



## Green synthesis of Copper and Copper (I) Oxide nanoparticles by the aqueous extract of *Laurus nobilis* L. and evaluation of their anti-microbial activities

Jamzad Mina<sup>1\*</sup>, Mirkhani Pantea Sadat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Dept. of Chemistry, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>M.Sc. Student, Dept. of Chemistry, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### ABSTRACT INFO

Research Paper

Received: 15 Jun 2023

Accepted: 02 Sep 2023

### ABSTRACT

In this project, we have synthesized copper and copper (I) oxide nanoparticles (NPs) by *Laurus nobilis* L. aqueous extract and using the precursors  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , and  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  respectively. The synthesized NPs were characterized using the techniques UV-Vis and FT-IR spectroscopy, X-ray diffraction analysis (XRD), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), and energy dispersive X-ray (EDAX). The absorption peaks at (803 and 577) nm in UV-Vis spectra, showed the formation of copper and copper oxide (I), respectively. The bands at 626 and 465  $\text{cm}^{-1}$  in the FT-IR spectra, corresponding to the Cu–O vibration, corroborated the formation of copper oxide NPs. XRD results confirmed the phases of  $\text{Cu}_2\text{O}$  and Cu (42.57 and 11.97) nm for the synthesized nano-crystallines, respectively. Electron microscopy images showed the particles to be nanoscale, with an average of 15 nm and almost spherical shapes aggregated like clusters. The antimicrobial assay showed that Cu-NPs had the highest inhibitory effect on *Aspergillus flavus* (15 mm) and *Streptococcus group A* (14 mm), while  $\text{Cu}_2\text{O}$ -NPs were more effective on *Klebsiella oxytoca* (20 mm). Moreover, the plant extract was only effective on the bacteria *Streptococcus group A* with a zone of growth inhibition of 11 mm.

**Key words:** Antimicrobial activity, Copper oxide nanoparticles, Electron Microscopy, *Laurus nobilis*, X-ray diffraction.

### How to cite this article:

Jamzad M, Mirkhani PS. 2023. Green synthesis of Copper and Copper (I) Oxide nanoparticles by the aqueous extract of *Laurus nobilis* L. and evaluation of their anti-microbial activities. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 61-76. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2023.18929.1019

©The Author(s).



Publisher: Imam Khomeini International University

ARMP is an open access journal under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)



## سنتز سبز نانوذرات مس و اکسید مس با استفاده از عصاره آبی گیاه برگ بو و بررسی اثر ضد میکروبی آنها

مینا جم زاد<sup>۱</sup>، پانته آسادات میرخانی<sup>۲</sup>

استادیار، گروه شیمی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران  
<sup>۲</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

اطلاعات مقاله	چکیده
علمی-پژوهشی	در این پژوهش از عصاره‌های آبی برگ و میوه گیاه برگ بو ( <i>Laurus nobilis</i> L.) به همراه نمک‌های نیترات و سولفات مس به ترتیب برای سنتز نانوذرات مس (Cu) و اکسید مس (CuO) استفاده شده است. از تکنیک‌های طیف‌سنجی ماورای بنفش- مرئی (UV-Vis)، مادون قرمز (FT-IR)، پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و طیف‌سنجی پراکندگی انرژی اشعه ایکس (EDAX) برای مشخصه‌یابی نانوذرات استفاده شد. جذب مشاهده شده در طول موج‌های ۸۰۳ و ۵۷۷ نانومتر در طیف UV-Vis به ترتیب نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات مس و اکسید مس (I) است و جذب‌های مشاهده شده در فرکانس‌های $626$ و $465$ $\text{cm}^{-1}$ در طیف FT-IR، تشکیل اکسید مس را تأیید کرد. نتایج XRD نشان دهنده تشکیل کریستال‌های مس و اکسید مس در اندازه‌های به ترتیب $1197$ و $4257$ نانومتر بود. در تصاویر میکروسکوپ‌های الکترونی، ساختار نانوذرات به شکل تقریباً کروی و با میانگین اندازه ۱۵ نانومتر و همراه با تجمع‌های خوشه‌ای شکل دیده شد. بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی نانو ذرات تشکیل شده نشان داد که نانوذرات مس بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری <i>Streptococcus group A (+)</i> و قارچ <i>Aspergillus flavus</i> دارد و نانوذرات اکسید مس در مهار رشد باکتری <i>Klebsilla oxytoca</i> (-) مؤثرتر بوده است.
دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۵	کلمات کلیدی: پراش اشعه ایکس، گیاه برگ بو، میکروسکوپ الکترونی، نانوذرات اکسید مس، ویژگی ضد میکروبی.
پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱	

استناد به این مقاله

Jamzad M, Mirkhani PS. 2023. Green synthesis of Copper and Copper (I) Oxide nanoparticles by the aqueous extract of *Laurus nobilis* L. and evaluation of their anti-microbial activities. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 61-76. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2023.18929.1019

حق مؤلف © نویسندگان  
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

## مقدمه

پژوهش‌های بسیاری در سال‌های اخیر در زمینه یافتن منابع جدید برای مبارزه با میکروب‌های بیماری‌زا انجام شده است. یافتن جایگزین مناسب برای داروهای ضد میکروبی که با استفاده از روش‌های دوست‌دار طبیعت سنتز شود با ارزش خواهد بود. مس (Cu) یکی از مهم‌ترین فلزهای واسطه است که مصارف متعددی در صنعت و داروسازی دارد. برای تولید نانوذرات فلزی، روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی وجود دارد که غالباً هزینه‌بر است و آسیب‌های جدی به محیط زیست وارد می‌کند؛ از این رو، دانشمندان این حوزه برای سنتز نانوذرات به شیمی سبز روی آورده‌اند. در این رویکرد از سیستم‌های بیولوژیکی از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و عصاره گیاهان و جلبک‌ها استفاده می‌شود (Ismail, 2020). استفاده از گیاهان به دلیل فراوانی، استفاده آسان و کم خطر بودن با استقبال بیشتری همراه بوده است (Fakhari et al., 2019; Ahmed et al., 2016). گزارش‌های متعددی در مورد سنتز نانوذرات مختلف از جمله نانوذرات فلزی و اکسیدهای فلزی با استفاده از عصاره گیاهان ارائه شده است که از این بین، نانوذرات نقره (Loo et al., 2021; Rodríguez-León, 2012; Sarkanganesh et al., 2021) آهن (Elia et al., 2014; Ahmed et al., 2016; et al., 2019) و مس (Desalegn et al., 2021; Ismail, 2020; et al., 2021) روی (Faisal et al., 2021; Jan et al., 2021; Fakhari et al., 2019) و مس (Desalegn et al., 2021; Ismail, 2020; et al., 2021) از اهمیت بیشتری برخوردار است. چند نمونه از گیاهان مورد استفاده در سنتز نانوذرات مس و اکسید مس عبارت است از:

میوه گیاه سماق (*Rhus coriaria*) (Ismail, 2020)، میوه درخت انار (*Punica granatum*) (Padma et al., 2018)، میوه درخت کنار (*Ziziphus spina*) (Khani et al., 2018)، گیاه مارچوبه (*Asparagus adscendens*) (Thakur et al., 2018)، میوه درخت جمبو (*Syzygium alternifolium*) (Yagandhar et al., 2021; Desalegn et al., 2017) و برگ گیاه خرزهره (*Nerium oleander*) (Devika et al., 2019).

نانو مواد فلزی و اکسید فلزی به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی برخاسته از اندازه بسیار ریز و سطح مؤثر وسیع آنها از حالت توده (Bulk) متمایز است (Ameen et al., 2021). نسبت سطح به حجم بالا این امکان را برای نانو ذرات فراهم می‌کند تا مستقیماً با غشاء میکروبی در تماس باشد

و طی فرایند آزادسازی یون فلزی، غشاء میکروبی را تخریب کند (Ermini et al., 2021; Faundez et al., 2004; Perelshtein et al., 2009). ویژگی ضد میکروبی فلزهای طلا (Au)، نقره (Ag) و مس (Cu) از زمان‌های قدیم مورد توجه بوده است. با توجه به گران قیمت بودن طلا و نقره، نانوذرات مس به دلیل داشتن ویژگی ضد قارچ و ضد باکتری می‌تواند جایگزین مناسبی در این زمینه باشد (Ramiyadevi et al., 2012). از این نانوذرات می‌توان در تهیه الیاف و منسوجات پزشکی از قبیل گاز استریل، لباس‌های مورد استفاده در بخش‌های در معرض آلودگی، نخ بخیه و... استفاده کرد (Li et al., 2018; Barroso et al., 2020). در بین نانو ذرات زیست فعال، مس نقش پیچیده‌ای در سلول‌های مختلف ایفا می‌کند و اساساً در تمام مراحل فرایند بهبود زخم نقش دارد (Kornblatt et al., 2016)؛ از این رو نانوذرات مس در درمان زخم‌های مزمن کاربرد گسترده‌ای یافته است (Salvo & Sandoval, 2022; Zarrintaj et al., 2018). از کاربردهای صنعتی این نانوذرات می‌توان به استفاده در سیستم‌های انتقال حرارت به عنوان سنسور و کاتالیزور اشاره کرد (Luo et al., 2006; Zen et al., 2004). هنگامی که مس در برابر هوای آزاد قرار بگیرد، اکسید می‌شود. اکسید مس به دو فرم  $Cu_2O$  و  $CuO$  وجود دارد که به ترتیب به رنگ‌های آجری و سیاه دیده می‌شوند. اکسید مس یک محافظ است و از خوردگی لایه‌های زیرین فلز جلوگیری می‌کند. این فلز پس از آهن و آلومینیوم، بیشترین کاربرد صنعتی را دارد.

