مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۵، شماره ۲، تابستان ۹۴، صفحات ۱۱۲ تا ۱۱۸

Original Article

بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره تولید شده به وسیله عصاره آبی و متانولی گیاه عناب

مریم نیکبخت[۱]، پرستو پورعلی[۲]

[۱] کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور
[۲]مربی، دانشکده پزشکی، گروه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود

چکیده

سابقه و هدف: *اگرچه راه های مختلفی به منظور تولید نانوذرات وجود دارد، اما روش تولید زیستی به علت دارا بودن ویژگی‌هایی مانند عدم نیاز به مصرف انرژی و سازگاری با محیط زیست مورد توجه محققین واقع شده است. در مطالعه حاضر تولید زیستی و اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره بوسیله عصاره میوه گیاه عناب مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *ابتدا عصاره آبی و متانولی میوه گیاه عناب با محلول نیترات نقره در غلظت نهایی ۱ میلی مولار مجاور شد. پس از تغییر رنگ، محلول‌های واکنش به وسیله روش های اسپکتروفتومتری، پراش پرتوی ایکس و میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت اثر ضد باکتریایی نانوذرات تولید شده در برابر برخی سویه های باکتریایی بیماری زا بررسی شد.*

یافته‌ها: *محلول‌های حاوی نانوذرات دارای بیشینه چگالی نوری در طول موج ۴۲۰ نانومتر بودند. وجود نانوذرات نقره بوسیله پراش پرتوی ایکس تایید شد. تصاویر میکروسکوپ الکترنی عبوری نشان داد که نانوذرات نقره تولید شدهکروی شکل و با اندازه حدود ۵ الی ۵۰ نانومتر بودند. نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد که نانوذرات تولید شده اثر مناسبی را بر روی چهار باکتری مورد آزمایش داشتند. نانوذرات حاصله در مقایسه با محلول شاهد و نیز عصاره خالص گیاهان خواص ضد میکروبی بهبود یافته ای را دارا بودند.*

نتیجه‌گیری: *به نظر می رسد که تولید زیستی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان می تواند به افزایش خواص دارویی آنها کمک کند. در تحقیق حاضر نشان داده شد که خواص ضد باکتریایی عصاره های حاوی نانوذرات به شکل محسوسی افزایش یافت. افزایش دیگر خواص این نانوذرات می تواند در آینده مورد بررسی قرار گیرد.*

واژگان کلیدی: *عصاره آبی عناب،عصاره متانولی عناب، نانوذرات نقره، تولید زیستی.*

مقدمه

امروزه نانوفناوری به علت کاربرد وسیع و فراوان در علوم و صنایع با سرعت بالایی در حال رشد می باشد. نانوفناوری علمی است که بر پایه نانوذرات استوار است (۱). نانوذرات موادی با ساختار سه بعدی می باشند که اندازه آنها از ۱ تا ۱۰۰ نانومتر متغییر است. این مواد از ده ها و یا صدها اتم یا مولکول تشکیل شده‌اند که اندازه و اشکال مختلفی مثل بلوری، کروی، سوزنی، بی شکل و... را شامل می‌شوند (۲). برای تولید نانوذرات روش‌های مختلفی مانند واکنش‌های شیمیایی و فتوشیمیایی در میسل معکوس، تجزیه حرارتی ترکیبات با کمک گرفتن از پرتوها، روش های الکتروشیمیایی، سونوشیمیایی، پردازش با امواج میکرو و...وجود دارد اما متاسفانه در اکثر روشهایی که منجر به تولید نانو ذرات می شود استفاده از مواد خطرناک یک اجبار است. از معایب دیگر این روش‌ها می‌توان به تولید کم نانوذرات، اتلاف انرژی زیاد و تخلیص مشکل و بی فایده اشاره نمود (۳). از این رو نیاز به

آدرس نویسنده مسئول: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، پرستو پورعلی
(**email**: parastoo_pourali@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۹/۲٤
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۱/۱

روشی با بازده بالا، قیمت کم، بدون تولید مواد سمی و بدون آسیب های زیست محیطی رو به افزایش می باشد. یکی از روش‌های تولید نانوذرات، تولید به روش زیستی است و توجه به این روش برای تولید نانوذرات رو به افزایش می‌باشد. فهرستی عظیم از منابعی که در تولید زیستی نانوذرات فلزی به کار می روند موجود است. مواردی مانند گیاهان، محصولات گیاهان، جلبک ها، قارچ ها، مخمر ها، باکتری ها و ویروس ها در تولید زیستی نانوذرات کاربرد دارند (۴).

