



อนุภาคเงินนาโนสังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากพืชและความสามารถ ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Plant Extract Synthesized Silver Nanoparticles and their Antimicrobial Activity

กานต์พิมล กรไกร¹ และ รินา ภัทรมานนท์^{1*}

¹ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

*Corresponding Author, Email: narin@kku.ac.th

บทคัดย่อ

อนุภาคเงินนาโน (silver nanoparticles) ถูกนำมาประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ มากมายทั้งในทางการแพทย์และอุตสาหกรรม โดยวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนสามารถทำได้หลายวิธี ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการทางเคมีและวิธีการทางกายภาพ ด้วยวิธีทั้งสองยังมีข้อเสียหลักด้านความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและต้นทุนในกระบวนการสังเคราะห์สูง ดังนั้นวิธีการทางชีวภาพจึงได้เป็นทางเลือกใหม่ที่มีความสนใจในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามกลไกการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนทางชีวภาพยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด บทความนี้จึงได้มุ่งเน้นการนำเสนอวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืช ซึ่งจะได้กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์ กลไกการสังเคราะห์ และการนำอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จากพืชไปประยุกต์ใช้งานในด้านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ABSTRACT

Silver nanoparticles have many medical and industrial applications. The nanoparticles are usually synthesized by chemical and physical approaches. However, major disadvantages of both approaches are non eco-friendly and costly synthesis processes. Therefore, biological approach has currently become an alternative and holds interest for many researchers. Nevertheless, biological mechanism of silver nanoparticle synthesis remains unclear. This review provides information on how to synthesize silver nanoparticles by plant extract, effects of the synthesis parameters, synthesis mechanism and some applications of silver nanoparticles in antimicrobial activities.

คำสำคัญ: อนุภาคเงินนาโน การสังเคราะห์ทางชีวภาพ การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Keywords: Silver nanoparticles, Biological synthesis, Antimicrobial activities

1. บทนำ

ปัจจุบันอนุภาคนาโนเริ่มเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากขึ้นทั้งในด้านการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและใช้ในงานไบโอเซ็นเซอร์ เป็นต้น ซึ่งอนุภาคนาโนคืออนุภาคที่มีขนาดเล็กอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่พิเศษแตกต่างไปจากอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ เนื่องจากขนาดอนุภาคที่เล็กส่งผลให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสที่สูง จึงสามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีบริเวณพื้นผิวได้ดี (Wang et al., 2006) อนุภาคนาโนจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ เช่น อนุภาคทองคำนาโนถูกใช้เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำให้เป็นก๊าซ (water gas shift reaction) (Andreeva et al., 2002) หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ตรวจวัดโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท (Kim et al., 2001) อนุภาคนาโนไททาเนียมไดออกไซด์ถูกนำไปรวมกับเส้นใยผ้าทำให้ผ้าสามารถทำความสะอาดตัวเอง ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและป้องกันรังสียูวี (Montazer and Seifollahzadeh., 2011) และอนุภาคเงินนาโนถูกนำไปเคลือบกับอุปกรณ์ทางการแพทย์เพื่อป้องกันเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น

หนึ่งในอนุภาคนาโนที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันคืออนุภาคเงินนาโน เนื่องจากมีสมบัติที่พิเศษคือ 1) สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงถูกนำไปใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้า เช่น เสื้อผ้า ระบบกรองน้ำ เครื่องมือทางการแพทย์ เครื่องสำอาง อุปกรณ์ไฟฟ้า และเครื่องใช้ภายในบ้าน 2) มีสมบัติทางแสง ทำให้เหมาะกับการนำไปประยุกต์ใช้ในงานไบโอเซ็นเซอร์ 3) มีสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้า จึงถูกนำไปประยุกต์ใช้เป็น

