



The Effect of Temperature on the Morphology of Synthesized Silver Nanoparticles Using Peppermint Extract and Evaluation of Its Antibacterial Properties

M. Yaghoobi^{1*}, F. Asjadi²

1- Assistant Professor of Chemical Engineering, University of Zanjan

2- Assistant Professor of Materials Engineering, University of Zanjan

Email: myaghoobi@znu.ac.ir

Abstract

The use of the plant extracts in green synthesis of silver nanoparticles due to the presence of natural coating and reducing bio-compounds in the extract has an affective role on the morphology and stability of synthesized nanoparticles. In this study, silver nanoparticles were synthesized using silver nitrate in the presence of the peppermint extract. The effect of temperature and pH on the size, purity and morphology of nanoparticles was assessed. X-ray diffraction, UV-visible spectrophotometry, energy diffraction spectroscopy and scanning electron microscopy images were used to study the characteristics. In order to evaluate the performance of synthesized nanoparticles, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were used in antibacterial assay. No nanoparticles were formed at room temperature with 3 mM silver nitrate and the peppermint extract (solid to solvent ratio of 0.05 g/mL). The nanometer-thick sheets were formed at 70 °C and spherical nanoparticles were formed by increasing the synthesis temperature to 90°C Both sheet and spherical nanoparticles had an inhibitory effect on the growth of both gram-positive and gram-negative bacteria used, but the spherical particles synthesized at 90°C had a significant inhibition effect than the sheet particles.

Received: 10 April 2022

Accepted: 5 June 2022

Page Number: 78-92

Keywords:

Silver Nanoparticles,
Morphology,
Antibacterial Activity,
Peppermint Extract

Please Cite this Article Using:

Yaghoobi, M., Asjadi, F., "The Effect of Temperature on the Morphology of Synthesized Silver Nanoparticles Using Peppermint Extract and Evaluation of Its Antibacterial Properties", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 22, No. 127, pp. 78-92, In Persian, (2023).



بررسی اثر دما بر ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نعناع فلفلی و ارزیابی خواص آنتی‌باکتریال آن

ملیحه یعقوبی^{۱*}، فاطمه عسجدی^۲

۱- استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه زنجان

۲- استادیار مهندسی مواد، دانشگاه زنجان

پیام نگار: myaghoobi@znu.ac.ir

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۵
شماره صفحات: ۷۸ تا ۹۲

استفاده از عصاره گیاهی در سنتز سبز نانوذرات نقره، به دلیل حضور ترکیبات پوشش‌دهنده و کاهنده طبیعی در عصاره نقش مؤثری در ریخت‌شناسی و پایداری نانوذرات سنتز شده دارد. در این پژوهش نانوذرات نقره با استفاده از محلول نیترات نقره در مجاورت عصاره نعناع فلفلی سنتز شد. اثر دما و pH بر روی ریخت‌شناسی و خلوص ذرات تشکیل شده بررسی شد. برای بررسی مشخصات ذرات تشکیل شده از آزمون پراش پرتو ایکس، طیف‌سنجی مرئی-فرا بنفش، طیف‌سنجی پراش انرژی و تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. همچنین به منظور بررسی کارایی نانوذرات نقره سنتز شده، از دو باکتری اشرشیاکلی (*E. coli*) و استافیلوکوکوس آئروس (*S. aureus*) در آزمون آنتی‌باکتریال استفاده شد. در محلول واکنش شامل نیترات نقره با غلظت ۳ mM و نسبت گیاه به حلال ۰/۰۵ g/mL نانوذره‌ای در دمای محیط تشکیل نشد؛ ولی در همین محلول واکنش با بالا رفتن دما تا ۷۰ °C، ترکیبی از نانوذرات کروی، صفحه‌ای شکل و سه گوش تشکیل شدند. همچنین با افزایش دما تا ۹۰ °C نانوذرات کروی با اندازه ذرات کوچک‌تر تشکیل شدند. هر دو نوع نانوذره تولید شده در دمای ۷۰ °C و ۹۰ °C نسبت به رشد دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی استفاده شده، اثر ممانعت در رشد داشتند؛ اما ذرات کروی سنتز شده در ۹۰ °C و در pH برابر با ۹ نسبت به باکتری *E. coli* و *S. aureus* به ترتیب هاله عدم رشدی با قطر ۱۴±۰/۵۰ و ۱۴±۰/۲۰ mm تشکیل دادند که نسبت به ذرات صفحه‌ای شکل اثر ممانعت رشد بیشتری داشتند.

کلیدواژه‌ها:

نانوذرات نقره،
ریخت‌شناسی،
فعالیت آنتی‌باکتریال،
عصاره نعناع فلفلی

* زنجان، کیلومتر ۵ جاده تبریز، بلوار دانشگاه، دانشگاه زنجان، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی شیمی

استناد به مقاله:

یعقوبی، م.، عسجدی، ف.، "بررسی اثر دما بر ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نعناع فلفلی و ارزیابی خواص آنتی‌باکتریال آن"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیست و دوم، شماره ۱۲۷، صص. ۷۸-۹۲، (۱۴۰۲).

۱. مقدمه

در چند دهه اخیر تحقیقات زیادی در زمینه سنتز سبز نانوذرات انجام شده و شناسایی این ذرات با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر، آن‌ها را برای دارورسانی و کاربردهای زیست‌پزشکی جذاب کرده است. نخستین روش رایج سنتز نانوذرات کلئیدی نقره، احیای شیمیایی یون‌های نقره (Ag^+) در آب یا حلال‌های آلی است که اغلب در حضور عامل پایدارکننده انجام می‌شود. روش کریگتون^۱ از روش‌های اولیه‌ای است که در آن احیای یون‌های نقره با سدیم بوروهیدرید انجام می‌شود و شگرد دیگر روش لی-میسل^۲ است که در آن نیترات نقره به وسیله سدیم سیترات احیا می‌شود. سایر احیاکنندگان مانند سیترات، آسکوربات، پلی‌اتیلن گلیکول و سدیم تتراهیدروبورات نیز به‌طور گسترده استفاده می‌شوند [۱]. روش‌های شیمیایی اغلب پرهزینه هستند و محصولات جانبی سمی تولید می‌کنند، اما روش سنتز سبز به‌عنوان روش ارزان و سازگار با محیط زیست شناخته شده است. در سنتز نانوذرات با روش بیولوژیکی، ترکیباتی مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و کربوهیدرات‌ها استفاده می‌شوند و نانوذرات تولیدشده می‌توانند به‌آسانی با بیومولکول‌های هدف تعامل داشته باشند. این رویکرد در سنتز نانوذرات نقره ممکن است نقش مهمی در درمان بیماری‌هایی مثل سرطان داشته باشد [۲-۳]. بر اساس گزارش پژوهشگران نانوذرات نقره سنتز شده حاوی خواص آنتی‌باکتریال در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. هم‌چنین اثرات سمی بر روی رده‌های سلولی مختلف سرطانی و طبیعی گزارش شده است [۴-۶]. عموماً نانوذرات نقره به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک عامل آنتی‌باکتریال در هر بخش از زندگی ما مانند کاربردهای پزشکی، نگهداری مواد غذایی و صنعت نساجی کاربرد و اهمیت دارند [۷-۹].

نانوذرات نقره به‌دلیل داشتن انرژی سطحی بالا تمایل به آگلومره شدن دارند؛ بنابراین عصاره‌های گیاهی، صمغ‌ها، سورفکتانت‌های کاتیونی و پلیمرها برای پایدار کردن این ذرات استفاده می‌شوند. با به‌کارگیری عصاره‌های گیاهی می‌توان ترکیبات فیتوشیمیایی را به‌عنوان عوامل کاهنده و پوشش‌دهنده در طراحی روش سنتز نانوذرات نقره انتخاب کرد. علاوه بر آن اندازه و پایداری ذرات با این روش قابل کنترل است. وجود گروه‌های عاملی خاص در