استفاده از گیاهان به علت سازگاری با محیط و فراوانی معمولا فاقد این مشکلات می باشد. گیاهان به علت سازگاری با محیط می توانند به طور گسترده مورد استفاده قرار گیرند، بدون اینکه منجر به بروز آسیب های زیست محیطی شوند. همچنین گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد گزینه‌ای مناسب برای تولید نانوذرات به روش زیستی محسوب می‌شوند (۵, ۶). تاکنون تولید زیستی نانوذرات نقره به وسیله گیاهانی مانند Artemisia nilagirica (۷)، Acalyphaindica (۸)، Piper longum (۹)، Ocimum sanctum (۱۰)، Catharanthus roseus (۱۱)، Azadirachta indica (۱۲) و بسیاری از دیگر گیاهان انجام گرفته است.

نانوذرات نقره‌ای که به روش زیستی تولید می‌شوند، دارای خصوصیاتی مانند میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا می‌باشند. با وجود اینکه اثرات ضد میکروبی نقره بر روی باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها به خوبی شناخته شده است، اما مکانیسم و روش اثر نقره بر روی انواع میکروب‌ها هنوز ناشناخته است. اثرات ضد باکتری نانوذرات نقره از نقره بسیار بیشتر می‌باشد و این امر به علت نسبت بالای سطح به حجم در نانوذرات نقره است که موجب بالا رفتن تاثیر نانوذرات نقره بر روی باکتری‌ها می‌شود (۱).

در مطالعه پیش رو تولید زیستی نانوذرات نقره توسط میوه گیاه عناب مورد بررسی قرار گرفت. نام علمی گیاهی که در ایران از آن به عنوان عناب نام برده می شود Ziziphus vulgaris می باشد. این گیاه یک درخت برگریز است که بومی مناطق گرم، نیمه گرمسیر و معتدل مانند شمال آفریقا، جنوب اروپا، مدیترانه، جنوب و شرق آسیا و خاورمیانه می باشد. این گیاه به طور گسترده در مناطق شمال شرقی، شرق و مرکز ایران کشت می‌شود. از خواص میوه گیاه عناب می‌توان به اثرات ضد باکتریایی، آنتی ایکسیدانی، تسکین دهندگی، ضد فشار و قند اشاره کرد (۱۳).

در مطالعه حاضر سعی شده است تا علاوه بر بررسی تولید زیستی نانوذرات بوسیله عصاره آبی و متانولی میوه عناب، افزایش اثر ضد باکتریایی عصاره به واسطه نانوذرات تولید شده نسبت به عصاره آبی و متانولی خالص این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، میوه گیاه عناب به طور مستقیم از باغ های شهر نیشابور تهیه شد. به منظور تایید جنس و گونه گیاه عناب، گیاه مورد نظر توسط متخصص گیاه شناسی بررسی شد. کلیه مواد مورد استفاده در این مطالعه ساخت شرکت سیگما آلدریچ کشور آلمان بودند. در ساخت کلیه محلول‌ها و محیط‌های کشت نیز از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه اشرشیاکلی ATCC 11303، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 342، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538 و باسیلوس سرئوس ATCC 12817 بودند که از بخش میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران تهیه شدند.

برای تهیه عصاره آبی، ۲۰ گرم میوه عناب را شسته و در دمای اتاق قرار داده تا کاملا خشک شود. گیاه مورد نظر به وسیله هاون چینی خرد شد و به صورت قطعاتی با قطر تقریبی ۳ تا ۵ میلی متر درآمد. ۲۰ گرم از میوه خرد شده به وسیله ترازو توزین شد و در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتر ریخته و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر به آن اضافه گردید. این مخلوط برای مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد. عصاره آبی با استفاده از کاغذ صافی (با منافذ ۲۵ میکرونی) صاف شد و در لوله فالکون ریخته و برای استفاده های بعدی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (۳).