ส่วนผสมในหมึกตัวนำ กาว และแปรงเป็ยก สำหรับใช้ในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และ 4) เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาต่างๆเช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสไตรีน (Sintubin et al., 2012) การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น การสังเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี ทางกายภาพ และทางชีวภาพ โดยในการสังเคราะห์ทางเคมีอาจทำให้มีสารเคมีตกค้างอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคเงินนาโน ซึ่งส่งผลเสียต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เนื่องจากอนุภาคเงินนาโนนี้อาจจะไปสัมผัสกับร่างกายมนุษย์โดยตรงทำให้เป็นอันตรายได้ สำหรับการสังเคราะห์ทางกายภาพนั้นมีข้อเสียคือมีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นเป้าหมายของนาโนเทคโนโลยีในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นพัฒนาวิธีการสังเคราะห์และวิธีการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อต้องการให้อนุภาคเงินนาโนมีความเป็นพิษน้อยลงและลดต้นทุนการผลิต ส่งผลให้วิธีการสังเคราะห์ทางชีวภาพโดยเฉพาะการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นักวิจัยให้ความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งพบว่าในปัจจุบันมีงานวิจัยที่ค้นพบและตีพิมพ์เกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชเพิ่มมากขึ้น (Kumar and Yadav., 2009; Narayanan and Sakthivel., 2010)

2. การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน

การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนในปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ได้ 3 วิธีคือ วิธีการทางเคมี (Chemical approach) วิธีการทางกายภาพ (Physical approach) และวิธีการทางชีวภาพ (Biological approach)

2.1 วิธีการทางเคมี (chemical approach)

วิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยวิธีการทางเคมีเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากสามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณมาก ควบคุมขนาดและรูปร่างได้ง่าย ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีประกอบไปด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วนคือ 1) เกลือของซิลเวอร์ (silver salt) ที่นิยมใช้คือซิลเวอร์ไนเตรด 2) ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) เช่น sodium citrate, ascorbate, sodium borohydride (NaBH_4), elemental hydrogen, polyol process, Tollens reagent, และ N, N-dimethylformamide (DMF) เป็นต้น ซึ่งตัวรีดิวซ์มีหน้าที่รีดิวซ์ Ag^+ ในสารละลายให้กลายเป็น Ag^0 3) สารให้ความคงตัว (stabilizer) หรือ capping agent โดยส่วนมาก นิยมใช้สารพอลิเมอร์ เช่น poly(vinyl alcohol), polyvinylpyrrolidone, poly(ethylene glycol), poly (methacrylic acid), และ poly(methyl methacrylate) เป็นต้น ซึ่งสารให้ความคงตัวมีหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคเงินนาโน ตัวอย่างการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน เช่น งานวิจัยของ Zielinska และคณะ (2009) สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจากการผสมซิลเวอร์ไนเตรดกับ polyvinyl pyrrolidone จากนั้นค่อยๆ หยด sodium citrate ลงไปในสารละลายผสม กวนสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว แสดงให้เห็นว่าซิลเวอร์ไอออนถูกเปลี่ยนเป็นอนุภาคเงินนาโน จากนั้นทำการตกตะกอนเพื่อแยกเอาอนุภาคเงินนาโนไปพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป นอกจากนี้ยังมีหลายงานวิจัยที่ในขั้นตอนการสังเคราะห์ยังมีการใช้ตัวทำละลายเช่น เอทานอล ไดเมทิล-ฟอร์มามิด เอทิลีนไกลคอล โทลูอิน และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น (Gan and Li., 2012) จะเห็นว่าการสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ใช้สารเคมีค่อนข้างมาก

ซึ่งสารเคมีเหล่านี้มีความเป็นพิษส่งผลให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต สิ่งแวดล้อม และส่งผลให้มีต้นทุนในการผลิตสูง อีกทั้งยังพบว่าสารเคมีที่เป็นพิษบางชนิดมีโอกาสนปนเปื้อนที่บริเวณพื้นผิวของอนุภาคเงินนาโน ทำให้ไม่เหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านชีวการแพทย์ (Shankar et al., 2004)

2.2 วิธีการทางกายภาพ (physical approach)

วิธีการทางกายภาพเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้มีความบริสุทธิ์สูง สามารถควบคุมขนาด รูปร่าง และปริมาณของอนุภาคเงินนาโนได้ง่าย (Mafune 'et al., 2002) แต่ข้อเสียคือเครื่องมือที่ใช้มีราคาแพงทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูง การสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางกายภาพโดยทั่วไปจะใช้วิธีการระเหยและควบแน่น (evaporation-condensation) โดยใช้เตาเผาแบบหลอดแก้ว (tube furnace) ที่ความดันบรรยากาศ แต่ข้อเสียของการใช้เตาเผาแบบหลอดแก้วคือต้องใช้พลังงานสูงและใช้เวลานานเพื่อทำให้เกิดความเสถียรทางความร้อน ดังนั้นจึงมีการใช้เซรามิกฮีตเตอร์ขนาดเล็ก (small ceramic heater) เนื่องจากไอที่เกิดขึ้นจากการระเหยจะควบแน่นกลับมาในอัตราเร็วที่เหมาะสมทำให้พื้นผิวของฮีตเตอร์สามารถถ่ายเทความร้อนได้ดี นอกจากนี้อุณหภูมิที่พื้นผิวของฮีตเตอร์ยังค่อนข้างคงที่ตลอดเวลาทำให้อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดเล็กและมีความเข้มข้นสูง อีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้ในสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนคือวิธีการยิงด้วยเลเซอร์ (laser ablation) ซึ่งสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างได้ง่ายด้วยการควบคุมปัจจัยต่างๆ เช่น ความยาวคลื่นของเลเซอร์ ความเข้มของแสงเลเซอร์ และเวลาในการยิงเลเซอร์ เป็นต้น

2.3 วิธีการทางชีวภาพ (biological approach)

ปัจจุบันนักวิจัยให้ความสนใจการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยวิธีทางชีวภาพมากขึ้น เนื่องจากสามารถลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยสามารถใช้แบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และสารสกัดจากพืชในการสังเคราะห์แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งส่วนประกอบหลักในการสังเคราะห์มี 3 ส่วนคือ 1) สารละลายตัวกลางในการสังเคราะห์ 2) ตัวรีดิวซ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และ 3) สารให้ความคงตัวที่ไม่เป็นพิษ ข้อดีของวิธีการสังเคราะห์ทางชีวภาพคือใช้สารเคมีในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสังเคราะห์ทางเคมีและทางกายภาพ เนื่องจากสารชีวโมเลกุลที่อยู่ในจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชสามารถเป็นได้ทั้งตัวรีดิวซ์และสารให้ความคงตัว ทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ แต่ข้อเสียคือควบคุมขนาด รูปร่าง ความเป็นผลึกได้ยาก และหากเปรียบเทียบการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์กับการใช้สารสกัดจากพืชในแง่ของ

ระยะเวลา เครื่องมือ ความเป็นพิษ และการควบคุมขนาดและรูปร่างในการสังเคราะห์ พบว่าการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชมีขั้นตอนในการผลิตที่ไม่ยุ่งยากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสังเคราะห์จากเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากการสังเคราะห์จากเชื้อจุลินทรีย์นั้นต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อและใช้เครื่องมือที่จำเพาะ อีกทั้งยังต้องมีการควบคุมการเจริญของเชื้อในขั้นตอนการสังเคราะห์เพื่อไม่ให้เกิดการแพร่ระบาดหากเป็นเชื้อที่อาจก่อให้เกิดอันตรายกับมนุษย์หรือสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การสังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากพืชยังสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคนาโนได้ง่ายกว่าการสังเคราะห์จากเชื้อจุลินทรีย์ เพราะการควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนที่ผลิตนั้นสามารถทำได้โดยการปรับเปลี่ยนปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิหรือ pH ซึ่งการปรับเปลี่ยนปัจจัยดังกล่าวอาจจะส่งผลต่อการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Gan and Li., 2012)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจาก แบคทีเรีย เชื้อรา ยีส และพืช

สปีชีส์	ขนาดและรูปร่าง	การประยุกต์ใช้งาน	อ้างอิง
แบคทีเรีย			
<i>Brevibacterium casei</i>	10-50; Spherical	Anti-coagulant of blood plasma	(Kalishwaralal et al., 2010)
<i>Escherichia coli</i>	42.2-89.6; Spherical	-	(Gurunathan et al., 2009)
<i>Lactobacillus farciminis</i>	14.3-19.7; -	Antimicrobial activity against MRSA and MRSE	(Sintubin et al., 2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	160-180; -	-	(Nanda and Saravanan., 2009)
<i>Corynebacterium</i>	5-15; -	-	(Zhang et al., 2005)
เชื้อรา			
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	10-100; Spherical	-	(Balaji et al., 2009)
<i>Exopolysaccharide</i>	50; -	Antibacterial activity	(Chen et al., 2016)
<i>Fusarium oxysporum</i>	3-30; -	Antibacterial activity	(Joshi et al., 2013)
<i>Penicillium oxalicum</i>	4; Spherical	Catalytic reduction of methylene blue	(Du et al., 2015)