برگ بو یا غار (*Laurus nobilis* L.) که با نام‌های Bay و Laurel نیز شناخته می‌شود، گیاهی زینتی و دارویی از خانواده Lauraceae دارای برگ‌های همیشه سبز است که اصل آن از منطقه مدیترانه است و در ایران نیز در شمال کشور، تهران و دیگر نواحی معتدل رویش دارد. این گیاه به صورت درخت و درختچه است و ارتفاع آن به ۵ تا ۲۰ متر می‌رسد. میوه ارغوانی رنگ آن به صورت سته، و تقریباً کروی به قطر حدود ۱ سانتی‌متر است. روغن سبزرنگ و معطر به نام لوریه از گوشت میوه آن استخراج می‌شود که ویژگی‌های درمانی متعددی دارد؛ از جمله درمان آکنه، زخم‌ها و مشکلات پوستی (Zargari, 1991) و وجود ترکیبات طبیعی متنوع، ویتامین‌ها و مواد معدنی، این گیاه را به عنوان آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده مناسب در مواد غذایی و محصولات آرایشی و بهداشتی مطرح کرده است (Bahrami et al., 2019; Vasundhara et al., 2016; Ramos et al., 2012; Zolfaghari et al., 2013).

شد. عصاره‌های حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر، و در دستگاه سانتریفوژ قرار داده شد تا باقیمانده ذرات گیاه و ناخالصی‌ها از عصاره جدا، و برای سنتر نانوذرات استفاده شود.

#### سنتر نانو ذرات

برای سنتر نانوذرات اکسید مس ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) از روشی استفاده شد که قبلاً گزارش شده بود (Behara&Giri, 2014). در یک بشر ۲۵۰ mL، ۱۰۰ mL محلول سولفات مس ۰٫۱ M ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 99%, Merck Co.) با ۲۵ mL عصاره میوه برگ بو مخلوط، و ۵ دقیقه با همزن مغناطیسی (۷۰۰ rpm) همزده شد؛ سپس محلول IM (NaOH, Merck) را با قطره چکان همراه با همزدن و به تدریج به محلول اضافه شد تا زمانی که pH آن به ۱۱ رسید. مخلوط واکنش به مدت ۲ ساعت همزده شد تا رسوب آجری رنگ (نانوذرات اکسید مس) تشکیل شود (شکل ۱). رسوب آجری رنگ چندین بار با آب مقطر و اتانول شستشو داده شد تا ناخالصی‌ها خارج شود؛ سپس در آن به مدت ۲۴ ساعت و دمای  $80^\circ\text{C}$  قرار داده شد تا خشک شود. برای تهیه نانوذرات با استفاده از نیترات مس ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , Merck Co.) و عصاره میوه برگ بو این روش به نتیجه نرسید؛ بنابراین عصاره برگ گیاه استفاده شد. این روش در این سنتر مطابق روش قبلی با تغییرات جزئی انجام شد (Khani et al., 2018). به این منظور، بشر حاوی ۵۰ mL از محلول ۰٫۰۵ M نیترات مس بر روی دستگاه همزن مغناطیسی قرار داده شد و به تدریج ۲۰ mL از عصاره برگ گیاه برگ بو به محتویات آن اضافه، و به مدت ۲ ساعت همزده شد. تغییر رنگ محلول به رنگ سبز تیره نشان دهنده واکنش و تشکیل نانوذرات مس بود (شکل ۱). رسوب حاصل چندین بار با آب مقطر و اتانول شستشو داده شد و در آن در دمای  $80^\circ\text{C}$  به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا خشک شود.

#### شناسائی و مشخصه‌یابی نانوذرات سنتر شده

نانوذرات سنتر شده با استفاده از تکنیک‌های مختلف شناسایی و ارزیابی شدند. به این منظور، حجم کوچکی از سوسپانسیون حاصل در انتهای واکنش سنتر نانوذرات در هر مورد را در دستگاه اولتراسونیک مدل S15H ساخت کشور آلمان با دور (rpm) ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده، و میزان جذب آنها در محدوده طول موج (۲۰۰-۸۰۰) nm توسط دستگاه ماورای بنفش-مرئی دو پرتوی مدل (Shibadzu UV-1800, Japan)

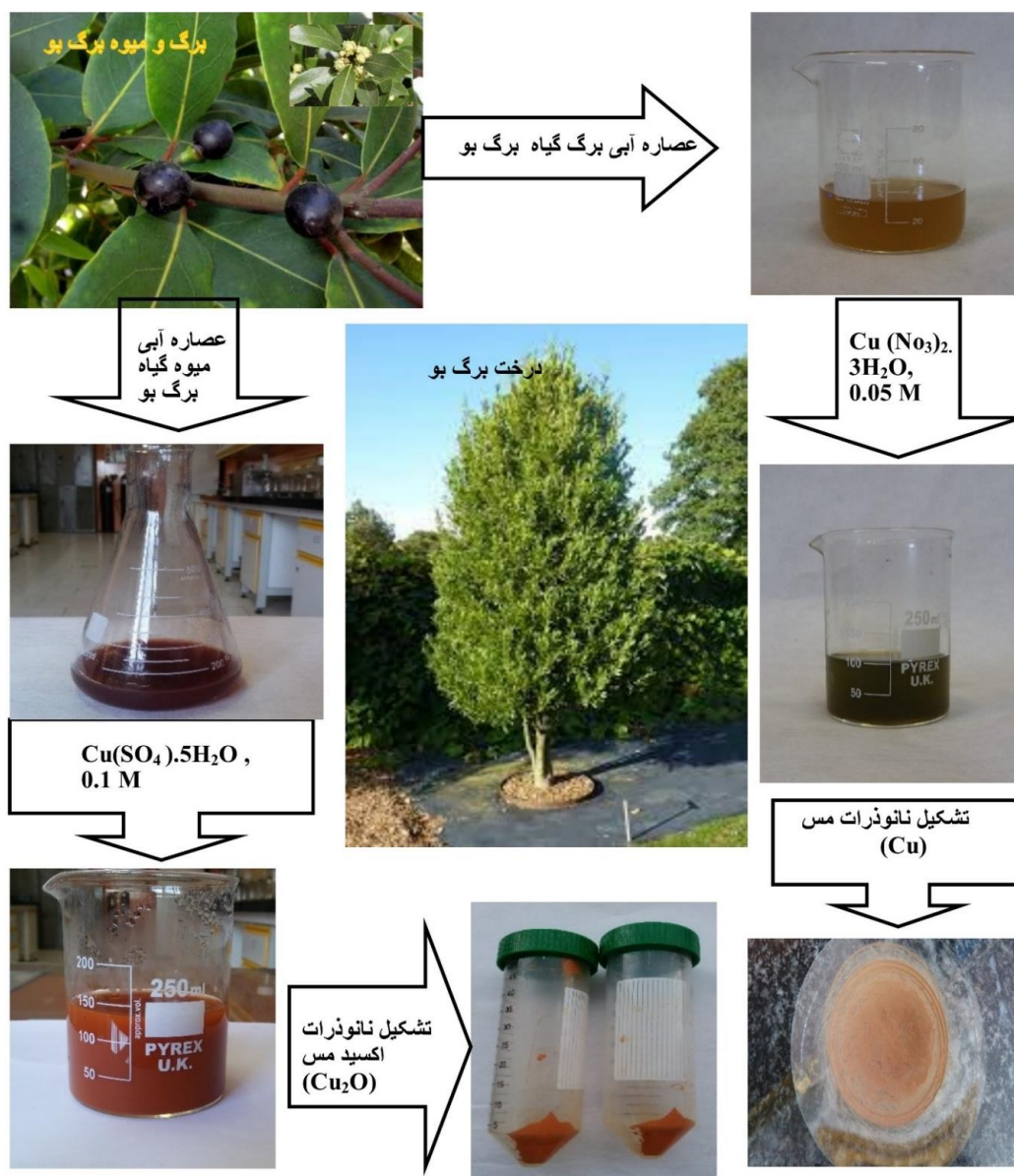
امروزه در برخی از برندهای تهیه محصولات آرایشی و بهداشتی که بر پایه ترکیبات طبیعی است از اسانس و عصاره گیاه برگ بو استفاده می‌شود. میوه برگ بو حاوی ۳۰٪ اسیدهای چرب و ۱٪ اسانس است در حالی که میزان اسانس در برگ حدود ۱٫۳٪ درصد گزارش شده است (Pedramnia et al., 2018). اسانس برگ گیاه بیشتر شامل مونوترپن‌ها است و اوکالیپتول (Eucalyptol) یا ۱،۸-سینئول (1,8-Cineole) بیشترین میزان یعنی حدود ۳۱٫۹٪ از ترکیب اسانس برگ گیاه برگ بو را تشکیل می‌دهد (Caputo et al., 2017). ویژگی ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدقارچ برای این گیاه گزارش شده است (Yilmaz et al., 2013; Petkova, et al., 2019). در طب سنتی از عصاره این گیاه برای درمان رماتیسم، نورالژیا و بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود (de Silveira et al., 2014; Ramos et al., 2012). در تحقیقات اخیر، عصاره برگ گیاه برگ بو از نظر کاهش سطح گلوکز خون، بهبود عملکرد پانکراس و متعادل‌سازی آنزیم‌ها به صورت درون-تن (*In-vivo*) در موش آزمایشگاهی بررسی، و تأیید شده است (Mohammed et al., 2021; Marza Hamza et al., 2021; Shnewer Mahdi Al-Turfi, et al.2022).

