مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
ISSN ۲۷۱۶-۹۸۰۴ الکترونیکی، ISSN ۲۷۱۷-۰۶۳۲ چاپی

سنتز سبز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) و بررسی اثرات ضدباکتریایی آن

نوع مقاله: پژوهشی 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5

حمید دهقان‌زاده

استادیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
dehghanzadeh@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱
صفحه ۹۶-۸۱

چکیده

در حال حاضر نانوذرات به‌عنوان ابزار دارویی برای عفونت‌ها در مقابل میکروب‌ها استفاده می‌شود و در آینده نزدیک، نیاز مبرم به جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با مواد جدید دارای خاصیت ضدباکتریایی احساس می‌شود. یکی از کارآمدترین روش‌های سنتز نانوذرات، سنتز سبز نانوذرات توسط گیاهان است. در این پژوهش از یک روش بیوسنتز خارج سلولی سازگار با محیط زیست یعنی عوامل احیاکننده عصاره نعناع فلفلی برای تولید نانوذرات طلا استفاده شد. تولید نانوذرات طلا با استفاده از تغییر رنگ، روش پراش (XRD)، اسپکتوفتومتری و میکروسکوپ الکترونی عبوری و فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات طلا با استفاده از روش انتشار از چاهک مورد بررسی قرار گرفت. در اثر احیای یون‌های طلا و تولید نانوذرات، رنگ نمونه‌ها از زرد کم رنگ به قهوه‌ای تبدیل شد که نشان‌دهنده تولید سوسپانسیون کلوئیدی نانوذرات طلا است. نانوذرات طلا حداکثر جذب را در ۵۵۰ نانومتر داشته و دارای شکل کروی و میانگین اندازه ۱۰-۲ نانومتر هستند. نانوذرات سنتزشده، فعالیت ضدباکتریایی بالایی بر علیه *سالمونلا تیفی* (*Salmonella typhi*) و *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) داشته ولی بر *باسیلوس سرئوس* (*Bacillus cereus*) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) تاثیر نداشتند. بر اساس مشاهدات در این پژوهش، عصاره آبی گیاه نعناع فلفلی به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی، پتانسیل بالایی در احیای یون‌های فلز طلا، سنتز و پایدارسازی نانوذرات طلا دارد. همچنین نانوذرات طلای تولیدشده با این روش خاصیت ضدباکتریایی نسبتاً خوبی بر علیه برخی باکتری‌ها نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، سنتز سبز، فعالیت ضدباکتریایی، نانوذرات، نعناع فلفلی.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

مقدمه

نانوذرات عموماً به ذراتی گفته می‌شوند که اندازه آنها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشند. در میان انواع مختلف نانوذرات، نانوذرات فلزی نظیر طلا و نقره دارای اهمیت ویژه‌ای هستند (Song et al. 2009). این مواد به واسطه داشتن خواص منحصر به فرد از قبیل: توانایی بالا در جذب و پراکنده کردن نور، سازگاری بالا با بدن موجودات زنده و توانایی میانکنش با مولکول‌های زیستی کاربردهای زیادی در علوم زیستی، پزشکی و کشاورزی دارند (Singh et al. 2011).

روش‌های فیزیکی و شیمیایی بسیاری برای سنتز نانومواد وجود دارد. سنتز شیمیایی به‌طور معمول شامل احیاء نمک‌های یونی در یک محیط مناسب، با استفاده از عوامل احیاکننده مانند سیترات سدیم است. از آنجایی‌که واکنش‌پذیری نانوذرات بسیار بالاست و تمایل به کلوخه‌ای شدن دارند لذا برای حفظ خواص مطلوبشان یک پوشش‌دهنده به آنها اضافه می‌کنند (Azzazy et al. 2012).

این روش اقتصادی است ولی گونه‌های شیمیایی جذب شده بر سطح ذرات ممکن است برای سلامتی مضر بوده و اثرات نامطلوب زیستی و زیست محیطی ایجاد کنند. با توجه به خسارت‌هایی که این روش‌ها به محیط زیست وارد می‌کنند و اهمیت ایمنی زیستی، نیاز مبرم به فناوری نانو سبز وجود دارد (Soleimani-Gorgani and Alborz, 2020) استفاده از گیاهان به‌عنوان منبع پایدار و در دسترس برای تهیه نانوذرات زیست سازگار، بسیار مورد توجه قرار گرفته است که از مزیت‌های این روش می‌توان به ارزانی، غیرسمی بودن و تولید نانوذرات با خلوص بالا اشاره کرد (Baghizadeh et al. 2019). گیاهان دارویی حاوی ترکیبات مؤثره مانند فلاونوئیدها، ترپن‌ها، آلکالوئیدها و آنتی اکسیدانت‌ها هستند که جزء عوامل اصلی کاهنده بوده و باعث تبدیل ذرات فلزی به نانوذرات می‌شوند (Shah et al. 2015).

بیوسنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل عمل ضد باکتریایی قوی نانوذرات و کاهش نمک طلا و آسان بودن روش، محبوبیت بالایی دارد. این فرآیند به دلیل سادگی و تک مرحله‌ای بودن در مقیاس وسیع مناسب است چرا که از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه، سریع و دوستدار محیط زیست است و از نظر پژوهش‌های بالینی ایمنی لازم را دارد (Soleimani-Gorgani and Alborz, 2020).