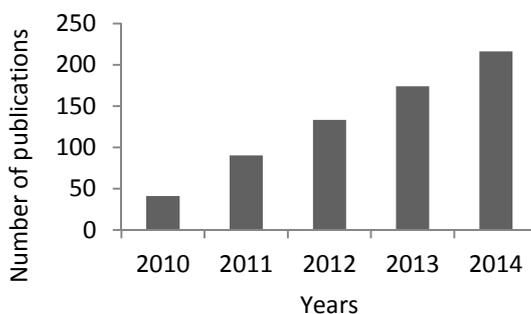
ตารางที่ 1 ตัวอย่างการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจาก แบคทีเรีย เชื้อรา ยีส และพืช (ต่อ)

สปีชีส์	ขนาดและรูปร่าง	การประยุกต์ใช้งาน	อ้างอิง
<i>Trichoderma viride</i>	5-40; Spherical and rod	Antibacterial activity	(Fayaz et al., 2010)
ยีส			
<i>Candida guilliermondii</i>	10-20; Spherical	Antibacterial activity	(Mishra et al., 2011)
สารสกัดจากพืช			
<i>Agave americana</i>	5-50; Spherical	-	(Marciano et al., 2008)
<i>Chenopodium album</i>	10-30; Quasi-spherical	-	(Dwivedi and Gopal., 2010)
<i>Sesuvium portulacastrum</i> L.	5-20; Spherical	Antibacterial and antifungal activities	(Nabikhan et al., 2010)
<i>Trichosanthes tricuspidata</i>	20-60; Spherical	Antibacterial activity	(Yuvarajan et al., 2015)
<i>Vitex Negundo</i> L.	10-30; Spherical	Antibacterial activity	(Zargar et al., 2011)

3. การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืช

แม้ว่านักวิจัยจะเล็งเห็นความสำคัญของการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากพืชแต่จากฐานข้อมูล Pubmed ยังไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมากนัก จนกระทั่งในช่วงปี ค.ศ. 2010- 2014 ที่มีจำนวนการ

ตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวิชาการเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แสดงดังรูปที่ 1 นั้นแสดงให้เห็นว่านักวิจัยพยายามที่จะศึกษาและพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชมากขึ้น



รูปที่ 1 จำนวนบทความวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชในปี 2010 – 2014

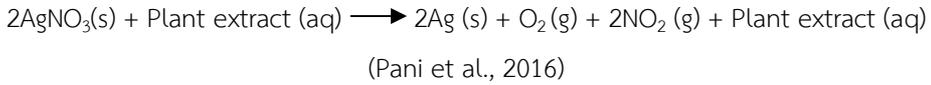
3.1 ขั้นตอนการสังเคราะห์

การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากพืชมีขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ขั้นแรกสกัดสารจากพืช โดยสารสกัดที่ใช้อาจจะได้จากการใช้พืชทั้งต้นหรือได้มาจากบางส่วนของพืชเช่น ใบ ดอก เปลือก ลำต้น และน้ำยาง

เป็นต้น แสดงดังตารางที่ 2 จากนั้นนำสารสกัดจากพืชผสมกับเกลือของโลหะ ซึ่งเกลือของโลหะที่นิยมใช้มากที่สุดคือซิลเวอร์ไนเตรต ปฏิกริยารีดักชันส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิห้องและใช้เวลาไม่นานในการเกิดปฏิกิริยาจนสมบูรณ์ ซึ่งในการทดลองจะสังเกตได้

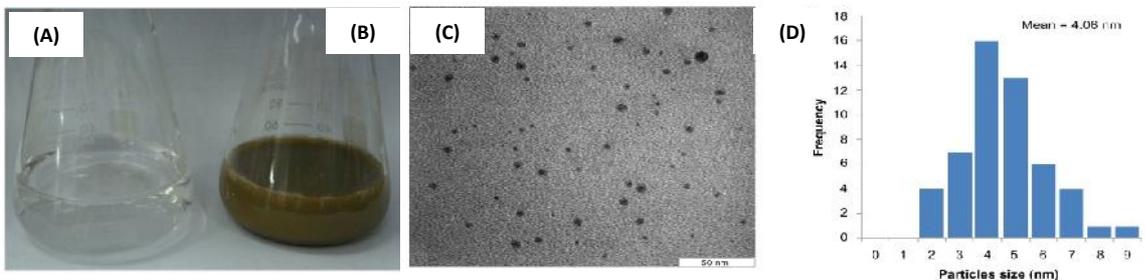
จากสีของสารละลายที่เปลี่ยนไปแสดงดังรูปที่ 2 (A และ B) โดยพบว่าเมื่อเติมสารสกัดจากใบชาลงไป สารละลายใสของซิลเวอร์ไนเตรต เมื่อเวลาผ่านไป 5