به منظور تهیه عصاره متانولی، از روش سوکسیله استفاده شد. برای این کار میوه عناب به روشی که برای عصاره آبی گفته شد آماده سازی شد. برای عصاره گیری ۲۰ گرم از میوه خشک و خرد شده گیاه مورد نظر در مخزن دستگاه قرار گرفت و در بالون ۲۵۰ میلی لیتری دستگاه مقدار ۱۰۰ میلی لیتر متانول ریخته شد. پس از روشن کردن هیتر، عصاره گیری به مدت ۲ ساعت ادامه یافت. عصاره متانولی با استفاده از کاغذ صافی (با منافذ ۲۵ میکرونی) صاف شد و سپس در فالکون ریخته و برای استفاده های بعدی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۱۴, ۱۵).

برای تولید نانوذرات نقره، در ابتدا محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار تهیه و برای تولید زیستی نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور ۱۰ میلی لیتر از عصاره مورد نظر به ۹۰

میلی لیتر نیترات نقره ۱ میلی مولار اضافه شد و به منظور کاهش یون‌های نقره محلول در دمای اتاق و در شرایط تاریکی نگهداری شد (۹).

در بررسی تولید نانوذرات نقره، پس از تغییر رنگ محلول واکنش به قهوه ای تیره، تعیین چگالی نوری محلول حاوی نانوذرات نقره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Genway مدل ۶۳۰۵ در طول موج ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر و با دقت ۲۰ نانومتر انجام شد. به منظور بررسی تولید نانوذرات به وسیله روش پراش پرتوی ایکس (XRD) محلول واکنش بوسیله دستگاه خشک کن به صورت پودر در آمده و برای بررسی توسط دستگاه پراش پرتوی X آماده شد.پس از آماده سازی نمونه بر روی بستر شیشه ای، اِسکن توسط دستگاه پراش پرتوی ایکس با زاویه اسکن 2θ و محدوده اسکن از ۵ تا ۹۰ درجه انجام شد. ولتاژ استفاده شده ۴۰ KV و جریان ۳۰ mA و جنس آند از مس بود. نرخ اسکن بر روی $2^{\circ}/min$-1 تنظیم شد. مشاهده و عکس‌برداری از نانوذرات تولید شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری انجام شد. برای این آزمون نانوذرات بر روی توری مسی پوشیده شده از کربن ثابت شدند و پس از خشک کردن با لامپ مادون قرمز، عکس‌برداری با دقت ۲/۳۲ آنگستروم انجام شد.

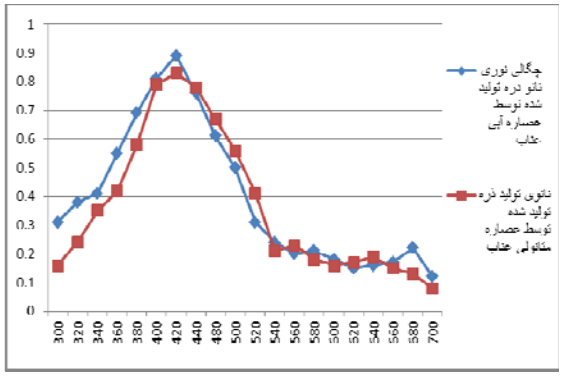
برای انجام آزمون‌های ضد باکتریایی، از روش ایجاد چاهک در آگار استفاده شد. در ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شد و در پلیت تقسیم گردید. سپس به تعداد نمونه‌های مورد نظر، در داخل لوله‌های آزمایش استریل مقدار ۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ریخته شد. در مجاور شعله مقدار مناسب از کلونی‌های باکتریایی در سرم فیزیولوژی و در داخل لولهٔ مربوط به آنها تلقیح شد. محتویات لوله ورتکس شد تا سوسپانسیون یکنواختی به دست آمد. غلظت سوسپانسیون های باکتریایی جهت انجام آزمون با استاندارد ۰/۵ مک فرلند برابر و معادل ۱۰۸× ۱/۵ کلنی ساز (CFU) به ازای هر میلی لیتر بود. در هر پلیت از سوسپانسیون باکتری تهیه شده با استفاده از سواب استریل در سه جهت کشت انبوه داده شد. سپس با استفاده از ژل پانچر بر روی ژل ۵ چاهک به شعاع ۵ میلی متر با فاصله ۱/۵ سانتی متر ایجاد شد. درون چاهک‌ها مقدار ۵۰ میکرو لیتر از هر محلول با استفاده از سمپلر ریخته شد. درون هر پلیت در یک چاهک از نیترات نقره به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درون دو چاهک عصاره آبی و متانولی عناب و در دو چاهک دیگر نانوذرات تولید شده به وسیله عصاره آبی و متانولی میوه عناب ریخته شد. سپس پلیت ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد. به منظوربررسی‌های آماری، از آزمون One way ANOVA استفاده شد و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. جداول نیز به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.کلیه بررسی های آماری به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد.