هدف از این پژوهش، بررسی امکان سنتر نانوذرات مس و اکسید مس (I) با استفاده از عصاره آبی برگ بو و میوه گیاه برگ بو و تأثیر نوع نمک مس به کار رفته در تشکیل نوع این نانوذرات بوده است. ارزیابی ویژگی ضد میکروبی نانوذرات به دست آمده بر روی برخی از میکروب‌ها نیز از دیگر اهداف این مطالعه بوده است. لازم به ذکر است که سنتر نانوذرات اکسید مس (I) با استفاده از عصاره گیاه برگ بو برای اولین بار در این پروژه انجام شده، و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره و نانوذرات مس بر روی برخی از میکروب‌های مورد بررسی در این پژوهش قبلاً گزارش نشده است.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی

برگ و میوه کاملاً رسیده و ارغوانی رنگ گیاه برگ بو از منطقه ساحلی شهر رودسر در استان گیلان در خرداد ۱۳۹۹ جمع آوری، و پس از شست و شوی کامل با آب دیونیزه در شرایط سایه خشک، و به قطعات کوچک تقسیم شد؛ سپس ۲۰ g از میوه و ۲۰ g برگ گیاه برگ بو جداگانه در ۲۰۰ mL آب دیونیزه خیسانده، و ۱۰ دقیقه در دمای  $70^\circ\text{C}$  حرارت داده



شکل ۱- مراحل سنتز نانوذرات مس (Cu) و اکسید مس ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) به ترتیب با استفاده از عصاره آبی برگ و میوه گیاه برگ بو (*Laurus nobilis* L.)

بررسی شد. مورفولوژی و اندازه نانوذرات با استفاده از دستگاه‌های میکروسکوپ الکترونی پیمایشی (SEM) مدل (TESCAN, MIRA) ساخت کشور چک و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل (EM10C-100KV, Zeiss) ساخت کشور آلمان بررسی شد. به این منظور، چند قطره از سوسپانسیون به دست آمده در پایان واکنش سنتز نانوذرات بر روی یک شبکه مسی پوشانده شده با کربن، چکانده، و زیر نور لامپ جیوه خشک شد. فیلم نازکی که به این ترتیب ایجاد شد برای به دست آوردن تصاویر میکروسکوپ الکترونی مورد

ساخت کشور ژاپن خوانده شد. برای عصاره‌های حاصل از میوه و برگ گیاه برگ بو نیز پس از رقیق سازی، طیف جذبی رسم گردید.

طیف جذبی مادون قرمز هر یک از نانوذرات سنتز شده و عصاره‌های تغلیظ و خشک شده به روش قرص KBr (به نسبت ۱ به ۱۰۰) توسط دستگاه FT-IR (مدل Perkin Elmer Spectrum 100) ساخت کشور آمریکا به دست آمد.

ساختار کریستالی هر یک از نانوذرات در دستگاه پراش اشعه ایکس مدل (PW1730, Philips) ساخت کشور هلند

استفاده قرار گرفت.

### بررسی ویژگی ضد میکروبی

عصاره‌های آبی به دست آمده از میوه و برگ گیاه برگ بو، همچنین نانوذرات به دست آمده در مراحل قبل از نظر ویژگی ضدباکتری و ضدقارچ بررسی شد (Baurer et al., 1966). به این منظور ۶ گونه باکتری شامل ۲ گونه باکتری گرم مثبت *Bacillus cereus* Stereoptococos group A و ۳ گونه باکتری گرم منفی *Klebsilla Pesudomnas aeruginosa*, *Salmonella typhi* و *Oxytoca* و همچنین ۲ گونه قارچ *Candida albicans* و *Aspergillus flavus* که از شرکت هیمیدیا (Himedia Co, India) خریداری شده بود، انتخاب شد و اثر عصاره‌ها و نانوذرات بر روی آن‌ها به روش چاهک بررسی شد. همچنین از آنتی بیوتیک‌های نیستاتین، جنتامایسین، پنسیلین و کلرامفنیکل که همگی از شرکت "پادتن طب" (ایران) خریداری شده بود به عنوان آنتی بیوتیک مرجع استفاده شد. نوع محیط کشت برای باکتری‌ها محیط کشت "مولر هینتون آگار" (Muller Hinton Agar) و برای قارچ‌ها "سابورود دکستروز آگار" (Sabouraud Dextrose Agar) بود. تراکم یا غلظت باکتری استفاده شده بر اساس نیم مک فارلند بود که تقریباً برابر  $1,5 \times 10^8$  cfu/mL است.

### طرز تهیه لوله شاهد ۰/۵ مک فارلند

مقدار ۰/۵ mL کلرید باریم ۱/۱۷۵٪ با ۹۹/۵ mL اسید سولفوریک ۱٪ ترکیب، و جذب این محلول با اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۲۰ nm خوانده شد و مقدار جذب ۰/۱۱ به دست آمد (این محلول در دستگاه اتوکلاو استریل شده بود؛ بنابراین کدورتی که این محلول ایجاد می‌کند با  $1,5 \times 10^8$  cfu/mL برابر است)؛ سپس سوسپانسیون از باکتری مورد نظر را در سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ استریل برابر با لوله شاهد ۰/۵ مک فارلند، که از قبل آماده شده بود، تهیه، و در طول موج ۶۲۰ nm جذب سوسپانسیون خوانده شد.

### محاسبه قطر هاله عدم رشد

در این مرحله باکتری‌ها و قارچ‌های مورد نظر را با سوآپ استریل بر روی محیط‌های کشت، کشت داده شد؛ پس از آن، ۹ mg از هر یک از نانوذرات سنتز شده به شکل جامد و ۵۰ µL از عصاره‌های آبی برگ و میوه گیاه برگ بو را در داخل چاهک‌هایی به قطر ۶/۴ mm (ایجاد شده به وسیله پیپت پاستور) ریخته، و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C برای باکتری‌ها و دمای ۲۵ °C برای قارچ‌ها در محیط تاریک در دستگاه انکوباتور ساده آزمایشگاهی

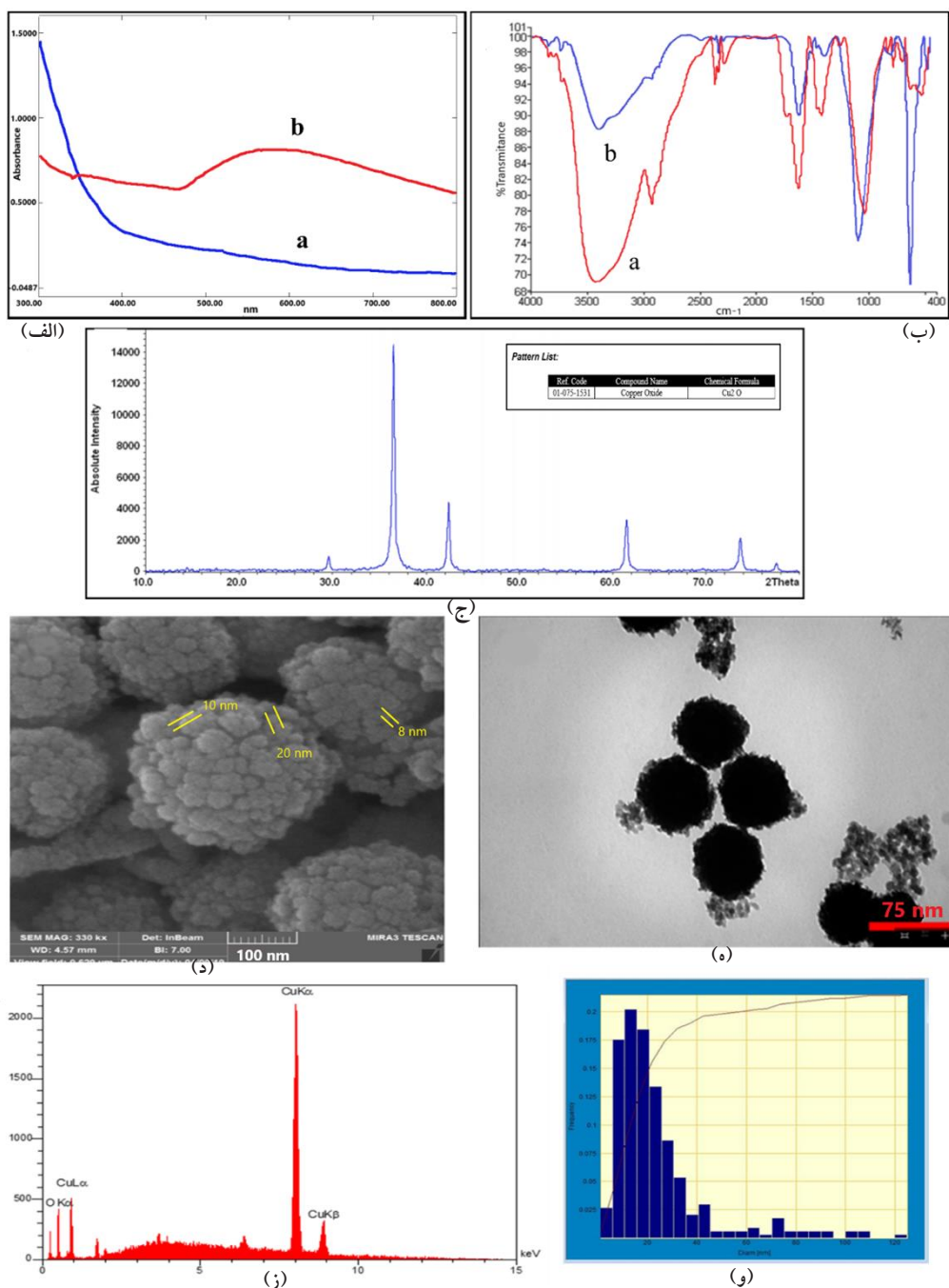
(FAMCO, Iran) انکوبه شد. در مواردی که هاله عدم رشد مشاهده شد، قطر هاله عدم رشد با خط‌کش آنتی بیوگرام اندازه‌گیری شد. در هر مورد از آنتی بیوتیک‌های مرجع به عنوان کنترل مثبت استفاده، و به این منظور از دیسک‌های حاوی ۱۰۰ µg از آنتی بیوتیک استفاده شد. هر آزمایش در دو تکرار انجام شد و میانگین به عنوان نتیجه گزارش گردید.