นาที่พบว่าสีของสารละลายเปลี่ยนไปนั้นแสดงให้เห็นว่ามีปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังสมการ



โดยในการสังเคราะห์นั้นตัวทำละลายที่นิยมใช้คือน้ำ แต่ก็มีบางงานวิจัยที่ใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น อะซิโตน แอซิเตด เอทานอล และเมทานอล เป็นต้น พืชที่สามารถนำมาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนมีหลากหลายชนิด ดังนั้นสารที่มีบทบาทในการเกิดปฏิกิริยาจึงแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังส่งผลให้อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาด รูปร่าง และการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2 หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการสังเคราะห์ อนุภาคเงินนา

โนที่สังเคราะห์ได้จะถูกนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี และการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการตรวจสอบขนาดรูปร่าง และสัญญาณวิทยาของอนุภาคเงินนาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน แสดงภาพที่ได้ดังรูปที่ 2(C) และตรวจสอบการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเงินนาโนด้วยเทคนิค Dynamic light scattering (DLS) แสดงดังรูปที่ 2(D)



รูปที่ 2 การเตรียมอนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดจากพืช

(A) สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (B) ลักษณะของสารละลายที่เปลี่ยนไปเมื่อเติมสารสกัดจากใบชา

(C) ภาพ TEM ของอนุภาคเงินนาโนที่ได้

และ (D) การกระจายตัวของขนาดอนุภาคเงินนาโน (Loo et al., 2012)

ตารางที่ 2 ชนิดของพืชที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ส่วนประกอบของพืช	ขนาดและรูปร่าง	องค์ประกอบที่มีส่วนช่วยในเกิดปฏิกิริยารีดักชัน	การประยุกต์ใช้งาน	อ้างอิง
<i>Allium cepa</i>	หัวหอมใหญ่	Plant	33.67 nm; spherical	-	Antibacterial activity Anticancer activity	(Saxena et al., 2010)
<i>Allium sativum</i>	กระเทียม	Clove	4–22 nm; spherical	-	against human lung epithelial A549 cells	(Ahamed et al., 2011)
<i>Anacardium occidentale</i>	มะม่วงหิมพาน	Leaf	6–17 nm	Proteins, aromatic amines, and polyphenols	-	(Sheny et al., 2011)
<i>Annona squamosa</i>	น้อยหน่า	Leaf	20–100 nm; Spherical	Phenolic group, proteins, and carbohydrates	In-vitro cytotoxicity against MCF-7 and HBL-100	(Vivek et al., 2012)
<i>Camellia Sinensis</i>	ชา	Leaf	4 nm; spherical	Proteins	-	(Loo et al., 2012)
<i>Catharanthus roseus</i>	แพงพวย	Leaf	48–67 nm; cubic	Proteins	Antibacterial activity	(Mukunthan et al., 2011)
<i>Chrysopogon zizanioides</i>	หญ้าแฝก	Leaf	85–110 nm; cubic	Alkaloids and phytosterols	-	(Arunachalam and Annamalai, 2013)
<i>Citrus sinensis</i>	ส้ม	Peel	11–37 nm; spherical	Water-soluble fractions	Antibacterial activity	(Kaviya et al., 2011)
<i>Coccinia grandis</i>	ตำลึง	Leaf	20–30 nm; spherical	Alkaloids and terpenoids	-	(Arunachalam et al., 2012)
<i>Curcuma longa</i>	ขมิ้น	Tuber powder	6.30±2.64 nm; face-centered cubic	Proteins, alkaloid, or flavones	-	(Shameli et al., 2012)
<i>Cynodon dactylon</i>	หญ้าแพรก	Leaf	8–10 nm; spherical	Polyphenols	Antibacterial activity	(Sahu et al., 2013)
<i>Dioscorea bulbifera</i>	ว่านสามพันตึง	Tuber	8–20 nm; nanorods and triangles	Polyols	Antibacterial activity	(Ghosh et al., 2012)
<i>Ficus religiosa</i>	โพ	Leaf	5–35 nm; spherical	Polyphenols and proteins	In-vivo anticancer activity against DAL induced mice	(Antony et al., 2013)