یافته‌ها

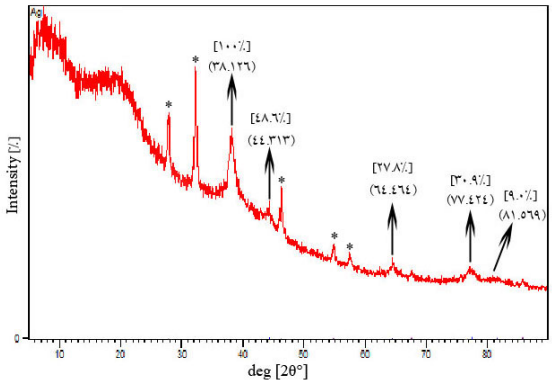
تغییر رنگ به قهوه‌ای تیره پس از ۲ ساعت در محلول حاوی عصاره آبی عناب مشاهده شد که این زمان برای محلول حاوی عصاره متانولی ۳ ساعت محاسبه شد و این تغییر رنگ نشان دهنده تولید نانوذرات نقره بود (شکل ۱).

شکل ۱. تغییر رنگ محلول‌های واکنش قبل از تولید شدن نانوذرات نقره (الف) و پس از تولید شدن نانوذرات (ب)

نتایج سنجش چگالی نوری نشان داد که حداکثر میزان جذب محلول های حاوی نانوذرات در مورد هر دو نوع عصاره آبی و متانولی در ۴۲۰ نانومتر بود. نمودار ۱ میزان جذب محلول‌های حاوی نانوذرات نقره تولید شده توسط دو عصاره را در طول موج ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر نشان می‌دهد.



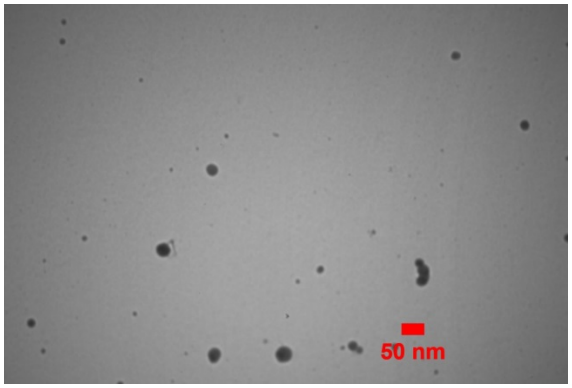
نمودار ۱. الگوی چگالی نوری نانوذرات تولید شده بوسیله عصاره آبی و متانولی میوه گیاه عناب



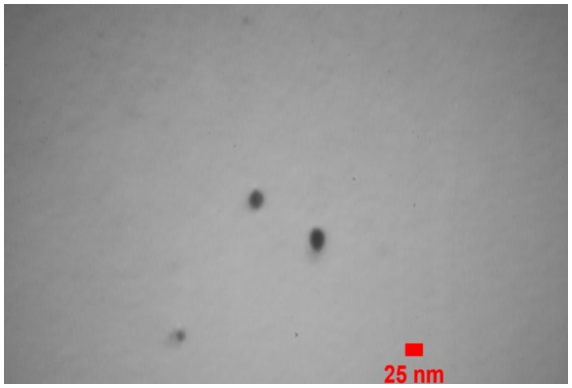
نمودار ۲. نتایج آزمون پراش پرتوی ایکس (* پیک های نامشخص)

نمودار به دست آمده از پراش پرتوی ایکس وجود نانوذرات نقره را تایید نمود (نمودار ۲).

