



سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه *Silybum marianum*

افسانه محمدپورفرد^۱، محمدرضا نقوی^۲، سپیده ترابی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات گروه بیوتکنولوژی تهران A.pourfard@yahoo.com

۲- پردیس کشاورزی دانشگاه تهران گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

چکیده

با استفاده از عصاره آبی بذر گیاه *S. marianum* و محلول نیترات نقره (1mM)، نانوذرات نقره در دمای محیط سنتز شد. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از تغییرات رنگی و جذب قرائت شده تایید گردید و شکل و اندازه نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری مورد بررسی قرار گرفت. طیف سنجی اشعه ایکس- نور مرئی محلول نیترات نقره به همراه عصاره گیاه خار مریم در طول موج ۴۳۲ نانومتر از خود جذب نشان داد. نانو ذرات نقره با اندازه ۲۴~۴۳ نانومتر (nm) سنتز شده است، که در مقایسه با سنتز نانوذرات به روش های شیمیایی سمیت حداقل و همچنین محدوده اندازه نانوذرات بسیار کمتر دیده شده است که این دریچه ای نو به روی سنتز نانوذرات در ابعاد صنعتی و تجاری می گشاید.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، Milk thistle, SEM, TEM

۱. مقدمه

نانوتکنولوژی دستکاری ماده در مقیاس اتمی و مولکولی است. به طور کلی این تکنولوژی با مواد، دستگاهها و سایر ساختارها یا حداقل یک بعد اندازه از ۱-۱۰۰ نانومتر کار می کند. نانوتکنولوژی به رشته هایی مانند پزشکی، داروسازی، طراحی دارو، دامپزشکی، زیست شناسی و ... مربوط می شود. توسعه فرآیندهای بیولوژیکی تجربی برای سنتز نانوذرات، در حال تکامل است و به یک شاخه مهم از نانو فناوری تبدیل شده است (Abd El-Raheem et al., 2011).

با توجه به اثر بخشی و انعطاف پذیری سیستم های تولید بیولوژیک، از توجه خاصی برخوردار شده است. سلول های میکربی واحدهای بسیار سازماندهی شده هستند که با توجه به مورفولوژی و مسیرهای متابولیک، قادر به سنتز ذرات تجدید پذیر با اندازه و ساختار مشخص هستند. نانوذرات (NPs) بیوسنتز شده از این طریق، اغلب خواص محلول در آب و زیست سازگار دارند که برای بسیاری از کاربردها ضروری است (Krumov et al., 2009). از فواید بیوسنتز نانوذرات با استفاده از روش بیولوژیک، عدم استفاده از فشار بالا، انرژی، دما و مواد شیمیایی سمی است (Asmathunisha et al., 2010).

گیاه خارمریم از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum marianum* نام انگلیسی Milk thistle و نام های ماری تیغال، خارعلیص، عکوب در فارسی و عربی شناخته می شود (زرگری، ۱۳۷۵). خارمریم، گیاهی یک ساله بوده و در آب و هوای گرم با خاک سبک شنی می روید. ارتفاع ساقه متفاوت بوده و بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ سانتی متر است. برگها پهن و شکننده اند و در اوایل فصل رویش به شکل روزت بر روی زمین قرار می گیرند. دمبرگها بلند، بیضوی و خاردار می باشند. این گیاه در بعضی از مناطق ایران به صورت خودرو می روید. اهمیت دارویی این گیاه به دلیل حضور گروهی از فلاونوئیدگان با نام سیلیمارین است. سیلیمارین ترکیبی از انواع فلاونوئیدها است که در آب نامحلول و در الکل محلول هستند. در بذرهای گیاه خار مریم حدود ۴٪ سیلیمارین وجود دارد که شامل ۵ فلاونوئید با نام های سیلیبین آ و ب، سیلیادین، سیلی کریستین و دی هیدروسیلیبین است (Subramaniam, 2008).