مواد پوشاننده نانوذرات که می‌توانند به آن‌ها متصل شوند، باعث کاهش انرژی سطحی ذرات می‌شود و از رشد و تجمع آن‌ها جلوگیری می‌کند [۱۰]. پایدارکننده‌ها نه‌تنها در پایداری درازمدت نانوذرات فلزی نقش مهمی بازی می‌کنند؛ بلکه در کنترل توزیع اندازه ذرات و اصلاح شکل نانوبلورها نیز اثرگذار هستند. زمانی که سنتز در حضور یک عامل پوشاننده انجام می‌شود، ممکن است به‌دلیل تمایلات متفاوت لیگاند نسبت به صفحات بلورین پیش رو، ذرات نقره با اشکال مختلف تشکیل شود [۱۱]. با توجه به اهمیت و کاربرد نانوذرات نقره، مطالعات زیادی پیرامون سنتز سبز نانوذرات نقره با کاهنده‌های طبیعی مانند عصاره برگ، ساقه یا ریشه گیاهان، عصاره میوه‌های مختلف، عصاره کشت‌داده‌شده باکتری، مخمر و کپک انجام شده که ری^۳ و همکارانشان در سال ۲۰۱۹ طی انتشار یک مقاله مروری در خصوص مشخصات نانوذرات نقره سنتز شده با روش سبز و خواص آنتی‌باکتریال آن مطالب جامعی را ارائه کردند [۱۲]. عوامل اثرگذار در ریخت‌شناسی ذرات تشکیل شده، نوع ماده کاهنده، غلظت ماده کاهنده، دمای واکنش و pH محلول نهایی واکنش گزارش شده است [۱۳]. یاداو^۴ و همکارانش [۱۴] با استفاده از عصاره پرتقال به‌عنوان عامل کاهنده یون نقره، نانوذرات کروی شکل نقره را در دمای ۶۰ °C مشاهده کردند. هم‌چنین نانوذرات کروی نقره با استفاده از عصاره هسته خرما در دمای ۹۰ °C به‌وسیله فرشوری^۵ و همکارانش گزارش شده است [۱۵]. علاوه بر مشخصه‌های کلیدی مانند دمای واکنش و غلظت عصاره‌های گیاهی در سنتز سبز نانوذرات نقره، ترکیب عصاره گیاه مورد استفاده نیز به‌طور چشم‌گیری بر ریخت‌شناسی نانوذرات سنتز شده اثرگذار است و از آنجایی که عصاره‌های گیاهی مختلف حاوی غلظت‌های متفاوتی از عوامل کاهنده بیوشیمیایی هستند، منبع عصاره گیاه را می‌توان یک عامل کلیدی در نظر گرفت. در پژوهش حاضر از عصاره نعناع فلفلی به‌عنوان کاهنده یون نقره استفاده شد. در مطالعات پیشین سنتز سبز نانوذرات نقره، اثر دما و pH روی ریخت‌شناسی ذرات سنتز شده در مجاورت عصاره نعناع فلفلی تا کنون بررسی نشده است. برای بررسی ریخت‌شناسی نانوذرات نقره تولید شده در سه دمای متفاوت (محیط، ۷۰ °C و ۹۰ °C)، از عصاره برگ نعناع فلفلی استفاده شد و ریخت‌شناسی نانوذرات تولید شده در غلظت ثابتی از عصاره بررسی

3. Roy
4. Yadav
5. Farshori

1. Creighton
2. Lee-Meisel

۲-۳ سنتز نانوذرات نقره

دما و pH به‌عنوان متغیرهای واکنش در تولید نانوذرات نقره در نظر گرفته شد. سه دمای محیط، 70°C و 90°C برای تولید نانوذرات در نظر گرفته شد. هم‌چنین سنتز ذرات در pH محلول نهایی در ۵/۵ و ۱۰ ارزیابی شد. در همه واکنش‌ها برای به‌دست‌آوردن محلول نهایی واکنش، محلول نیترات نقره تا رسیدن به غلظت نهایی ۳ mM با شدت جریان 40 L/min به عصاره نعنای فلفلی اضافه شد. سنتز نانوذرات در تاریکی و بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ rpm انجام شد. نسبت حجمی عصاره به محلول حاوی نقره نسبت ۱ به ۵ انتخاب شد. پس از پایان واکنش، محلول کلئیدی نانوذرات سنتز شده سانتریفیوژ شد. نانوذرات جمع‌آوری شده مجدداً با آب در مجاورت حمام فراصوت قرار داده شد و از نو نانوذرات سانتریفیوژ شدند که برای شستشوی کامل نانوذرات این کار سه بار تکرار شد. در آخر نانوذرات که به‌عنوان ته‌مانند سانتریفیوژ بودند، جمع‌آوری و در دمای 120°C به‌مدت یک ساعت خشک شدند.

۲-۴ میزان فنل کل

برای اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی عصاره نعنای فلفلی به‌عنوان عامل اصلی احیاکننده یون نقره مطابق روش واتر‌هوس^۷ و همکاری‌اش [۱۶] با کمی اصلاح، $500\ \mu\text{L}$ معرف فولین-سیوکالچو^۸ رقیق شده با آب مقطر (به نسبت ۱ به ۱۰) به $50\ \mu\text{L}$ از عصاره رقیق افزوده شد. در ادامه پس از ۵ دقیقه، به هر یک از مخلوط‌ها، $500\ \mu\text{L}$ محلول کربنات سدیم (۰/۷٪ وزنی به حجمی) اضافه و با آب مقطر به حجم ۳ mL رسانده شد. سپس محلول نهایی در دمای محیط و در تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب محلول‌های نهایی در طول موج 765 nm قرائت شد. برای بیان میزان ترکیبات فنولی کل، منحنی استاندارد برای گالیک اسید در غلظت‌های مختلف ($0.5-3/2\text{ mg/mL}$) رسم شد. سپس بر اساس منحنی استاندارد، مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید معادل بر هر گرم گیاه خشک (GAE/g DW)^۹ بیان شد.

شد. برای بررسی ساختار و ریخت‌شناسی نانوذرات تشکیل شده به‌ترتیب از آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)^۱، طیف‌سنج (UV-visible) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۲ استفاده شد. هم‌چنین برای بررسی کارایی نانوذرات نقره تولید شده اثر ممانعت‌کنندگی ذرات بر رشد دو باکتری *E. coli* و *S. aureus* نیز ارزیابی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد

مواد شیمیایی استفاده‌شده در این پژوهش نیترات نقره (مرک-آلمان)، معرف فولین-سیوکالچو (مرک-آلمان)، سدیم کربنات (مرک-آلمان) و هیدروکسید سدیم (مرک-آلمان) بود. هم‌چنین برای آزمون آنتی‌باکتریال از محیط کشت مولر هینتون آگار (کندال-اسپانیا)، نوترینت براس (کندال-اسپانیا)، آنتی‌بیوتیک سفکسیم^۳ (شرکت داروسازی فارابی) و سیپروفلوکساسین^۴ (شرکت داروسازی فارابی) استفاده شد. باکتری‌های *اشرشیاکلی*^۵ (*E. coli*) و *استافیلوکوکوس آئروس*^۶ (*S. aureus*) (شرکت تاو نوآوران آریسان) برای آزمون آنتی‌باکتریال استفاده شد.

۲-۲ آماده‌سازی عصاره نعنای فلفلی

گیاه نعنای فلفلی در شهریورماه ۱۴۰۰ از مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان چیده و در دمای محیط و در شرایط سایه به‌مدت ۵ روز خشک شد. پس از خشک شدن کامل گیاه، برگ‌های گیاه جدا و خرد شد. عصاره نعنای فلفلی در مجاورت آب به‌عنوان حلال (با نسبت ۱ گرم گیاه خشک به ۱۰ میلی‌لیتر آب)، با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای 70°C به‌مدت ۱۲۰ دقیقه استخراج شد. ترکیب حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف شد و برای خروج مواد جامد احتمالی به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور 4000 rpm سانتریفیوژ شد. عصاره نعنای فلفلی صاف شده برای استفاده در تولید نانوذرات نقره در یخچال نگهداری شد.

1. X-Ray Diffraction Analysis (XRD)
2. Scanning Electron Microscope (SEM)
3. Cefixim
4. Ciprofloxacin
5. Escherichia Coli
6. Staphylococcus Aureus

7. Waterhouse
8. Folin-Ciocalteu Reagent
9. Gallic Acid Equivalent/g Dry Weight

۲-۵-۵ تعیین مشخصات نانوذرات

۲-۵-۱ آزمون طیف‌سنجی مرئی - فرابنفش

برای تأیید اولیه تشکیل نانوذرات نقره، خواص نوری محلول حاوی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذبی UV-visible (شرکت بل-ایتالیا) در دامنه ۸۰۰-۲۵۰ nm در دمای اتاق بررسی شد.

