

## ستز نانو ذرات نقره به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی

### (*Origanum majorana*) و بررسی اثرات ضد میکروبی آن

سمیه کاووسی و هاشم یعقوبی\*

اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، گروه زیست‌شناسی

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

#### چکیده

روشهای مختلف زیادی برای تولید نانوذرات نقره وجود دارد ولی استفاده از گیاهان بدليل کم هزینه و سازگار محیط زیست بودن در ستز نانوذرات بسیار مورد توجه قرار گرفته است در این مطالعه ستز 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 باکتری‌های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی، سودوموناس آثروژنر و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی گردید. تشکیل نانو ذرات زیستی نقره در محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (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 ۳۰-۷۰ نانومتر است. نانو ذرات نقره زیستی دارای فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بودند. به نظر می‌رسد که ستز سبز نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان می‌تواند به افزایش ضد باکتریایی آنها کمک کند. در تحقیق حاضر نشان داده شد که خواص ضد باکتریایی عصاره‌های حاوی نانوذرات به شکل محسوسی افزایش یافت.

**واژه‌ای کلیدی:** ستز سبز، مرزنجوش اروپایی و نانو ذرات نقره

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۵۷۹۸۷۳۵، پست الکترونیکی: yaghoubi\_h@iauardabil.ac.ir

#### مقدمه

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 آسیب‌های زیست محیطی رو به افزایش می‌باشد. یکی از روش‌های 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 می‌باشد. به عنوان مثال، از جمله تلاش‌هایی که برای بیوستز نانوذرات انجام شده است، تولید نانوذرات به‌وسیله میکرووارگانیسم‌ها می‌باشد. هر دو میکرووارگانیسم‌های مرده

امروزه تمایل به تولید و استفاده از مواد با ابعاد نانو متري 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 می‌توان به قوس الکتریکی(پلاسما) (۵۰)، احیای شیمیایی(۶)، فرایش لیزری (۴۸) و امواج میکروویو (۴۴ و ۱۱) اشاره کرد. ولی نانو ذرات حاصل از این روشها بدليل استفاده از مواد خطرناک شیمیایی پرتو زایی انجام واکنش‌ها در شرایط خاص (دما و فشار) گران بودن مواد و زمان بر بودن و

گیاه، *Origanum majorana* نوعی مرزنجوش است که به آن مرزنجوش اروپایی نیز می‌گویند (شکل ۱)، جزو طبقه گیاهان گلدار دولپه‌ای‌ها، راسته نعناسانان، تیره نعناعیان و سرده اوریگانوم و گونه مازورانا است.



شکل ۱- مرزنجوش اروپایی (*Origanum majorana*)

پراکنده‌گی 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 دیواره‌های پرشیب، گاهی میان صخره‌ها دیده می‌شود. این گیاه معمولاً تا ارتفاع ۲۵ متری رشد کرده و برگ‌ها متقابل و بیضوی، بدون دندانه و گل‌های کوچک به رنگ سفید یا گلی و پوشیده از چهار ردیف برakte مایل به سفید دارد (شکل ۱). وجود برakte‌ها باعث می‌شود گل‌ها از نظرکالی، ظاهر کروی پیدا کنند این گیاه در سراسر جهان به عنوان یک ادویه‌ی بسیار پستنده مورد استفاده قرار می‌گیرد و علاوه بر استفاده‌های سنتی در درمان بیماری‌های معده و روده کاربرد فراوانی دارد (۳۳). ترکیبات غالب شناسایی شده در این گیاه عبارتند از: لینالیل استات، سابین، گاما-ترپین و بتا-اوسمین از مونوتربین‌ها و بتا-کاریوفیلن، کاریوفیلن اکسید، گاما-المن از سزکوبی ترپین‌ها (۴۵) در طب سنتی ایران و سرزمین‌های دیگر به عنوان ضدآسم، آرام بخش، ضدغفعونی کننده و التیام دهنده زخم‌ها، ادرار آور و تأخیر در قاعدگی استفاده می‌شده است. امروزه از