سنتز نانوذرات طلا و نقره با استفاده از عصاره گیاه آب قاشقی (*Centella asiatica*) (Das et al.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

2010)، عصاره میوه گیاه انگور فرنگی (*Phyllanthus emblica*) (Ankamwar et al. 2005)، عصاره پوست دارچین (*Cinnamomum verum*) (Smitha et al. 2009)، عصاره برگ تاج خروس (*Amaranthus spinosus*) (Das et al. 2012)، عصاره زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) (Baghizadeh et al. 2019)، عصاره گیاه سانسوریا (*Sansevieria cylindrica* L.) (Peyvandi. 2018)، عصاره آب‌تره (*Nasturtium officinale*) (Razmi et al. 2017)، عصاره برگ آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (Baharara and Ramezani, 2015)، نعناع وحشی (*Mentha arvensis*) (Babu et al. 2010)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) (Wenxia et al. 2022) انجام شده است.

در مطالعه‌ای تشکیل نانوذرات طلا به شکل کروی و قطر ۱۰ تا ۵۰ نانومتر از عصاره آب‌تره گزارش و پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها را در سنتز نانوذرات دخیل دانستند (Razmi et al. 2017). در یک مطالعه تولید نانوذرات طلا با قطر ۲۵-۱۵ نانومتر توسط عصاره میوه انگور فرنگی گزارش شد (Ankamwar et al. 2005). همچنین وجود نانوذرات طلا به شکل کروی و قطر ۱۰-۲ نانومتر با کاربرد عصاره زیره سبز گزارش شد (Baghizadeh et al. 2019). تولید نانوذرات به شکل کروی و ستاره‌ای و در ابعاد ۱۰۰ نانومتر با استفاده از عصاره آویشن شیرازی گزارش شد (Baharara and Ramezani, 2015). در مطالعه دیگر تولید نانوذرات طلا به ابعاد ۷۰-۴۰ نانومتر با استفاده از عصاره گیاه سانسوریا گزارش شد (Peyvandi. 2018).

در مطالعه‌ای تولید نانوذرات طلا با استفاده از عصاره نعناع فلفلی با ابعاد ۵۸-۱۳ نانومتر و حداکثر جذب نور در طول موج ۵۳۷ نانومتر گزارش شد (Wenxia et al. 2022). پژوهشگران معتقدند ترکیباتی همچون اسیدهای آمینه، اسیدسیتریک، ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، ترکیبات هتروسیکلیک، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدها، تانن و ساپونین موجود در اندام‌ها و قسمت‌های مختلف گیاهان (برگ، دانه، میوه و ریشه) سبب کاهش یون‌های فلزی در فرآیند سنتز نانوذرات شده و باعث افزایش سلامت نانوذرات تولیدی می‌شود (Oxana et al. 2013).

در مطالعه‌ای تاثیر نانوذرات طلای سنتزشده به روش شیمیایی بر *هلیکوباکتر پیلوری* (*Helicobacter pylori*) ناچیز گزارش شد (Abdollahi et al. 2014). در مطالعه‌ی دیگری خاصیت ضد باکتری نانوذرات طلای سنتز شده با

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

عصاره ازمک بر کاهش رشد *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) و *سالمونلا تیفی* (*Salmonella typhi*) گزارش شد (Eskandary Fathabady, 2015). همچنین تاثیر مثبت نانوذرات طلا بر کاهش رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *انترکوکوس فکالیس*، *E. coli* و *S. typhi* گزارش شده است (Azizian Shermeh et al. 2017).

نعناع فلفلی از جمله گیاهان دارویی و معطری است که در حال حاضر در مناطق مختلف کشور کشت می‌شود. عمده‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس نعناع، منتول (menthol) است که به‌عنوان یک ترکیب ضدعفونی کننده قوی به کار برده می‌شود (Dai et al. 2010).

گیاه نعناع فلفلی به علت دارا بودن مواد معطر و ترکیبات ثانویه زیاد، توانمندی بیشتری برای تولید نانوذرات طلا دارد. در بیشتر مطالعات، تولید نانوذرات نقره با عصاره نعناع فلفلی و اثرات ضد باکتریایی آن گزارش شده و در برخی مطالعات از عصاره برگ نعناع فلفلی برای تولید نانوذرات طلا استفاده شده و کمتر به اثرات ضدباکتریایی آن اشاره شده است. در این پژوهش بیوسنتز نانوذرات طلا به وسیله عصاره حاصل از اندام‌های هوایی گیاه نعناع فلفلی و تاثیر نانوذرات تولید شده بر رشد چند باکتری مورد مطالعه قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه عصاره گیاه نعناع

نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان جمع‌آوری و تهیه شد. گیاهان در کرت‌هایی یک متر مربعی و از طریق تکثیر ریزوم کشت داده شدند. برای عصاره‌گیری از روش خیساندن در حرارت استفاده شد. به این صورت که ۲۰ گرم اندام‌های هوایی گیاه پس از توزین چند مرتبه با آب دیونیزه به منظور حذف آلودگی های سطحی شستشو داده شد. سپس به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب در حال جوشیدن اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه عصاره بدست آمده از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. در تمام مراحل آزمایش از عصاره تازه استفاده شد.

سنتز نانوذرات طلا با استفاده از منبع گیاهی

ابتدا مقدار ۰۳۴/۰ گرم نمک نیترات طلا توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شده و در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شد و محلول پایه ۱ میلی‌مولار و غلظت نهایی محلول نمک طلا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. برای تهیه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

غلظت‌های مورد نظر بعدی نیترات طلا (۱۰، ۳۰ و ۶۰ میکروگرم بر لیتر) از این استوک استفاده شد. برای تهیه غلظت ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیترات طلا، ابتدا با دو برابر کردن مواد پایه، محلول ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول نمک طلا به دست آمد و از این محلول برای تولید غلظت ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیترات طلا استفاده شد. به منظور سنتز نانوذرات طلا با عصاره، میزان ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نیترات طلا ترکیب شد (Peyvandi. 2018). تغییر رنگ محلول در دمای اتاق نشانه تولید نانوذرات طلا است (Nabeel et al. 2017).