۲-۵-۲ آزمون پراش پرتو ایکس

برای تعیین فاز بلوری و ترکیب عنصری نمونه‌های تهیه شده از آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) با تشعشع $Cu_{K\alpha}$ ($\lambda = 1.5412 \text{ \AA}$) در دامنه $5-85^\circ$ با سرعت اسکن $2^\circ/\text{min}$ استفاده شد. برای تعیین محل دقیق و پهنای پیک‌ها در طرح پراش پرتو ایکس از نرم‌افزار فیتیک^۱ و از تابع وویت^۲ برای برازش استفاده شد [۱۷]. پهنای پیک در نصف شدت^۳ پس از لحاظ کردن خطای استاندارد دستگاه طبق رابطه زیر استفاده شد:

$$\beta^2 = \beta_{mes}^2 - \beta_0^2 \quad (1)$$

که در آن β پهنای پیک در نصف شدت اصلاح شده، β_{mes} پهنای پیک در نصف شدت اندازه گیری شده و β_0 نیز خطای استاندارد دستگاه است.

۲-۵-۳ میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای بررسی ریخت‌شناسی ذرات تولید شده نیز از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. نمونه‌های پودری با لایه نازکی از طلا پوشش داده و سپس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی در بزرگ‌نمایی‌های متفاوت تصویربرداری شد (Quanta 200 - آمریکا).

۲-۵-۴ طیف‌سنجی پراش انرژی

نیز برای تجزیه عنصری از طیف‌سنجی پراش انرژی (EDS)^۴ استفاده شد. آشکارساز پرتو ایکس، پرتوهای ساطع شده از نانوذرات را که

به صورت پیک‌هایی در انرژی خاص ظاهر می‌شود، شناسایی می‌کند که از این رو وجود و خلوص عنصر نقره را تأیید می‌کند.

۲-۶ آزمون آنتی‌باکتریال

برای بررسی خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره تولید شده، از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد [۱۸]. هم‌چنین ریزاندام‌های *S. aureus* و *E. coli* به ترتیب به‌عنوان نماینده باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انتخاب شد. از کشت میکروبی تازه به‌میزان 10^6 CFU/mL با سوآپ استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار جامد مهیا شده در پتری دیش‌ها، به‌طور یک‌نواخت پخش شد. دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ mm با فاصله مشخص از هم در روی محیط کشت جامد قرار داده شدند. در شرایط استریل، $10 \mu\text{L}$ از هر نمونه نانوذرات نقره سنتز شده به‌صورت قطره‌ای روی دیسک‌ها ریخته شد. سفکسیم و سیپروفلاکسین به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد و کنترل مثبت برای بررسی و مقایسه اثرهای آنتی‌باکتریال نمونه‌ها استفاده شدند. پتری دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C انکوبه شدند. آزمون آنتی‌باکتریال، برای هر نمونه سه بار تکرار شد. قطر ناحیه ممانعت رشد باکتری‌ها در مجاورت محلول نانوذرات نقره، با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱-۱ بررسی ساختار و ترکیب‌شناسی نانوذرات نقره

تولید شده

برای تعیین ساختار بلوری و ترکیب عنصری نانوذرات سنتز شده از آزمون XRD استفاده شد. چنان که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، طیف XRD چهار باند پراش را در 2θ برابر با 38.2° ، 44.3° ، 64.7° و 77.5° نشان می‌دهد که شدت و ظاهر این پیک‌ها در چهار نمونه‌ای که در شرایط مختلف سنتز شده متفاوت است. چهار پیک متمایز به ترتیب نقشه پراش (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) در ساختار مکعب مرکز وجوه پر^۵ نقره هستند. چنان که در شکل (۱) پیداست، در طیف XRD ذرات سنتز شده در دمای محیط پیک متمایزی مربوط به نقره وجود ندارد. به نظر می‌رسد در دمای محیط، بیشتر

1. Fityc
2. Voigt
3. Full Width at Half Maximum (FWHM)
4. Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS)

5. Face Centered Cubic (FCC)

پهن کردن پیک را به صورت مجزا ارائه می‌دهد. لذا در این پژوهش از معادله ویلیامسون-هال^۱ برای بررسی اندازه بلورینگی استفاده شده است. این معادله به صورت زیر ارائه می‌شود:

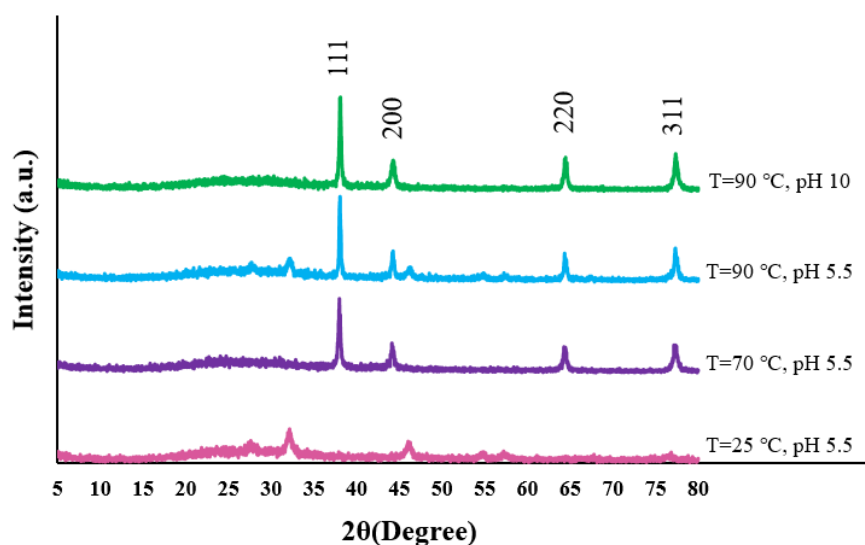
$$\beta \cos \theta = \frac{\lambda}{L} + 4\epsilon \sin \theta \quad (2)$$

در این رابطه β پهنای پیک در نصف شدت برحسب رادیان، λ طول موج پرتو تابیده شده، L اندازه بلورک و ϵ کرنش شبکه را نشان می‌دهد. با رسم نمودار $\beta \cos \theta$ برحسب $\sin \theta$ می‌توان کرنش شبکه و نیز اندازه بلورک‌ها را حساب کرد. به این ترتیب که شیب نمودار رسم شده برابر با یک چهارم کرنش شبکه و عرض از مبدأ آن برابر با λ/L است.

با رسم نمودارهای مربوط به این معادله، مشاهده می‌شود که نقطه مربوط به صفحه پیک (۲۰۰) با انحراف زیادی بالاتر از سایر نقاط قرار گرفته است. این موضوع را می‌توان به رشد کمتر بلورک‌ها در راستای [۲۰۰] نسبت به سایر جهات نسبت داد. برای بررسی بیشتر این موضوع، رابطه ویلیامسون-هال برای سه پیک دیگر و از رابطه دبای-شرر^۲ برای تعیین اندازه بلورک‌ها در این صفحه استفاده می‌شود. رابطه دبای-شرر به صورت زیر بیان می‌شود [۱۹]:

تمایل به تشکیل اکسید نقره (2θ برابر با $32/5$) در محلول تشدید شده است. در صورتی که در دو شرایط دمایی 70°C و 90°C پیک های شارپی در 2θ برابر با $38/2$ ، $44/3$ ، $64/7$ و $77/5$ مشاهده شد که نشان از ساختار بلوری ذرات نقره تشکیل شده است. البته در شکل (۱) نشان داده شده است که در دمای 70°C مقدار کمی اکسید نقره (2θ برابر با $32/5$) نیز تشکیل شده است. ولی در دمای 90°C پیک مربوط به اکسید نقره ظاهر نشده است و این نتیجه بیانگر این است که در دمای 90°C در مقایسه با دو دمای دیگر یون نقره تمایل بیشتری برای کاهیده شدن به وسیله ترکیبات موجود در عصاره را دارد و نانوذرات نقره خالص تری تشکیل خواهد شد. علاوه بر این، طرح پراش ذرات تشکیل شده در دو pH، $5/5$ و 10 نیز در شکل (۱) مشاهده می‌شود. پیک های مربوط به فلز نقره در هر دو محصول مشاهده می‌شود. علاوه بر این نبودن پیک های دیگر گواه خلوص نقره تشکیل شده است. با در نظر گرفتن ظاهری شدت پیک ها به نظر می‌رسد که بلورینگی محصول تشکیل شده در pH $5/5$ بیش از pH $10/5$ است. ولی بررسی بیشتر منوط به انجام محاسبات است.

وجود کرنش در شبکه و کوچک شدن اندازه بلورک ها دو مورد از عواملی هستند که موجب پهن شدن پیک های طرح پراش پرتو ایکس می‌شوند. رابطه ویلیامسون-هال نقش این دو عامل در



شکل ۱. آنالیز XRD نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره نعناع فلفلی.

Figure 1. XRD analysis of synthesized Ag nanoparticles using peppermint extract.