و زنده برای تولید نانو ذرات از اهمیت ویژه‌ای 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 شیمیابی، ممکن است منجر به حضور برخی از گونه‌های سمی جذب شده در سطح نانوذرات شود که دارای عوارض جانبی در برنامه‌های کاربردی و پژوهشی 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، شیمیابی، 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. ازین‌روه دو موجودات زنده‌ی تکسلولی و چندسلولی برای تولید درون سلولی و برون‌سلولی نانومواد به کار 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. 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 (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)، *Acalypha indica* (۴۰)، *Azadirachta indica* (۱۷)، *Catharanthus Roseus* (۴)، *Ocimum Sanctum* (۲۸) و بسیاری دیگر از گیاهان انجام گرفته است.

تعیین اندازه و مورفولوژی نانو ذرات: نانوذرات نقره ستتر 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 روبیشی میدان گسیلی (FESEM) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. برای تعیین فازهای بلورین (کریستالی) نانوذرات نقره ستتر 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  $\text{Cu K}\alpha$  با طول موج  $\lambda=1.5406\text{\AA}$  استفاده شد. برای تعیین اندازه و توزیع پراکندگی نانوذرات نقره ستتر 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 ستتر شده از عصاره توسط دستگاه میکروسکوپ الکترون روبیشی میدان گسیلی (FESEM) مدل Mira-Xmu مورد بررسی قرار گرفت برای آماده‌سازی نمونه تصویر برداری، پودر نانوذرات بالای بسیار نازکی از طلا پوشش داده می‌شود تا باعث رسانای سطحی شده طوری که مسیر باریکه‌های الکترونی برگشتی را تغییر ندهد همچنین پودر نانوذرات نقره باستی روی یک سطح هادی که بیشتر از جنس آلومینیوم است پخش شده باشد.

اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره: سویه‌های میکروبی استاندارد اشتریشیا کلی (ATCC 11303)، سودوموناس آثریوزینوزا (ATCC 342)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 6538) باسیلوس سرئوئس (ATCC 12817) از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران (IROST) تهیه شدند. جهت بررسی تعیین حداقل غلاظت‌های باز دارنده یا MIC از روش رقت در لوله

بخش‌های گیاه مرزنجوش و عصاره‌های بیوشیمیابی 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 لبید استفاده می‌شود(۴۸ و ۴۹).

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

## مواد و روشها

جمع آوری و تهیه عصاره گیاه مرزنجوش: در ابتدا اندام‌های 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 ۱۰۰ سی 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.

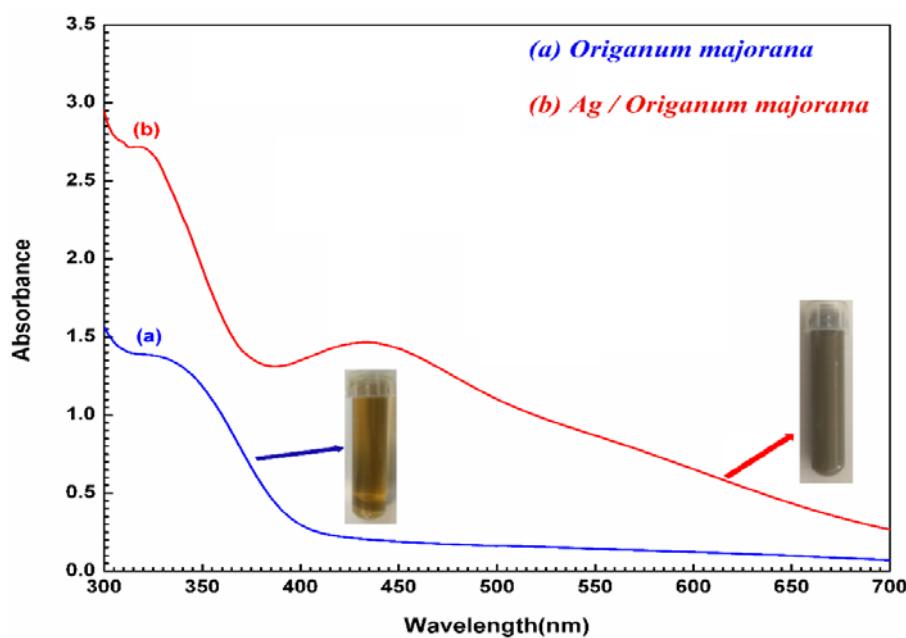
ستتر نانو ذرات: ۱۰ سی سی از عصاره تهیه شده را با ۹۰ سی سی محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار مخلوط کرده و محلول را به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاهی بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. جهت مشاهده تغییرات رنگ بروی میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر (Uv-Vis) مدل shimadzu UV2550 ساخت ژاپن در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