تصاویر میکروسکوپی از نانوذرات تولید شده بوسیله عصاره آبی و متانولی میوه گیاه عناب در شکل ۲ آمده است. تصاویر نشان می‌دهند که شکل نانوذرات کروی می‌باشد و اندازه نانوذرات به طور متوسط بین ۵ الی ۵۰ نانومتر است.



الف



ب

شکل ۲. تصاویر نانوذرات نقره تولید شده توسط عصاره آبی عناب (الف) و عصاره متانولی عناب (ب)

نتایج آزمون‌های ضد باکتریایی تاثیر مناسب نانوذرات نقره تولید شده را بر علیه چهار باکتری هدف نشان داد. میانگین قطر هاله عدم رشد برای چهار باکتری مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است. بررسی‌های آماری نشان داد که تاثیر ضد میکروبی عصاره حاوی نانوذرات نقره به صورت معنی‌داری بیشتر از عصاره آبی و متانولی خالص میوه عناب می‌باشد. همچنین بررسی‌ها نشان داد که تاثیر ضد باکتریایی نانوذرات بر روی چهار باکتری مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

جدول ۱: میانگین (انحراف معیار) قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره ها و نانوذرات نقره تولید شده بر روی چهار باکتری مورد آزمایش

عصاره آبی خالص عناب	نانوذرات تولیدی توسط عصاره آبی عناب	عصاره متانولی خالص عناب	نانوذرات تولیدی توسط عصاره متانولی عناب
			اشرشیاکلی
۵/۶۶±۰/۳۳	۶/۳۳±۰/۳۳	۶/۳۳±۰/۳۳	۱۰±۱
			سودوموناس آئروژینوزا
۵/۳۳±۰/۳۳	۱۰/۶۶±۰/۸۸	۶/۳۳±۰/۳۳	۹/۳۳±۰/۶۶
			استافیلوکوکوس اورئوس
۵/۳۳±۰/۳۳	۱۳±۰/۵۷	۷±۰/۵۷	۱۷/۳۳±۱/۲۰
			باسیلوس سرئوس
۶±۰	۸/۳۳±۰/۳۳	۵/۶۶±۰/۳۳	۱۱/۳۳±۰/۶۶

بحث

روش تولید زیستی نانوذرات یکی از راه‌های جدید، کم هزینه و کم خطر برای تولید نانوذرات می باشد که از دهه ۹۰ قرن بیستم به شدت مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است (۳).

در مطالعه حاضر به بررسی تولید نانوذرات، مدت زمان تولید نانوذرات و راه های تشخیص و ارزیابی نانوذرات تولید شده توسط عصاره آبی و متانولیمیوه گیاه عناب پرداخته شد و همچنین اثرات ضد باکتریایی نانوذرات تولید شده مورد بررسی قرار گرفت.

یکی از موارد مهم در مبحث تولید نانوذرات زمان می‌باشد. به همین لحاظ روش فیزیکی به دلیل زمان‌بر بودن آن معمولا در تولید نانوذرات استفاده نمی‌شود. نانوذرات زیستی نیز از این مبحث مجزا نبوده و زمان تولید نانوذرات توسط مواد و آنزیم های تولیدی توسط میکروارگانیسم‌ها و یا گیاهان در این امر نقش به سزایی در انتخاب نوع موجود زنده مورد استفاده دارند