اسپکتروفتومتری نانوذرات طلا

باتوجه به اینکه طلا دارای پیک حداکثر جذب در محدوده ۵۰۰ – ۶۰۰ نانومتر است (Azizian Shermeh et al. 2017)، در این پژوهش برای بررسی بیوسنتز نانوذرات طلا از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل نانودراپ (Nanodrop, Analytik Jena, Germany) در طول موج ۶۸۰-۳۵۰ نانومتر استفاده شد. از آب دیونیزه نیز به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. نمودارهای طیف جذبی نمونه‌های مورد مطالعه، توسط نرم‌افزار اکسل رسم شد.

آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری

ابتدا دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری با استفاده از نمک نیترات طلا ($Au(NO_3)_3$) کالیبره شد. برای انجام کالیبراسیون، تصویری از روی نمونه استاندارد گرفته می‌شود و سپس از روی ساختارهای نمونه استاندارد، فاصله‌های مورد نظر برای اندازه‌گذاری تعریف می‌شوند. روش کالیبراسیون به این شکل است که ابتدا دو نقطه با فاصله مشخص روی نمونه استاندارد در نظر گرفته می‌شود، سپس در یک بزرگنمایی مشخص، از این نمونه تصویر گرفته و از این تصویر برای کالیبراسیون استفاده می‌شود. فاصله دو نقطه روی تصویر مشخص شده و با تقسیم آن بر بزرگنمایی اسمی دستگاه، بزرگنمایی واقعی به‌دست می‌آید (Gharailou and Azady, 2016).

سپس نمونه‌های تیمار شده‌ای که پیک‌های مناسبی در طیف اسپکتروفتومتری داشتند برای استفاده در آنالیز میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفتند. برای این کار ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره تیمار شده با آب دیونیزه به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. پس از اینکه فرآیند سنتز نانوذرات طلا تکمیل شد، به منظور تغلیظ نانوذرات بیوسنتز شده، محلول کلوئیدی نانوذرات با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی را دور ریخته و به منظور شستشو و پراکنده کردن نانوذرات ته‌نشین شده، با اضافه کردن آب دیونیزه، عمل سانتریفیوژ ۳ بار تکرار شد. پس از هر بار سانتریفیوژ فاز رویی جدا و به ماده ته نشین شده، آب دیونیزه اضافه شد. پس از عمل سانتریفیوژ، سوسپانسیون باقی مانده بر روی ویفر سیلیکونی نشانده شد و نمونه خشک شده برای تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفت.

روش پراش اشعه پرتو ایکس (X-Ray Diffraction)

روش پراش (XRD) اثبات می‌کند که ذرات سنتز شده به صورت نانو کریستال طلا هستند. جهت آماده سازی برای آنالیز XRD پس از سنتز نانوذرات طلا، نمونه‌ها را با دستگاه اولتراسانتریفیوژ و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده، سپس محلول رویی دور ریخته شده و نانوذرات ته نشین شده جهت آنالیز اشعه ایکس، بررسی شدند. در این بررسی برای تابش اشعه X از دستگاه پراش پرتو αCu K (λ 44.20)= Å استفاده شد. برای تمام نمونه‌های مورد استفاده ولتاژ دستگاه برابر ۴۳kV و آمپراژ آن برابر ۹۳mA بود. طول گام‌ها ۳ و مدت زمان توقف در هر گام برابر ۳۴ برای تغییر زاویه ۴/۳ ثانیه در نظر گرفته شد (Baghizadeh et al. 2019).

بررسی خواص ضدباکتریایی

باکتری‌های استاندارد *سالمونلا تیفی* (ATCC 19430)، *اشریشیا کلی* (ATCC 35218)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1948) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 29213) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. باکتری‌ها در شرایط استریل بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شدند. ترکیبات نوترینت آگار شامل ۰/۵ درصد پپتون، ۰/۳ درصد عصاره گوشت و مخمر، ۱/۵ درصد آگار، ۰/۵ درصد کلرید سدیم و آب مقطر است. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. آثار ضدباکتریایی نانوذرات طلا بر روی باکتری‌ها با استفاده از روش انتشار چاهک بررسی شد. سری رقت‌های مورد استفاده برای تعیین هاله عدم رشد در روش انتشار از چاهک ۱۰ ، ۳۰ ، ۶۰ و ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و محلول ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمک طلا و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک کوآموکسی‌کلاو به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد (Azizian Shermeh et al. 2017).

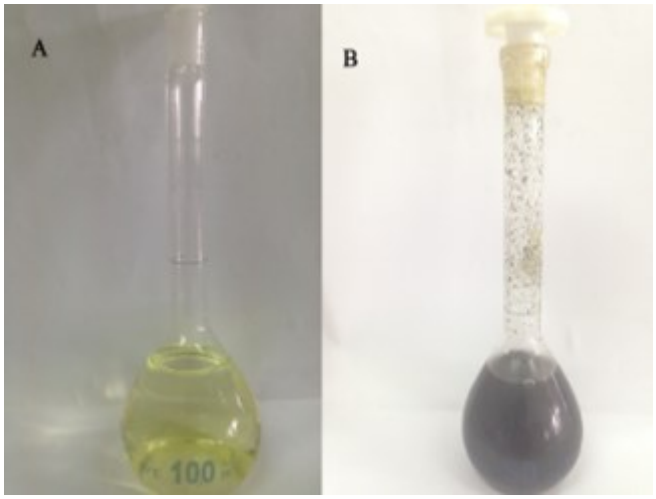
[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

بعد از قرار دادن غلظت‌های مختلف نمک طلا و شاهد، درب پتری دیش‌ها را بسته و سپس محیط‌های کشت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، قطر منطقه هاله اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس یک طرفه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۱ انجام گرفت. برای مقایسه اثرات عصاره از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال ۵ درصد (P=0.05) استفاده شد.