استفاده شد و پلیت‌ها ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. کمترین غلظت عصاره که در آن غلظت هیچ باکتری زنده نمانده بود بیان‌کننده میزان حداقل غلظت‌های کشنده یا MBC آن عصاره در نظر گرفته شد (۳۶ و ۱۹).

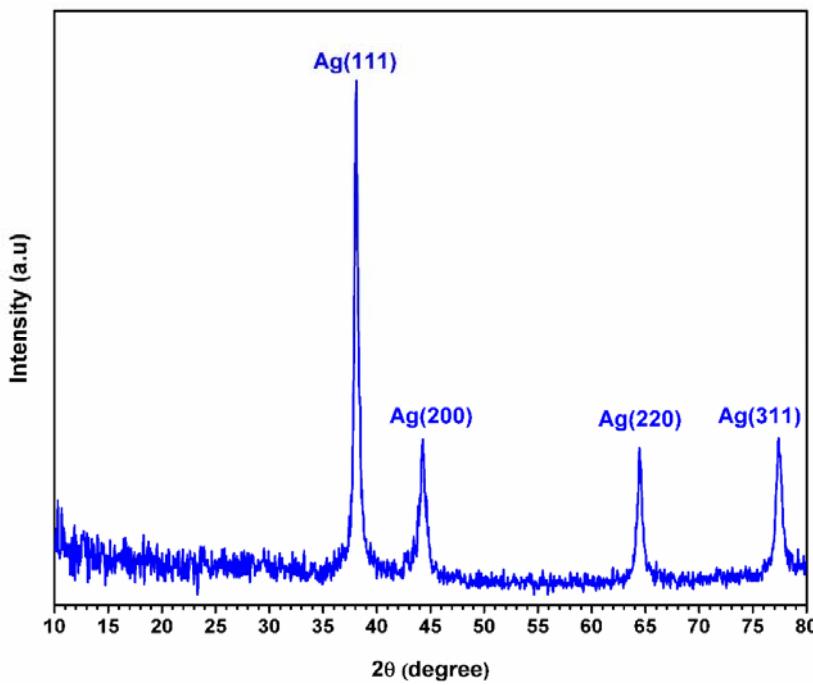
## نتایج

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

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 هیبتون برات 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 فارلنده 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 کشنده‌گی عصاره در برابر باکتری از لوله‌های شفاف که رشد در آن‌ها مهار شده برای کشت در محیط جامد مولر هیبتون آگار



شکل ۲ - طیف اسپکتروفوتومتر مرئی-فربنفش نانوذرات نقره ستز شده با عصاره گیاه مرزنجوش (a) عصاره (b) عصاره به همراه نقره



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

ذرات  $30\text{ nm}$  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، بدليل 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 نانوذرات با توجه به تصویر TEM ، قطری در محدوده  $30\text{ nm}$  تا  $70\text{ nm}$  دارند که با توزیع لانگ نرمال، قطر میانگین در حدود  $40\text{ nm}$  است.

شکل ۵، تصاویر میکروسکوپ الکترون رویشی گسیل میدانی، FESEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه مرزنجوش را با بزرگنمایی‌های مختلف  $1\mu\text{m}$ ،  $2\mu\text{m}$ ،  $500\text{ nm}$  و  $200\text{ nm}$  نشان می‌دهد که همه این بزرگنمایی‌ها

تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیابی 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  $(111)$ ،  $(200)$ ،  $(311)$  در  $2\theta=38.07^\circ$ ،  $44.26^\circ$  و  $64.43^\circ$  و  $77.35^\circ$  مربوط به ساختار FCC نانوذرات نقره می‌باشد که با الگوی استاندارد پراش اشعه ایکس نقره تطابق کامل دارد.

