

مقاله پژوهشی

سنتز سبز نانوذره اکسید روی با استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* و ارزیابی خواص ضدباکتریایی آن

سلیم جنگی زهی^۱، مرتضی یوسف‌زادی^۲، گیلان عطاران فریمان^۳، معروف زارعی^۴،
محمدشریف رنجبر^{۵*}

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۲ DOI:10.22124/japb.2023.25411.1510 تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۲

چکیده

سنتز سبز نانوذرات توجه بسیار زیادی را به دلیل منافع اقتصادی و زیست‌محیطی در برابر روش‌های رایج سنتز شیمیایی به خود جلب کرده است. عصاره آبی ماکرو جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* برای سنتز سبز نانوذرات اکسید روی مورد استفاده قرار گرفت. نانوذرات سنتز شده به وسیله تغییر رنگ، طیف‌سنجی UV-Vis، FT-IR، TEM، SEM و XRD مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوذرات شکل گرفته کروی و کریستالی با محدوده اندازه بین ۱۵/۱ تا ۲۷ نانومتر بودند. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتز سبز شده با روش MIC و MBC در برابر باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید روی سنتز سبز شده اثر قابل توجه ضدباکتریایی در برابر باکتری‌های آزمایش شده داشتند. در نهایت، این پژوهش نشان می‌دهد که سنتز سبز نانوذرات اکسید روی از ماکرو جلبک‌های دریایی می‌تواند یک روش موثر، پایدار و دوستدار محیط زیست برای تولید نانوذرات اکسید روی با ویژگی‌های ضدباکتریایی باشد.

واژگان کلیدی: سنتز سبز، نانوذره اکسید روی، فعالیت ضد میکروبی، جلبک قهوه‌ای، *Sargassum ilicifolium*

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
 - ۲- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.
 - ۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.
 - ۴- دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
 - ۵- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- * نویسنده مسئول: sharif.ranjbar@hormozgan.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، نانوذرات زیستی سنتز شده به دلیل اندازه منحصر به فرد ذرات و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی آنها، مورد توجه زیادی در زمینه زیست‌شناسی و داروسازی قرار گرفته‌اند (Ko et al., 2007). جانداران دریایی منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی با تاثیر قابل توجهی در زمینه دارویی، صنعتی و توسعه محصولات بیوتکنولوژیک هستند. در سال‌های اخیر، پژوهشگران بر روی مطالعات سنتز نانوذرات از منابع دریایی که هم زیست سازگار و هم قابل تجزیه هستند متمرکز شده‌اند (Asmathunisha and Kathiresan, 2013). سنتز نانوذرات زیستی با استفاده از فرایندهای فیزیکی و شیمیایی بسیار گران است. به منظور کاهش هزینه‌های اجتناب‌ناپذیر در فرایند سنتز نانوذرات، دانشمندان موجودات زنده را هدف قرار داده‌اند. طبیعت فرایندهای مختلفی را برای سنتز مواد معدنی در مقیاس نانو و ریز که به توسعه مطالعات جدید و ناشناخته مبتنی بر سنتز زیستی مواد نانو کمک کرده، ابداع کرده است (Mohanpuria et al., 2008). گیاهان منبع مهم، ایمن و به راحتی قابل دسترس برای سنتز نانوذرات با تنوع گسترده متابولیت‌ها هستند. مواد شیمیایی اصلی مسئول برای فعالیت زیستی آنها به عنوان ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کتون‌ها، آلدهیدها، آمیدها و کربوکسیلیک اسیدها شناخته شده‌اند (Prathna et al., 2010). در این راستا، گیاهان و سنتز سبز مبتنی بر عصاره‌های گیاهی مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است (Casida and Quistad, 2000). شرایط زیست‌محیطی اکوسیستم دریایی و ویژگی‌های گیاهان دریایی با اکوسیستم خشکی بسیار متفاوت است. بنابراین، گیاهان دریایی ممکن است انواع مختلفی از ترکیبات زیست‌فعال از جمله پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و تانن‌ها را تولید کنند (Singh et al., 2015). نانوذرات در مقایسه با ترکیبات دیگر به دلیل اندازه بسیار کوچکتر و نسبت سطح به حجم بالاتر که منجر به تفاوت در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی می‌شود، علاقه بسیار بیشتری را ایجاد کرده‌اند (Singh et al., 2015). نانوذرات بر اساس شکل و اندازه ویژگی‌های مختلفی از جمله حسگرهای زیستی، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت ضدسرطانی، ترانزیستورهای رایانه‌ای، الکترومترها، حسگرهای شیمیایی و غیره از خود نشان می‌دهند. نانوذرات فلزی کاربردهای زیادی در زمینه دارو و داروسازی، نظارت محیط زیستی

در سال‌های اخیر، نانوذرات زیستی سنتز شده به دلیل اندازه منحصر به فرد ذرات و ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی آنها، مورد توجه زیادی در زمینه زیست‌شناسی و داروسازی قرار گرفته‌اند (Ko et al., 2007). جانداران دریایی منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی با تاثیر قابل توجهی در زمینه دارویی، صنعتی و توسعه محصولات بیوتکنولوژیک هستند. در سال‌های اخیر، پژوهشگران بر روی مطالعات سنتز نانوذرات از منابع دریایی که هم زیست سازگار و هم قابل تجزیه هستند متمرکز شده‌اند (Asmathunisha and Kathiresan, 2013). سنتز نانوذرات زیستی با استفاده از فرایندهای فیزیکی و شیمیایی بسیار گران است. به منظور کاهش هزینه‌های اجتناب‌ناپذیر در فرایند سنتز نانوذرات، دانشمندان موجودات زنده را هدف قرار داده‌اند. طبیعت فرایندهای مختلفی را برای سنتز مواد معدنی در مقیاس نانو و ریز که به توسعه مطالعات جدید و ناشناخته مبتنی بر سنتز زیستی مواد نانو کمک کرده، ابداع کرده است (Mohanpuria et al., 2008). گیاهان منبع مهم، ایمن و به راحتی قابل دسترس برای سنتز نانوذرات با تنوع گسترده متابولیت‌ها هستند. مواد شیمیایی

آماده‌سازی آسان، بیشترین توجه را به خود جلب کرده است (Jayaseelan et al., 2012).