نتایج

مطالعات طیف اسپکتروفتومتری: در اثر احیای یون‌های طلا و تولید نانوذرات رنگ نمونه‌ها از زرد کم رنگ (شکل ۱- A) به قهوه‌ای (شکل ۱- B) تبدیل شد که نشان‌دهنده تولید سوسپانسیون کلوئیدی نانوذرات طلا بود. جهت اثبات وجود نانوذرات طلا در نمونه‌ها، طیف UV-visible آنها تهیه شد.

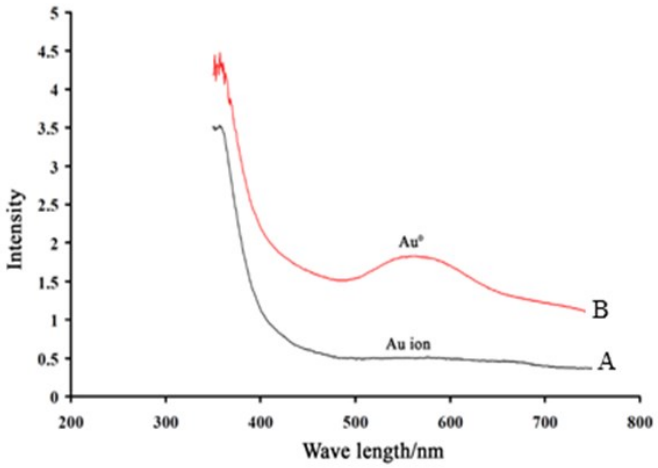


شکل ۱- اثر عصاره زیست‌توده نعناع فلفلی بر بیوسنتز نانوذرات طلا. A: در لحظه صفر و B: پس از افزودن عصاره نعناع فلفلی

با توجه به اینکه نانوذرات طلا بین ۵۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر جذب نور دارند، نمودار B در شکل شماره ۲ در مقایسه با نمودار A شکل ۲ نشان می‌دهد باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در ۵۵۰ نانومتر برای نانوذرات طلا رخ داده است. بنابراین وجود پیک در این محدوده گامی در جهت ثابت کردن سنتز نانوذرات طلا است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

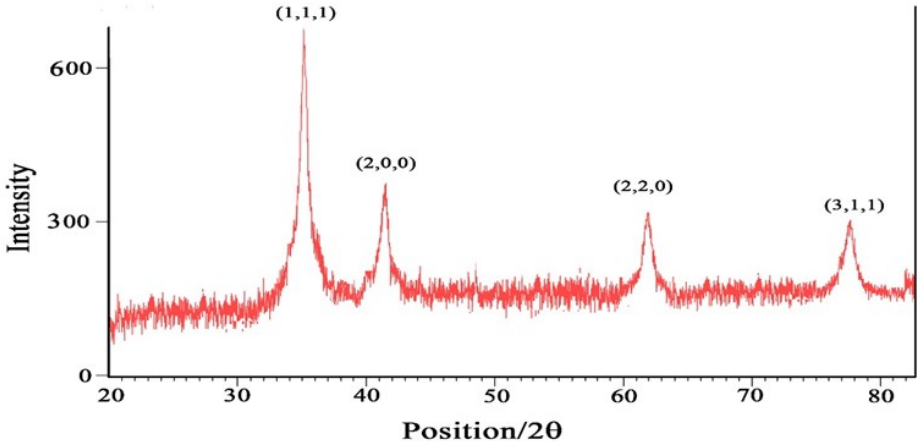
[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]



شکل ۲- طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش–مرئی عصاره اندام‌های هوایی نعناع فلفلی مخلوط شده با نمک طلا. A – نمونه یون طلا و طیف اسپکتروفتومتری مربوط به آن. –B نمونه نانوذره طلا طیف اسپکتروفتومتری مربوط آن.

طیف ارزیابی به روش پراش اشعه ایکس(XRD) حاصل از نانوذرات طلا

روش پراش (XRD) اثبات می‌کند که ذرات سنتز شده به صورت نانو کریستال طلا هستند. در این بررسی تمام طیف‌های گرفته شده با طیف‌های اشعه ایکس استاندارد مقایسه شد. حضور به ترتیب پیک‌های (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) در موقعیت‌های حدود ۳۵ درجه، ۴۲ درجه، ۶۳ درجه و ۷۸ درجه نشان از وجود نانوذرات طلا بوده که تاییدی بر سنتز صحیح نانوذرات طلا است (شکل ۳) (Baghizadeh et al. 2019).



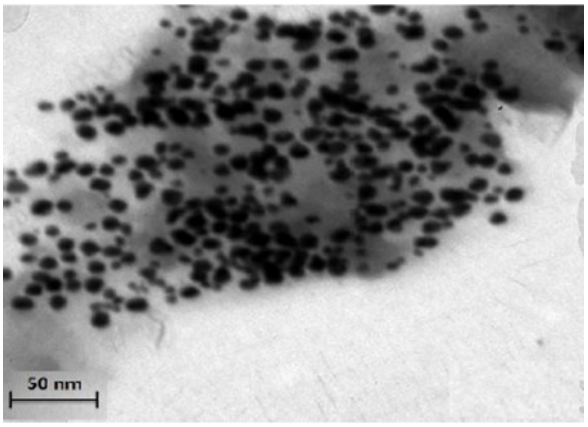
شکل ۳- الگوی XRD نانوذرات طلا سنتزی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