1. Williamson Hall

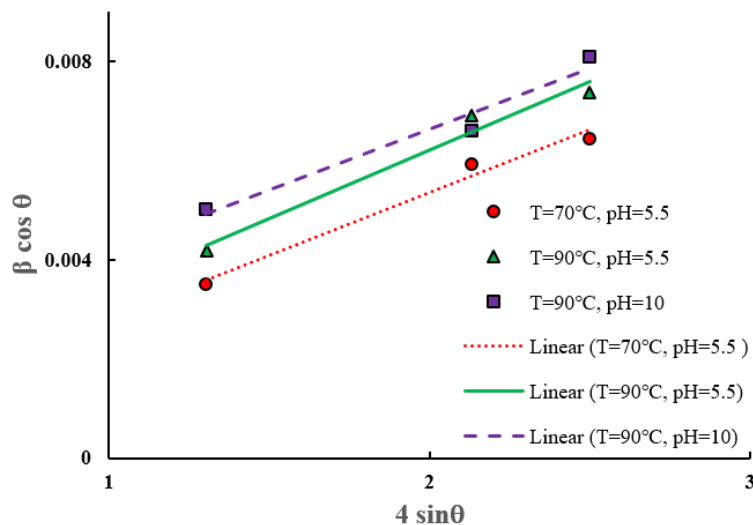
2. Debye Scherrer

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3)$$

نمودار رابطه ویلیامسون-هال برای نانوذرات نقره سنتز شده در شکل (۲) نشان داده شده است.

مقادیر کم‌شیب خطوط نشان‌دهنده مقدار کرنش اندک در شبکه هستند. اندازه بلورک‌های حساب شده در راستای [۲۰۰] که با رابطه دبای-شرر به دست آمده و اندازه بلورک‌ها در سایر جهات که با رابطه ویلیامسون-هال حساب شده است در جدول (۱) مشاهده می‌شود. با در نظر گرفتن اطلاعات جدول (۱) پیداست که رشد در نمونه سنتز شده در دمای ۷۰ °C در تمام جهات بیش از دو نمونه دیگر است. این نکته را می‌توان به سرعت نفوذ کمتر عوامل موجود در عصاره گیاه و جذب کمتر آن‌ها در دمای پایین‌تر نسبت داد. مقادیر کمتر جذب شده صفحات خاصی را برای جذب شدن ترجیح می‌دهند. با در نظر گرفتن نتایج محاسبه بلورک‌ها در جهات مختلف، مشاهده می‌شود که جذب ترجیحی در این پژوهش بر روی صفحات (۲۰۰) اتفاق می‌افتد که موازی با صفحات (۱۰۰) است و از نظر تراکم اتمی با آن‌ها یکسان است. این پدیده به دلیل فشردگی کمتر اتم‌های نقره در این صفحات اتفاق می‌افتد. در واقع فشردگی بالای اتمی در صفحات (۱۱۱) جذب گروه‌های مختلف روی این صفحات را محدود می‌کند. در نقطه مقابل، صفحات (۱۰۰) تراکم اتمی کمتری دارند. قرار گرفتن مرکز فضاهای اکتاهدرال در این

صفحات نیز فضای فیزیکی کافی برای جذب گروه‌های عاملی را فراهم می‌کند [۲۰]. این مشاهده با نتایج تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز در توافق است که در ادامه توضیح داده خواهد شد. با افزایش دما به ۹۰ °C هم‌چنان رشد ناهمسان‌گرد صفحات (جدول (۱)) قابل مشاهده است؛ ولی نسبت پایین‌تر اندازه بلورک در جهات مختلف نسبت به نمونه سنتز شده در دمای ۷۰ °C نشان‌دهنده کاهش رشد ناهمسان‌گرد است. ساختار لایه‌ای در تصاویر این نمونه نیز قابل مشاهده است. کاهش اندازه ورقه‌ها نسبت به نمونه قبلی نیز مؤید کاهش رشد ناهمسان‌گردی است. در نمونه سنتز شده در دمای ۹۰ °C با pH ۱۰، اندازه بلورک به دست آمده با رابطه ویلیامسون-هال به شدت کاهش یافته است و مقدار رشد ناهمسان‌گردی نیز به نسبت دو نمونه دیگر کمتر است. در تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز تجمعاتی نزدیک به شکل کره بیشتر از نمونه قبلی قابل مشاهده است. دلیل این پدیده احتمالاً یون‌های هیدروکسیل موجود در محلول قلیایی است. این یون‌ها همراه با عوامل گیاهی روی نانوذرات اولیه جذب و در نتیجه مقدار عواملی که جذب سطح نانوذرات می‌شوند، بیشتر می‌شود و جذب ترجیحی کاهش می‌یابد. علاوه بر این ممکن است یون‌های هیدروکسیل ابتدا روی تمام صفحات نانوذرات جذب شوند، سپس عوامل گیاهی با این یون‌های هیدروکسیل پیوند برقرار کنند.



شکل ۲. نمودار رابطه ویلیامسون-هال بدون در نظر گرفتن صفحه پیک (۲۰۰).

Figure 2. Williamson-Hall plot regardless of peak plane (200).

جدول ۱. اندازه بلورک‌های حساب شده با دو روش دبای-شرر و ویلیامسون-هال.

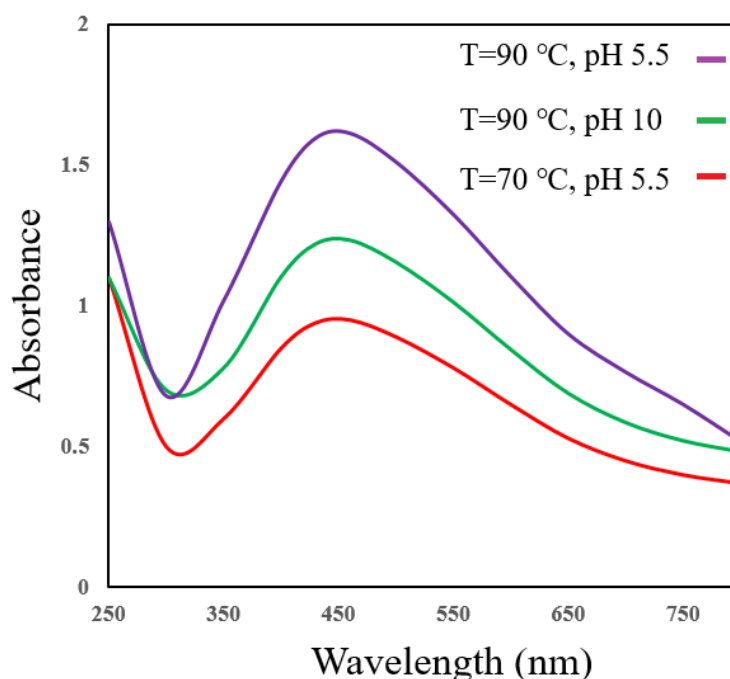
Table 1. The calculated crystallites size using Debye Scherrer and Williamson Hall methods.

Conditions	Crystallites size in [200] direction using Debye Scherrer's method (nm)	Crystallites size using Williamson Hall's method (nm)
pH 5.5, 70 °C	22.23	462
pH 5.5, 90 °C	16.26	198
pH 10, 90 °C	13.95	81.50

قابل مشاهده است [۲۲].

چنان که در شکل (۴) نشان داده شده است، نتایج مربوط به طیف جذبی تولید شده با طیف‌سنج، بیشینه جذب در ۴۳۵ nm برای نانوذرات تولید شده با عصاره نعنای فلفلی را نشان داد که تأییدکننده تشکیل نانوذرات نقره است. نکته‌ای که حائز اهمیت است سرعت تشکیل نانوذرات نقره است؛ زیرا نمونه‌هایی که در دمای ۹۰ °C سنتز شدند نسبت به دمای ۷۰ °C تغییر رنگ سریع‌تری داشتند؛ ولی برای مقایسه نمونه‌ها در شرایط زمانی یکسان، مدت زمان سنتز برای هر سه دما ۱۸ ساعت در نظر گرفته شد.

شکل (۳) طیف جذب UV-vis نانوذرات نقره سنتز شده را نشان می‌دهد. نانوذرات نقره دارای الکترون‌های آزاد هستند و به دلیل ارتعاش ترکیبی الکترون‌های نانوذرات نقره در رزونانس با موج نور، نوار جذبی SPR^۱ تشکیل می‌شود [۲۱]. رنگ محلول واکنش شامل ذرات کلوئیدی نقره در دماهای ۷۰ °C و ۹۰ °C پس از ۱۸ ساعت واکنش به‌طور کامل تغییر کرده و قهوه‌ای شده بود که برای شناسایی اولیه نانوذرات سنتز شده، طیف جذبی آن با دستگاه طیف‌سنج در دمای محیط ارزیابی شد. طبق مطالعات سنتز نانوذرات نقره، پیک جذبی مربوط به این نانوذره در طول موج ۳۸۰-۴۵۰ nm



شکل ۳. طیف UV-vis نانوذرات نقره سنتز شده پس از ۱۸ ساعت.

