت شرکت آنالیتیک ژنا^۷ کشور آلمان اندازه گیری شد بدین منظور از عصاره تیمار شده در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری انجام شد و با استفاده از کوئت^۸ دستگاه و بلافاصله قبل از خشک شدن نمونه، میزان جذب طول موج در محدوده‌ی ۴۲۰-۴۵۰ نانومتر قرائت شد. محدوده‌ی ۴۲۰-۴۵۰ نانومتر محدوده‌ی طول موج مربوط به عنصر نقره است که بسته به اندازه و شکل ذره در این محدوده در طیف جذبی نوسان دیده می‌شود. ارتفاع طیف بیانگر میزان جذب بر واحد^۹ است. به منظور بررسی تصویر نانوذره توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری پودر شیمیایی فورم وار به صورت لایه‌های نازکی

- 1- SAS
- 2- EXCEL
- 3- MSTATC
- 4- UV-visible
- 5- Transmission electronic microscope (TEM)
- 6- X-Ray Diffraction (XRD)
- 7- Analyticgena
- 8- Cuvette
- 9- Absorbance per unit (a.u)

10- LEO

11- LB-Bouillon (MILLER)

شمس و پور سیدی: سنتز سبز نانوذرات نقره در عصاره میوه زیتون تلخ و ...

اعمال شود که غلظت بهینه عصاره نیز استفاده می‌شود نسبت به شرایط عدم استفاده از غلظت بهینه، افزایش میزان جذب در پی خواهد داشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
نیترات نقره (A)	۲	۰/۶۶۸**
عصاره (B)	۲	۰/۱۵۳**
اثر متقابل (AB)	۴	۰/۰۰۴*
اشتباه آزمایشی	۱۶	۰/۰۰۱

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

بر اساس جدول مقایسه میانگین جدول ۲ کلیه ترکیبات تیماری در گروه جداگانه‌ایی قرار گرفته و تنها ترکیب تیماری a_2b_3 مربوط به تیمار غلظت ۲ میلی-مولار نیترات نقره در غلظت عصاره ۲۰ درصد که حد واسط a_3b_1 و a_2b_2 می‌باشد، در گروه مشترک CD قرار گرفته است. به عنوان بهترین ترکیب با توجه به اینکه ترکیبات تیماری مختلف در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته‌اند، می‌توان ترکیب تیماری a_3b_3 یعنی غلظت ۳ میلی‌مولار نیترات نقره در غلظت عصاره ۲۰ درصد با میزان جذب $1/1432 a.u$ را بهترین ترکیب در افزایش میزان جذب نانوذره در عصاره میوه نارس زیتون تلخ اعلام کرد.

الگوی پراش اشعه ایکس عصاره گیاه تیمار شده‌ی زیتون تلخ در شکل ۲ نشان داده شده است، بر اساس الگوی پراش اشعه ایکس نقره/گیاه مشخص شد که بیشترین فاز سنتز شده نقره می‌باشد و حاکی از نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره میوه نارس زیتون تلخ است. قله $38/1$ درجه مربوط به ساختار کریستالی 111 ، قله $44/3$ درجه مربوط به صفحات کریستالی 200 ، قله $64/6$ درجه مربوط به صفحات کریستالی 220 ، قله $77/66$ درجه مربوط به صفحات کریستالی 311 فلز نقره می‌باشند، قله‌های اضافی مربوط به ترکیبات دیگری است

محیط کشت ال بی جامد افزوده شد و سپس با استفاده از لوپ استریل بر روی محیط کشت جامد پخش گردید. بررسی خاصیت ضد باکتریایی با استفاده از روش دیسک کاغذی انجام شد. سه صفحه کاغذی استریل با ابعاد ۶ میلی‌متر به ترتیب آغشته به ۶ میکرولیتر محلول ذخیره $0/1$ مولار نیترات نقره خالص به منظور بررسی اثر یون نقره، ۶ میکرولیتر عصاره به عنوان شاهد و ۶ میکرولیتر عصاره تیمار شده دارای نانوذره نقره با غلظت سه میلی‌مولار روی محیط کشت تازه تلقیح شده قرار داده شد. محیط کشت‌های تلقیح شده به مدت ۵ دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا قبل از شروع فعالیت باکتری، ماده موثره صفحه‌های کاغذی جذب محیط گردند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه رشد باکتری قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، قطر حاله عدم رشد به عنوان شاخص خاصیت ضد باکتریایی نمونه‌ها (شاهد، یون و نانوذره نقره) اندازه‌گیری و ثبت گردید.