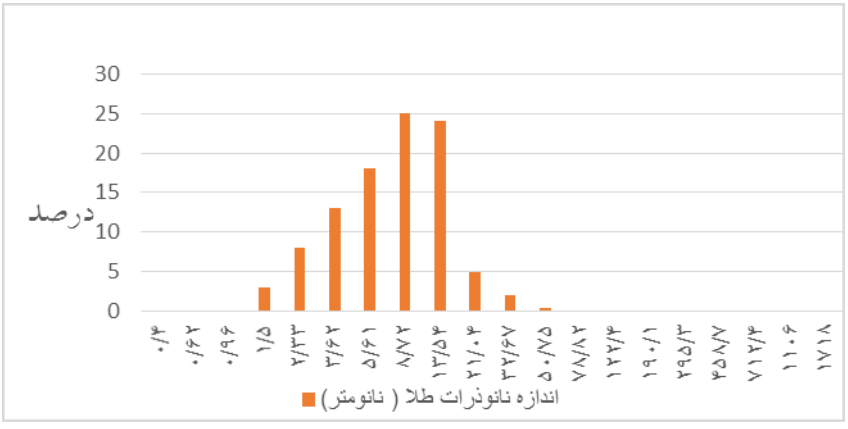
[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

طیف میکروسکوپ الکترونی عبوری حاصل از نانوذرات طلا

شکل و اندازه نانوذرات تولیدشده به وسیله تکنیک تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد. شکل شماره ۴ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات طلا سنتزشده را نشان می‌دهد. در شکل، نانوذرات تولیدشده همگی تقریباً کروی بوده و اندازه متوسط آنها بین ۲-۱۰ نانومتر بود (شکل ۴). بیشترین پراکندگی را ذرات با اندازه ۱۰ نانومتر نشان داد که ۸/۲۴ درصد است و کمترین مقدار نیز مربوط به اندازه ۸۲/۴۲ نانومتر است که حدود ۱ درصد را به خود اختصاص می‌دهد (شکل ۵). داده‌ها همخوانی مناسبی با داده‌های به دست آمده با روش پراش پرتوی ایکس و اسپکتروفتومتری دارد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج سایر محققین تطابق دارد (Baghizadeh et al. 2019; Azizian et al. 2017; Germán et al. 2014).



شکل ۴- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات طلا سنتزشده، با استفاده از عصاره آبی گیاه نعناع فلفلی.



شکل ۵- فراوانی نانوذرات طلا بر اساس اندازه.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

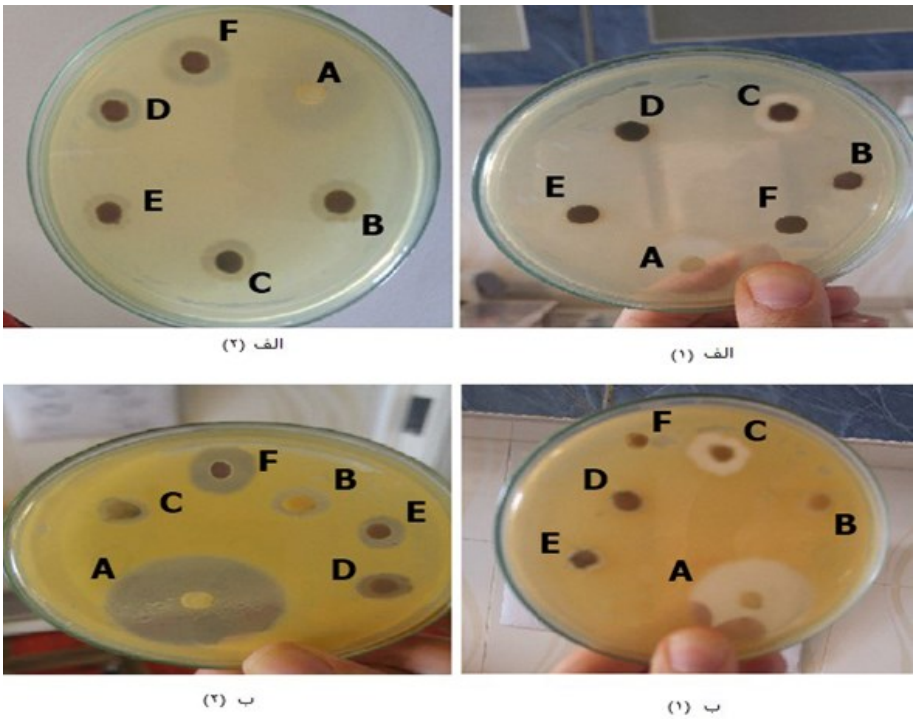
[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

نتایج بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات سنتزشده

نتایج نشان داد نانوذرات سنتز شده، اثر باکتری کشی قابل ملاحظه‌ای بر روی *سالمونلا تیفی* و *اشریشیا کلی* داشتند اما بر *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تاثیری مشاهده نشد (شکل ۱).

نتایج حاصل از قطر هاله نشان داد نانوذرات سنتز شده با غلظت ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیشترین تأثیر را روی باکتری *سالمونلا تیفی* با قطر هاله ۱۵ میلی‌متر داشت. همچنین با افزایش غلظت نانوذرات سنتز شده از ۱۰ به ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، قطر هاله عدم رشد *اشریشیا کلی* به ۱۳ میلی‌متر افزایش یافت (جدول ۱).

در هر دو باکتری *سالمونلا تیفی* و *اشریشیا کلی* تاثیر مهارکنندگی نانوذرات سنتز شده در غلظت‌های مختلف بیشتر از محلول نمک طلا بود (جدول ۱).



شکل ۶- هاله عدم رشد در محیط کشت با کاربرد عصاره نانوذره نعناع فلفلی، الف – ۱: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۲: *اشیریشا کلی*، ب ۱: *باسیلوس سرئوس*، ۲: *سالمونلا تیفی* (A: کوآموکسیکلاو، B: غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذره C: محلول نمک طلا، D: غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذره، E: غلظت ۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذره و F: غلظت ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذره).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد میکروبی با استفاده نانوذرات طلا با روش انتشار از چاهک در آگار (برحسب میلی‌متر).