انتظار می‌رود در سال‌های آینده تقاضا برای نانوذرات اکسید روی به دلیل کاربردهای بالقوه آنها در زمینه‌های نوظهور مانند نانو الکترونیک و نانوپزشکی، افزایش یابد. با این حال، روش‌های سنتی مورد استفاده برای سنتز نانوذرات اکسید روی دارای محدودیت‌های متعددی مانند مصرف انرژی بالا، هزینه بالا و آلودگی محیطی هستند (Zirakjou et al., 2023).

ماکرو جلبک‌های دریایی نسبت به گیاهان خشکی‌زی در بیوسنتز نانوذرات اکسید روی مزیت بیشتری دارند زیرا با زمین‌های کشاورزی برای منابع آب شیرین رقابت نمی‌کنند. در نتیجه، ماکرو جلبک‌های دریایی منبعی پایدار برای تولید در مقیاس بزرگ برای سنتز سبز نانوذرات به حساب می‌آیند (Alprol et al., 2023). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره ماکرو جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium* و همچنین بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتز سبز شده، با روش (Minimum Inhibitory MIC) و (Concentration Minimum) MBC و (Bactericidal Concentration) در برابر

و الکترونیک دارند (Kumar and Yadav, 2009).

جلبک‌های دریایی منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی مانند پلی‌ساکاریدها (آلژینات، لمینار، فوکوئیدان)، پلی‌فنول‌ها، کاروتنوئیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند. جلبک‌ها به صورت گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی و تولیدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مواد شیمیایی جلبک‌ها دارای گروه‌های عملکردی هیدروکسیل، کربوکسیل و آمینو هستند که می‌توانند به عنوان یک عامل کاهش دهنده و مهار کننده فلز موثر برای ایجاد یک پوشش قوی بر روی نانوذرات فلزی در مرحله اول سنتز به کار روند (Kumar and Yadav, 2009).

سنتز سبز شامل سنتز از طریق گیاهان، باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و غیره است. این روش‌ها امکان تولید با مقیاس بزرگ نانوذرات اکسید روی بدون وجود آلاینده‌های اضافی را فراهم می‌کند. نانوذرات سنتز شده از روش‌های زیستی، فعالیت کاتالیزوری بیشتری دارند و استفاده از مواد شیمیایی گران قیمت و سمی را محدود می‌کنند (Agarwal et al., 2017).

از بین اکسیدهای فلزی، نانوذرات اکسید روی به دلیل هزینه تولید کم، ایمنی و

انجام شد. عصاره آبی جلبک *S. ilicifolium* استخراج شده با محلول ۲ میلی مولار استات روی (۱:۱۰ حجمی/حجمی) تحت هم زدن شدید در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲-۳ ساعت در حمام آبی برای تکمیل واکنش مخلوط شد. بعد از تنظیم pH محلول بر روی ۶، رنگ سفید نشان دهنده تشکیل نانوذرات اکسید روی است. پس از تشکیل نانوذره، محلول در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و رسوب به دست آمده کاملاً با آب دیونیزه شستشو داده شد. محصول به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در آن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شده و در دمای ۴۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت کلسینه شد تا $Zn(OH)_2$ کاملاً به نانوذرات ZnO تبدیل شود. ذرات نانو سنتز سبز شده اکسید روی برای تعیین ویژگی‌های نوری و ساختار نانوذرات بررسی شد.

ویژگی‌های نانوذرات اکسید روی سنتز شده از

جلبک *Sargassum ilicifolium*

ویژگی‌های نانوذرات اکسید روی سنتز شده با جلبک *S. ilicifolium* با استفاده از تکنیک‌های تجزیه و تحلیل طیف‌سنجی UV-Vis، XRD، SEM، TEM و FT-IR بررسی

باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* بود.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره جلبک *Sargassum ilicifolium*

جلبک دریایی *Sargassum ilicifolium* از

ساحل سنگی جزر و مدی دریای بزرگ چابهار جمع‌آوری شد. جلبک‌های دریایی جمع‌آوری شده برای حذف اپی‌فیت‌ها با آب شیرین و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. نمونه‌های جلبک تازه در دمای اتاق خشک شده و سپس پودر شدند. پودرها محکم بسته‌بندی شده و در آزمایشگاه برای مراحل بعدی آزمایش ذخیره شدند. تهیه عصاره جلبک بر اساس روش Azizi و همکاران (۲۰۱۴) با اندکی تغییرات انجام شد. به این ترتیب که ۱۰ گرم از نمونه جلبک دریایی آسیاب شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر هم زده و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. عصاره به دست آمده پس از خنک شدن در دمای اتاق، فیلتر شده و در یخچال برای استفاده‌های بعدی ذخیره شد.

سنتز نانوذرات اکسید روی

سنتز نانوذرات اکسید روی بر اساس روش

Azizi و همکاران (۲۰۱۴) با اندکی تغییرات،

شکل و اندازه نانوذره روی بیوسنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد بررسی قرار گرفت. برای شناسایی ساختار و اندازه نانوذرات نیز از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و نرم افزار ImageJ استفاده شد.