ตารางที่ 2 ชนิดของพืชที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ส่วนประกอบของพืช	ขนาดและรูปร่าง	องค์ประกอบที่มีส่วนช่วยในเกิดปฏิกิริยารีดักชัน	การประยุกต์ใช้งาน	อ้างอิง
<i>Garcinia angostana</i>	มังคุด	Leaf	35 nm; spherical	Polyols	Antibacterial activity	(Veerasamy et al., 2011)
<i>Hevea brasiliensis</i>	ยางพารา	Latex	2–100 nm; spherical	Amine groups	-	(Guidelli et al., 2011)
<i>Jatropha curcas</i>	สบู่ดำ	Latex	20–30 nm	Cyclic peptides	-	(Bar et al., 2009)
<i>Mangifera indica</i>	มะม่วง	Leaf	20–30 nm; spherical	Flavonoids, terpenoids, and thiamine	-	(Philip., 2011)
<i>Manilkara zapota</i>	ละมุด	Leaf	70–140 nm; granular, spherical	Phenols	-	(Kamaraj et al., 2012)
<i>Morinda citrifolia</i>	ยอ	Leaf	10–60 nm; spherical	Phenolic compounds	Antibacterial activity	(Sathishkumar et al., 2012)
<i>Moringa oleifera</i>	มะรุม	Flower	14 nm; spherical	Retinoic acid, proteins	-	(Bindhu et al., 2013)
<i>Musa paradisiaca</i>	กล้วย	Peel	20 nm; cluster	Proteins	Antibacterial and antifungal activities	(Bankar et al., 2010)
<i>Ocimum sanctum</i>	กะเพรา	Leaf	42 nm; crystalline	Flavonoids and terpenoids	-	(Subba Rao et al., 2013)
<i>Psidium guajava</i>	ฝรั่ง	Leaf	25–30 nm; spherical	Flavonoids and reducing sugars	-	(Raghunandan et al., 2011)
<i>Rhizophora mucronata</i>	โกศกางใบใหญ่	Leaf	12 nm; face cubic centered	Proteins, lignin, sterols, and alkaloids	Antifungal activity against human pathogens	(Singh et al., 2013)
<i>Sesbania grandiflora</i>	แค	Leaf	25 nm; spherical	Proteins	Antibacterial activity against MDR pathogens	(Das et al., 2013)

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์

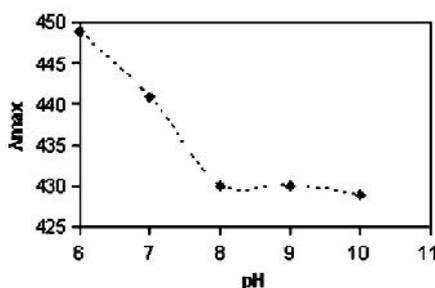
3.2.1 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนสามารถควบคุมได้ด้วยการเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลาย โดย pH ที่เปลี่ยนไปของสารละลายนั้นจะส่งผลต่อประจุทางไฟฟ้าของสารชีวโมเลกุล ซึ่งมีผลต่อ

ความสามารถในการเป็นสารให้ความคงตัวและเป็นสารให้ความเสถียร นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการฟอร์มตัวของอนุภาคเงินนาโนอีกด้วย ยกตัวอย่างเช่น Sathishkumar และคณะ (2010) สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดขมิ้น (*Curcuma longa*) พบว่าที่ pH สูง อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จะมีขนาดเล็ก

กว่าการสังเคราะห์ที่ pH ต่ำ ในขณะที่ Tripathy และคณะ (2010) สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดที่ได้จากใบสะเดา (*Azadirachta indica*) พบว่าเมื่อปรับ pH ให้อยู่ในช่วงที่เป็นเบสจะทำให้อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้มีขนาดเล็กกว่าการสังเคราะห์ที่ใช้ช่วง pH ที่เป็นกรด ซึ่งผู้วิจัยได้เสนอว่าช่วง pH ที่เป็นเบสจะมีประจุของ OH^- อยู่มากทำให้เกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้ามากขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มความเสถียรให้กับอนุภาคเงินนาโน ส่งผลให้การรวมตัวกันของอนุภาคเงินนาโนเกิด