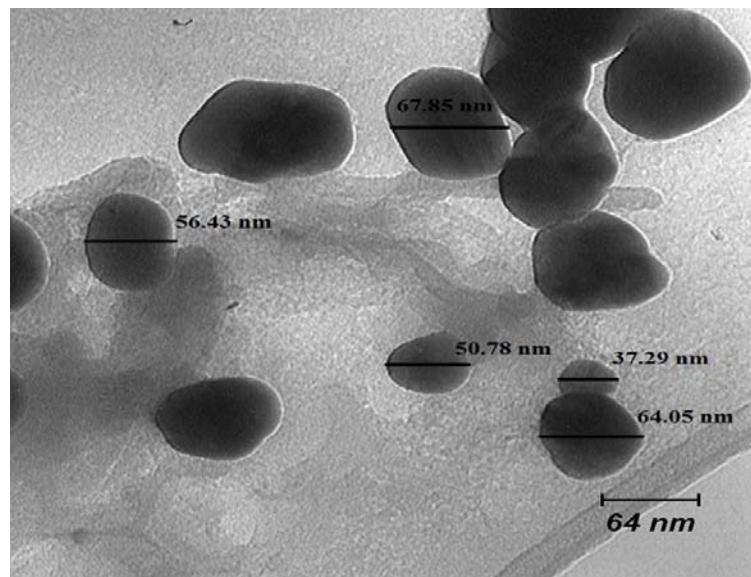
پنهانی کم الگوی پراش در نصف ماکریم پیک  $(111)$  نشان دهنده بزرگ بودن سایز کریستالی نانوذرات نقره می‌باشد. سایز کریستالی نانوذرات نقره از رابطه شرور بدست می‌آید.

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

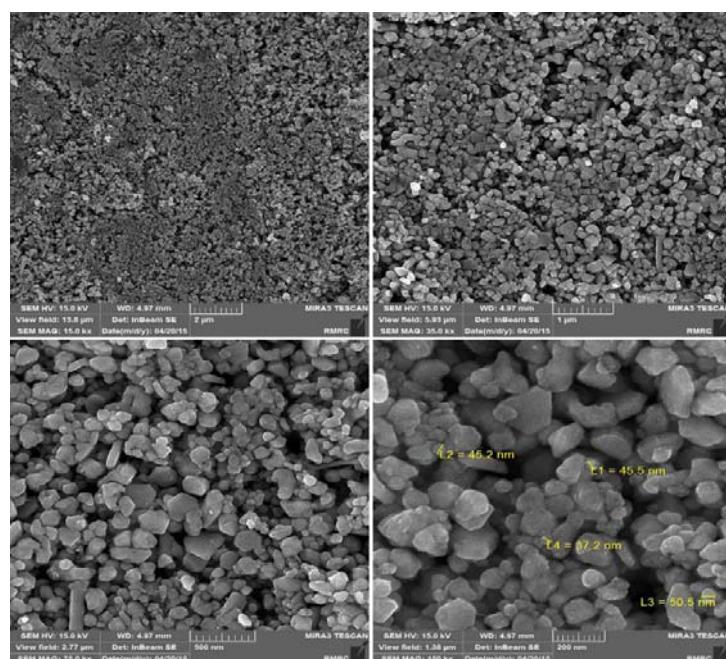
که در رابطه فوق  $k=0.9$  فاکتور شکلی بوده،  $\lambda$  طول موج پرتو ایکس و معادل  $1.5406\text{ \AA}$  می‌باشد.  $\beta$  پنهانی کامل در نصف ماکریم پیک پراش و  $\theta$  زاویه مربوط به پیک پراش می‌باشد. از محاسبه رابطه شرور، سایز کریستالی نانو-

FESEM نسبت به TEM پایین است و به این دلیل برای بیان سایز میانگین از آنالیز TEM استفاده می‌شود. مطابق تصاویر FESEM اندازه تجمعی نانوذرات بین ۳۰ nm تا ۷۰ nm متغیر است.