ارزیابی خواص ضدباکتریایی

دو سویه باکتری شاخص گرم مثبت (*Staphylococcus aureus*) و گرم منفی (*Escherichia coli*) برای ارزیابی پتانسیل ضدباکتریایی نانوذرات به روش رقیق سازی ردیفی طبق پروتکل CLSI استفاده شد (Humphries et al., 2018). غلظت‌های مختلف (۰/۰۶۲۵ تا ۸ میلی گرم در میلی لیتر) از نانوذره اکسید روی سنتز سبز شده (Sa-) ZnONPs و نانوذره اکسید روی تجاری (US Research Nanomaterial) و عصاره جلبک در محیط کشت مایع مولر هینتون در شرایط استرلیزه تهیه شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، کمترین غلظت نمونه که مانع رشد باکتری شده بود به عنوان MIC ثبت شد. غلظت‌هایی که در آنها عملکرد بازدارندگی در آزمون MIC مشاهده شد، در محیط کشت نوترینت آگار

شد. برای ارزیابی نانوذرات سنتز شده، طیف جذب نوری نانوذرات بیوسنتز شده با استفاده از دستگاه طیفسنج نوری UV-Vis (PerkinElmer، آمریکا) در طول موج ۲۰۰-۷۰۰ نانومتر بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل گروه‌های عاملی از دستگاه طیفسنج نوری مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) استفاده شد (PerkinElmer، آمریکا). خلوص و اندازه نانوذرات اکسید روی با استفاده از روش پراش پرتوی ایکس (X-ray Diffraction: XRD) با تابش Cu K α در طول موج ۰/۱۵۴۰۶ نانومتر در محدوده اسکن $2\theta = 1-80$ ارزیابی شد. اندازه کریستالیت بر اساس صفحه کریستالی با بیشترین شدت به دست آمده از نمودار XRD محاسبه شد. داده‌های به دست آمده برای محاسبه اندازه کریستالیت با استفاده از فرمول دبای شرر طبق رابطه ۱ به دست آمد (Taha et al., 2018).

رابطه ۱:

$$\text{Crystallite Size} = k\lambda / b \times \cos\theta$$

k: ثابت شرر (۰/۹۴)؛ λ : طول موج؛ b: پهنای پیک در نصف ارتفاع بیشینه پیک (FWHM)؛ θ : موقعیت پیک الگوی پراش نصف دو تتا است.

استریل برای ارزیابی آزمایش MBC کشت مجدد شد.

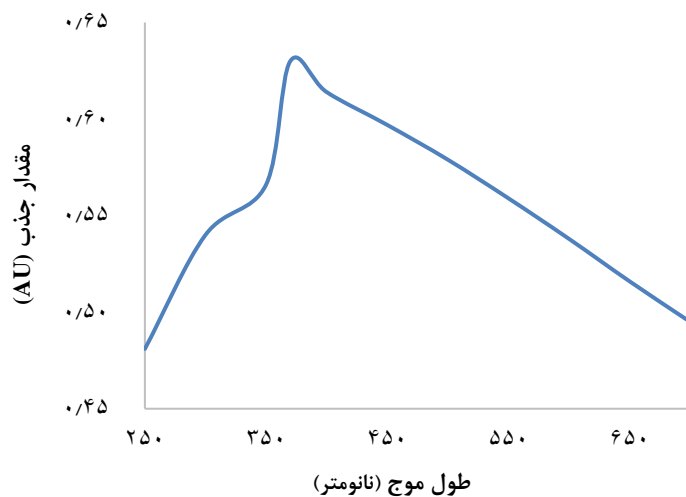
پراش پرتوی ایکس

فاز و ساختار نانوذرات سنتز سبز شده همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است با پراش اشعه ایکس (XRD) مورد بررسی قرار گرفتند. در این آنالیز طول موج تابش مورد استفاده در XRD 1.54056 آنگستروم (آند مس) بود. داده‌ها در قالب نمودار 2θ در مقابل شدت (AU) رسم شد. الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نمونه اکسید روی سنتز شده از جلبک قهوه‌ای *S. ilicifolium* در شکل ۲ نشان داده شده است.

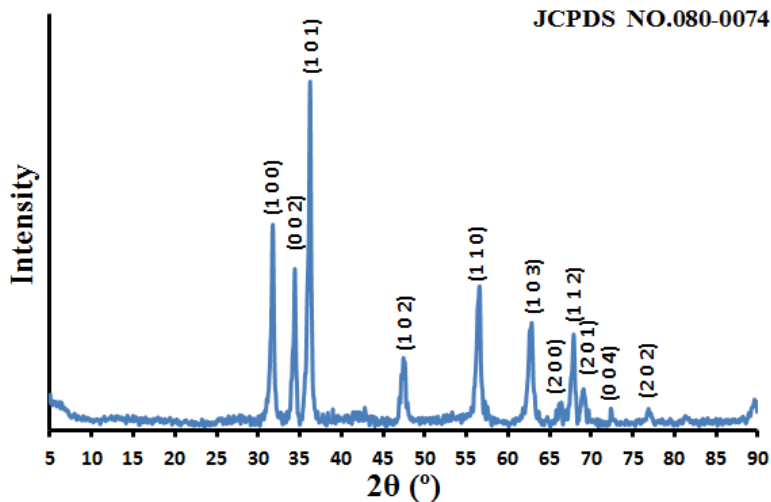
نتایج

طیف‌سنج نوری (UV-Vis)

در تجزیه و تحلیل نانوذره روی سنتز سبز شده با طیف سنج UV-Vis، پیک جذب نانوذره بیوسنتز شده اکسید روی در طول موج ۳۷۰ نانومتر مشاهده شد که نشان دهنده وجود نانوذره روی در محلول واکنشی است (شکل ۱).