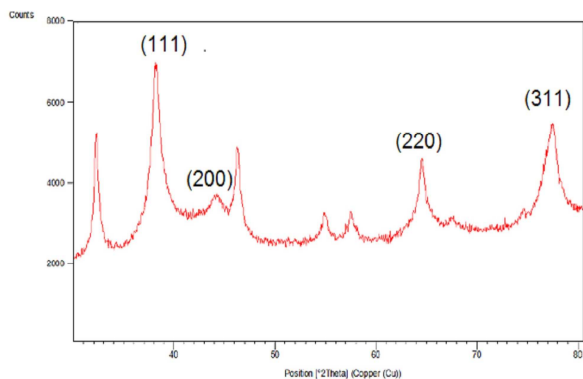
نتایج و بحث

مطالعات نانوذرات سنتز شده به روش سبز

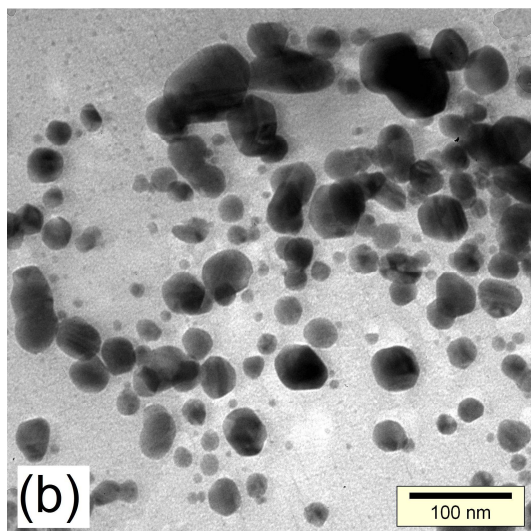
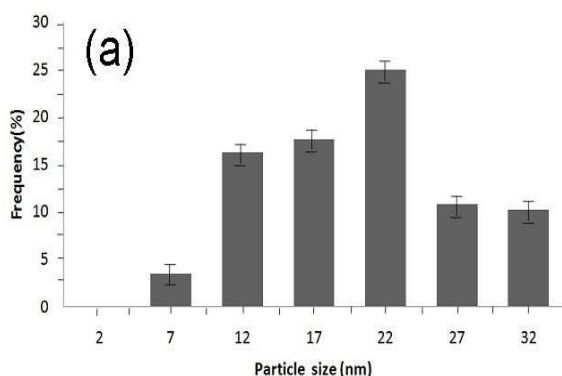
در مطالعات اسپکتروفتومتری تجزیه واریانس میزان جذب رزونانس پلاسما سطحی^۱ نانوذرات نقره سنتز شده پس از گذشت ۳۰۴ ساعت توسط عصاره میوه نارس زیتون تلخ در جدول ۱، حاکی از معنی‌دار بودن اثر ساده عامل‌های A و B در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد. معنی‌دار بودن اثر متقابل به این معنی است که استفاده یا عدم استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره (عامل B) به غلظت‌های مختلف نیترات نقره (عامل A) بستگی داشته است. بنابراین مقایسه سطوح A که در سطوح مختلف B میانگین آن‌ها گرفته شده است، بی‌معنی خواهد بود و حاکی از آن است که در شرایطی که غلظت عصاره بهینه نباشد، افزایش غلظت نیترات نقره سودی نخواهد داشت و در صورتی که غلظت بهینه نیترات نقره در شرایطی

1- Surface Plasma Rezonans

با توجه به شکل ۲ (b) توزیع اندازه ذرات در محدوده ۷ تا ۳۲ نانومتر و میانگین ۲۰ نانومتر سنجیده شد.