น้อยลง ในขณะที่ช่วง pH ที่เป็นกรดนั้นอนุภาคเงินนาโนจะเกิดการรวมตัวกันมากขึ้น อาจเกิดเนื่องมาจากการฟอร์มตัวของอนุภาคเงินนาโนในขั้นตอนการเกิดนิวเคลียสเกิดขึ้นได้ดี ทำให้เกิดการฟอร์มตัวเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งอนุภาคที่มีขนาดใหญ่จะสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่มากกว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก ทำให้ที่ pH ที่สูงขึ้นอนุภาคเงินนาโนจะสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่น้อยลง ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดที่เล็กลงแสดงดังรูปที่ 3

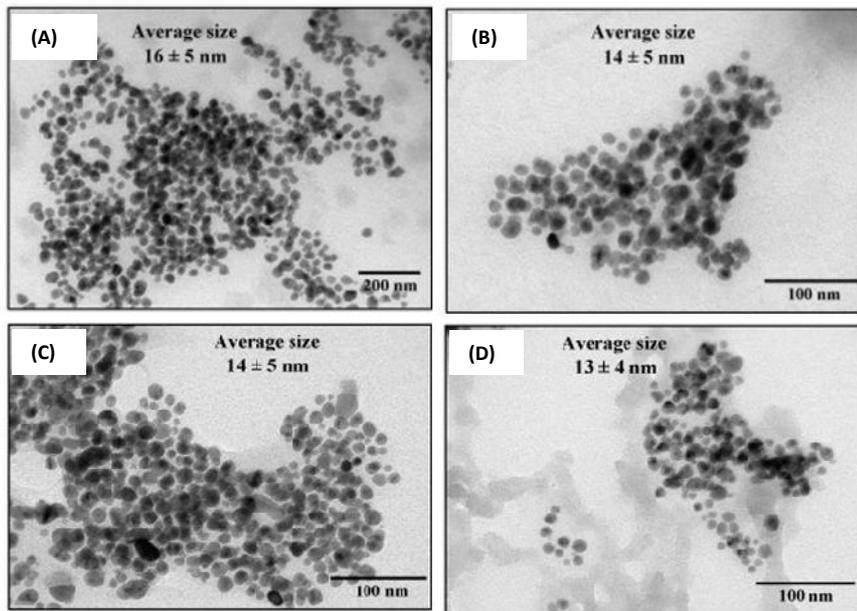


รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า λ_{max} กับ pH ของปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบสะเดากับสารละลาย 0.01 M AgNO_3 ที่ไว้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (Tripathy et al., 2010)

3.2.2 ผลของอัตราส่วนระหว่างสารสกัดจากพืชกับความเข้มข้นของเกลือโลหะ

ความเข้มข้นของสารตั้งต้นส่งผลต่อการฟอร์มตัวของอนุภาคเงินนาโนเนื่องจากการขั้นตอนการเกิดนิวเคลียสขึ้น อนุภาคเงินนาโนจะเกิดการฟอร์มตัวขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสม นอกจากนี้สารสกัดจากพืชยังส่งผลต่อความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันและการเป็นสารให้ความเสถียร ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างสารสกัดจากพืชกับความเข้มข้นของเกลือโลหะจึงมีผลต่อขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโน ยกตัวอย่างเช่น Prathna และคณะ (2011) สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากเลมอน (*Citrus limon*) พบว่าอนุภาคเงินนาโนมีขนาด

เล็กลงเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารสกัดกับสารละลายของเกลือโลหะ ซึ่งผู้วิจัยสันนิษฐานว่าเมื่อปริมาณสารสกัดจากพืชเพิ่มมากขึ้น จะส่งผลให้ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของสารที่เป็นตัวรีดิวซ์เพิ่มมากขึ้น ทำให้อิเล็กตรอนอิสระและประจุบนพื้นผิวของโลหะเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ขนาดของอนุภาคเล็กลง เช่นเดียวกันกับ Cruz และคณะ (2010) ทำการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดจากใบเลมอนเวอปีน่า (*Lippia citriodora*) พบว่าอนุภาคเงินนาโนมีขนาดเล็กลง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารสกัดกับสารละลายของโลหะ โดยการเพิ่มปริมาณสารสกัดเป็น 5, 6, 7.5 และ 10 mL ดังแสดงในรูปที่ 4