میکروارگانیسم	کو آموکسی کلاو (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)	غلظت‌های مختلف نانوذرات طلا (میکروگرم بر میلی‌لیتر)				محلول نمک طلا (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)
		۱۰	۳۰	۶۰	۹۰	
اشرشیا کلی	۲۰ a	۶ c	۷ c	۹ bc	۱۳ b	۶c
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۳ a	-	-	-	-	۵ c
سالمونلا تیفی	۱۹ a	۸ c	۹ c	۱۱ bc	۱۵ b	۷ c
باسیلوس سرئوس	۲۳ a	-	-	-	-	۸ c

میانگین‌های هر ستون و ردیف که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند (P=0.05).

بحث

در سالیان اخیر مقاومت گسترده باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها سبب شد تا محققین به دنبال راهکاری مناسب برای کشف مواد جایگزین آنتی بیوتیک‌ها باشند. بیوسنتز نانوذرات با استفاده از عوامل زیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، مخمرها، جلبک‌ها و گیاهان ثبت شده است (Kaushika et al. 2010). در مطالعه حاضر مشاهده شد در اثر احیای یون‌های طلا و تولید نانوذرات رنگ نمونه‌ها از زرد کم رنگ به قهوه‌ای تبدیل شد که نشان‌دهنده تولید سوسپانسیون کلوئیدی نانوذرات طلا بود. در بسیاری از مطالعات تغییر رنگ محلول به‌عنوان شاخصی از شروع سنتز نانوذرات در نظر گرفته شده است (Prakasha et al. 2013; Wenxia et al. 2022; Nabeel et al. 2017). در پژوهش‌هایی تغییرات رنگ بوجود آمده در عصاره آویشن شیرازی (Baharara and Ramezani, 2015)، نعناع فلفلی (Wenxia et al. 2022; Mariychuk et al. 2022)، نعناع وحشی (Babu et al. 2010)، زیره سبز (Baghizadeh et al. 2019) به‌عنوان یکی از نشانه‌های سنتز نانوذرات طلا گزارش شد. این تغییر رنگ به دلیل ارتعاشات پلاسمون سطحی در نانوذرات طلا ایجاد می‌شود. طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش به‌طور گسترده‌ای برای مشخص کردن خواص نوری و ساختار الکترونی نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرد (Baghizadeh et al. 2019). پیک‌های جذبی در کلوئیدهای طلا بین ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر قرار دارد (Pandey et al. 2012).

در مطالعه حاضر طیف جذبی نانوذرات در محدوده ۳۵۰ تا ۶۸۰ نانومتر سنجیده و حداکثر جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر اتفاق افتاد که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Arulkumar

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

and Sabesan, 2010; Baharara and Ramezani, 2015; Wenxia et al. 2022).

اندازه نانوذرات تولیدی بین ۱۰-۲ نانومتر بود. در مطالعه‌ای با کاربرد عصاره برگ نعناع فلفلی اندازه نانوذرات طلای تولیدی بین ۲۶-۳ نانومتر (Germán et al. 2014) و در مطالعه دیگر ۱۵۰ نانومتر گزارش شد (Mubarak et al. 2011). همچنین در پژوهش دیگری اندازه نانوذرات طلای تولیدی با عصاره نعناع فلفلی بین ۲۰۰-۱۰ نانومتر گزارش شد (Mariychuk et al. 2022). بسیاری از عصاره‌های گیاهی با توجه به وجود ترپنوئیدها و احیاء قندها در آنها، می‌توانند در سنتز نانوذرات فلزی مورد استفاده قرار گیرند (Song et al. 2010). متابولیت‌هایی در عصاره این گیاه حضور دارند که به‌عنوان پایدار کننده و کاهنده عمل می‌کنند. بنابراین، عصاره برگ نعناع دارای عامل کاهنده خوبی برای سنتز نانوذرات طلا است (Oxana et al. 2013).

تاکنون مطالعاتی جهت تعیین مکانیسم اثر نانوذرات بر روی باکتری انجام شده است. در مطالعه‌ای تاثیر ضد میکروبی بالای نانوذرات طلای سنتز شده با عصاره گیاه اشنان (*Seidlitzia rosmarinus*) بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انترکوکوس فکالیس* (*Enterococcus faecalis*)، *اشریشیا کلی* و *سالمونا تیفی‌موریوم* (*Salmonella typhymurium*) در مقایسه با محلول نمک طلا گزارش و بیشترین تاثیر نانوذرات طلا بر باکتری *انترکوکوس فکالیس* با قطر هاله ۲۴ میلی متر و کمترین تاثیر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله ۱۹ میلی‌متر مشاهده شد (Azizian Shermeh et al. 2017). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد نانوذرات طلا در غلظت‌های بالاتر، اثر ضد میکروبی خوبی بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) داشته و باعث افزایش تاثیر تا ۱۴۶ درصد بر این باکتری شده است (Nazari et al. 2012).

با این‌حال در پژوهشی گزارش شد غلظت ۵/۰ میلی‌مولار از نانوذرات طلا، تأثیر خیلی زیادی بر روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *میکروکوکوس لوتئوس* (*Micrococcus luteus*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* ندارد (Grace and Pandian, 2007). برخی از نتایج پژوهش‌ها نیز حاکی از کم اثر بودن نانوذرات طلا بر روی باکتری *اشریشیا کلی* بوده است (Cho et al. 2005). همچنین در پژوهشی دیگر اعلام شد نانوذرات طلا در غلظت‌های کم بر روی *هلیکوباکتر پیلوری* تاثیری نداشتند و فقط در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