Figure 3. UV-vis spectra of synthesized Ag nanoparticles after 18 h.

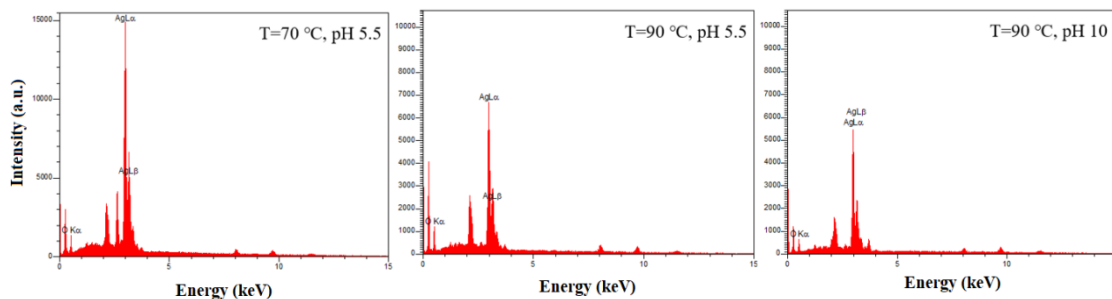
1. Surface Plasmon Resonance (SPR)

گزارش شده است. Qin و همکارانش [۲۵] با بررسی اثر عامل پوشاننده در سنتز نانوذرات نقره نشان دادند زمانی که pH با استفاده از آسکوبات به‌عنوان احیاکننده و سیترات به‌عنوان تثبیت‌کننده افزایش یافت، ذرات کروی بیشتری به دست آمد. علاوه بر این، آن‌ها نشان دادند که اندازه نانوذرات به‌عنوان تابعی از pH تغییر خواهد کرد. در حقیقت اندازه نانوذرات نقره به‌دلیل افزایش فعالیت کاهندگی سیترات یا اسید آسکوربیک کاهش یافت؛ از همین رو افزایش pH باعث کاهش تعداد هسته‌ها شد. هم‌چنین مطالعات نشان داد که نوع احیاکننده بر شکل نانوذرات نقره به‌دلیل ظرفیت احیا وابسته به pH اثر می‌گذارد. بنابراین تنظیم دقیق‌تر تعادل بین هسته‌زایی و رشد، کنترل بهتری بر شکل نانوذرات نقره می‌دهد [۲۶]. مطالعات زیادی نیز انتقال از ذرات کروی به نانوسیم یا نانومیله را گزارش دادند که این کنترل ریخت‌شناسی با تعدیل شرایط آزمایش مانند دما، غلظت پیش‌ماده نقره، pH محلول، عامل کاهنده (اسید سیتریک، اسید آسکوربیک و سدیم بورو هیدرید) امکان‌پذیر است. این ساختار هم در سنتز نانوذرات به روش شیمیایی و هم روش سبز مشاهده شده است [۲۷-۲۹]. محمدزاده و همکارانش [۳۰] اثر pH را در سنتز سبز نانوذرات نقره در مجاورت عصاره پوست سبز گردوی تازه بررسی کردند. نتایج طیف جذبی نمونه‌های سنتز شده نشان داد که در pH های کمتر از ۴ امکان تشکیل نانوذرات نقره وجود ندارد. با هر افزایش در مقدار pH، شدت باند SPR افزایش یافت و حداکثر شدت در شرایط قلیایی (pH=11) به دست آمد. هم‌چنین وایبیج^۱ و همکارانش در سنتز نانوذرات نقره در مجاورت عصاره باکتری نشان دادند که با افزایش pH احیا ذرات نقره ارتقا می‌یابد به طوری که در ۷-۸ pH بالاترین شدت پیک جذب برای نانوذرات نقره در مقایسه با pH های پایین‌تر گزارش شد [۳۱].

تجزیه و تحلیل طیف EDS (شکل (۴)) وجود نقره عنصری را با سیگنال‌های تیز در حدود ۳ keV تأیید کرد که یک محدوده معمولی از نوار جذب نوری نانوبلورهای فلزی است [۲۳]. پیک‌های کاذب بین ۰ تا ۲ keV مشاهده شد که مربوط به کربن و اکسیژن است که ساختار مواد مؤثره گیاهی عصاره را تشکیل می‌دهد که البته قسمت اعظم آن کربن است. کربن به‌شکل عامل پوششی و پایدارکننده بر روی سطح نانوذرات نقره پوشانده شد. طیف EDS فقط برای فاز صفحه‌ای شکل سنتز شده در دمای ۷۰ °C گزارش شد و همان‌طور که تصاویر SEM در ادامه نشان خواهند داد در دمای ۷۰ °C علاوه بر تشکیل صفحه، ذرات کروی شکل و سه‌گوش نیز تشکیل شده بودند؛ ولی طیف EDS برای ذرات کروی گزارش نشده است. این احتمال قوی‌تر است که غالب ذرات کروی در دمای ۷۰ °C نانوذرات اکسید نقره باشند که در نتایج XRD ظاهر شدند. با توجه به این‌که با افزایش شدت پیک اکسیژن، شدت پیک کربن نیز افزایش می‌یابد، به‌نظر می‌رسد که اکسیژن مربوط به ساختار گیاه دلیل حضور عنصر اکسیژن در طیف EDS است.

۲-۳ اثر دما و pH روی ریخت‌شناسی نانوذرات نقره سنتز شده

خواص نانوذرات نقره به اندازه و مورفولوژی ذرات بستگی دارد؛ نانوذرات نقره به‌عنوان مواد آنتی‌باکتریال و هم‌چنین در ترانزیستورهای رایانه‌ای، الکترومترها، حسگرهای شیمیایی، حسگرهای زیستی، کاتالیزورها، تصویربرداری پزشکی و اپتیک کاربرد دارند. بنابراین می‌توان با کنترل شکل و اندازه ذرات در مقیاس نانومتری به طراحی و تولید مواد با کاربردهای ویژه دست یافت [۲۴]. مطالعات زیادی در مورد کنترل اندازه و شکل نانوذرات



شکل ۴. طیف EDS نانوذرات نقره سنتز شده.

Figure 4. EDS spectra of synthesized Ag nanoparticles.

تجزیه ترکیبات زیستی در ساعت‌های اولیه سنتز نانوذرات و تماس بیشتر این ترکیبات تولیدشده با سطح بلورها در دمای 90°C تمامی ترکیبات پوششی موجود در عصاره از همه جهات بلور را احاطه کرده و ساختار کروی را شکل داده‌اند (شکل (۵)). البته تغییر رنگ محلول واکنش نیز برای محلول واکنش در دمای 90°C سریع‌تر از دمای 70°C بود. به‌طور کلی در سنتز نانوذرات به‌روش شیمیایی مرطوب، دمای بالای محلول منجر به افزایش سرعت هسته‌زایی و دمای پایین باعث افزایش سرعت رشد ذرات می‌شود؛ که نتایج سنتز سبز هم مؤید این روند است. به‌عبارت دیگر، نانوذرات با اندازه بزرگ‌تر را می‌توان در دمای پایین‌تر به‌دست آورد؛ زیرا در دمای پایین می‌توانند رشد بیشتری داشته باشند. هم‌چنین سرعت واکنش تشکیل نانوذرات نقره در دمای بالاتر افزایش می‌یابد که این خود می‌تواند منجر به هسته‌زایی بیشتر در دماهای بالا شود [۳۵]. به‌طور کلی گرم کردن یا سرد کردن محلول نهایی واکنش به شدت بر قابلیت احیای یون نقره، پایداری کمپلکس، شکل‌گیری و سرعت رشد ذرات اثرگذار است که نتیجه اثر این عوامل در شکل، اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات خود را نمایان می‌کند [۳۶]. هم‌چنین بوازیر^۱ و همکارانش اثر دماهای مختلف ($30, 50, 70, 90^{\circ}\text{C}$) را در سنتز نانوذرات نقره در مجاورت عصاره متانولی و آبی گل لادن بررسی کردند و نتایج طیف جذبی آن‌ها نشان داد که شدت جذب در دماهای 70°C و 90°C نسبت به دو دمای دیگر بیشتر است [۳۷]. مطالعه بورینرا^۲ و همکارانش برای سنتز سبز نانوذرات نقره در مجاورت مالتوز به‌عنوان احیاکننده یون نقره انجام شد؛ ذرات سنتز شده در دماهای واکنش $75, 85, 90$ و 95°C بررسی شدند که نتایج آن‌ها نیز نشان داد که در دو دمای بالا تعداد نانوذرات بیشتری تشکیل می‌شود که این نتیجه از تشکیل رنگ تیره محیط واکنش به دست آمد. هم‌چنین نشان دادند که با افزایش دما اندازه نانوذرات تشکیل شده نیز کوچک‌تر می‌شود [۳۸].