### نتایج و بحث

نانوذرات مس و اکسید مس سنتز شده به کمک عصاره آبی گیاه برگ بو با استفاده از تکنیک‌های مختلف شناسایی و مشخصه‌یابی شد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده شد، عصاره آبی میوه گیاه برگ بو در واکنش با سولفات مس تغییر رنگ داده، و به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز تغییر یافته است. همچنین عصاره آبی برگ گیاه برگ بو در واکنش با نیترات مس به رنگ سبز تیره تغییر یافته است. این تغییر رنگ‌ها نشان دهنده واکنش و تشکیل نانوذرات است (Kritiga et al., 2013).

طیف جذبی ماورای بنفش مرئی نانوذرات اکسید مس سنتز شده با استفاده از سولفات مس و عصاره آبی میوه گیاه برگ بو در طول موج ۵۷۷ nm مشاهده می‌شود (شکل ۲-الف). این پیک جذبی، نشان دهنده تشکیل نانوذرات اکسید مس ( $Cu_2O$ ) است (Sawant et al., 2016). همچنین پیک جذبی مشاهده شده در طول موج ۸۰۳ nm مربوط به نانوذرات مس (Cu) سنتز شده با استفاده از نیترات مس و عصاره آبی برگ گیاه برگ بو است (شکل ۳-الف). همانطور که در این تصاویر دیده می‌شود، عصاره برگ و میوه در آن محدوده، طول موج جذب نداشته‌اند. طیف جذبی نانوذرات تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از جمله اندازه ذرات، شکل ذرات و برهمکنش آنها (آگلومریزاسیون یا کلوخه‌ای شدن) است. ویژگی نوری نانوذرات فلزی به شدت تحت تأثیر نوسانات الکترونی نوار رسانش این نانوذرات، که پلاسمون سطحی نامیده می‌شود، قرار دارد. طیف جذبی مشاهده شده در این طول موج‌ها به این رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات مربوط است در صورتی که در نمونه‌های توده‌ای (Bulk) این نوسانات الکترونی وجود ندارد (Amendola et al., 2017).

طیف مادون قرمز مربوط به نانوذرات سنتز شده با استفاده از سولفات مس و عصاره آبی برگ بو در شکل ۲-الف نشان داده شده است. همانطور که از مقایسه این طیف با طیف مربوط به عصاره گیاه برگ بو قبل از انجام واکنش دیده می‌شود و به دلیل تشابه



شکل ۲- مشخصات طیفی نانوذرات اکسید مس ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) سنتز شده با استفاده از سولفات مس و عصاره آبی میوه گیاه برگ بو؛ الف) طیف ماورای بنفش - مرئی مربوط به a) عصاره میوه برگ بو، b) (سوسپانسیون عصاره/ نانوذرات  $\text{Cu}_2\text{O}$ )، ب) طیف مادون قرمز مربوط به a) عصاره میوه برگ بو، b) (نانوذرات  $\text{Cu}_2\text{O}$ )، ج) الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نانوذرات  $\text{Cu}_2\text{O}$ ، د) تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی پیمایشی، ه) تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری، ز) طیف پراکندگی انرژی پرتو ایکس (EDAX)، و) منحنی توزیع نرمال اندازه نانوذرات

(2014) که البته این جذب در طیف مربوط به عصاره تنها دیده نمی‌شود. همچنین در محدوده  $3400 \text{ cm}^{-1}$  پیک پهنی که به فرکانس کششی O-H در الکل‌ها و فنل‌ها مربوط است مشاهده

در برخی فرکانس‌ها وجود مقداری از عصاره در اطراف نانوذرات تأیید می‌شود. پیک‌های مشاهده شده در طول موج‌های  $479 \text{ cm}^{-1}$  و  $629 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی Cu-O است (Behara, Giri,

تشکیل شده را می‌توان با استفاده از بلندترین پیک در طیف XRD تخمین زد. به این منظور، رابطه دبی- شرر (Debye-Scherer) به کار برده می‌شود (معادله ۱) (Barrett, Massalski, 1966). این رابطه، وابستگی اندازه نانوذرات به گستردگی و پهن شدن خطوط پراش را به این صورت نشان می‌دهد.

$$D = k\lambda / \beta \cos \theta \quad (1)$$

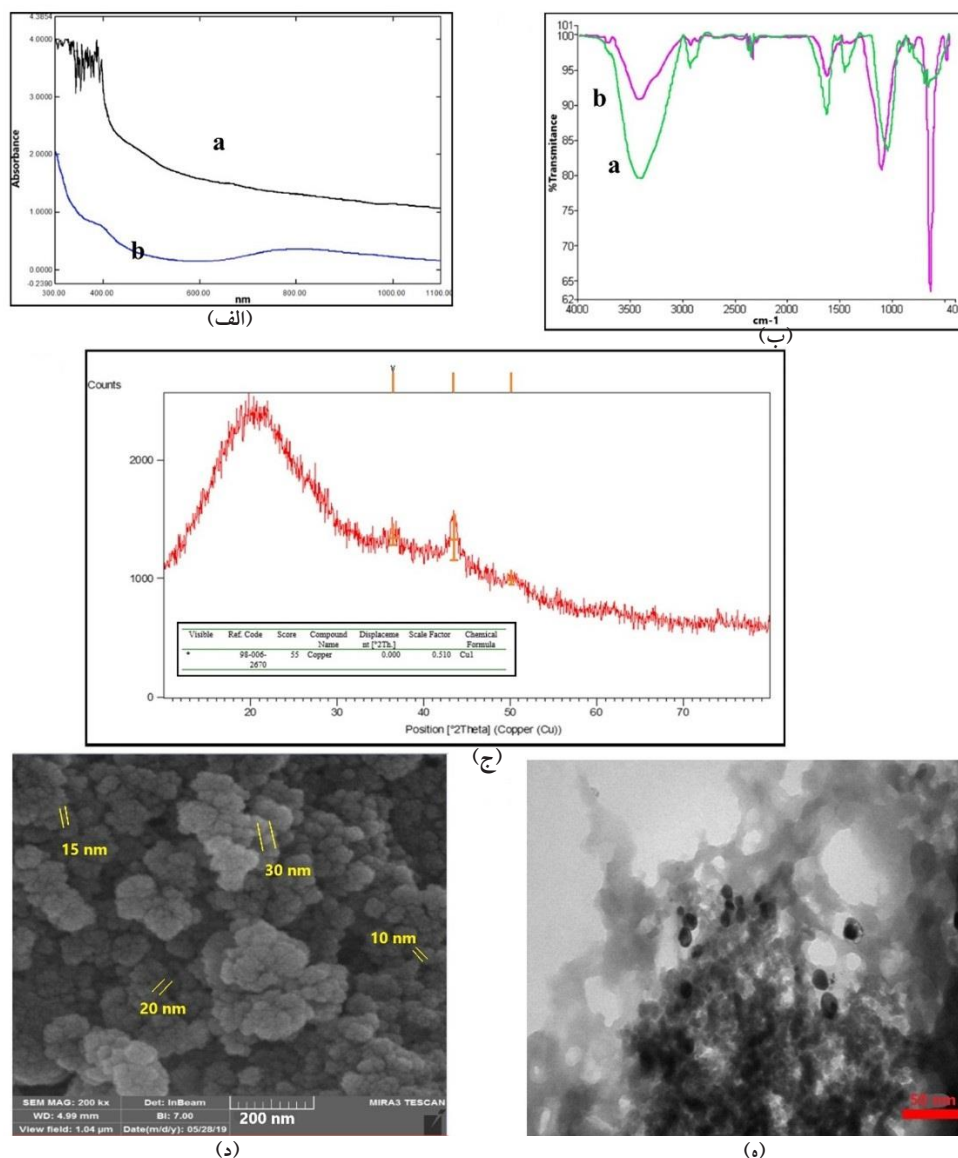
در این معادله،  $D$  اندازه ذرات برحسب نانومتر،  $K$  ثابت شرر که برابر با  $0.94$ ،  $\lambda$  طول موج اشعه ایکس به کار رفته  $\text{CuK}_\alpha$  که برابر با  $0.154 \text{ nm}$  است. همچنین  $\theta$  زاویه پراش بر حسب واحد درجه و  $\beta$  پهنای پیک ماکسیمم در نیمه ارتفاع (FWHM) آن است که برحسب واحد رادیان است. با استفاده از این رابطه، اندازه کریستال‌های مس و اکسید مس به ترتیب  $11.97 \text{ nm}$  و  $42.57$  محاسبه شد.