شکل ۱: طیف جذبی UV-Vis نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده توسط جلبک *Sargassum ilicifolium*

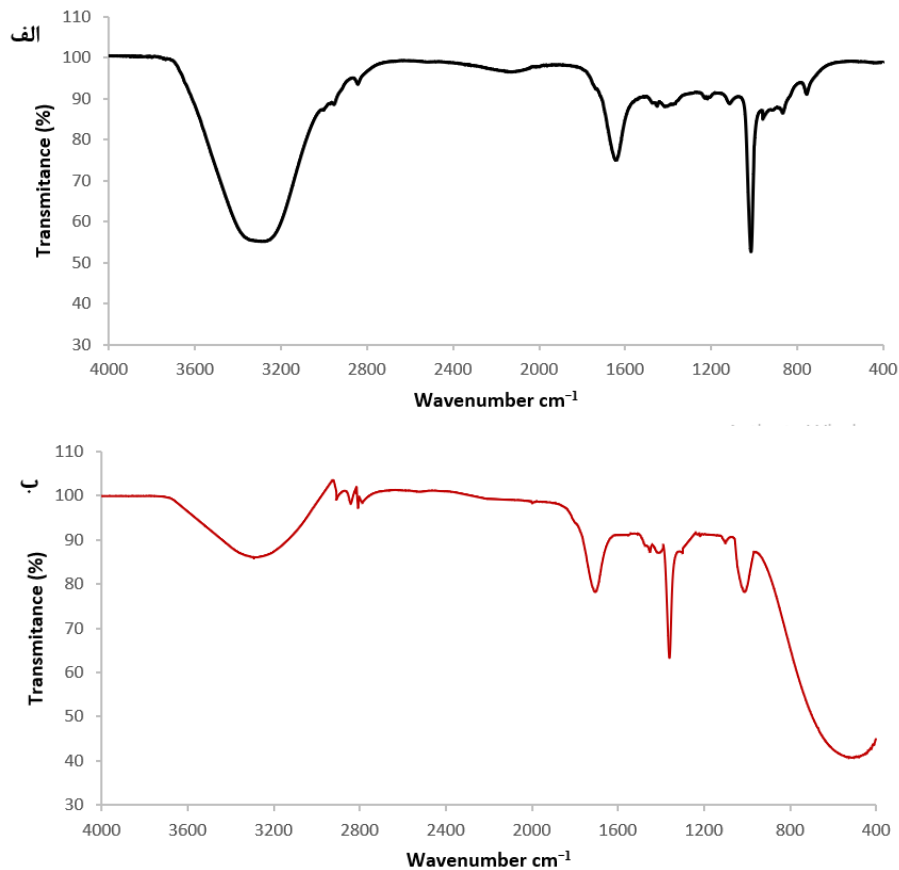


شکل ۲: الگوی XRD نمونه اکسید روی بیوسنتز شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*

شارپترین پیک فاز ZnO (1 0 1) 2θ نانومتر و میانگین اندازه کریستالیت $20/6$ نانومتر به دست آمد. علاوه بر این پیک‌های پراش قوی و باریک، ماهیت کریستالی و همچنین خلوص بالای نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده را ثابت می‌کند (شکل ۲).

طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FT-IR)
گروه‌های عاملی درگیر در نانوذره بیوسنتز شده اکسید روی با استفاده از دستگاه FT-IR مشخص شدند. طیف‌های FT-IR عصاره جلبک و نانوذره اکسید روی سنتز سبز شده در محدوده $4000-400$ بر سانتی‌متر در شکل ۳ نشان داده شده است.

همان طور که در شکل مشاهده می‌شود پیک‌های مشخصه برای ZnO با ساختار هگزاگونال، Hexagonal، (Space Group: P63mc) در 2θ های 36.2° ، 34.36° ، 31.73° ، 47.47° ، 56.53° ، 62.75° ، 66.29° ، 67.85° ، 68.99° و 72.43° و 76.84° به ترتیب به صفحات کریستالی (1 0 1)، (0 0 2)، (1 0 0)، (1 0 2)، (1 1 2)، (2 0 0)، (1 0 3)، (1 1 0)، (2 0 1) و (0 0 4) مربوط می‌شوند و با کارت رفرنس با شماره [01-080-0074] JCPDS، در این کارت رفرنس [0074] مطابقت دارد. در این کارت رفرنس مقادیر ثابت شبکه a و b $3/25$ آنگسترم و c $5/21$ آنگسترم گزارش شد. همچنین، با استفاده از رابطه شرر اندازه کریستالیت با توجه به دوتتا



شکل ۳: طیف FT-IR. الف) عصاره جلبک *Sargassum ilicifolium*. ب) نانوذره اکسید روی سنتز سبز شده توسط *Sargassum ilicifolium*

پیک پهنی که در محدوده ۳۲۰۰-۳۳۰۰ بر سانتی‌متر مشاهده می‌شود، احتمالاً متعلق به گروه هیدروکسیل (O-H) است. باندهای جذبی در ۲۷۰۰-۲۸۰۰ بر سانتی‌متر احتمالاً مربوط به ترکیبات آلیفاتیک C-H باشد (Pandimurugan and Thambidurai, 2016). باند جذب در ۱۶۹۸ بر سانتی‌متر مربوط به گروه استرهای C=O یا کربوکسیلیک اسید است. پیک با جذب بالا محدوده ۱۳۶۰ بر سانتی‌متر احتمالاً حضور گروه کربوکسیلات COO- را ثابت می‌کند. پیک استاندارد اکسید روی در ۵۵۰ بر سانتی‌متر ثبت شد. به طور کلی

نانوذرات بیوسنتز شده روی در شکل ۵ نشان داده شده است. با توجه به تصویر SEM نانوذرات اکسید روی کروی بودند (شکل ۵).

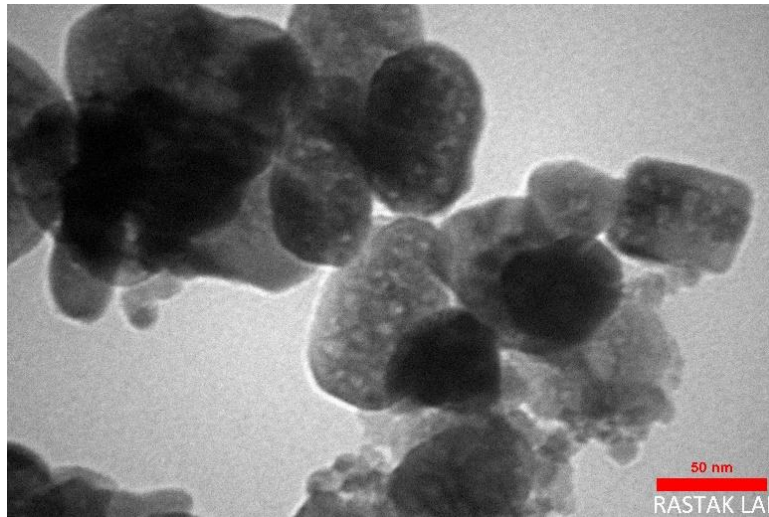
پیک در محدوده ۴۰۰-۶۰۰ بر سانتی‌متر به ارتعاشات کششی Zn-O نسبت داده شده است (Sharma and Ghose, 2015).