غلظت ۱۰۰۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر هاله عدم رشد مشاهده شد (Abdollahi et al. 2014). همچنین پژوهش‌های بسیاری مبتنی‌بر واکنش‌های احتمالی بین نانوذرات با ماکرومولکول‌های موجودات زنده نشان می‌دهد اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذرات فلزی، به‌صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذرات عمل کرده و باعث اتصال نانوذرات به سطح سلول و در نتیجه منجر به مرگ سلول می‌شود (Lin and Xing, 2007). همچنین تشکیل کلنی، رشد سلول باکتری و تشکیل ماتریکس‌های فیلم زیستی فشرده میکروبی باعث ایجاد عفونت می‌شوند و نانوذرات از تشکیل این عامل‌های دفاعی میکروب‌ها در برابر سامانه ایمنی سلول میزبان جلوگیری می‌کنند (Amanda et al. 2010). محدودیت عمده این پژوهش عدم اندازه‌گیری خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات با استفاده از روش تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی به دلیل کم بودن نمونه‌ها بود. همچنین از دیگر محدودیت‌های این پژوهش، پراکنش زیاد نانوذرات در اندازه‌های مختلف بود که با روش‌های مختلف از قبیل تغییرات دما، مدت زمان، غلظت‌های مختلف و برهمکنش محلول نمکی و عصاره گیاهی می‌توان دامنه تغییرات اندازه نانوذرات را کاهش و به یک شرایط بهینه دست پیدا کرد. تغیرات دما از طریق تغییر در جنبش مولکول‌ها و به هم پیوستگی آنها باعث تغییر اندازه ذرات نانو می‌شود (Baghizadeh et al. 2019). از طرفی با افزایش مدت زمان واکنش، فاز کریستالی نانوذرات از چند کریستالی به تک کریستالی تغییر می‌کند که باعث تغییر در اندازه نانوذرات می‌شود (Krishnamoorthy et al. 2012).

نتیجه‌گیری

روش‌های زیستی از لحاظ بهداشتی و محیط زیستی، برای مصارف پزشکی ایمن‌تر هستند. با توجه به نتایج این پژوهش مشخص شد که عصاره نعناع فلفلی نیز در احیای یون‌های فلزی طلا و تبدیل آنها به اتم‌های طلا در ابعاد نانومتریک پتانسیل بالایی دارد. نانوذرات تولید شده به‌وسیله عصاره نعناع فلفلی دارای اندازه ۱۰-۲ نانومتر و دارای حداکثر جذب نور در طول موج ۵۵۰ نانومتر هستند. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده نشان داد فعالیت بازدارندگی مناسبی بر علیه *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* وجود دارند و بنابراین استفاده از آنها در کنترل این میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا پیشنهاد می‌شود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

سپاسگزاری

پـــژوهش: IR.PNU.REC.1401.005) تشـــکر و قدردانی دارم.

از دانشگاه پیام نـور اسـتان اصـفهان بـه خـاطر تـامین هزینـه‌هـا در اجـرای ایـن پـژوهش (کـد

فهرست منابع

References

Abdollahi H, Javadi A, Zand Monfared MR. 2014. Synthesis of Gold Nanoparticles and Study of Their Antimicrobial Effects Study on Helicobacter pylori. Qom University Medical Science Journal. 8 (2): 44-50. (In Farsi with English abstract).

Amanda S, Mohammad F, John J, Schlager D, Syed A. 2010. Metal-Based nanoparticles and their toxicity assessment. Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicin and Nanobiotechnology. 2 (5): 544-68.

Ankamwar B, Damle C, Ahmad A, Sastry M. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblica officinalis* fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 5 (10): 1665-1671.

Arulkumar S, Sabesan M. 2010. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticle using antiparkinsonian drug Mucuna pruriens plant extract. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 1(4): 417-420.

Azizian Shermeh O, Taherizadeh M, Valizade M, Valizedeh J, Qasemi A, Naroei B. 2017. Optimization, characterization, and investigation of antibacterial activity of gold nanoparticles biosynthesized by aqueous extract of *seidlitzia rosmarinus*. Qom University Medical Science Journal. 11 (5): 38-52. (In Farsi with English abstract).

Azzazy HM, Mansour MM, Samir TM, Franco R. 2012. Gold nanoparticles in the clinical laboratory: principles of preparation and applications. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 50(2): 193-209.

Babu PJ, Sharma P, Borthakur BB, Das RK, Nahar P, Bora U. 2010. Synthesis of gold nanoparticles using *Mentha arvensis* leaf extract. International Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry. 2: 62–68

Baghizadeh A, salari N, karimi Maleh H, asadi M. 2019. Biosynthesis of gold nanoparticles by extract of aerial organs of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). 32 (3): 286-296. (In Farsi with English abstract).

Baharara J, Ramezani T. 2015. Green Synthesis of Gold Nanoparticles by medicine plant of *Zataria multiflora*. Quarterly Journal of Developmental Biology. 7(2): 1-8. (In Farsi with English abstract).

Cho KJ, Park T, Osaka S. 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochimica Acta. 51(6): 956-60

Dai J, Orsat V, Raghavan GSV, Yaylayan V. 2010. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) Leaves. Journal of Food Engineering. 96: 540 -543.

Das RK, Borthakur BB, Bora U. 2010. Green synthesis of gold nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Centella asiatica*. Materials Letters. 64 (13): 1445-1447.

Das RK, Gogoi N, Babu PJ, Sharma P, Mahanta C, Bora U. 2012. The synthesis of gold nanoparticles using *maranthus spinosus* leaf extract and study of their optical properties. Advance in Material Physics and Chemistry. 28:2(4): 275.

Eskandary Fathabady, M. 2015. Biosynthesis and antibacterial effect of gold nanoparticles by Whitetop (*Lepidium draba* L.) extract. (Dissertation for Master of Science Education). Payame Noor University. (In Farsi with English abstract).