در شکل‌های ۲-د و ۲-ه تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ‌های الکترونی روبشی و عبوری نمایش داده شده است. با توجه به این تصاویر ملاحظه می‌شود که نانوذرات سنتز شده اکسید مس با استفاده از پیش‌ماده سولفات مس و عصاره آبی میوه گیاه برگ بو ساختار تقریباً کروی دارد و به صورت خوشه‌های کروی یکسان مجتمع شده است. همچنین نانوذرات مس سنتز شده با استفاده از پیش‌ماده نترات مس و عصاره آبی برگ گیاه برگ بو ساختار تقریباً کروی دارد و کمتر تجمع یافته است (شکل‌های ۳-د و ۳-ه). میکروسکوپ‌های الکترونی روبشی و عبوری از مناسب‌ترین وسایل در دسترس برای آنالیز مورفولوژی و اندازه نانو ساختارها است. در پژوهش‌های قبلی در این زمینه نیز اغلب از این تکنیک استفاده شده، و ساختار کروی برای نانوذرات مس و اکسید مس گزارش شده است (Khani *et al.*, 2018; Devika *et al.*, 2019). با توجه به تصاویر SEM (شکل‌های ۲-د و ۳-د) مشاهده می‌شود که نانوذرات اکسید مس و مس در مقیاس نانو است و اگر چه حالت مجتمع دارد، میانگین اندازه ذرات در حدود  $15 \text{ nm}$  است. همچنین از تصاویر TEM نانوذرات (شکل‌های ۲-ه و ۳-ه) با توجه به مقیاس داده شده در تصاویر، می‌توان مشاهده کرد که نانوذرات مس و اکسید مس از نظر اندازه تقریباً مشاب هستند؛ اما نانوذرات اکسید مس تجمع بیشتری دارد و به صورت خوشه‌های یک شکل مجتمع شده، و اندازه خوشه‌ها در حدود  $50 \text{ nm}$  است. با استفاده از معادله دبی-شرر در تکنیک XRD، اندازه کریستال‌های اکسید مس  $42.57 \text{ nm}$  محاسبه شد که می‌تواند نشان دهنده حالت

می‌شود. در طیف مربوط به عصاره تنها، این پیک قوی است؛ اما در طیف نانوذرات این پیک ضعیف شده است که می‌تواند به این معنی باشد که شدت سیگنال مربوط به گروه‌های هیدروکسی (OH) عصاره به دلیل اکسید شدن، کاهش یافته است (Rajathi *et al.*, 2012; Behara and Giri, 2014). در فرکانس حدود  $1600 \text{ cm}^{-1}$  پیک‌های مربوط به حرکات کششی C=C حلقه آروماتیک و در فرکانس حدود  $1700 \text{ cm}^{-1}$  علائم مربوط به حرکات کششی C=O نشان دهنده ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در عصاره گیاه است (Siriken *et al.*, 2018). همانطور که در شکل ۲-ب مشاهده می‌شود، شدت این سیگنال‌ها کاهش یافته، و از نظر موقعیت، اندکی جابجا شده است. این فرایند را می‌توان بر اساس تئوری اسید و باز سخت و نرم (HSAB) توضیح داد. بر اساس این نظریه، گروه OH یک لیگاند سخت و گروه C=O یک لیگاند نرم است. لیگاندهای سخت به کاهش یون‌های فلزی تمایل، و لیگاندهای نرم به کوئوردینه شدن و تشکیل کمپلکس با فلز تمایل دارد؛ بنابراین می‌توان اینطور در نظر گرفت که بیومولکول‌های دارای عامل OH باعث کاهش یون‌های فلزی محلول، و بیومولکول‌های دارای گروه C=O در اطراف نانوذرات قرار گرفته است و باعث پایداری الکتروستاتیکی آنها می‌شود. در طیف مادون قرمز مربوط به نانوذرات مس، که با استفاده از نیرات مس سنتز شده است، نتایج تقریباً مشابهی دیده می‌شود (شکل ۳-ب).

در شکل‌های ۲-ج و ۳-ج به ترتیب، الگوهای پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید مس و نانوذرات مس سنتز شده با استفاده از عصاره آبی میوه و برگ گیاه برگ بو نشان داده شده است. در طیف‌های حاصل از نانوذرات اکسید مس به دست آمده، (شکل ۲-ج) علائم مشاهده شده در  $2\theta$  های  $(29.62, 36.49, 42.40, 61.55, 70.73)$  به ترتیب به سطوح کریستالی  $(110, 111, 200, 220, 311)$  مربوط است. این الگوی XRD با ساختار کریستالی  $\text{Cu}_2\text{O}$  همخوانی دارد (کد رفرانس  $1531-075-01$ ) (Kooti and Matouri, 2010; Srivata *et al.*, 2013) همچنین در طیف این نانوذرات مس (شکل ۳-ج) علائم مشاهده شده در  $2\theta$  های  $(36.34, 43.47, 50.17)$  به ترتیب به سطوح کریستالی  $(011, 111, 200)$  مربوط است (کد رفرانس  $98-006-2670$ ) (Sawant *et al.*, 2016; Jamzad *et al.*, 2022) که همگی با توجه به ساختار مرجع ثبت شده در نرم افزار دستگاه ارائه دهنده طیف‌های XRD، ساختار کریستالی به ترتیب نانوذرات اکسید مس و نانو ذرات مس را تأیید می‌کند. اندازه کریستال‌های





شکل ۳- مشخصات طیفی نانوذرات مس (Cu) سنتز شده با استفاده از نیترات مس و عصاره آبی برگ گیاه برگ بو: الف) طیف ماورای بنفش- مرئی مربوط به a) عصاره برگ گیاه برگ بو، b) (سوسپانسیون عصاره/ نانوذرات Cu)، ب) طیف مادون قرمز مربوط به a) عصاره برگ گیاه برگ بو، b) (نانوذرات Cu)، ج) الگوی پراش اشعه ایکس (XRD)، د) تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی پیمایشی، ه) تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری

دارد (شکل ۲-ز). درصد وزنی مس در نانوذرات  $\text{Cu}_2\text{O}$  به میزان ۹۱٫۵۷٪ و درصد وزنی اکسیژن ۸٫۴۳٪ به دست آمد که در مقایسه با درصد وزنی واقعی این دو عنصر در ساختار  $\text{Cu}_2\text{O}$ ، که شامل ۸۸٫۸۱٪ مس و ۱۱٫۱۸٪ اکسیژن است، نتیجه خوبی است. نتایج ویژگی ضدباکتری و ضدقارچ عصاره آبی برگ و میوه گیاه برگ بو و نانوذرات مس و اکسید مس سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه برگ بو در جدول ۱ و شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به این نتایج، میزان مهار رشد باکتری‌ها و قارچ‌های

مجتمع و خوشه‌ای نانوذرات اکسید مس باشد. از طرفی در منحنی توزیع نرمال اندازه ذرات اکسید مس (شکل ۲-ز)، مشاهده می‌شود که بیشترین فراوانی به نانوذرات با اندازه‌های ۲۵-۵) nm مربوط است که میانگین اندازه نانوذرات در حدود ۱۵ nm را، که در تصاویر SEM مشاهده شد، تأیید می‌کند. همچنین، تجزیه و تحلیل و آنالیز ساختاری نانوذرات  $\text{Cu}_2\text{O}$  به کمک تکنیک EDAX نشان داد که درصد وزنی عناصر مس و اکسیژن با مقدار آن در فرمول مولکولی  $\text{Cu}_2\text{O}$  مطابقت خوبی

(al., 2021) به علاوه گزارش شده است که اسانس برگ گیاه برگ بو با راندمان بیشتری در مقایسه با اسانس میوه و ساقه گیاه به دست می‌آید و عملکرد بهتری در مقابله با میکروارگانیسم‌ها دارد (Fidan et al., 2019). در گزارش دیگری در این زمینه نشان داده شده است که اسانس گیاه برگ بو در مهار رشد باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت عملکرد بهتری دارد (Dorman and Deans, 2000). این نتیجه می‌تواند به دلیل طبیعت ساختاری غشای سلولی این باکتری‌ها باشد؛ به عبارت دیگر غشای سلولی باکتری‌های گرم منفی، ماهیت چربی‌دوستی دارد. ویژگی آنتی باکتریال یک ماده، بستگی به ساختار شیمیایی آن ماده از نظر نوع و قدرت گروه‌های عاملی و ویژگی چربی‌دوستی آن دارد (Ouibrahim et al., 2013).

علاوه بر تحقیقاتی که بر روی اسانس برگ بو از نظر ویژگی ضد میکروبی انجام شده است، عصاره این گیاه نیز از این نظر مورد مطالعه قرار گرفته است. در این مطالعات گزارش شده است که عصاره‌های الکلی یا هیدروالکلی نتایج بهتری در مقایسه با عصاره‌های آبی داشته است که این می‌تواند به این دلیل باشد که با استفاده از عصاره‌های الکلی، درصد بالاتری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را می‌توان استخراج کرد (Sheet, Al-Azawi, 2020; Dobroslavic et al., 2021; Devika et al., 2019). به علاوه، گزارش شده است که غلظت عصاره، نقش بسزایی در مهار رشد میکروارگانیسم‌ها دارد و در مواردی که عصاره‌ها تغلیظ شده است اثر مهار بهتری بر رشد میکروارگانیسم‌ها

مورد بررسی با استفاده از نانوذرات سنتز شده در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های استاندارد، قابل توجه بوده است. نانوذرات مس و اکسید مس فعالیت خوبی در مهار رشد باکتری‌های *K. oxytoca*، *St. group A* و *S. typhi* از خود نشان داد؛ اما هیچ یک از دو نانوذره توانایی مهار رشد باکتری *P. aeruginosa* را نداشت و اثر بازدارندگی خوبی بر قارچ‌های *C. albicans* و *A. flavis* داشت. در مقایسه دو نوع نانوذره تشکیل شده، نانوذرات مس اثر بازدارندگی قوی‌تری بر باکتری *St. group A* (قطر مهار رشد 14 mm) و قارچ *A. flavis* (قطر مهار رشد 15 mm) نشان داد در حالی که نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری *K. oxytoca* (قطر مهار رشد 20 mm) مؤثرتر بود. در ضمن عصاره آبی میوه گیاه برگ بو، تنها بر روی باکتری *St. group A* (قطر مهار رشد 11 mm)، و البته به مقداری کمتر از نانوذرات مورد بررسی اثر بازدارندگی از خود نشان داد در حالی که عصاره آبی برگ گیاه برگ بو بر روی هیچ یک از این میکروارگانیسم‌ها اثری نداشت. بررسی تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که در بیشتر موارد، اسانس گیاه برگ بو اثر مهارکنندگی بسیار خوبی در مقابل برخی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نشان داده است. از آنجا که اسانس‌ها محتوی ترکیبات هیدروکربنی و ترپنی است و ماهیت روغنی دارد و غشای باکتری هم آبگریز و چربی‌دوست است، امکان نفوذ اسانس و تخریب غشای باکتری وجود دارد. به همین دلیل می‌توان تأثیر بسزای اسانس گیاهان در مقابله با رشد میکروارگانیسم‌ها را قابل توجه دانست (Mohammed et