علاوه بر این، تغییرات جنبشی و ترمودینامیک نفوذ و جذب با دما نیز می‌تواند بر تغییر مقدار و نوع جذب ترکیبات گیاهی مؤثر باشد. این بدان معناست که رشد بلورها با گذشت زمان در دمای 70°C به‌صورت انتخابی و ناهمسان‌گرد انجام و این خود منجر به تشکیل ساختار صفحه‌ای شده است؛ که البته همراه با ساختار صفحه‌ای

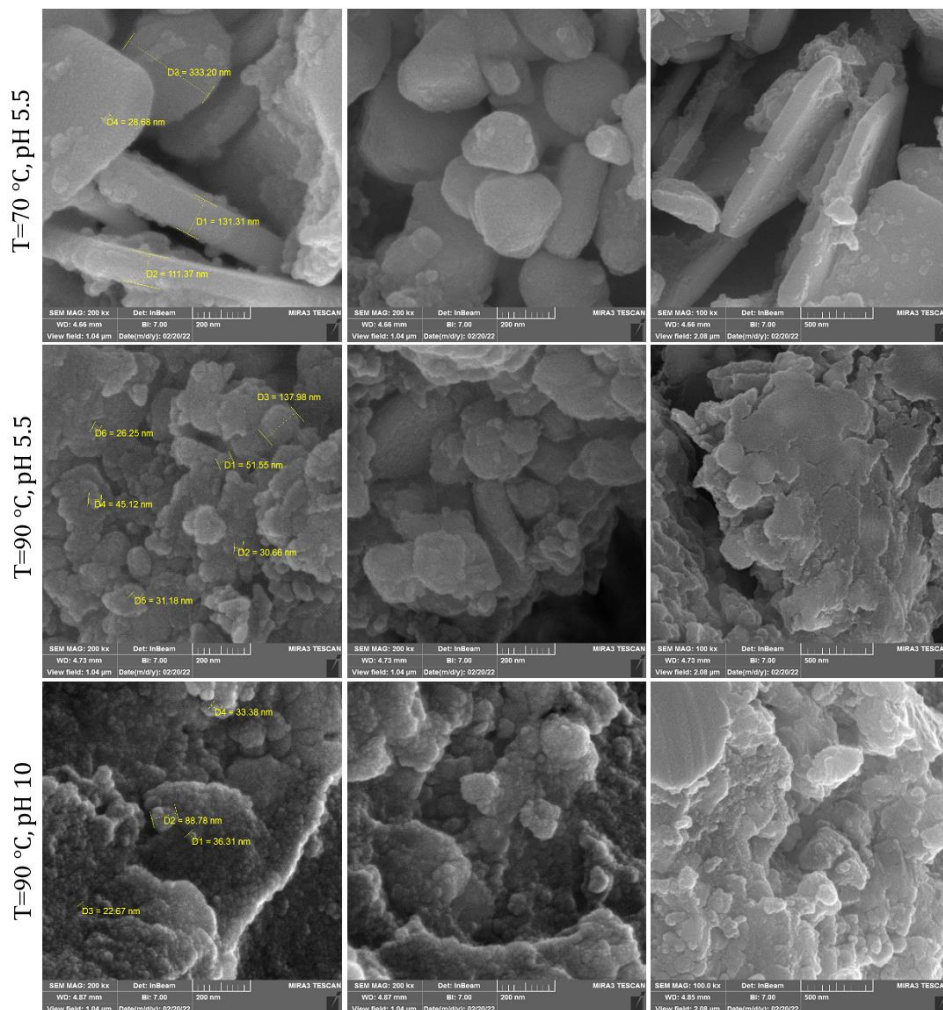
تلاش‌های زیادی برای توسعه و ساخت نانومیله‌های نقره در روش سنتز شیمیایی انجام شده است. در سنتز شیمیایی، نانومیله‌ها با یک فرایند شیمیایی با احیای نیترات نقره به‌وسیله اسید آسکوربیک در حضور دودسیل بنزن سولفونیک اسید سدیم به‌عنوان یک عامل پوشاننده سنتز شدند. کلرید آهن (FeCl_3) به‌عنوان نمک معدنی استفاده شد. نانومیله‌های نقره با بازده بالا با موفقیت سنتز شدند و غلظت کلرید آهن نیز بر عمل‌کرد و ریخت‌شناسی ذرات نقره اثرگذار بود. بررسی‌های جو و همکارانش [۳۲] نشان داد که برای تولید نانوذرات نقره به‌شکل میله‌ای، نسبت پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) به نیترات نقره باید کمتر باشد؛ زمانی که این نسبت بین $1/8$ و $1/7$ شد نانوذرات تمایل به میله‌ای شدن داشتند و در نسبت بالاتر از $2/5$ نانوذرات نقره کروی شکل تشکیل شدند. این نتیجه نشان می‌دهد که برای تشکیل نانوذرات میله‌ای شکل به عامل پوشش‌دهی مانند PVP نیاز است تا نانوذرات رشد یک‌بعدی داشته باشند. غلظت بالای عامل پوشش‌دهی باعث پوشش‌دهی همه وجوه نانوذره می‌شود و در نتیجه شکل نانوذرات به‌صورت کروی خواهد بود. بر عکس آن، کم بودن PVP باعث پوشش‌دهی ناهمسان‌گرد نانوذرات و باعث تشکیل میله‌های کوتاه یا پهن می‌شود [۳۳-۳۴].

عصاره نعنای فلفلی مانند سایر عصاره‌های گیاهی دارای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، آنتی‌اکسیدانی و پلی‌ساکاریدی است و البته نسبت این ترکیبات در هر عصاره گیاهی بسته به ساختار گیاه متفاوت است. در این میان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی نسبت به سایر ترکیبات موجود در عصاره نسبت به دما حساس هستند و با بالا رفتن دما امکان تخریب و تجزیه ترکیبات زیستی عصاره بیشتر خواهد شد. میزان ترکیبات فنولی عصاره اولیه نعنای فلفلی $17/0 \pm 45/91$ GAE/g به دست آمد که در واقع یکی از مواد اصلی احیاکننده یون‌های نقره در سنتز بود. هم‌چنین غلظت یون نقره موجود در محیط یکی از شاخص‌های مهم اثرگذار در اندازه و شکل نانوذرات تشکیل شده است. نتایج XRD و EDS خلوص بالای نانوذرات نقره تشکیل شده در دمای 90°C را تأیید کرد که در مجموع با توجه به ماندگاری بالای ترکیبات زیست‌فعال عصاره در دمای 70°C نسبت به دمای 90°C ، این ترکیبات فرصت کافی داشتند تا به‌صورت انتخابی از یک جهت رشد بلورها شوند و ساختار نانو صفحه را شکل دهند. ولی با توجه به احتمال بالای

1. Bawazeer
2. Bruniera

ساختار صفحه‌ای شکل، کروی و سه‌گوش هستند. کردی^۱ نانوذرات نقره را در حضور عصاره برگ حنا سنتز کرد و نشان داد که نانوذرات در pH پایین‌تر تمایل به تشکیل ذرات بزرگ‌تر دارند و همچنین اندازه ذرات تشکیل شده یکنواخت نیست. در صورتی که با بالا رفتن pH اندازه نانوذرات کوچک‌تر شده و یکنواختی بیشتری خواهند داشت [۳۹]. با توجه به نتایج XRD، SEM، EDS و نتایج طیف‌سنج، در دمای محیط نانوذرات نقره تشکیل نشده‌اند که عامل آن می‌تواند کافی نبودن دمای محیط برای رهایش الکترون‌های آزاد در محیط باشد. بنابراین عصاره نعناع قابلیت احیای یون‌های نقره را در دمای محیط و تشکیل نانوذرات نقره ندارد.