مربوط به یک نمونه می‌باشد. تصویر FESEM نشان دهنده ابعاد نانومتری ذرات نقره بوده و بیانگر شکل تقریباً کروی در همه بزرگنمایی‌ها می‌باشد. تعیین سایز نانوذرات از طریق FESEM دقیق نمی‌باشد، چون قدرت تفکیک



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



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

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 استافیلوكوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به ترتیب معادل ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذره و عصاره به ترتیب ۲۰ و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد.

سویه های میکروبی و روش بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره: کمترین غلظت مهار کنندگی و کمترین غلظت باکتری کشی نانوذرات و عصاره استاندارد *Origanum majorana* بر روی سویه های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیاکالی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوكوکوس اورئوس تعیین گردید. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود در این مطالعه کمترین مهار کنندگی نانوذره و عصاره برای باکتری اشرشیاکالی و

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

| نانوذرات تولیدی توسط<br>عصاره آبی مرزنجوش<br>( <i>Origanum majorana</i> .) |    | عصاره آبی خالص مرزنجوش<br>( <i>Origanum majorana</i> .) |             | سویه های باکتریایی                |
|--|----|---|-------------|-----------------------------------|
| ۵  | ۱۰ |   | (µg/ml) MIC | اشرشیا کالی<br>ATCC 11303         |
| ۱۰   | ۲۰ |   | (µg/ml) MBC |                                   |
| ۵  | ۱۰ |   | (µg/ml) MIC | سودوموناس آئروژینوزا<br>ATCC 342  |
| ۱۰   | ۲۰ |   | (µg/ml) MBC |                                   |
| ۱۰   | ۲۰ |   | (µg/ml) MIC | استافیلوكوکوس اورئوس<br>ATCC 6538 |
| ۲۰   | ۴۰ |   | (µg/ml) MBC |                                   |
| ۱۰   | ۲۰ |   | (µg/ml) MIC | باسیلوس سرئوس<br>ATCC 12817       |
| ۲۰   | ۴۰ |   | (µg/ml) MBC |                                   |

روش های گوناگون فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی مانند: تخلیه شارژ، احیاء شیمیایی، سونو شیمی، پرتو افکنی و سنتز کربوکمیکال (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 باشد. از معایب روشهای فیزیکی و شیمیایی استفاده از مواد

### 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 اتفاقی شگرف در مواد ضد باکتریایی است که جهت گیری اصلی برای گسترش محصولات نانو نقره بوده و دارای مزایای بسیار زیادی نسبت به مواد شیمیایی می باشند. نقره فلزی با

برانگیخته ناپایدار است بنابراین دوباره به تراز انرژی پایه بر می‌گردد یک فوتونی را از خود ساطع می‌کند. البته فرکانس تشدید پلاسمون سطحی در نانوذرات فلزی به شکل، اندازه و محیطی که نانوذرات در آن قرار دارند بستگی دارد(۴۱ و ۴۲).

شکل ۲ نشان داد که طول موج ماکریم در حدود ۴۲۰ نانومتر که با نتایج سایر محققین هم خوانی دارد (۸، ۱۴ و ۳۹) در این مطالعه با استفاده از روش XRD از وجود و سنتز نانوکریستال‌های نقره توسط عصاره گیاه مرزنجوش اطمینان حاصل شد. با استفاده از الگوی XRD اندازه کریستال‌ها مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که اندازه کریستال در حدود ۳۰ نانومتر بود. الگوی XRD با نتایج نقره چهار پیک مجزا در زاویای ۱۱۱ و ۳۱۱ و ۲۰۰ و ۲۲۰ را نشان می‌دهد که این یافته کاملاً با نتایج حاصل از پژوهش سایر محققین هم خوانی دارد (۱۷، ۴۰، ۴۱، ۴۲ و ۴۳).

شکل (TEM/SEM) جهت بررسی شکل و اندازه نانوذرات تولیدی از میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری را نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره به اشکال کروی و در محدوده ۳۰ nm تا ۷۰ nm است.