ارزیابی خواص ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی

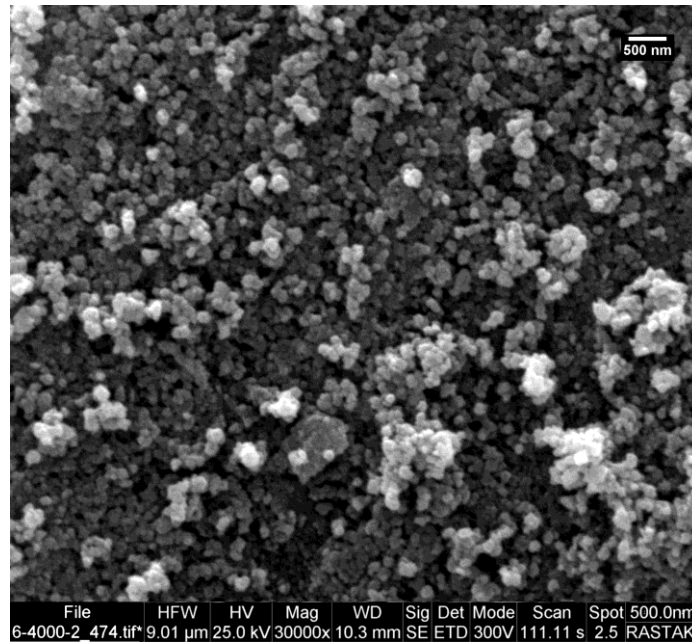
مقادیر MIC و MBC عصاره آبی جلبک *S. ilicifolium*، نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده و نانوذره اکسید روی تجاری در برابر دو سویه گرم مثبت و گرم منفی در جدول ۱ نمایش داده شده است.

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

برای تجزیه و تحلیل اندازه نانوذرات بیوسنتز شده اکسید روی از میکروسکوپ الکترونی TEM استفاده شد. تصویر TEM نانوذره بیوسنتز شده اکسید روی در شکل ۴ آمده است. اندازه نانوذرات در محدوده ۱۰-۱۰۰ نانومتر نشان داده شده است. همچنین تصویر SEM



شکل ۴: تصویر TEM نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*



شکل ۵: تصویر SEM نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*

جدول ۱: ارزیابی MIC و MBC نانوذره اکسید روی در برابر سویه‌های باکتری

آمپی سیلین		عصاره <i>Sargassum ilicifolium</i>		ZnONPs تجاری		*Sa-ZnONPs		باکتری
MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	
۰/۱۲	۰/۰۶۲	۰	۸>	۰/۲۵	۴	۲	۰/۱۲۵	<i>Staphylococcus aureus</i>
۰/۲۵	۰/۱۲	۰	۸>	۰/۵	۸	۴	۰/۲۵	<i>Escherichia coli</i>

*: نانوذرات اکسید روی بیوسنتز شده توسط جلبک *Sargassum ilicifolium*

بر اساس نتایجی که در جدول ۱ آمده است، نانوذره اکسید روی سنتز شده فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی نشان داد. رشد هر دو سویه باکتری *S. aureus* و *E. coli* به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با نانوذره اکسید روی سنتز شده مهار شد در حالی که نانوذره اکسید روی تجاری رشد دو سویه باکتری را به ترتیب در غلظت‌های

جذب نانوذره اکسید روی را ۳۵۲ نانومتر ثبت کردند. Vennila و Jesurani (۲۰۱۷) گزارش دادند که سنتز سبز نانوذرات روی عمدتاً در طول موج‌های بین ۳۷۰-۴۰۰ نانومتر قابل شناسایی است. Ali و همکاران (۲۰۱۶) نیز پیک جذب ۳۷۵ نانومتر را برای بیوسنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره *Aloe vera* به دست آوردند. حداکثر پیک جذب نانوذرات روی در ۳۰۰-۴۰۰ نانومتر است (Pantidos and Horsfall, 2014).

عصاره جلبک‌های دریایی حاوی انواع مختلفی از گروه‌های عاملی مانند آمینو، سولفات، کربوکسیل و هیدروکسیل هستند که می‌توانند در تبدیل $ZnC_4H_6O_4$ به نانوذرات اکسید روی نقش ایفا کرده و متعاقباً آنها را تثبیت کنند (Azizi et al., 2014; Kokabi et al., 2018; Vijayakumar et al., 2017). آنالیز FT-IR کاهش و ظهور گروه‌های عاملی جدید، پیشرفت تشکیل باندهای جدید در طول بیوسنتز از طریق کاهش یا تثبیت نانوذرات را نشان می‌دهد (Kamli et al., 2021). در مطالعه حاضر، طیف‌های FT-IR نشان داد که کششی‌های O-H و C=N در عصاره جلبکی نقش بسیار مهمی در تشکیل نانوذره بیوسنتز شده اکسید روی با وجود جابه‌جایی زیاد

۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مهار کرد. هیچ خاصیت ضدباکتریایی در عصاره آبی جلبک *S. ilicifolium* مشاهده نشد. همچنین نتایج نشان داد که خواص ضدباکتریایی دو نانوذره مورد آزمایش کمتر از آمپی‌سیلین بود.