جدول ۱- ویژگی ضدباکتری و ضدقارچ عصاره آبی برگ بو و میوه گیاه برگ بو و نانوذرات مس و اکسید مس سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه برگ بو

ناحیه مهار رشد (mm)										میکروارگانیسم‌ها
Ch	G	P	N	D	C	B	A	ATCC	PTCC	Gram (+/-)
x	۳۱	x	x	-	-	۱۱	-	۲۱۷۶۸	-	<i>B. cereus</i> (+)
x	۳۴	x	x	-	-	۲۰	۱۰	۱۳۱۸۲	-	<i>K. oxytoca</i> (-)
x	x	۲۵	x	-	-	-	-	۱۰۱۴۵	-	<i>P. aeruginosa</i> (-)
۳۰	x	x	x	-	-	۱۲	۱۰	-	۱۶۰۹	<i>S. typhi</i> (-)
x	x	۱۸	x	-	۱۱	۱۲	۱۴	۱۹۶۵	-	<i>St. group A</i> (+)
x	x	x	۲۹	-	-	۱۴	۱۳	-	۵۰۲۷	<i>C. albicans</i>
x	x	x	۲۰	-	-	۱۲	۱۵	-	۵۰۰۹	<i>A. flavus</i>

PTCC: Persian type culture collection

ATCC: American type culture collection

A: نانوذرات مس (Cu)، B: نانوذرات اکسید مس (Cu<sub>2</sub>O)، C: عصاره آبی میوه گیاه برگ بو، D: عصاره آبی برگ گیاه برگ بو، N: نیستاتین، G: جتا مایسین، P: پنیسیلین، Ch: کلرامفنیکل، X: آزمایش نشده



**Bacillus Cereus**

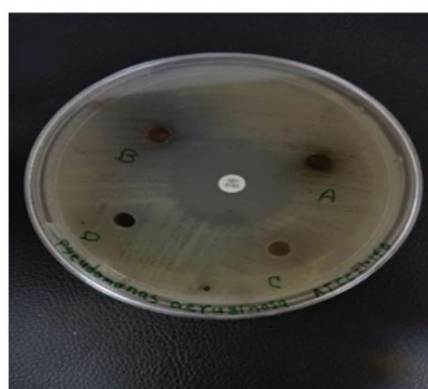
(الف)

**Salmonella Typhi**

(ب)

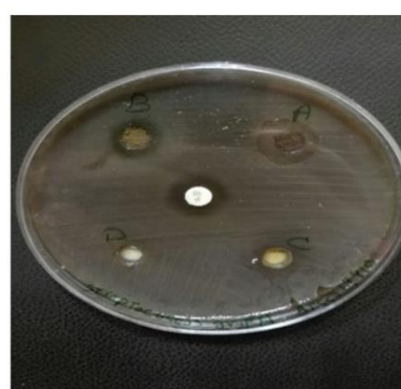
**Kelebsilla Oxyitoca**

(ج)



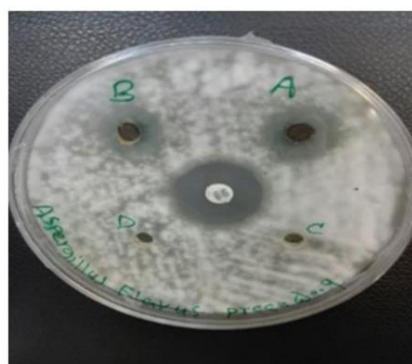
**Pesudomonas aeruिनosa**

(د)



**Streptocococ group A**

(ه)



**Aspergillus Flavus**

(ز)



**Candida albicans**

(ح)

شکل ۴- تصاویر مربوط به مهار باکتری‌ها (الف تا ه) و قارچ‌های (ز، و) مورد بررسی به وسیله الف) نانوذرات مس، ب) نانوذرات اکسید مس، ج) عصاره آبی میوه گیاه برگ بو، د) عصاره آبی برگ گیاه برگ بو؛ (در مورد هر باکتری، آنتی بیوتیک‌ها به صورت دیسک در مرکز پلیت‌ها قرار گرفته است).

*Bacillus cereus* و کپک *Aspergillus niger* در مقابل عصاره مقاوم بود (Pedramnia et al., 2018). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در نتایجی که ما به دست آوردیم نیز باکتری گرم مثبت *B. cereus* در مقابل عصاره‌های آبی مقاوم بود. در پژوهشی دیگر، عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو بر روی چند

داشته است (Ozcan et al., 2010; Pedramnia et al., 2018). بنا بر یک گزارش، عصاره متانولی برگ گیاه برگ بو بر روی چند باکتری و قارچ بررسی، و نشان داده شد که این عصاره در مهار رشد باکتری‌های *Listeria*، *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* مؤثر بود؛ اما باکتری *monocytogenes*

نتایج این پژوهش یعنی تشکیل نانوذرات اکسید مس (I)، متفاوت است. نکته قابل توجه اینکه در سنتز نانوذرات مس با استفاده از عصاره دیگر نمونه‌های گیاهی نیز تنها در موارد معدودی نانوذرات اکسید مس (I) گزارش شده است. به عنوان نمونه با استفاده از عصاره گیاه (*Gopalakrishnan (Trixid procumbens)*) (Berra *et al.*, 2012) با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه نخل (*Berra (Phoenix dactylifera)*) (et al., 2018) و با استفاده از عصاره آبی ریشه گیاه *Polyalthia longifolia* نانوذرات اکسید مس (I) سنتز شده است که در مثال آخر به طور همزمان دیگر اکسیدهای مس نیز تشکیل شده است (Maulana *et al.*, 2022). نانوذراتی که به روش سبز سنتز می‌شود به دلیل مقادیر زیادی از ترکیبات طبیعی در اطرافشان، توانایی قابل توجهی در تشکیل کمپلکس با گیرنده‌های سطح باکتری‌ها دارد و به این ترتیب می‌تواند مانع از تشکیل بیوفیلم و رشد باکتری شود (Siriken *et al.*, 2018). به همین دلیل است که تشکیل نانوذرات فلزی و اکسیدهای فلزی در مقایسه با نانوذرات سنتز شده به روش‌های کلاسیک مطلوب‌تر است و به ویژه در مقابله با میکروب‌های بیماری‌زا عملکرد بهتری دارد (Fidan *et al.*, 2019). گزارش شده است که نانوذرات مس بر روی هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مؤثر است که این به دلیل تمایل جذب یون‌های مس به گروه‌های آمینی و کربوکسیلیک سطح این سلول‌ها است (Beveridge, Murray, 1980; Kritiga *et al.*, 2013; Alshammari *et al.*, 2023). علاوه، گزارش شده است که باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت در مقابل مواد ضدباکتری مقاوم‌تر است (Emami-Karvani, Chehrazhi, 2011). این می‌تواند به دلیل تفاوت دیواره سلولی این دو دسته از باکتری‌ها باشد. دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی شامل لیپیدها، پروتئین‌ها و لیپوپولی‌ساکاریدهایی (LPS) است که باکتری را در مقابل عوامل مخرب بیرونی محافظت می‌کند در حالی که این لیپوپولی‌ساکاریدها در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارد (Speranza *et al.*, 2004). گزارش‌های متعددی هم در مورد ویژگی ضدقارچ نانوذرات مس موجود است (Saharan *et al.*, 2015; Kalatehjari *et al.*, 2015). نانوذرات مس به دلیل سطح بسیار وسیعشان، که امکان تماس قابل توجه با میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند، خاصیت ضدباکتری و ضدقارچ مناسبی از خود نشان می‌دهد. یون‌های مس آزاد شده ممکن است با اتصال به مولکول‌های DNA در سلول باکتری و قارچ باعث تخریب ساختار مارپیچی و اتصالات درونی و بین رشته‌ای اسیدهای نوکلئیک، و مانع از همانندسازی و رشد سلولی در این میکروارگانیسم‌ها می‌شود

باکتری و کپک بررسی شد و نتایج نشان داد که عصاره متانولی بر روی باکتری‌های *Enterococcus*, *B. subtilis*, *S. aureus*، *Enterococcus*, *Haemophilus influenzae*, *gallinarium*، *faecium* و کپک *C. albicans* مؤثر است (Ozcan *et al.*, 2010). اما در این پژوهش، نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی در مهار رشد قارچ *C. albicans* بی‌اثر است. این تفاوت در نتایج ممکن است به دلایل مختلفی از جمله تفاوت در ترکیبات استخراج شده از گیاه با استفاده از دو حلال مختلف، و یا تفاوت در غلظت عصاره‌های به کار رفته باشد.

نتایج عصاره میوه گیاه برگ بو در جدول ۱ و شکل ۴ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، این عصاره فقط در مهار رشد باکتری *St. group A* مؤثر بوده است. شاید علت آن را بتوان احتمالاً به این نکته مربوط دانست که میوه گیاه درصد قابل توجهی از اسیدهای چرب دارد که می‌تواند در تخریب غشای باکتری‌ها نقش داشته باشد. اسیدهای چرب مختلفی از جمله اسید لینولئیک، اسید لاریک و اسید پالمیتیک در دانه این گیاه گزارش شده است (Mohammed *et al.*, 2020). بر اساس این مطالعه که بر روی اسانس، عصاره متانولی دانه و روغن دانه برگ بو انجام شده است، گزارش شد که نمونه‌ها ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارد و عصاره متانولی دانه، ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بهتری داشته است. همچنین گزارش شد که عصاره متانولی دانه و روغن دانه بر رشد باکتری گرم منفی *S. typhi* و کپک *C. albicans* تأثیری نداشته است که این نتیجه با نتایج در این پژوهش همخوانی دارد (Mohammed *et al.*, 2021). از سوی دیگر، همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، باکتری گرم منفی *P. aeruginosa* در برابر عصاره‌ها و نانوذرات مس و اکسید مس سنتز شده کاملاً مقاوم بوده است که این نتیجه در پژوهش‌های قبلی نیز گزارش شده است (Siriken *et al.*, 2018; Ouibrahim *et al.*, 2013).