(۱۶).زمان تولید نانوذرات نقره توسط عصاره آبی و متانولی میوه گیاه عناب به ترتیب ۲ و ۳ ساعت بود. این زمان در مطالعاتی که بر روی تولید نانوذرات نقره به وسیله گیاهان دیگر توسط سایر دانشمندان مورد بررسی قرار گرفته بود، متفاوت بود که احتمالا به دلیل شرایط آزمایشگاهی مختلف موجود در زمان تولید نانوذرات می باشد. برای مثال در مورد تولید نانوذرات نقره توسط گیاه Aloe vera این زمان ۲۴ ساعت بود (۱۲) و برای عصاره آبی گیاه Acalyphaindica ۳۰ دقیقه تعیین شد (۸). عصاره عناب با دارا بودن فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تری ترپونوئیدها و ساپونین‌ها پتانسیل بالایی برای کاهش نانوذرات نقره را دارد. همچنین میوه این گیاه حاوی موادی مانند سیکلوپپتیدها، ایزوکوئینولین و گلیکوزیدها می‌باشد که در تولید نانوذرات نقره می‌توانند نقش موثری داشته باشند. اکسایش گروه‌های عاملی مانند هیدروکسیل، کربونیل، آلدهید می‌تواند باعث کاهش یون‌های نقره شود که نتیجه این امر تولید نانوذرات نقره می‌باشد (۲۰-۱۶). با توجه به مطالعات انجام شده در مورد عناب، می‌توان نتیجه گیری کرد که شاید تنوع در ترکیبات موجود در عصاره عناب است که باعث می‌شود عصاره آبی و متانولی این گیاه بتوانند به عنوان یک کاهنده خوب عمل کرده و در مدت زمان نسبتا کوتاهی باعث کاهش یون‌های نقره و تولید نانوذرات نقره شود.

جهت تایید تولید نانوذرات توسط عصاره گیاهان مورد آزمون، چندین روش مورد استفاده قرار گرفت که یکی از آنها استفاده از روش اسپکتروفوتومتری بود. از طریق روش اسپکتروفوتومتری به دلیل رزونانس پلاسمون سطحی ذرات، می‌توان تولید نانوذرات نقره را در محیط کشت میکروارگانیسم‌ها پیگیری نمود. رزونانس پلاسمون سطحی، به نوسانات مشترک الکترون‌های روی سطح نانو ساختارهای فلزی گفته می‌شود که در برابر پاسخ به یک محرک خارجی نظیر نور یا بار الکتریکی ایجاد می‌گردد (۲۱). پس از ایجاد تغییر رنگ در محیط واکنش، بررسی اسپکتروفوتومتری انجام شد که نانوذرات نقره در طول موج ۴۲۰ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب بوده اند. علاوه بر این، شدت جذب نیز معیاری مهم در میزان حضور نانوذرات در محلول می باشد. شدت جذب بالاتر، نشان دهنده حضور نانوذرات بیشتر در محلول است. Ahmad و همکارانش در مطالعه خود ثابت کردند که تغییر رنگ تابعی از زمان است و با گذشت زمان و پیشرفت واکنش، غلظت نانوذرات نقره بیشتر می‌شود. این گروه با سنجش چگالی نوری محلول واکنش در بازه‌های زمانی مختلف از واکنش به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت نانوذرات نقره است که باعث تغییر رنگ بیشتر محلول واکنش به سمت قهوه‌ای تیره می‌شود (۵).

از دیگر آزمون‌هایی که جهت تایید تولید نانوذرات استفاده شد، پراش اشعه ایکس بود. این آزمایش یک روش غیرتخریبی با چند کاربرد است که اطلاعات جامعی درباره ترکیبات شیمیایی و ساختار بلوری مواد طبیعی و صنعتی ارائه می‌دهد. هر کریستال دارای الگوی ناشی از تفرق اشعه ایکس منحصر به فرد خود است. به وسیله این روش می‌توان عنصر فلزی را از سایر ترکیبات همان فلز تشخیص داد. همان گونه که در نتایج نشان شده است، پیک‌های عناصر و ترکیبات مختلف در محیط واکنش وجود داشتند که مربوط به ترکیب عصاره‌های مورد استفاده بوده است. اگرچه عنصر نقره در میان این ترکیبات به وضوح قابل تشخیص است.