Germán AV, Luci Cistina OV, Leticcia GF, Jaiber HRL, Andrés V. 2014. Synthesis and characterisation of gold nanoparticles using *Mentha piperita* leaf extract: A green, non-toxic and rapid method. International Journal of Nano and Biomaterials. 5(2-3): 181-192.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

Gharailou D, Azady P. 2016. Introduction to calibrating transmission electrom microscope (TEM). Iranian Journal of Laboratory Knoledge. 4(3): 27-32. (In Farsi with English abstract).

Grace AN, Pandian K. 2007. Antibacterial efficacy of aminoglycosidic antibiotics protected gold nanoparticles: A brief study. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 297(1-3): 63-70.

Kaushika N, Thakkar MS, Snehit S, Mhatre RY, Parikh MS. 2010. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 6(2):257-62.

Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. 2012. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. Journal of Nanoparticle Research. 1:14(9): 1063.

Lin DH, Xing BS. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution. 150(2): 243-50.

Magdalena K, Katarzyna M, Jakub S, Joanna OB, Krzysztof P, Marek S. 2015. Bio-mediated synthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles. Physical Chemistry Chemical Physics. 43 (17): 29014-2901.

Mariychuk R, Smolková R, Bartošová V, Adriana E, Luidmyla G, Vitaly ED, Vladyslav VL. 2022. The regularities of the *Mentha piperita* L. extract mediated synthesis of gold nanoparticles with a response in the infrared range. Applied Nanoscice. 12**:** 1071–1083.

Mubarak A, Thajuddin D, Jeganathan N, Gunasekaran M. 2011. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 85(2): 360-365.

Nabeel A, Sharad B, Ritika S, Danish I, Ghosh AK, Rajiv D. **2017**. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles: kinetics, in vitro and in vivo study. Materials Science and Engineering: C. 78(1): 553-556.

Nazari ZE, Banoee M, Sepahi AA, Rafii F, Shahverdi AR. 2012. The combination effects of trivalent gold ions and gold nanoparticles with different antibiotics against resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Gold Bulletin. 45(2): 53–9.

Oxana V, Kharissova HV, Rasika Dias Boris I, Kharisov BOP, Victor M, Jiménez P. 2013. The greener synthesis of nanoparticles. Trends in Biotechnology. 31 (4): 240-248.

Pandey S, Oza G, Mewada A, Sharon M. 2012. Green Synthesis of Highly Stable Gold Nanoparticles using *Momordica charantia* as nano fabricato. Archives of Applied Science Research. 4: 1135-1141.

Peyvandi S. 2018. Biosynthesis of gold nanoparticles by Sansevieria (*Sansevieria Cylindrica* L.). (Dissertation for Master of Science Education). Payame Noor University. [In Farsi with English abstract].

Prakasha PGP, Emmanuela R, Arokiyarajb S. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi* L. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 108:255– 259.

Razmi A, nikkhah M, Bagheri A, Malekzadeh Shafaroudi S, Shams bakhsh M. 2017. Green synthesis of spherical gold nano particle by Water cress. Modares Journal of Biotechnology. 8 (1): 60-70. (In Farsi with English abstract).

Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy SK, Poinern GE. 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. Materials. 8 (11): 7278-7308**.**

Singh M, Manikandan S, Kumaraguru AK. 2011. Nanoparticles: A new technology with wide applications. Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 1(1): 1–11.

Smitha S, Philip D, Gopchandran K. 2009. Green synthesis of gold nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* leaf broth. Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 74(3): 735-739.

Soleimani-Gorgani A, Alborz R. 2020. Green Synthesis of Nanoparticles for Using as Antibacterial Materials. Journal of Biosafety. 13 (1): 23-44. [In Farsi with English abstract].

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]

Song JY, Jang HK, Kim BS. 2009. Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. Process Biochemistry. 44(10): 1133– 1138.

Song W, Zhang J, Guo J, Zhang J, Ding F, Li L, Sun Z. 2010. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. Toxicology letters. 199(3): 389-397.

Wenxia Y, Ruidong C, Fei X, Chunyan X, Wenqiu T. 2022. Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of *Mentha piperita* green-formulated gold nanoparticles and its effect on ovalbumin-induced asthma and lung pathological changes in rats, Journal of Experimental Nanoscience. 17(1): 163-172.

Green synthesis and Antibacterial Effect of Gold Nanoparticles using *Mentha piperita* L. Extract

Hamid Dehghanzadeh

Assistant Professor, Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University (PNU), Iran.

dehghanzadeh@pnu.ac.ir

Abstract

Nanoparticles are used as a pharmaceutical tool for infections against microbes and in the near future, there is an urgent need to replace antibiotics with new substances with antibacterial properties. One of the most efficient methods of nanoparticle synthesis is the method of green synthesis of nanoparticles by plants. In this study, an environmentally friendly extracellular biosynthesis method, namely reducing agents of *Mentha piperita* L. extract, was used to produce gold nanoparticles. The gold nanoparticles were characterized by color changes, the XRD method and the UV-visible spectroscopy and the antibacterial activity of nanoparticles against four species of bacteria (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, and Bacillus cereus*) investigated through bacteria disc fusion assays. Results showed that due to the reduction of gold ions and the production of nanoparticles, the color of the samples changed from yellow to brown, which indicates the production of a colloidal suspension of gold nanoparticles. The gold nanoparticles have the maximum absorbance at 550 nm, spherical shape and their average size was 2-10 nm. Further investigation revealed that synthesized nanoparticles have relatively antibacterial activity on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* but have no effect on *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. In general, based on the observations of this study, it can be concluded that the aqueous extract of *Mentha piperita* L. due to its secondary components and antioxidant activity, has high potential in the reduction of gold metal ions as well as synthesis and stabilization of gold nanoparticles. Also, the synthesized gold nanoparticles show relatively good antibacterial activity against some bacteria.

Keywords: Antibacterial activity, Antioxidant, Green synthesis, Nanoparticles, Peppermint.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1401.15.1.1.5]