شکل ۱- الگوی پراش اشعه ایکس عصاره میوه نارس زیتون تلخ تیمار شده



شکل ۲- عکس TEM از نانوذرات سنتز شده در عصاره تیمار شده زیتون تلخ: (a) توزیع اندازه ذرات نقره سنتز شده توسط عصاره میوه نارس زیتون تلخ (b) بزرگ نمایی ۴۰۰۰۰

که در عصاره گیاه وجود داشته و دارای ساختار کریستالی می‌باشند. بر اساس مطالعات انجام شده و با توجه به صفحات کریستالی بیان شده، مشخص شد که نقره در ساختار مکعبی مراکز وجوه پرمتلور شده است.

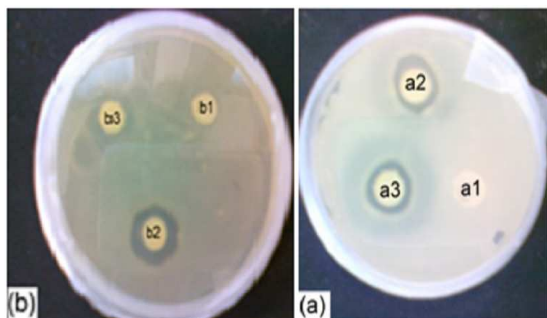
جدول ۲- مقایسه میانگین سطوح B (عصاره) در هر سطح A (نیترا نقره)

میانگین میزان جذب (a.u)	عصاره B (%)	نیترا نقره A (mM)
۱/۱۴۳ ^A	۲۰	۳
۰/۹۴۵ ^B	۱۰	۳
۰/۷۸۹ ^C	۵	۳
۰/۸۴۴ ^{CD}	۲۰	۲
۰/۷۲۶ ^D	۱۰	۲
۰/۶۴۶ ^E	۵	۲
۰/۵۳۳ ^F	۲۰	۱
۰/۳۵۲ ^G	۱۰	۱
۰/۲۷۰ ^H	۵	۱

میانگین‌های دارای حرف مشترک تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

عدم قطعیت نتایج آزمون در سطح اطمینان، بزرگتر یا مساوی ۹۵٪ هستند. نتایج پژوهش حاضر با گزارش‌های (شنیا و همکاران^۱، ۲۰۱۱؛ بار و همکاران^۲، ۲۰۰۹؛ سنگال و همکاران^۳، ۲۰۱۱) مطابقت داشته و مؤید این مطلب است که بر اساس ساختار کریستالی ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ در مطالعات پراش اشعه ایکس بیشترین فاز سنتز شده نقره می‌باشد و تاییدی بر نتایج پژوهش حاضر است. تصویر سنتز سبز نانوذرات نقره در عصاره زیتون تلخ ۲۰ درصد، تیمار شده با غلظت ۳ میلی‌مولار نیترا نقره (شکل ۲ (a)) با استفاده از میکروسکوب الکترونی عبوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰۰۰ و ولتاژ ۸۰ کیلوولت نشان دهنده ذراتی اکثراً شش ضلعی و مونو دیسپرس می‌باشد.

- 1- Shenya *et al.*
- 2- Bar *et al.*
- 3- Singhal *et al.*



شکل ۳- (a) بررسی خاصیت ضد استافیلوکوکوس ارتوس میوه زیتون تلخ (a₁) عصاره شاهد (a₂) عصاره تیمار شده با غلظت ۰/۰۰۳ مولار نیترات نقره (a₃) محلول ذخیره با غلظت ۰/۱ مولار نیترات نقره (b) بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده با عصاره میوه نارس زیتون تلخ بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا (b₁) عصاره شاهد (b₂) عصاره تیمار شده با غلظت ۰/۰۰۳ مولار نیترات نقره (b₃) محلول ذخیره با غلظت ۰/۱ مولار نیترات نقره