در ادامه تحقیق جهت بررسی شکل و اندازه نانوذرات تولیدی از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. در شکل‌های به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، نانوذرات به صورت کروی مشاهده شدند و در تمامی شکل‌ها، نانوذرات میله ای شکل و یا مثلثی مشاهده نشد. بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشخص کرد اندازه نانوذرات تولیدی بسیار متغیر بوده است. نانوذرات تولید شده اندازه‌ای بین ۵ الی ۵۰ نانومتر داشتند. این نتیجه مطابق با نتیجه Shankar و همکارانش در تولید نانوذرات نقره توسط گیاه Azadirachtaindica بود. این گروه اندازه نانوذرات را بین ۵ تا ۳۵ نانومتر و شکل آنها را کروی گزارش کردند (۱۲). در تحقیقات Krishnaraj و همکارانش اندازه نانوذرات نقره تولید شده ۲۰ تا ۳۰ نانومتر بیان شد (۸). Chandran در تحقیقات خود اندازه نانوذرات نقره تولید شده را ۱۵ نانومتر بیان کرد (۲۲). Ahmad و همکاران ابعاد نانوذرات به دست آمده را حدود ۱۰ نانومتر بیان کردند (۵) و Philip و Unni نیز اندازه نانوذرات تولید شده در تحقیقات خود را ۱۰ الی ۲۰ نانومتر بیان کردند (۱۰). Yong و Kim در تحقیقات خود به نتایجی متفاوت از یافته‌های فوق دست یافتند. آنها که بر روی تولید نانوذرات به وسیله پنج گیاه کار می‌کردند به نانوذراتی با ابعاد ۱۵ تا ۵۰۰ نانومتر دست یافتند (۲۳).

یکی از کاربردهای مهم نانوذرات نقره در پزشکی، کاربرد آن‌ها به عنوان مواد ضد میکروبی است. با وجود اینکه روش دقیق ممانعت از رشد میکروب ها توسط نانوذرات نقره به درستی مشخص نشده است، ولی احتمالا روش های متعددی می‌توانند در این امر دخیل باشند. در این مطالعه مشخص شد که در میزان تاثیر نانوذرات بر روی چهار باکتری مورد

آزمایش، اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. نتایج Jain و همکارانش در بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره تولید شده به وسیله گیاه پاپایا بر روی باکتری های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مشابه با نتایج تحقیق حاضر است. آنها اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره را بر روی هر دو باکتری گرم مثبت و منفی یکسان ارزیابی کردند و این اثر را به تاثیر نانوذرات نقره بر روی دیواره و غشای باکتری‌ها نسبت دادند (۲۴).در مورد مطالعات اثرات ضد میکروبی که بر روی نانوذرات نقره در دنیا انجام شده می‌توان به مطالعه Pal و همکارانش در سال ۲۰۰۷ اشاره نمود که نشان دادند که نانوذرات نقره تولیدی به روش‌های غیر بیولوژیک دارای اثرات ضد باکتریایی متفاوتی بر علیه باکتریاشرشیاکلی می‌باشند. این دانشمندان نتیجه گیری نمودند که نانوذرات نقره به صورت کروی دارای مساحت سطحی بیشتری نسبت به سایر اشکال هندسی بوده و می توانند واکنش سطحی بیشتری بر باکتری هدف داشته باشند که بنابراین علاوه بر اندازه، شکل نانوذرات نیز در اعمال خواص ضد میکروبی آن ها دخیل می‌باشد (۲۵).

بسیاری از منابع نشان داده‌اند که اثر مرگ‌بار نانوذرات نقره به دلیل عمل هم‌زمان بر روی دیواره، توانایی نفوذ به غشاء سیتوپلاسمی و اثر بر زنجیره تنفس سلولی، DNA و RNA می‌باشدکه این ساختارها در باکتری‌های گرم مثبت و منفی یکسان است. بنابراین خواص ضد باکتریایی نانوذرات نقره برای هر دو گروه از باکتری ها تا حدودی یکسان می‌باشد (۲۶).

با توجه به مطالعات فوق می‌توان نتیجه گرفت گیاه عناب به علت کشت بومی و خواص بالای دارویی می‌تواند به عنوان گزینه‌ای مناسب در تولید نانوذرات به روش زیستی مطرح باشد. در میان روش‌های تولید نانوذرات، روش تولید زیستی روشی پاک، ارزان، کم خطر و سازگار با محیط زیست محسوب می‌شود. نانوذرات نقره‌ای که با این روش تولید می‌شوند 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.