در گذشته از عصاره آبی برگ گیاه برگ بو در فرایند سنتز برخی نانوذرات فلزی استفاده شده است. وجود مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها امکان کاهش یون‌های فلزی و تشکیل نانوذرات را امکان پذیر می‌سازد (Bahrami *et al.*, 2019). به عنوان نمونه می‌توان به سنتز نانوذرات اکسید روی (Vijeykumar *et al.*, 2016)، نانوذرات اکسید آهن (Jamzad, Kamari-Bidkorpheh, 2020) و نانوذرات نقره (Kashkooli *et al.*, 2017; Al-Ghadami *et al.*, 2018) اشاره کرد. همچنین یک مورد از سنتز نانوذرات اکسید مس (II) با استفاده از عصاره برگ این گیاه گزارش شده است (Bulut Kokabas *et al.*, 2021) که با

(Kim et al. 2000 ; Stohs and Bagchi, 1995).

## نتیجه‌گیری

گسترش روز افزون مقاومت دارویی در باکتری‌ها و قارچ‌ها سبب شده است تا توجه بیشتری به یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف شود. برای این منظور گیاهان دارویی به ویژه گیاهانی، که در طب سنتی و متون علمی به اثر درمانی آنها اشاره شده است از اهمیت زیادی برخوردار هستند. همچنین استفاده از گیاهان به منظور سنتز نانوذراتی که ویژگی ضد میکروبی دارند در سال‌های اخیر به موضوع بسیار جذابی تبدیل شده است. طبق نتایج این پژوهش، عصاره آبی برگ و میوه گیاه برگ بو می‌تواند در سنتز نانوذرات مس و اکسید مس مؤثر باشد. همچنین نوع نمک مس مورد استفاده در نوع نانوذرات به دست آمده تأثیرگذار است؛ به طوری که با استفاده از پیش‌ماده سولفات مس، نانوذرات اکسید مس (I) تشکیل شد اما با استفاده از نیترات مس، نانوذرات مس به دست آمد. با توجه به اینکه نانو ذرات سنتز شده اثر مهارکنندگی خوبی در مقابل برخی

از باکتری‌ها و قارچ‌های مورد بررسی از خود نشان داد، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه برگ بو علاوه بر مصارف دارویی، می‌تواند برای تولید نانوذرات مس و اکسید مس مورد استفاده قرار گیرد و علاوه بر داروسازی در صنعت نیز کاربرد داشته باشد.

- عصاره برخی از گیاهان، حاوی ترکیبات طبیعی است که می‌تواند به عنوان کاهنده در سنتز نانوذرات فلزی استفاده شود. برخی از عصاره‌ها و نانوذرات فلزی ویژگی ضد میکروبی دارد.

- عصاره گیاه برگ بو دارای توانایی کاهش یون‌های مس است و می‌تواند با توجه به نمک مس به کار رفته در سنتز نانوذرات مس و اکسید مس به کار رود. عصاره گیاه و نانوذرات تشکیل شده توانایی مهار رشد برخی از میکروارگانیسم‌ها را دارد.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

## References

Abdullah JAA, Salah Eddine L, Abderrhmane B, Alonso-González M, Guerrero A, Romero A. 2020. Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles by *peonix dactylifera* leaf extract and evaluation of their antioxidant activity. Sustainable Chemistry and Pharmacy 17: 100280.

Abu-Dahab R, Kasabri V, Afifi FU. 2014. Evaluation of the volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) on breast cancer cell line models. Records of Natural Products 8: 136-147.

Ahmed S, Annu S, Yudha SS. 2016. Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 161: 141-153.

Al-Ghamdi AY. 2017. Soil Microbial Biomass of Pea (*Pisium sativum* cv. Little Marvel) in Response to Three Atmospheric Air Regimes at Al Baha Region, KSA. American Journal of Climate Change 6 (4): 607-621.

Alshammari SO, Mahmoud SY, Farrag ES. 2023. Synthesis of Green Copper Nanoparticles Using Medicinal Plant *Krameria* sp. Root Extract and Its Applications. Molecules 28 (12): 4629.

Ameen F, Alsamhary KI, Alabdullatif JA, AL Nadhari S. 2021. A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. Ecotoxicology and Environmental Safety 213: 112027.

Amendola V, Pilot R, Frascioni M, Maragò OM, Iati MA. 2017. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a

review. Journal of Physics: Condensed Matter 29 (20): 203002.

Bahmanzadegan A. 2015. Seasonal Variation in Volatile Oil, Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Extract of *Laurus nobilis* Grown in Iran. Journal of Pharmacy and Pharmacology 3 (5): 223-231.

Bahrami A, Jamzad M, Sedaghat S. 2021. Phytochemicals and Biological Activities of *Frortiepia subpinnata* (Ledeb.) Baill. Extracts. Journal of Medicinal Plants and By-products 10 (1): 109-115.

Barrett CS, Massalski TB. 1966. Structure of Metals, 3<sup>rd</sup>ed. McCraw-Hill, New York, 251-254.

Barroso A, Mestre H, Ascenso A, Simões S, Reis C. 2020. Nanomaterials in wound healing: from material sciences to wound healing applications. Nano Select 1 (5): 443-460.

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology 45 (4): 493-506.

Beena J, Anjali PS. 2018. Synthesis and characterization of Iron nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Tender leaf extract and evaluation of cytotoxic activity. World Journal of Pharmaceutical Research 7 (2): 657-673.

Behera M, Giri G. 2014. Green synthesis and characterization of cuprous oxide nanoparticles in presence of a bio-surfactant. Materials Science-Poland 32: 702-708.

Berra D, Salah Eddine L, Boubaker B, Mohammed Riha

- O, Berani D, Achor R. 2018. Green synthesis of copper oxide nanoparticles by *Phoenix dactylifera* L. leaves extract. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 13 (4): 1231-1238.
- Beveridge TJ, Murray RG. 1980. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology 141: 876-887.
- Bulut Kocabas B, Attar A, Peksel A, Altikatoglu Yapaoz M. 2021. Phytosynthesis of CuONPs via *Laurus nobilis*: Determination of antioxidant content, antibacterial activity, and dye decolorization potential. Biotechnology and Applied Biochemistry 68 (4): 889-895.
- Caputo L, Nazzaro F, Souza LF, Aliberti L, De Martino L, Fratianni F, Coppola R, De Feo V. 2017. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. Molecules 22 (6): 930.
- Da Silveira SM, Luciano FB, Fronza N, Cunha A, Scheuermann GN, Vieira CRW. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C. LWT - Food Science and Technology 59 (1): 86-93.
- Desalegn T, Murthy HCA, Ravikumar C, Nagaswarupa HP. 2021. Green Synthesis of CuO Nanostructures using *Syzygium guineense* (Willd.) DC Plant Leaf Extract and Their Applications. Journal of Nanostructure 11 (1): 81-94.
- Devika R, Chauhan S, Subbaiya R. 2019. Biosynthesis of copper nanoparticle using *Nerium oleander*. Research Journal of Pharmacology and Technology 12: 621-624.
- Dobroslavić E, Elez Garofulić I, Zorić Z, Pedisić S, Dragović-Uzelac V. 2021. Polyphenolic Characterization and Antioxidant Capacity of *Laurus nobilis* L. Leaf Extracts Obtained by Green and Conventional Extraction Techniques. Processes 9: 1840.
- Dorman HJ, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88 (2): 308-316.
- Elia P, Zach R, Hazan S, Kolusheva S, Porat Z, Zeiri Y. 2014. Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as reducing agents. International Journal of Nanomedicine 9 (1): 4007-4021.
- Emami-Karvani Z, Chehrizi P. 2011. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on Gram-positive and Gram-negative bacteria. African Journal of Microbiology Research 5(12): 1368-1377.
- Ermini ML, Valerio V. 2021. Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age. ACS Nano 15 (4): 6008-6029.
- Faisal S, Jan H, Ali Shah S, Shah S, Thea S, Khan A, Rizwan M, Jan F, Wajidullah, Akhtar N, Khattak A, Syed S. 2021. Green Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Using Aqueous Fruit Extracts of *Myristica fragrans*: Their Characterizations and Biological and Environmental Applications. ACS Omega 6 (14): 9709-9722.
- Fakhari S, Jamzad M, Kabiri Fard H. 2019. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison, Green Chemistry Letters and Reviews 12 (1): 19-24.
- Faúndez G, Troncoso M, Navarrete P, Figueroa G. 2004. Antimicrobial activity of copper surfaces against suspensions of salmonella enterica and campylobacter jejuni. BMC Microbiology 4: 19.
- Fidan H, Stefanova G, Kostova I, Stankov S, Damyanova S, Stoyanova A, Zheljzakov VD. 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. Molecules 24 (4): 804.
- Gopalakrishnan K, Ramesh C, Ragunathan V, Tamilselvan M. 2012. Antibacterial activity of Cu<sub>2</sub>O nanoparticles on *E. coli* synthesized from *Tridax procumbens* leaf extract and surface coating with polyaniline. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 7: 833-839.
- Ismail MIM. 2020. Green synthesis and characterizations of copper nanoparticles. Materials Chemistry and Physics 240: 122283.
- Jamzad M, Kamari Bidkorpheh M. 2020. Green synthesis of Iron oxide nanoparticles by the aqueous extract of *Laurus nobilis* L. leaves and evaluation of the antimicrobial activity. Journal of nanostructure in Chemistry 10: 193-201.
- Jamzad M, Mokhtari B, Mirkhani PS. 2023. Green synthesis of metal nanoparticles mediated by a versatile medicinal plant extract. Chemical Papers 77 (3): 1455-1467.
- Jan H, Shah M, Andleeb A, Faisal S, Khattak A, Rizwan M, Drouet S, Hano C, Abbasi BH. 2021. Plant-Based Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) Using Aqueous Leaf Extract of *Aquilegia pubiflora*: Their Antiproliferative Activity against HepG2 Cells Inducing Reactive Oxygen Species and Other *In-Vitro* Properties. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2021: 4786227.
- Kalatehjari P, Yousefian M, Khalilzadeh MA. 2015. Assessment of antifungal effects of copper nanoparticles on the growth of the fungus *Saprolegnia* sp. on white fish (*Rutilus frisii kutum*) eggs. The Egyptian Journal of Aquatic Research 41 (4): 303-306.
- Kashkouli S, Jamzad M, Nouri A. 2018. Total Phenolic and Flavonoids Contents, Radical Scavenging Activity and Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Laurus nobilis* L. Leaves Aqueous Extract. Journal of Medicinal Plants and By-products 1: 25-32.
- Khani R, Roostaei B, Bagherzade G, Moudi M. 2018. Green synthesis of copper nanoparticles by fruit extract of *Ziziphus spinachristi* (L.) Willd: Application for adsorption of triphenylmethane dye and antibacterial assay. Journal of Molecular Liquids 255: 541-549.
- Kim JH, Cho H, Ryu SE, Choi MU. 2000. Effects of metals ions on the activity of protein tyrosine phosphatase VHR: highly potent and reversible oxidative inactivation by Cu<sub>2</sub><sup>+</sup> ion. Archives of Biochemistry and Biophysics 382: 72-80.
- Kooti M, Matouri L. 2010. Fabrication of nano-sized cuprous oxide using Fehling's solution. Transaction F: Nanotechnology 17: 73-78.
- Kornblatt AP, Nicoletti VG, Travaglia A. 2016. The