۲. مواد و روشها

۲.۱. آماده سازی عصاره گیاه (عصاره گیری)

برای عصاره گیری از بذرهای گیاه خارمریم استفاده گردید. بذرها با استفاده از آب مقطر شستشو و در دمای محیط خشک گردیدند. ۵ گرم از بذرهای پودر شده گیاه وزن و در آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. عصاره گیاه تا زمان مصرف در شرایط تاریکی و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

۲.۲. بیوسنتز نانوذرات نقره (AgNPs)

بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از محلول نیترات نقره (1mM) و عصاره آبی گیاه در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد انجام شد. مخلوط واکنش حاوی عصاره آبی گیاه و نیترات نقره (1mM) پس از گذشت ۲۴ ساعت با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۱۵,۰۰۰ دور در دقیقه خالص سازی گردید.

۲.۳. طیف سنجی ماوراء بنفش - نور مرئی (UV-vis)

اندازه گیری اسپکتروسکوپی با استفاده از دستگاه UV-Visible Spectrophotometer در دمای محیط و در طول موج ۳۰۰-۸۰۰ نانومتر انجام گرفت.

۲.۴. بررسی نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

پس از خالص سازی مخلوط حاوی عصاره گیاهی و نانوذرات نقره سنتز شده، برای مشاهده با میکروسکوپ الکترونی روبشی آماده گردیدند. برای آماده سازی، یک قطره از محلول کلوییدال نانوذرات نقره (AgNPs) بر روی گریدهای مخصوص قرار داده شد و در دمای محیط خشک گردید.

۲.۵. بررسی نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

بعد از خالص سازی نانوذرات نقره سنتز شده برای عکسبرداری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، نانوذرات بر روی گریدهای پوشش داده شده با کربن قرار گرفتند.

۳. نتایج و بحث

در این بخش بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه خار مریم مورد بررسی قرار می گیرد.

۳.۱. بیوسنتز نانوذرات نقره

تغییرات رنگی مشاهده شده حین واکنش عصاره گیاه مورد آزمایش با محلول نیترات نقره (1 mM)، نشان دهنده تغییرات شیمیایی در محلول بوده است که خود می تواند اولین گواه سنتز نانوذرات نقره باشد (شکل ۱).

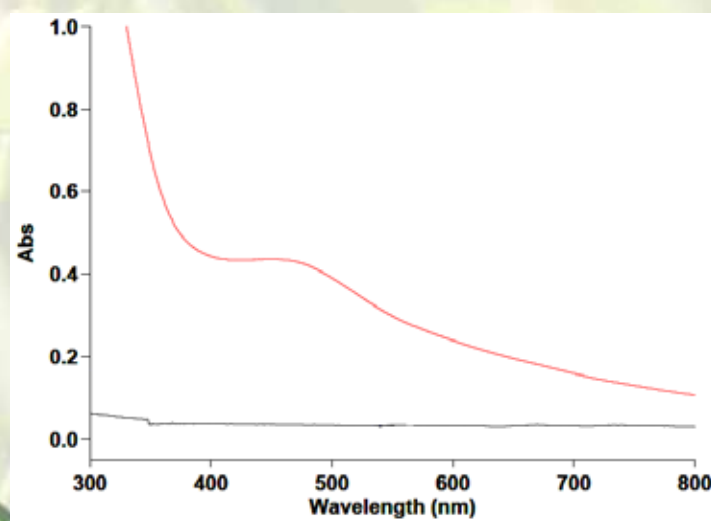


شکل ۱: تغییرات رنگی مشاهده شده از ترکیب عصاره گیاه خارمریم و محلول نیترات نقره (1mM) پس از گذشت ۲۴ ساعت

مینا و همکاران (۲۰۱۲)، تغییرات رنگی (رنگ زرد به قهوه ای) واکنش بین عصاره گیاه *Lepisanthe tetraphylla* و محلول آبی نیترات نقره را اولین نشانه سنتز نانوذرات نقره دانستند. ساویتراما و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که متابولیت های ثانویه موجود در سیستم های گیاهی ممکن است مسئول احیاء نقره و سنتز نانوذرات باشند. مسیر دوم سنتز نانوذرات نقره، محصول فعالیت موجود زنده برای تولید انرژی (یا آزاد کردن الکترون در طول گلیکولیز (فتوسنتز) است که برای تبدیل NAD به NADH منجر به تشکیل نانوذرات نقره از نیترات نقره می شود و مکانیسم دیگر، آزاد شدن یک الکترون در هنگام تشکیل رادیکال های آسکوربات از آسکوربات است که موجب احیاء یونهای نقره می گردد.