ذرات کروی و سه‌گوش نیز مشاهده می‌شود که در مورد زمان و یا تقدم تشکیل این ذرات در واکنش نمی‌توان تفسیر دقیقی ارائه کرد. ولی در دمای ۹۰ °C انتخابی برای جهت رشد بلورها از صفحه مشخصی وجود نداشته است و بلورها به صورت همسان‌گرد از تمامی جهات رشد کرده و ساختار کروی را شکل داده‌اند. اندازه بلورک‌ها در این نمونه نیز نشانگر کاهش چشم‌گیر ناهمسان‌گردی است. چنان‌که در شکل (۵) مشاهده می‌شود اندازه نانوذرات تشکیل شده در دمای ۷۰ °C در مقایسه با دمای ۹۰ °C بزرگ‌تر است. اندازه ذرات کروی تشکیل شده در دمای ۹۰ °C از ۲۲ nm تا ۱۳۸ nm است و تقریباً تمامی ذرات سنتز شده کروی هستند؛ در حالی که اندازه ذرات تشکیل شده در دمای ۷۰ °C از ۲۸ nm تا ۳۳۴ nm بوده و ترکیبی از



شکل ۵. تصاویر SEM نانوذرات نقره سنتز شده در عصاره نعناع فلفلی.

Figure 5. The SEM images of synthesized Ag nanoparticles using peppermint extract.

۳-۳ خاصیت آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره تولید شده

به‌طور کلی فعالیت آنتی‌باکتریال نقره در نتیجه اتصال نانوذرات نقره به دیواره باکتری‌هاست که این اتصال منجر به واسرشتگی پروتئین می‌شود. در حقیقت نیرو محرکه پروتون در غشای سلولی افت می‌کند و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود [۴۰]. اندازه نانوذرات نقش مهمی در فعالیت آنتی‌باکتریال دارد؛ هرچه اندازه نانوذرات کوچک‌تر باشد (سطح به حجم بالا) به آسانی با غشای باکتری، جذب و به دنبال آن یون مثبت نقره با اکسایش آزاد می‌شود. این عامل باعث شتاب‌دهی تولید گونه‌های اکسیداتیو واکنش‌پذیر و باعث آسیب بیشتر ساختار سلولی می‌شود و سرانجام مرگ سلولی را در پی خواهد آورد [۴۱]. نانوذرات نقره می‌توانند به‌طور مداوم یون‌های نقره را آزاد کنند که احتمال می‌رود همین عامل به‌عنوان سازوکار کشتن ریزاندام‌ها عمل می‌کند. به‌دلیل جاذبه الکترواستاتیکی و تمایل به پروتئین‌های سولفور، یون‌های نقره می‌توانند به دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی بچسبند. یون‌های چسبیده می‌توانند نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی را افزایش دهند و منجر به اختلال در پوشش باکتریایی شوند. پس از جذب یون‌های نقره آزاد به‌داخل سلول‌ها، آنزیم‌های تنفسی می‌توانند غیرفعال شوند و گونه‌های فعال و واکنش‌پذیر اکسیژن تولید می‌شود و تولید آدنوزین تری‌فسفات را قطع می‌کند. گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن می‌توانند عامل اصلی در تحریک اختلال غشای سلولی و اصلاح دی‌اکسی ریبونوکلیک اسید (DNA) باشند. از آنجایی که گوگرد و فسفر اجزای مهم DNA هستند، برهم‌کنش یون‌های نقره با گوگرد و فسفر DNA می‌تواند باعث ایجاد مشکلاتی در همانندسازی DNA، تولید مثل سلولی و یا حتی خاتمه دادن به زندگی ریزاندام‌ها شود. علاوه بر این، یون‌های نقره می‌توانند با دناتور کردن ریبوزوم‌ها در سیتوپلاسم، سنتز پروتئین‌ها را مهار کنند [۴۲]. همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود نتایج نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره نعنای فلفلی هم تأییدکننده این موضوع هستند. نانوذرات سنتز شده در دمای ۹۰ °C در مقایسه با دمای ۷۰ °C، اثر بازدارندگی رشد بیشتری نسبت به هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی داشتند. هم‌چنین محلول واکنش انجام‌شده در دمای محیط نسبت به دو دمای دیگر اثر بازدارندگی رشد خیلی کمتری داشت. بنابراین می‌توان نتایج

آنتی‌باکتریال ارائه‌شده را این‌گونه تفسیر کرد که هرچه اندازه نانوذرات نقره کوچک‌تر باشد آزادی حرکت برای عبور از غشای سلولی افزایش می‌یابد و سرعت مرگ سلولی بیشتر خواهد شد. تصاویر مربوط به بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره تولید شده در مقایسه با دو آنتی‌بیوتیک استفاده‌شده به‌عنوان کنترل مثبت در شکل (۶) پیداست.

جدول ۲. فعالیت آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره سنتز شده.

Table 2. Antibacterial activity of synthesized Ag nanoparticles.

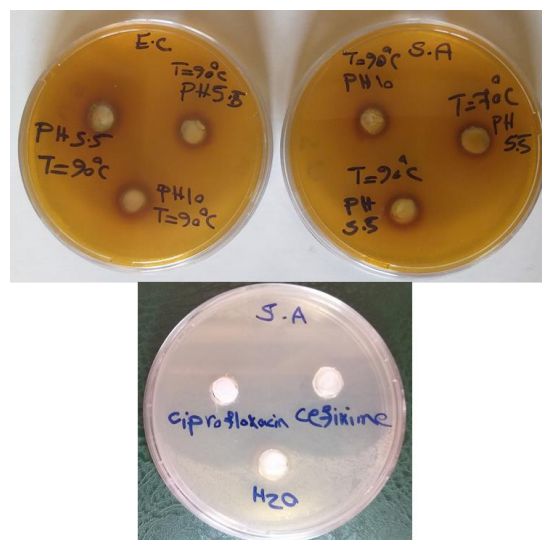
Conditions	Diameter of inhibition zone (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
70°C, pH 5.5	12±0.20	12±0.79
90°C, pH 5.5	14±0.50	13±0.44
90°C, pH 10	14±0.80	14±0.20
Cefixime- 1 mg/mL	21±0.98	18±0.79
Ciprofloxacin- 1 mg/mL	18±0.67	19±0.55

۴. نتیجه‌گیری

تهیه نانوذرات نقره با روش سنتز سبز در حضور عصاره نعنای فلفلی به‌عنوان عامل کاهنده یون‌های نقره موفقیت‌آمیز بود. نتایج نشان داد که ریخت‌شناسی نانوذرات نقره با عصاره نعنای فلفلی به‌شدت به دما وابسته است؛ به‌طوری‌که عصاره در دمای محیط قادر به احیای یون‌های نقره نشد؛ ولی در دمای ۷۰ °C و ۹۰ °C طیف جذب UV-vis و آزمون‌های EDS، XRD و SEM تشکیل نانوذرات نقره را تأیید کرد. در دمای ۷۰ °C نانوذرات در شکل‌های مختلفی شامل مکعب مستطیل یا صفحه‌ای شکل، کروی و سه‌گوش تشکیل شدند. با افزایش دما و pH، نانوذرات کروی تشکیل شد. هم‌چنین افزایش دما و pH منجر به کاهش اندازه نانوذرات شد. نانوذرات نقره سنتز شده باعث ممانعت رشد هر دو باکتری *E. coli* و *S. aureus* شد. به‌عبارتی رشد هر دو باکتری نسبت به نانوذرات نقره سنتز شده حساس بود. علاوه بر آن نانوذرات سنتز شده در دمای ۹۰ °C نسبت به دمای ۷۰ °C اثر ممانعت افزایش رشد معناداری داشتند.

1. Deoxyribonucleic Acid

- Chrysanthemum indicum L and its antibacterial and cytotoxic effects: an in vitro study", *International Journal of Nanomedicine*, 9: pp. 379-388, (2014).
- [7] Deng, Z., Chen, M., Wu, L., "Novel method to fabricate SiO₂/Ag composite spheres and their catalytic, surface-enhanced Raman scattering properties", *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(31), pp. 11692-11698, (2007).
- [8] Wei, H., Li, J., Wang, Y., Wang, E., "Silver nanoparticles coated with adenine: preparation, self-assembly and application in surface-enhanced Raman scattering", *Nanotechnology*, 18(17), pp. 1-5, (2007).
- [9] Bhattacharya, R., Mukherjee, P., "Biological properties of 'naked' metal nanoparticles", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), pp. 1289-1306, (2008).
- [10] Hebeish, A., Shaheen, T. I., El-Naggar, M. E., "Solid state synthesis of starch-capped silver nanoparticles", *International journal of biological macromolecules*, 87: pp. 70-76, (2016).
- [11] Ahmadi, T. S., Wang, Z. L., Green, T. C., Henglein, A., El-Sayed, M. A., "Shape-controlled synthesis of colloidal platinum nanoparticles", *Science*, 272, pp. 1924-1926, (1996).
- [12] Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., Yilmaz, M. D., "Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity", *RSC advances*, 9(5), pp. 2673-2702, (2019).
- [13] Ijaz, I., Bukhari, A., Gilani, E., Nazir, A., Zain, H., Saeed, R., "Green synthesis of silver nanoparticles using different plants parts and biological organisms, characterization and antibacterial activity", *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 18, p. 100704, (2022).
- [14] Yadav, J., Chauhan, P., "Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus X sinensis (Orange) fruit extract and assessment of their catalytic reduction", *Materials Today: Proceedings*, (2022).
- [15] Farshori, N. N., Al-Oqail, M. M., Al-Sheddi, E. S., Al-Massarani, S. M., Saquib, Q., Siddiqui, M. A., Al-Khedhairi, A. A., "Green synthesis of silver nanoparticles using Phoenix dactylifera seed extract and its anticancer effect against human lung adenocarcinoma cells", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 70, p. 103260, (2022).
- [16] Waterhouse, A. L., "Determination of total phenolics. Current protocols in food analytical chemistry", In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), 1-8, (2002).
- [17] Holland, T. J. B., Redfern, S. A. T., "Unit Cell Refinement from Powder Diffraction Data: The Use of Regression Diagnostics", *Mineralogical Magazine*, 61, pp. 65-77, (1997).