نتیجه مطابق با نتیجه حاصل از پژوهش سایر محققین هم‌خوانی دارد (۱۷، ۱۴۸ و ۳۹) البته لازم به ذکر است که تغییرات دما و pH و مدت زمان و غلظت‌های مختلف بر هم کنش محلول نمکی و عصاره گیاهی می‌تواند بر روی دامنه تغییرات اندازه نانو ذرات تاثیر داشته باشد(۲۴).

وجود اثرات ضد میکروبی قوی در فرآورده‌های گیاهی دارای اهمیت ویژه‌ای است چراکه امروزه یکی از معضلات مهم علم پزشکی بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها 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 می‌دهد(۱۲) مقاومت آنتی بیوتیکی رو به رشد باعث

خطروناک شیمیابی که نقش عوامل احیایی و تثبیت کننده را ایفا می‌کنند (۳۷) انجام واکنش‌ها در شرایط خاص ( دما و فشار) گران بودن مواد، زمان بر بودن و ایجاد خطرات بالقوه برای محیط زیست که این مواد شیمیابی در طبیعت به صورت تجزیه نشده باقی مانده و در نهایت موجب آلودگی شیمیابی محیط زیست می‌شوند (۳۵) از دیگر معایب این روش‌ها میزان تولید پایین و انرژی‌های بالا در طی فرآیند واکنش است (۳۱) ولی در روش سنتز سبز یون‌های 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 می‌شوند. مواد و ترکیبات فعال زیستی در عصاره‌های گیاهان از جمله فلاونوئیدها و سایر متابولیت‌های موثر فعال محلول در آب می‌توانند برای احیا یون‌های 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 ویژگی‌های نانوذرات فلزی خواص نوری آنها است که مناسب با شکل و اندازه نانوذرات تغییر می‌کند. در شکل ۲ تغییر رنگ مشاهده شده به قهقهه 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 دی‌کتریک است هنگامی که فرکانس نور برخورده به نانوذرات فلزی، با فرکانس پلاسمون سطحی برابر باشد، تشدید پلاسمون سطحی اتفاق می‌افتد. در واقع الکترون‌های آزاد موجود در نانو ذرات نقره با جذب نور مسئی برانگیخته می‌شود و به یک تراز انرژی بالاتر می‌روند ولی چون الکترون در حالت

در سال ۲۰۰۳، این گیاه همراه با آویشن، مریم گلی، مرزه، میخک و کافور جزء قوی ترین گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی معروفی شده اند(۱۵). در مطالعه های دیگر نشان داده شد باکتری های عامل عفونتهای بیمارستانی حساسیت بالایی نسبت به مرزنگوش داشته و بسته به نوع میکروب و غلظت انسانس یا عصاره گیاه، اثرات باکتریوستاتیک یا باکتریسیدال دارند. در این بررسی ها اثر انسانس مرزنگوش بر باکتری های پاتوژن شامل باسیلوس آنتراسیس، اشریشیا کلی، هلیکوباكترپیلوری، کلیبسیلا پنومونیه، استافیلکوکوس اورئوس آزمایش شد مرزنگوش بر ضد تمام ارگانیزم های آزمایش شده اثر مهاری داشت این محققین پیشنهاد کردند که مرزنگوش به تنها یابی 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 انسانس چندین گیاه از جمله مرزنگوش را بر ضد گونه های متعددی از سالمونولا و اشرشیاکلی که از مرغ و خوک جدا شده بودند، بررسی نمودند. در بین انسانس ها، انسانس مرزنگوش قوی ترین اثر را بر ضد ۴ گونه سالمونولا و اشرشیاکلی داشت. آنالیز انسانس ها مشخص نمود انسانس های دارای درصد های بالاتر عناصر فلزی (کارواکرول و تایمول) در مقایسه با انسانس های حاوی ترکیبات الكلی (منوترپنی لیمالل، ظرفیت های مهاری بالاتری داشتند(۲۷). بررسی مشابه دیگرنشان داده بود انسانس مرزنگوش دارای اثر ضد میکروبی بر ضد سالمونولا تیفی می باشد و غلظت ۱ درصد انسانس رشد میکروب را مهار می کند(۵).