neglected role of copper ions in wound healing. *Journal of Inorganic Biochemistry* 161: 1-8.

Krithiga N, Jayachitra A, Rajalakshmi A. 2013. Synthesis, characterization and analysis of the effect of copper oxide nanoparticles in biological systems. *Indian Journal of Nano Science* 1: 6-15.

Li M, Liu X, Tan L, Cui Z, Yang X, Li Z, Zheng Y, Yeung KWK, Chu PK, Wu S. 2018. Noninvasive rapid bacteria killing and acceleration of wound healing through photothermal/photodynamic/copper ion synergistic action of a hybrid hydrogel. *Biomaterial Science* 6 (8): 2110-2121.

Loo YY, Chieng BW, Nishibuchi M, Radu S. 2012. Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. *International Journal of Nanomedicine* 7: 4263-4267.

Luo X, Morrin A, Killard AJ, Smyth MR. 2006. Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. *Electroanalysis* 18 (4): 319-326.

Marza Hamza N, Malik Yasir S, Abdulsajjad M, Hussain K. 2021. Biological Effects of Aqueous Extract of *Laurus nobilis* L. Leaves on Some Histological and Immunological Parameters in Male Rat Liver Affected by Aluminum Chloride. *Archive of Razi Institute* 76 (6): 1745-1753.

Maulana I, Fasya D, Ginting B. 2022. Biosynthesis of Cu Nanoparticles Using *Polyalthia longifolia* Roots Extracts for Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxicity Applications. *Materials Technology* 37 (13): 2517-2521.

Mohammed RR, Omer AK, Yener Z, Uyar A, Ahmed AK. 2021. Biomedical effects of *Laurus nobilis* L. leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. *Annals of Medicine and Surgery* 61: 188-197.

Ouibrahim A, Tlili-Ait-Kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi AG, Djebbar MR. 2013. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 7 (42): 4968-4973.

Ozcan B, Esen M, Sangun MK, Coleri A, Caliskan M. 2010. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology* 31 (5): 637-641.

Padma PN, Banu TB, Kumari SC. 2018. Studies on green synthesis of copper nanoparticles using *Punica granatum*. *Annual Research & Review in Biology* 23 (1): 1-10.

Pedram-Nia A, Mortazavi A, Nemat Shahi MM. 2018. Study of Chemical Compounds and The Antimicrobial Effects of Leaf Extract of *Laurus nobilis* L. on Various Microbial Strains. *Journal of Food Science and Technology* 15 (81): 217-226.

Perelshtein I, Applerot G, Perkas N, Wehrschuetz-Sigl E, Hasmann A, Guebitz G, Gedanken A. 2009. CuO-cotton nanocomposite: formation, morphology, and antibacterial activity. *Surface Coating Technology* 204: 54-57.

Petkova Z, Stefanova G, Girova T, Antova G, Stoyanova M,

Damianova S, Gochev V, Stoyanova A, Zheljzakov VD. 2019. Phytochemical Investigations of Laurel Fruits (*Laurus nobilis*). *Natural Product Communications* 14 (8): 1934578X1986887.

Rajathi FAA, Parthiban C, Kumar VG, Anantharaman P. 2012. Biosynthesis of antibacterial gold nanoparticles using brown alga, *Stoechospermum marginatum* (kutzling). *Spectrochimica Acta-part A* 99: 166-173.

Ramos C, Teixeira B, Batista I, Matos O, Serrano C, Neng NR, Nogueira MJF, Nunes ML, Marquez A. 2012. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research* 26 (6): 518-529.

Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Rahuman AA. 2012. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials Letters* 71: 114-116.

Rodríguez-León E, Rodríguez-Vázquez BE, Martínez-Higuera A, Rodríguez-Beas C, Larios- Rodríguez E, Navarro RE, Lopez-Esparza R, Iniguez-Palomares RA. 2019. Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Mimosa tenuiflora* Extract, Assessments of Cytotoxicity, Cellular Uptake, and Catalysis. *Nanoscale Research Letters* 14 (1): 334.

Salvo J, Sandoval C. 2022. Role of copper nanoparticles in wound healing for chronic wounds: literature review. *Burns Trauma* 10: tkab047.

Sawant SS, Bhagwat AD, Mahajan CM. 2016. Synthesis of Cuprous Oxide (Cu<sub>2</sub>O) Nanoparticles – a Review. *Journal of Nano and Electronic Physics* 8: 01035.

Sheet AH, AL-Azawi HA. 2022. Antibiotic susceptibility and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental hospital samples. *Biochemical and Cellular Archives* 22: 3501-3509.

Shenewer Mahdi Al-Turfi Z, Al-Hadrawy SMJ, Abadi Mohammed J, Chasib Jabal B. 2022. Evaluation of the Effect of Alcoholic Extract of *Laurus Nobilis* Leaves on Blood Biochemical Parameters and Histological Changes in the Liver and Kidney among Female Wistar Rats Treated with Depakene (Sodium Valproate). *Archive of Razi Institutet* 77 (3): 981-989.

Siriken B, Yavuz C, Güler A. 2018. Antibacterial Activity of *Laurus nobilis*: A review of literature. *Medical Science and Discovery* 5 (11): 374-379.

Speranza G, Gottardi G, Pederzolini C, Lunelli L, Canteri R, Pasquardini L, Carli E, Lui A, Maniglio D, Brugnara M, Anderle M. 2004. Role of chemical interactions in bacterial adhesion to polymer surfaces. *Biomaterials* 25: 2029-2037.

Srivata M, Singh J, Mishra RK, Ojha AK. 2013. Electro-optical and magnetic properties of monodispersed colloidal Cu<sub>2</sub>O nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds* 555: 123-130.

Stohs SJ, Bagchi D. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine* 18 (2): 321-36.

Thakur S, Sharma S, Thakur S, Rai R. 2018. Green synthesis of copper nanoparticles using *Asparagus adscendens* Roxb. root and leaf extract and their antimicrobial activities.

International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7: 683-694.

Usmani QI, Ahmad A, Jamaldeen FN. 2021. *Laurus nobilis* L., (Habb-ul-Ghar), A Review on Phytochemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses. Journal of Drug Delivery & Therapeutics 11 (5): 136-144.

Vasundhara M, Gujran S, Jayaram A, Priyanka R. 2016. Sweet bay (*Laurus nobilis* L.) essential oil: A study on its application in dentistry. Word Journal of Pharmaceutical Research 5: 2049-2057.

Vijayakumar S, Vaseeharan B, Malaikozhundan B, Shobiya M. 2016. *Laurus nobilis* leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications. Biomedicine & Pharmacotherapy 84: 1213-1222.

Yilmaz ES, Timur M, Aslim B. 2013. Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey. Journal of Essential Oil-bearing Plants 16 (1): 108-116.

Yugandhar P, Vasavi T, Maheswari Devi PU, Savithramma N. 2017. Bioinspired green synthesis of copper oxide

nanoparticles from *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp: Characterization and evaluation of its synergistic antimicrobial and anticancer activity. Applied Nanoscience 7: 417-427.

Zargari A. 1997. Medicinal plants. 7<sup>th</sup> Edition, Tehran University Publications, Vol. 4, pp. 136.

Zarrintaj P, Moghaddam AS, Manouchehri S, Atoufi Z, Amiri A, Amirkhani MA, Nilforoushzadeh MA, Saeb MR, Hamblin MR, Mozafari M. 2017. Can regenerative medicine and nanotechnology combine to heal wounds? The search for the ideal wound dressing. Nanomedicine (Lond), 12 (19): 2403-2422.

Zolfaghari B, Samsam-Shariat S, Ghannadi A. 2013. Chemical composition of volatile oils from the endocarp and hulls of Persian bay laurel fruit: A fragrant herb used in traditional Iranian medicine. Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences 2: 1-4.

Zen JM, Hsu CT, Kumar AS, Lyuu HJ, Lin Y. 2004. Amino acid analysis using disposable copper nanoparticle plated electrodes. Analyst 129 (9): 841-845.