۳.۲. طیف سنجی UV-Vis

برای بررسی طیف جذبی محلول ها، پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع واکنش، نمونه ها با دستگاه مورد بررسی قرار گرفتند. طیف سنجی اشعه ایکس- نور مرئی محلول نیترات نقره به همراه عصاره گیاه خار مریم ۴۳۲ نانومتر (nm) از خود جذب نشان داد (شکل ۲).



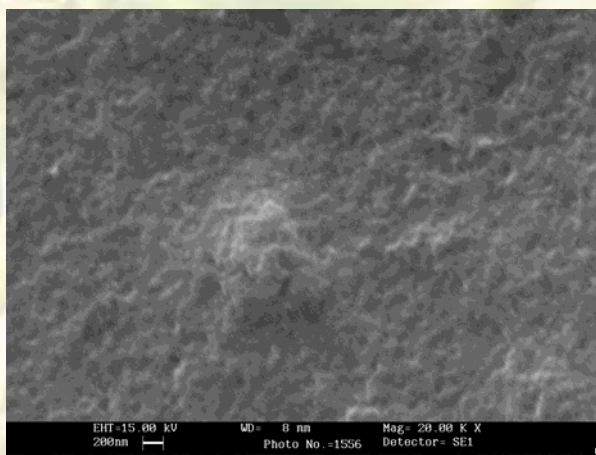
شکل ۲: پیک ثبت شده از جذب مخلوط واکنش در محدوده ۳۰۰-۸۰۰ نانومتری پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع واکنش



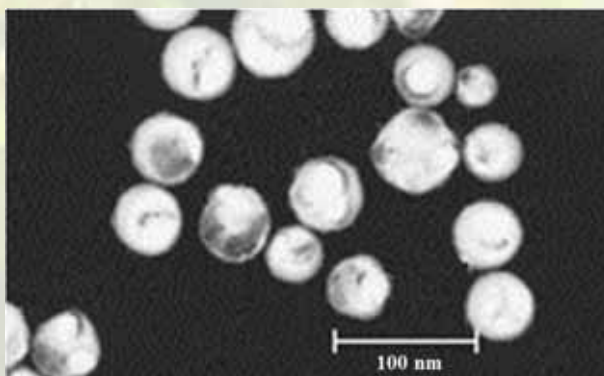
بهارانی و همکاران (۲۰۱۲)، ابدوزهیر و همکاران (۲۰۱۲)، سینگ و همکاران (۲۰۱۱)، سورانجیت پراساد و همکاران (۲۰۱۱) و چوهان و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب توانستند با استفاده از عصاره گیری به روش جوشاندن با حلال آبی از گیاهان *Wrightia tinctoria*، *Nicotiana tobaccum*، *Zingiber officinale*، *Euphorbia prostrata* و دانه میوه انار نانوذرات نقره تولید کنند و با استفاده از طیف سنجی اشعه ایکس - نورمتری در طول موج های (به ترتیب) ۴۲۰ نانومتر (nm)، ۴۲۰ نانومتر (nm)، ۴۳۰ نانومتر (nm)، ۴۱۸ نانومتر (nm) و ۴۳۰ نانومتر (nm) بیشترین جذب را مشاهده نمودند. بررسی تحقیقات و سوابق پیشین، نشان داد که جذب نانوذرات نقره در محدوده ۴۱۸-۴۳۰ نانومتری انجام می گیرد که این تاییدی بر سنتز نانوذرات نقره طی این آزمایش است.