شکل ۶. آزمون آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره سنتز شده.

Figure 6. Antibacterial activity of synthesized Ag nanoparticles.

مراجع

- [1] Sondi, I., Goia, D. V., Matijević, E., "Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles", *Journal of colloid and interface science*, 260(1), pp. 75-81, (2003).
- [2] Sarkar, S., Kotteeswaran, V., "Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous leaf extract of pomegranate (*Punica granatum*) and their anticancer activity on human cervical cancer cells", *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(2), pp. 1-11, (2018).
- [3] Chung, I. M., Park, I., Seung-Hyun, K., Thiruvengadam, M., Rajakumar, G., "Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications", *Nanoscale research letters*, 11(1), pp. 1-14, (2016).
- [4] AlSalhi, M. S., Devanesan, S., Alfuraydi, A. A., Vishnubalaji, R., Munusamy, M. A., Murugan, K., Benelli, G., "Green synthesis of silver nanoparticles using *Pimpinella anisum* seeds: antimicrobial activity and cytotoxicity on human neonatal skin stromal cells and colon cancer cells", *International journal of nanomedicine*, 11, pp. 4439-4449, (2016).
- [5] He, Y., Du, Z., Ma, S., Cheng, S., Jiang, S., Liu, Y., Zheng, X., "Biosynthesis, antibacterial activity and anticancer effects against prostate cancer (PC-3) cells of silver nanoparticles using *Dimocarpus Longan* Lour. peel extract", *Nanoscale research letters*, 11(1), pp. 1-10, (2006).
- [6] Arokiyaraj, S., Arasu, M. V., Vincent, S., Prakash, N. U., Choi, S. H., Oh, Y. K., Kim, K. H., "Rapid green synthesis of silver nanoparticles from

- [18] Zhang, H., Bai, X., Wu, B., "Evaluation of antimicrobial activities of extracts of endophytic fungi from *Artemisia annua*", *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 7(2), pp. 120-123, (2012).
- [19] Williamson, G. K., Hall, W. H., "X-Ray Line Broadening from Filled Aluminium and Wolfram", *Acta Metallurgica*, 1, pp. 22-31, (1953).
- [20] Chaoying, N., Puthusserickal, A., H., Eric W. K., "Structural Characteristics and Growth of Pentagonal Silver Nanorods Prepared by a Surfactant Method", *Langmuir*, 21, pp. 3334-3337, (2005).
- [21] Loo, Y. Y., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., Radu, S., "Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*", *International Journal of Nanomedicine*, 7, pp. 4263-4267, (2012).
- [22] Lee, K., C., Lin, S., J., Lin, C., H., Tsai, C., S., Lu, Y., J., "Size effect of Ag nanoparticles on surface plasmon resonance", *Surface and Coatings Technology*, 202, pp. 5339-5342, (2008).
- [23] Wang, M., Li, H., Li, Y., Mo, F., Li, Z., Chai, R., Wang, H., "Dispersibility and size control of silver nanoparticles with anti-algal potential based on coupling effects of polyvinylpyrrolidone and sodium tripolyphosphate", *Nanomaterials*, 10(6), pp. 1-15, (2020).
- [24] Shenashen, M. A., El-Safy, S. A., Elshehy, E. A., "Synthesis, morphological control, and properties of silver nanoparticles in potential applications", *Particle & Particle Systems Characterization*, 31(3), pp. 293-316, (2014).
- [25] Qin, Y., Ji, X., Jing, J., Liu, H., Wu, H., Yang, W., "Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 372, pp. 172-176, (2010).
- [26] Alqadi, M. K., Abo Noqtah, O. A., Alzoubi, F. Y., Alzoubi, J., Aljarrah, K., "pH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction", *Materials Science-Poland*, 32, pp. 107-111, (2014).
- [27] Khodashenas, B., Ghorbani, H. R., "Synthesis of silver nanoparticles with different shapes", *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), pp. 1823-1838, (2019).
- [28] Cobley, C. M., Skrabalak, S. E., Campbell, D. J., Xia, Y., "Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles for plasmonic and sensing applications", *Plasmonics*, 4: pp. 171-179, (2009).
- [29] Murphy, C. J., Jana, N. R., "Controlling the aspect ratio of inorganic nanorods and nanowires", *Advanced Materials*, 14, pp. 80-82, (2002).
- [30] Mohammadzadeh, S. E., Faghiri, F., Ghorbani, F., "Green synthesis of phenolic capping Ag NPs by green walnut husk extract and its application for colorimetric detection of Cd²⁺ and Ni²⁺ ions in environmental samples", *Microchemical Journal*, 179, p. 107475, (2022).
- [31] Wypij, M., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., Golinska, P., "Controllable biosynthesis of silver nanoparticles using actinobacterial strains", *Green Processing and Synthesis*, 8(1), pp. 207-214, (2019).
- [32] Jiu, J., Murai, K., Kim, D., Kim, K., Suganuma, K., "Preparation of Ag nanorods with high yield by polyol process", *Materials Chemistry and Physics*, 114(1), pp. 333-338, (2009).
- [33] Tsuji, M., Hashimoto, M., Nishizawa, Y., Kubokawa, M., Tsuji, T., "Microwave-assisted synthesis of metallic nanostructures in solution", *Chemistry-A European Journal*, 11(2), pp. 440-452, (2005).
- [34] Liu, B., Yan, H., Chen, S., Guan, Y., Wu, G., Jin, R., Li, L., "Stable and controllable synthesis of silver nanowires for transparent conducting film", *Nanoscale Research Letters*, 12(1), pp. 1-6, (2017).
- [35] Jiang, X. C., Chen, W. M., Chen, C. Y., Xiong, S. X., Yu, A. B., "Role of temperature in the growth of silver nanoparticles through a synergetic reduction approach", *Nanoscale Research Letters*, 6(1), pp. 1-9, (2011).
- [36] Liu, H., Zhang, H., Wang, J., Wei, J., "Effect of temperature on the size of biosynthesized silver nanoparticle: deep insight into microscopic kinetics analysis", *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), pp. 1011-1019, (2020).
- [37] Bawazeer, S., Rauf, A., Shah, S., U., A., Shawky, A., M., Al-Awthan, Y., S., Bahattab, O., S., El-Esawi, M., A., "Green synthesis of silver nanoparticles using *Tropaeolum majus*: Phytochemical screening and antibacterial studies", *Green Processing and Synthesis*, 10(1), pp. 85-94, (2021).
- [38] Bruniera, J., F., B., Gabriel-Silva, L., Goulart, R., S., Silva-Sousa, Y., T., C., Lara, M., G., Pitondo-Silva, A., Miranda, C., E., S., "Green synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of silver nanoparticles for an intracanal dressing", *Brazilian Dental Journal*, 31, pp. 485-492, (2020).
- [39] Kredy, H., M., "The effect of pH, temperature on the green synthesis and biochemical activities of silver nanoparticles from *Lawsonia inermis* extract", *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(8), pp. 2022-2026, (2018).
- [40] Alsammarraie, F. K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A., Lin, M., "Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, pp. 398-405, (2018).
- [41] Singh, P., Pandit, S., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkaapati, V. R., Sultan, A., Mijakovic, I., "Green

synthesis of gold and silver nanoparticles from Cannabis sativa (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition", International Journal of Nanomedicine, 13, pp. 3571-3591, (2018).

[42] Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., Chu, C. H., "The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry", International Journal of Nanomedicine, 15, pp. 2555-2562, (2020).