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

افزایش هزینه مراقبت های بهداشتی به دلیل طولانی شدن دوره درمان (شامل بستری شدن) و نقاوت، همراه با شکست درمان آنتی بیوتیکی، نیاز به ساخت عوامل آنتی بیوتیکی جدید، به کار بردن روش های جدی تر و گستره ده تر کنترل عفونت در جهت پیشگیری از گسترش پاتوژن های مقاوم به آنتی بیوتیک می شود. مسئله 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 دهنده 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(۲۱ و ۲۲) مجموعه این موارد در کنار درمان آنتی بیوتیکی، می تواند انگیزه مهمی برای محققین در جهت مطالعه برای یافت، خالص سازی و استاندارد سازی نانو فراورده های گیاهی موثر (که سمیت انتخابی بهتری نسبت به آنتی بیوتیک ها دارند) مانند مرزنگوش باشد. در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی گیاه مرزنگوش اروپایی و نیز نانوذرات نقره تهیه شده توسط عصاره این گیاه بر روی سویه های استاندارد باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلکوکوس اورئوس تعیین گردید.

خواص ضد باکتری و ضد قارچی عصاره گیاه مرزنگوش 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

تنفسی باکتری با  $\text{Ag}^+$  تخریب می‌کنند (۱۰ و ۲۱). لذا مجموعه‌ای 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 می‌توان نتیجه گرفت گیاه مرزنجوش به علت خواص بالای دارویی می‌تواند 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 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 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 سلول‌های بنیادی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل که ما را در اجرای هر چه بهتر تحقیق یاری کردنده صمیمانه کمال سپاسگزاری و قدردانی را داریم.

در بررسی دیگری مشاهده شد اسانس مرزنجوش قویاً مانع رشد میکروب‌های تولید شده در غذا شامل *L. S. typhimurium E. coli S. enteritidis monocytogenes* و *S. aureus, B. cereus* 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 می‌توان ناشی از این دانست که نانو ذرات نقره پتانسیل غشایی پلاسمایا ناپایدار می‌کند که نتیجه آن کاهش سطح (ATP) آدنوزین تری فسفات درون سلول می‌باشد این عمل با هدف قرار دادن غشاء سلول باکتری انجام می‌شود و باعث مرگ باکتری می‌گردد (۱۰). نانو ذرات نقره موجب از هم گسترش اجزای ممانعت کننده موجود در غشاء خارجی باکتری می‌شود که باعث آزاد شدن تصاعدی مولکولهایی نظری (LPS) لیپو پلی ساکارید و پورین‌ها از غشاء سیتو پلاسمی می‌شود. همچنین نانو نقره فقط به سطح غشاء سلولی نمی‌چسبد بلکه به درون سلولها هم نفوذ می‌کند. نانو نقره پس از نفوذ به داخل سلول باکتری آنزیمهای آن را غیرفعال کرده و با تولید هیدروژن پراکسید باعث مرگ باکتری می‌شود و نیز نانو ذرات نقره بعد از چسبیدن به سطح غشاء سلولی، سیستم تنفسی را به صورت برهمکنش آنزیم با زنجیره

### منابع

- 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.
- Chen, X. and Schluesener, H.J. "Nano-silver: a nanoproduct in medical application. *Toxicol Lett.* 2008; 34: 1–12.
- 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.
- 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
- Dakhili M, Zahraei Salehi T, Torabi Goodarzi M, Khavari A.(2006). Evaluation of antimicrobial effects of four medicinal plants against *Salmonella Typhimurium* and comparison them with common antibiotics in veterinary medicine. *J. of Med. Plants;* 20: 21 - 6.

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 activity against pathogenic fungi in combination 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., Venkatesh, 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 *Salvia Officinalis* and *Mentha longifolia*on 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

28. Preuss HG, Echard B, Enig M, Brook I, Elliott TB. (2005). Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive 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 culture supernatants 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 (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J Colloid Interface Sci*; 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.

## 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  $\text{Ag}^+$  ion was obtained after 24 h by using extract of *Origanum majorana* in presence of 1 mM silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ) 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