REFERENCES

1. Kaviya S, Santhanalakshmi J, Viswanathan B, Muthumary J, Srinivasan K. Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2011; 79:594-98.
2. Harrison R. Measurment of number massand size disturbtion of particles in the atmosphere. Phil Trans R Soe Land 2002;358:2567-80.
3. Veerasamy R, Xin TZ, Gunasagaran S, Xiang TFW, Yang EFC, Jeyakumar N, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. J Saudi Chem Soc 2011;15:113-20.
4. Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine 2010;6:257-62.
5. Ahmad N, Sharma S, Alam MK, Singh VN, Shamsi SF, Mehta BR, et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. Colloids and surfaces B, Biointerfaces 2010;81:81-86.
6. Wang Y, He X, Wang K, Zhang X, Tan W. Barbated Skullcup herb extract-mediated biosynthesis of gold nanoparticles and its primary application in electrochemistry. Colloids and surfaces B, Biointerfaces 2009;73:75-79.
7. Vijayakumar M, Priya K, Nancy FT, Noorlidah A, Ahmed ABA. Biosynthesis, characterisation and anti-bacterial effect of plant-mediated silver nanoparticles using Artemisia nilagirica. Industrial Crops and Products 2013;41:235-40.
8. Krishnaraj C, Jagan EG, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan PT, Mohan N. Synthesis of silver nanoparticles using Acalypha indica leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids and surfaces B, Biointerfaces 2010;76:50-56.
9. Jacob SJ, Finub JS, Narayanan A. Synthesis of silver nanoparticles using Piper longum leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line. Colloidsand surfaces B, Biointerfaces 2012;91:212-14.
10. Philip D, Unni C. Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (Ocimum sanctum) leaf. Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures 2011;43:1318-22.
11. Ponarulselvam S, Panneerselvam C, Murugan K, Aarthi N, Kalimuthu K, Thangamani S. Synthesis of silver nanoparticles using leaves of Catharanthus roseus Linn. G. Don and their antiplasmodial activities. Asian Pacific J Trop Biomed 2012;2:574-80.

12. Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. J Colloid Interface Sci 2004;275:496-502.

13. Asgarpanah J, Haghighat E. A review of phytochemistry and meidicnal properties of Jujube (Ziziphus vulgaris L.). J Pharmaceut Health Sci 2012;1:89-97.

14. Hawthorne S, B.Grabanski C, Martin S, J.Miller D. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. J Chromatography A 2000;892:421–33.

15. Luque de Castro MD, GarcõÂa-Ayuso LE. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. Analytica Chimica Acta 1998;369:1-10.

16. Kasthuri J, Kathiravan K, Rajendiran N. Phyllanthin-assistedsynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. J Nanopart Res 2009;11:1075-85.

17. Han BH, Park MH, Park JH. Chemical and pharmacological studies on sedative cyclopeptide alkaloids in some Rhamnaceae plants. Pure Appl Chem 1989;61:443-48.

18. Ali SA, Hamed MA. Effect of Ailanthus altissima and Zizyphus spina-christi on Bilharzial infestation in mice: histological and istopathological studies. J Appl Sci 2006;6:1437-46.

19. Glombitza K, Mahran G, Mirhom Y, Michel K, Motawi T. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of Zizyphus spinachristi in rats. Planta Med 1994;60:244-47.

20. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. ACS Sustainable Chem Eng 2013;1:591-602.

21. Kittel C, ed. have electronic interband transitions in the visible range, whereby specific light energies (colors) are absorbed, yielding their distinct color, Introduction to Solid State Physics. New York: John Wiley & Sons; 2005.

22. Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using aloe vera plant extract. Biotechnol Prog 2006;22:577-83.

23. Song JY, Kim BS. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. Bioprocess and biosystems engineering 2009;32:79-84.

24. Jain D, Daima. KH, Kachhwaha S, Kothari SL. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities. Dig J Nanomat Biostruct 2009;4:723-27.

25. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? a study of the Gram,negative bacterium Escherichia coli. Appl Environ Microbiol 2007:1712-20.

26. Klasen HJ. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. early uses. Burns 2000;26:117-30.