نتایج موید این مطلب است که عصاره میوه نارس زیتون تلخ حاوی ترکیباتی است که در سنتز سبز نانوذرات موفق عمل کرده است. عوامل کاهش یون نقره می تواند هر گونه عصاره های گیاهی و عوامل بیولوژیکی باشد که در کاهش یون های نقره و شکل گیری نانوذرات نقره موثر بوده است. با توجه به میزان توانایی عامل کاهش می توان اندازه ذرات و سرعت سنتز را کنترل کرد (نیکولاج و همکاران^۳، ۲۰۰۶). در این پژوهش مشخص شد میزان عصاره مورد استفاده برای سنتز نانوذرات در هنگام واکنش تأثیر زیادی بر روی سنتز نانوذرات دارد. در واقع غلظت عصاره عامل پایداری است (اوننین و همکاران^۴، ۲۰۰۸؛ مندل و همکاران^۵، ۲۰۰۵). در صورتی که بخواهیم در مطالعات ضد باکتریایی اثر نانوذره های سنتز شده را در ممانعت از رشد باکتری ها مطرح نماییم لزوماً باید درصد نانوذره تولید شده را با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری بر اساس نشر نور و برانگیختگی به کمک پلاسما بدست آوریم

نتایج بدست آمده از طیف سنجی نوری بر اساس نشر نور و برانگیختگی به کمک پلاسما^۱، درصد تبدیل یون به نانوذره در در عصاره زیتون تلخ ۲۰ درصد، تیمار شده با غلظت ۳ میلی مولار نیترات نقره بر اساس معادله $Q = \left(\frac{c_e - c_f}{c_0} \right) \times 100$ به ترتیب ۹۸/۸ درصد اعلام گردید که حاکی از تبدیل بالای یون نقره به نانوذره نقره در عصاره تیمار شده و افزایش درصد تبدیل یون به نانوذره پس از افزایش غلظت عصاره است.

مطالعات ضد باکتریایی نانوذرات سنتز شده

محیط کشت باکتری استافیلوکوکوس ارتوس شکل ۳ (a) نشان داد که صفحه کاغذی آغشته با عصاره ۲۰ درصد میوه نارس زیتون تلخ تیمار نشده (شاهد) حالت عدم رشد تشکیل نداده، به عبارتی هیچ گونه اثر ضد باکتریایی نداشته در حالی که صفحه محتوی نانوذره نقره یا به عبارتی عصاره تیمار شده با غلظت ۳ میلی مولار نیترات نقره که غلظت بهینه سنتز به شمار می آید، قطر حالت عدم رشد ۹ میلی متر در محیط کشت باکتری تشکیل داد، بررسی محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوزا در شکل ۳ (b) نشان داد که صفحه کاغذی آغشته با عصاره ۲۰ درصد میوه نارس زیتون تلخ تیمار نشده (شاهد) مشابه محیط کشت باکتری استافیلوکوکوس ارتوس هیچ گونه اثر ضد باکتریایی نداشته در حالی که صفحه آغشته با عصاره ۲۰ درصد میوه نارس زیتون تلخ تیمار شده با غلظت ۳ میلی مولار نیترات نقره قطر حالت عدم رشد ۱۱ میلی متر در محیط کشت باکتری سودوموناس آئروژینوزا تشکیل داد، صفحه آغشته با یون نقره نیز قطر حالت عدم رشد ۷ میلی - متر در محیط کشت باکتری تشکیل داد. بنابراین می توان این طور اعلام کرد که غلظت بهینه سنتز نانوذره بررسی شده در جهت خاصیت ضد باکتریایی استافیلوکوکوس ارتوس و سودوموناس آئروژینوزا موثر بوده است.

3- Nikolaj *et al.*
4- Olenin *et al.*
5- Mandal *et al.*

1- Inductively coupled plasma spectrometry (ICP)
2- Inhibition zone diameter

بدین منظور استفاده از طیف سنجی نوری بر اساس نشر نور و برانگیختگی به کمک پلاسما مفید می‌باشد (پرتنا و همکاران، ۲۰۱۱)، که در پژوهش حاضر استفاده گردیده است. بررسی خاصیت ضد استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا نانو ذرات نقره سنتز شده به روش سبز مطابق نتایج تحقیقات اوزا و همکاران^۱ (۲۰۱۲) است. همچنین با توجه به این که مقاومت آنتی بیوتیکی یکی از مشکلاتی است که برای از بین بردن این باکتری‌ها بسیار مطرح است لذا نانومواد به عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن این باکتری‌ها می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (فورتنر و همکاران^۲، ۲۰۰۵).