بحث

سنتز نانوذرات با عصاره‌های گیاهی رویکرد جدیدی بوده که مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است (Ogunyemi et al., 2019). اخیراً انواع مختلفی از جلبک‌ها به عنوان عامل کاهنده برای ساخت نانوفلزات به کار برده شده‌اند (Sharma and Ghose, 2015). در مطالعه حاضر نانوذرات اکسید روی با میانگین قطر ۲۰/۶ نانومتر با استفاده از عصاره جلبک دریایی قهوه‌ای *S. ilicifolium* با موفقیت سنتز سبز شد. اولین شاخص برای تشکیل نانوذرات روی مشاهده بصری است. یافته‌های مربوط به جذب UV-Vis یکی از قابل اطمینان‌ترین و آسان‌ترین راه‌ها برای بررسی سنتز نانوذرات اکسید روی است. شکل ۱ نتایج طیف UV-Vis را نشان می‌دهد، همان‌طور که در شکل دیده می‌شود پیک شاخص در ۳۷۰ نانومتر مشخص است که به عنوان اکسید روی شناسایی می‌شود. Vijayakumar و همکاران (۲۰۱۸) طیف

است (Sharmila et al., 2018). نانوذرات اکسید روی تهیه شده از *Artocarpus gomezianus* (Sharmila et al., 2018) پیک‌های FT-IR قابل مقایسه‌ای با مطالعه حاضر دارد. همچنین در مطالعات دیگر، نیز نشان داده شده است که نانوذره اکسید روی تولید شده به وسیله *Sambucus ebulus* و *Calotropis gigantea* که باندهای کششی O-H را در ۳۴۲۹ بر سانتی‌متر و باندهای C-H در ۲۹۰۰ بر سانتی‌متر و حضور ZnO در ۵۴۵ بر سانتی‌متر تولید شده مشابه با مطالعه حال حاضر است (Vidya et al., 2013; Alamdari et al., 2020).

مطالعه‌ای که بر روی سنتز تک مرحله‌ای نانوذرات اکسید روی از عصاره *Moringa oleifera* انجام شده است، نشان می‌دهد که پیک‌های پراش ساختار شش ضلعی وورترزیت نانوذرات روی را در آنالیز XRD اثبات می‌کند (Matinise et al., 2017) که نتایج آن مشابه با این مطالعه است. نانوذرات اکسید روی تولید شده با استفاده از نمک استات روی و نیترات روی شکل کروی نانوذرات (Fakhari et al., 2019)، و اندازه‌های بین ۳۰ تا ۶۰ نانومتر (Yathisha et al., 2016; Matinise et al., 2017) و استخراج از پوسته دانه

ایفا می‌کنند. این باندها نشان می‌دهند که ترکیبات پلی‌ساکاریدی و آمینی در عصاره آبی *S. ilicifolium* وجود داشتند. از آنجایی که جلبک‌های دریایی قهوه‌ای منابع غنی از فوکویدان‌ها، لامینارین‌ها و آلژینات‌ها هستند، می‌توان چنین تصور کرد پلی‌ساکاریدهایی که در این واکنش نقش ایفا کرده‌اند فوکویدان‌ها، لامینارین‌ها و آلژینات‌ها باشند. این ماکرومولکول‌ها محلول در آب می‌تواند به عنوان یک عامل تثبیت کننده و جلوگیری کننده از اجتماع نانوذرات در محلول واکنشی باشند. فیتوکمیکال‌های محلول مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، آسکوربیک اسید، آلژنیک اسید، کربوهیدرات‌ها، فلاونوئیدها و مانیتول‌ها در جلبک قهوه‌ای *Sargassum myriocystum* به عنوان عامل تثبیت کننده و کاهش دهنده عمل می‌کنند (Alprol et al., 2023). Sharmila و همکاران در سال ۲۰۱۸ نانوذرات اکسید روی را از عصاره *Bauhinia tomentosa* بیوسنتز کردند و نتایج آنالیز FT-IR با نتایج این مطالعه مشابهت داشت. نانوذرات اکسید روی آنها باند جذب را در ۳۳۰۰ بر سانتی‌متر نشان داد که گروه‌های ارتعاشی OH را نشان می‌دهد. باندهای متمایز C-H در حالت کششی از ۲۸۰۰ تا ۲۹۰۰ بر سانتی‌متر نیز مشابه مطالعه حاضر

که شکل نانوذرات کروی بوده و اندازه متوسط آنها ۵۲/۳۲ نانومتر بود (Alprol et al., 2023). نتایج فعالیت ضدباکتریایی مطابق با گزارش‌های قبلی بود که نشان می‌دهد نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده فعالیت متوقف‌کنندگی رشد باکتری در غلظت کم و فعالیت باکتری‌کشی در غلظت‌های بالاتر را دارد (Elumalai and Velmurugan, 2015; Ali et al., 2016; Kokabi et al., 2017). مکانیسم ممکن برای شرح فعالیت مهار باکتریایی شامل ایجاد استرس اکسیداتیو (ROS) بر روی سطح اکسید فلزی و اثر متقابل روی بر روی غشای سلولی باکتری از طریق چسبیدن ذرات روی، است (Ann et al., 2014; Mirzaei and Darroudi, 2017). فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی در مقابل باکتری‌ها و قارچ‌ها، بستگی به اندازه ذرات، غلظت پودر، ریخت‌شناسی، مساحت سطح ویژه و غیره دارد. با افزایش غلظت نانوذره روی، فعالیت ضد میکروبی نیز به دلیل افزایش غلظت H_2O_2 از سطح نانوذره روی، افزایش پیدا می‌کند. مولکول‌های H_2O_2 می‌توانند به غشای سلولی نفوذ کنند و باعث مرگ باکتری شوند. در کل اندازه کوچکتر نانوذرات فلزی با باند گپ بزرگتر و ایجاد شرایط نامساعد برای نوترکیبی

Azadirachta indica با محدوده اندازه ذرات از ۲۵ تا ۶۰ نانومتر (Dallatu et al., 2020) را نشان می‌دهد.