۳.۳. عکسبرداری با استفاده از TEM و SEM

پس از عکس برداری از نانوذرات نقره سنتز شده و عکس برداری آنها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی، با استفاده از نرم افزار اندازه گیری^۱، اندازه نانوذرات تخمین زده شد. با بررسی عکس های گرفته شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از نانوذرات نقره سنتز شده، ذراتی با اندازه ۲۴~۴۳ نانومتر (nm) سنتز شده است (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳: عکس گرفته شده از نانوذرات سنتز شده با استفاده از گیاه *S. marianum* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی



شکل ۴: عکس گرفته شده از نانوذرات سنتز شده با استفاده از گیاه *S. marianum* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری

سینقال و همکاران (۲۰۱۱)، با استفاده از گیاه *Ocimum sanctum*، نانوذراتی با حدود اندازه $14/31 \pm 2/5$ نانومتر (nm) سنتز نمودند که با استفاده از طیف سنجی اشعه ایکس در طول موج ۴۱۳ نانومتر (nm) از خود جذب نشان داد. با توجه به بررسی تحقیقات انجام

^۱ Measurement



شده در گذشته و بررسی رابطه بین طول موج ایجاد شده در طیف سنجی اشعه ایکس و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده می توان اینگونه بیان نمود که بین طول موج ۴۰۰-۵۰۰ نانومتر (nm)، هرچه طول موج کمتر باشد اندازه نانوذرات نیز به همان میزان کوچکتر می شود. مکانیسم سنتز بیولوژیکی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاه هنوز به طور کامل شناخته نشده است و نیازمند تحقیقات بیشتر است. برخی گزارشات اشاره دارد که مکانیسم احیا (کاهش) به دلیل رها شدن NADH وابسته به ردوکتاز در محلول رخ می دهد. سانگ و کیم (۲۰۰۹) بیان نمودند که میانگین اندازه ذرات در سنتز بیولوژیکی نانوذرات با عصاره گیاه بوسیله دمای واکنش، غلظت عصاره گیاه و غلظت محلول نیترات نقره تغییر می کند. سنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاه دارای کمترین میزان آلایندهی برای محیط زیست و همچنین حداقل میزان مصرف مواد سمی است که این خود گشودن دریچه ای نو به تولید گسترده و صنعتی نانوذرات است.
منابع:

Bharani, M., Karpagam, T., Varalakshmi, B., Gayathiri G., Lakshmi Priya, K., 2012. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SILVER NANO PARTICLES FROM WRIGHTIA TINCTORIA. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 3:1: 58-63.

Meena, N., Jeya, M., Aroumugame, S., Arumugamp, P., Sagadevan, E., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles using leaves of LEPISANTHES TETRAPHYLLA and evaluation of their antibacterial activity against drug resistant clinical isolates. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 3:2: 593-601.

SINGH, M., SINGH, S., PRASAD, S., GAMBHIR, I. S., 2008. NANOTECHNOLOGY IN MEDICINE AND ANTIBACTERIAL EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 3:3 115 – 122.

Song, J. Y., Kim, B. S., 2009. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. Bioprocess Biosyst Eng. 32: 79-84.

Subramaniam, S., Vaughn, K., Carrier, D.J., Clausen, E.C., 2008. Pretreatment of milk thistle seed to increase the silymarin yield: an alternative to petroleum ether defatting. Bioresour Technol. 99: 2501-2506.

Biosynthesis of silver nanoparticles via *Silybum marianum* seed extract

A.M. Pourfard¹, M.R. Naghavi², S. Torabi¹

1. Biotechnology Department, College of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Agronomy and Plant Breeding Department, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

Seed extract of *S. marianum* was used in green biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs), for the first time. The reaction was accomplished through fast and convenient reduction of silver ions in the presence of the above mentioned live extracts in water. The AgNPs synthesized by *S. marianum* give a plasmon resonance band at 432 nm. AgNPs was appeared with similar morphologies in their SEM and TEM images. Silver nanoparticles with a size of nanometers 24 ~ 43 (nm) have been synthesized, the nanoparticles compared to chemical methods has been minimal toxicity and much less than the nanoparticle size range. The biological methods of nanoparticles synthesis are new valve will open to commercial and industrial-scale synthesis of nanoparticles.

Keywords: Silver nanoparticles (AgNPs); Milk thistle; SEM; TEM