نتیجه گیری

بر اساس مطالعه انجام شده عصاره میوه نارس زیتون تلخ قابلیت تولید نانوذرات نقره مجتمع و پایدار را دارد و از خاصیت ضد باکتریایی بر علیه استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا برخوردار است. با توجه به این که مقاومت آنتی بیوتیکی یکی از مشکلاتی است که برای از بین بردن این باکتری‌ها بسیار مطرح است لذا نانومواد به عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن این باکتری‌ها می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. اما باید میزان مقاومت سویه‌های بالینی در مقایسه با سویه‌های استاندارد مورد بررسی قرار گیرد.

سپاس گزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه با کد رهگیری ۲۱۰۱۲۷۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شده است.

1- Oza *et al.*

2- Fortner *et al.*

منابع

1. Ankamwar, B., Damle, C., Ahmad, A., and Sastry, M. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblica officinalis* fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution. *Journal of Nanoscience Nanotechnology*, 5: 1665–1671.
2. Bankar, A., Joshi, B., Kumar, R.A., and Zinjardea, S. 2010. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Colloids and Surfaces A: Physicochem*, 368 : 58–63.
3. Bar, H., Kr Bhui, D., Sahoo, G., Sarkar, P., Pyne, S., and Misra, A. 2009. Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Jatropha curcas*. *Journal of Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering*, 348: 212–216.
4. Chandran, S.P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., and Sastry, M. 2006. Synthesis of gold nano triangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. *Journal of Biotechnology Progress*, 22: 577–58.
5. Dwivedi, A.D., and Gopal, K. 2010. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Journal of Colloids Surface A*, 369: 27–33.
6. Fortner, J.D., Lyon, D.Y., Sayes, C.M., Boyd, A.M., Falkner, J.C., and Hotze, E.M. 2005. Nanocrystal formation and microbial response. *Journal of Environment Science Technology*, 39:4307-4316.
7. Happi Emaga, T., Robert, C., Ronkart, S.N., Wathelet, B., and Paquot, M. 2007. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties, *Bioresour. Journal of Technology*, 99: 4346–4354.
8. Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., and Yang, X. 2007. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Journal of Nanotechnology*, 18: 105104–105114.
9. Lukman, A., Gong, B., Marjo, CH., Roessner, U.T., and Harris, A. 2010. Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. *Journal of Colloid and Interface Science*.
10. Mandal, S., Arumugam, S.K., Pasricha, R., and Sastry, M. 2005. Silver nanoparticles of variable morphology synthesized in aqueous foams as novel templates. *Journal of Bulletin of Materials Science*, 28: 503-510.
11. Nikolaj, L., Kildeby, O.Z., Andersen, R.E., Røge, T.L., Petersen, R., and Riis, J.F. 2006. Silver Nanoparticles. P3 Project, Institute for Physics and Nanotechnology. Aalborg University.

12. Olenin, A.Y., Krutyakov, Y.A., Kudrinskii, A.A., and Lisichkin, G.V. 2008. Formation of surface layers on silver nanoparticles in aqueous and water-organic media. *Journal of Colloid*, 70:71–76.
13. Oza, G., Pandey, S., Shah, R., and Sharon, M. 2012. Extracellular Fabrication of Silver Nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa* and its Antimicrobial Assay. *Journal of Science Research*, 3(3): 1776-1783.
14. Philip, D. 2010. Rapid green synthesis of spherical gold nanoparticles using *Mangifera indica* leaf . *Journal of Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 42: 1417–1424.
15. Prathna, T.C., Chandrasekaran, N., Raichur, A.M., and Mukherjee, A. 2011. *Journal of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82: 152–159.
16. Rao, C.R.K., and Trivedi, D.C. 2006. Biphasic synthesis of fatty acids stabilized silver nanoparticles: Role of experimental conditions on particle size. *Journal of Materials Chemistry and Physics*, 99: 354-360.
17. Roy, N., and Barik, A. 2010. Green Synthesis Of Silver Nanoparticles From The Unexploited Weed Resources. *Int. Journal of Nanotechnology*, 4: 95–101.
18. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., and Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au ,Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid Interface Science*, 275: 496–502.
19. Shenya, D.S., Mathewa, J., and Philip, D. 2011. Phytosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. *Journal of Spectrochimica Acta Part A*, 79: 254–262.
20. Singhal, G., Bhavesh, R., Kasariya, K., and Sharma, A. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 13: 2981–2988.