نانوذره بیوسنتز شده در مطالعه حاضر مشابه با مطالعه Azizi و همکاران در سال ۲۰۱۴ است که در آن آنالیز FESEM نانوذره اکسید روی بیوسنتز شده از ماکرو جلبک قهوه‌ای *Sargassum muticum* اندازه ذرات را در محدوده بین ۳۰ تا ۵۷ نانومتر نشان داد. Ishwarya و همکاران در سال ۲۰۱۸ اندازه متوسط نانوذره روی سنتز شده از جلبک *Ulva lactuca* با شکل اسفنج مانند نامتقارن را بین ۱۰ تا ۵۰ نانومتر گزارش کردند، در حالی که در مطالعه حاضر شکل ذرات کروی است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی مانند شکل، اندازه و ساختار کریستالی نانوذرات به عوامل مختلفی از جمله روش‌های آماده‌سازی، مواد تشکیل‌دهنده و لیگاندهای آلی بستگی دارد (Kokabi et al., 2017). در محلول واکنشی، لیگاندها (سورفکتانت) تاثیر بسیار زیادی در تشکیل نانوذرات دارند. در کل کی‌لیت‌های قوی‌تر با فلز باعث ایجاد ذرات کوچک‌تر می‌شوند (Ling et al., 2014). سنتر نانوذرات اکسید روی از جلبک قهوه‌ای *Sargassum wightii* نشان داد

اکسیتون‌ها همبستگی دارد. در نتیجه (ROS) و متعاقبا افزایش فعالیت ضد میکروبی می‌شود (Elumalai and Velmurugan, 2015).
اکسیتون‌های قابل دسترس بیشتر منجر به تولید غلظت‌های بالاتر گونه‌های اکسیژن فعال

منابع

- Agarwal H., Kumar S.V. and Rajeshkumar S. 2017.** A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles- An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4): 406–413. doi: 10.1016/j.refit.2017.03.002
- Alamdari S., Sasani Ghamsari M., Lee C., Han W., Park H.H., Tafreshi M.J., Afarideh H. and Ara M.H. M. 2020.** Preparation and characterization of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Sambucus ebulus*. *Applied Sciences*, 10(10): 1–19 (3620). doi: 10.3390/app10103620
- Ali K., Dwivedi S., Azam A., Saquib Q., Al-Said M.S., Alkhedhairi A.A. and Musarrat J. 2016.** *Aloe vera* extract functionalized zinc oxide nanoparticles as nanoantibiotics against multi-drug resistant clinical bacterial isolates. *Journal of Colloid and Interface Science*, 472: 145–156. doi: 10.1016/j.jcis.2016.03.021
- Alprol A.E., Mansour A.T., El-Beltagi H.S. and Ashour M. 2023.** Algal extracts for green synthesis of zinc oxide nanoparticles: Promising approach for algae bioremediation. *Materials*, 16(7): 1–23 (2819). doi: 10.3390/ma16072819
- Ann L.C., Mahmud S., Bakhori S.K.M., Sirelkhatim A., Mohamad D., Hasan H., Seeni A. and Rahman R.A. 2014.** Antibacterial responses of zinc oxide structures against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pyogenes*. *Ceramics International*, 40(2): 2993–3001. doi: 10.1016/j.ceramint.2013.10.008
- Asmathunisha N. and Kathiresan K. 2013.** A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms. *Colloids and Surfaces (B)*, 103: 283–287. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.030
- Azizi S., Ahmad M.B., Namvar F. and Mohamad R. 2014.** Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum aqueous* extract. *Materials Letters*, 116: 275–277. doi: 10.1016/j.matlet.2013.11.038
- Casida J.E. and Quistad G.B. 2000.** Insecticide targets: Learning to keep up with resistance and changing concept of safety. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 43(4): 185–191.
- Dallatu Y., Shallangwa G. and Africa S. 2020.** Synthesis and growth of spherical ZnO nanoparticles using different amount of plant extract. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*,

- 24(12): 2147–2151. doi: 10.4314/jasem.v24i12.21
- Elumalai K. and Velmurugan S. 2015.** Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (L.). *Applied Surface Science*, 345: 329–336. doi: 10.1016/j.apsusc.2015.03.176
- Fakhari S., Jamzad M. and Kabiri Fard H. 2019.** Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A comparison. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 12(1): 19–24. doi: 10.1080/17518253.2018.1547925
- Humphries R.M., Ambler J., Mitchell S.L., Castanheira M., Dingle T., Hindler J.A., Koeth L. and Sei K. 2018.** CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(4): 1–10 (e01934-17). doi: 10.1128/jcm.01934-17
- Ishwarya R., Vaseeharan B., Kalyani S., Banumathi B., Govindarajan M., Alharbi N.S., Kadaikunnan S., Al-Anbr M.N., Khaled J.M. and Benelli G. 2018.** Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ulva lactuca* seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology (B)*, 178: 249–258. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.006
- Jayaseelan C., Rahuman A.A., Kirthi A.V., Marimuthu S., Santhoshkumar T., Bagavan A., Gaurav K., Karthik L. and Rao K.B. 2012.** Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta (A)*, 90: 78–84. doi: 10.1016/j.saa.2012.01.006
- Kamli M.R., Malik M.A., Srivastava V., Sabir J.S., Mattar E.H. and Ahmad A. 2021.** Biogenic ZnO nanoparticles synthesized from *Origanum vulgare* abrogates quorum sensing and biofilm formation in opportunistic pathogen *Chromobacterium violaceum*. *Pharmaceutics*, 13(11): 1–24 (1743). doi: 10.3390/pharmaceutics13111743
- Ko S.H., Park I., Pan H., Grigoropoulos C.P., Pisano A.P., Luscombe C.K. and Frechet J.M. 2007.** Direct nanoimprinting of metal nanoparticles for nanoscale electronics fabrication. *Nano Letters*, 7(7): 1869–1877. doi: 10.1021/nl070333v
- Kokabi M., Yousefzadi M., Nejad Ebrahimi S. and Zarei M. 2017.** Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Seaweed aqueous extract and evaluation of antibacterial and ecotoxicological activity. *Journal of Persian Gulf*,

- 8(27): 61–72. doi: 10.29252/jpg.8.27.61
- Kumar V. and Yadav S.K. 2009.** Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology: International Research in Process, Environmental and Clean Technology*, 84(2): 151–157. doi: 10.1002/jctb.2023
- Ling D., Hackett M.J. and Hyeon T. 2014.** Surface ligands in synthesis, modification, assembly and biomedical applications of nanoparticles. *Nano Today*, 9(4): 457–477. doi: 10.1016/j.nantod.2014.06.005
- Matinise N., Fuku X., Kaviyarasu K., Mayedwa N. and Maaza M. 2017.** ZnO nanoparticles via *Moringa oleifera* green synthesis: Physical properties and mechanism of formation. *Applied Surface Science*, 406: 339–347. doi: 10.1016/j.apsusc.2017.01.219
- Mirzaei H. and Darroudi M. 2017.** Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics International*, 43(1): 907–914. doi: 10.1016/j.ceramint.2016.10.051
- Mohanpuria P., Rana N.K. and Yadav S.K. 2008.** Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10: 507–517. doi: 10.1007/s11051-007-9275-x
- Ogunyemi S.O., Abdallah Y., Zhang M., Fouad H., Hong X., Ibrahim E., Masum M.M.I., Hossain A., Mo J. and Li B. 2019.** Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using different plant extracts and their antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1): 341–352. doi: 10.1080/21691401.2018.1557671
- Pandimurugan R. and Thambidurai S. 2016.** Novel seaweed capped ZnO nanoparticles for effective dye photodegradation and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, 27(4): 1062–1072. doi: 10.1016/j.apt.2016.03.014
- Pantidos N. and Horsfall L.E. 2014.** Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 5(5): 1. doi: 10.4172/2157-7439.1000233
- Prathna T.C., Lazar M., Chandrasekaran N., Raichur A.M. and Mukherjee A. 2010.** Biomimetic synthesis of nanoparticles: Science, technology and applicability. P: 1–20. In: Mukherjee A. (Ed.). *Biomimetics Learning from Nature*. IntechOpen, UK. doi: 10.5772/198
- Sharma R.K. and Ghose R. 2015.** Synthesis of zinc oxide nanoparticles by homogeneous precipitation method and its

- application in antifungal activity against *Candida albicans*. *Ceramics International*, 41(1): 967–975. doi: 10.1016/j.ceramint.2014.09.016
- Sharmila G., Muthukumaran C., Sandiya K., Santhiya S., Pradeep R.S., Kumar N.M., Suriyanarayanan N. and Thirumarimurugan M. 2018.** Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles derived from *Bauhinia tomentosa* leaf extract. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8: 293–299. doi: 10.1007/s40097-018-0271-8
- Singh C.R., Kathiresan K. and Anandhan S. 2015.** A review on marine based nanoparticles and their potential applications. *African Journal of Biotechnology*, 14(18): 1525–1532. doi: 10.5897/AJB2015.14527
- Taha K., Modwi A., Khezami L. and Heikal M. 2018.** Simplistic one pot synthesis of ZnO via chelating with carboxylic acids. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 13(4): 1213–1222.
- Vennila S. and Jesurani S.S. 2017.** Eco-friendly green synthesis and characterization of stable ZnO nanoparticle using small gooseberry fruits extracts. *International Journal of ChemTech Research*, 10(3): 271–275.
- Vidya C., Hiremath S., Chandraprabha M., Antonyraj M., Gopal I.V., Jain A. and Bansal K. 2013.** Green synthesis of ZnO nanoparticles by *Calotropis gigantea*. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 1(1): 118–120.
- Vijayakumar S., Mahadevan S., Arulmozhi P., Sriram S. and Praseetha P. 2018.** Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 82: 39–45. doi: 10.1016/j.mssp.2018.03.017
- Yathisha R., Nayaka Y.A. and Vidyasagar C. 2016.** Microwave combustion synthesis of hexagonal prism shaped ZnO nanoparticles and effect of Cr on structural, optical and electrical properties of ZnO nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 181: 167–175. doi: 10.1016/j.matchemphys.2016.06.046
- Zirakjou S., Dekamin M.G., Valiey E. and Dohendou M. 2023.** Tannic acid-poly ethyleneimine magnetic nanoparticles: An efficient and recyclable catalyst for green synthesis of 2,3-dihydroquinazole derivatives. *Research Square, USA*. 24P. doi: 10.21203/rs.3.rs-2524709/v1



Research Paper

Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using brown algae *Sargassum ilicifolium* extract and evaluation of its antibacterial properties

Salim Jangizehi¹, Morteza Yousefzadi², Gilan Attaran Fariman³, Maarooof Zarei⁴,
Mohammad Sharif Ranjbar^{5*}

Accepted: November 2023 DOI:10.22124/japb.2023.25411.1510 Received: September 2023

Abstract

Green synthesis of nanoparticles has attracted a lot of attention due to economic and environmental benefits compared to common chemical synthesis methods. The aqueous extract of brown macroalgae *Sargassum ilicifolium* was used for the green synthesis of zinc oxide nanoparticles. Biosynthesized nanoparticles were identified by color change, UV-Vis spectroscopy, FT-IR, TEM, SEM and XRD. The results showed that the formed nanoparticles were spherical and crystalline with a size range between 15.1 to 27nm. Antibacterial activity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles was investigated by MIC and MBC method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria and the results showed that biosynthesized zinc oxide nanoparticles had a significant antibacterial effect against the tested bacteria. Finally, this study shows that the green synthesis of zinc nanoparticles from marine macroalgae can be an effective, sustainable and environmentally friendly method to produce zinc oxide nanoparticles with antibacterial properties.

Key words: *Green Synthesis, Zinc Oxide Nanoparticles, Antimicrobial Activity, Brown Algae, Sargassum ilicifolium.*

1- Ph.D. Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Professor in Department of Biology, Faculty Science and, University of Qom, Qom, Iran.

3- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

4- Associate Professor in Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

5- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: sharif.ranjbar@hormozgan.ac.ir