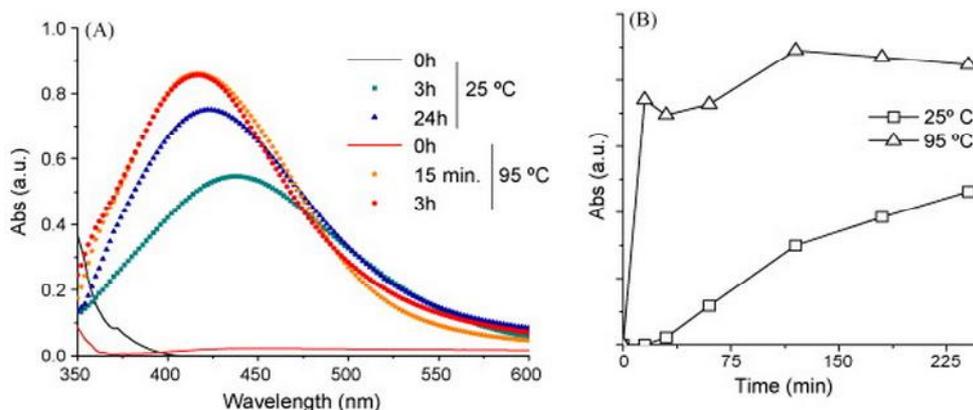


รูปที่ 4 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของอนุภาคเงินนาโนหลังจากใช้ปริมาณสารสกัด *L. citriodora*, (A) 5 mL; (B) 6 mL; (C) 7.5 mL; (D) 10 mL. เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปได้ 3 ชั่วโมง (Cruz et al., 2010)

3.2.3 ผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน โดยพบว่าการควบคุมอุณหภูมิในการสังเคราะห์จะส่งผลโดยตรงกับขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโน ยกตัวอย่างเช่น Lukman และคณะ (2011) ได้รายงานว่าน้ำยางที่ได้จากเมล็ดถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 30°C เท่านั้น เพราะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30°C สารที่มีหน้าที่ในการควบคุมรูปร่างจะถูกยับยั้ง ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนได้ Lin และคณะ (2010) พบว่าถ้าสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดจากใบราชพฤกษ์ (*Cassia fistula*) ที่อุณหภูมิ 25°C อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จะมีลักษณะเป็นแท่ง ในขณะที่ถ้าสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 60°C อนุภาคเงินนาโนที่ได้จะมีรูปร่างเป็นทรงกลมและเป็นแท่ง งานวิจัยของ Cruz

และคณะ (2010) ได้สังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากเลมอนเวอปีน่า (*Lippia citriodora*) จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อขนาดของอนุภาคเงินนาโน แสดงดังรูปที่ 5 (A) ที่อุณหภูมิ 95°C ค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคเงินนาโนจะเลื่อนไปที่ความยาวคลื่นที่น้อยกว่า นั่นแสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 95°C อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้จะมีขนาดเล็กกว่าอนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยารีดักชันคือเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นปฏิกิริยารีดักชันจะเกิดได้เร็วขึ้น แสดงดังรูปที่ 5(B) จะเห็นว่า ณ เวลาการเกิดปฏิกิริยาเท่ากัน ปฏิกิริยาที่เกิดที่อุณหภูมิ 95°C จะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C นั่นแสดงว่ามีอนุภาคเงินนาโนเกิดขึ้นมากกว่า แต่อย่างไรก็ตามหลายงานวิจัยพบว่าการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืชสามารถเกิดได้ดีที่อุณหภูมิ 25°C



รูปที่ 5 ผลของเวลาและอุณหภูมิที่มีผลต่อการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโน (A) ยูวี-วิสิเบิลสเปกตร้าของปฏิกิริยาระหว่าง สารละลาย 1 mM AgNO_3 5 mL กับสารสกัดเลมอนเวอปีน่า (*Lippia citriodora*) 5 mL ที่เวลาแตกต่างกันและที่อุณหภูมิ 25 °C และ 95 °C. (B) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาของปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย 1 mM AgNO_3 5 mL กับสารสกัดจากเลมอนเวอปีน่า (*Lippia citriodora*) 5 mL ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 95 °C (Cuz et al., 2010)

3.3 กลไกการสังเคราะห์

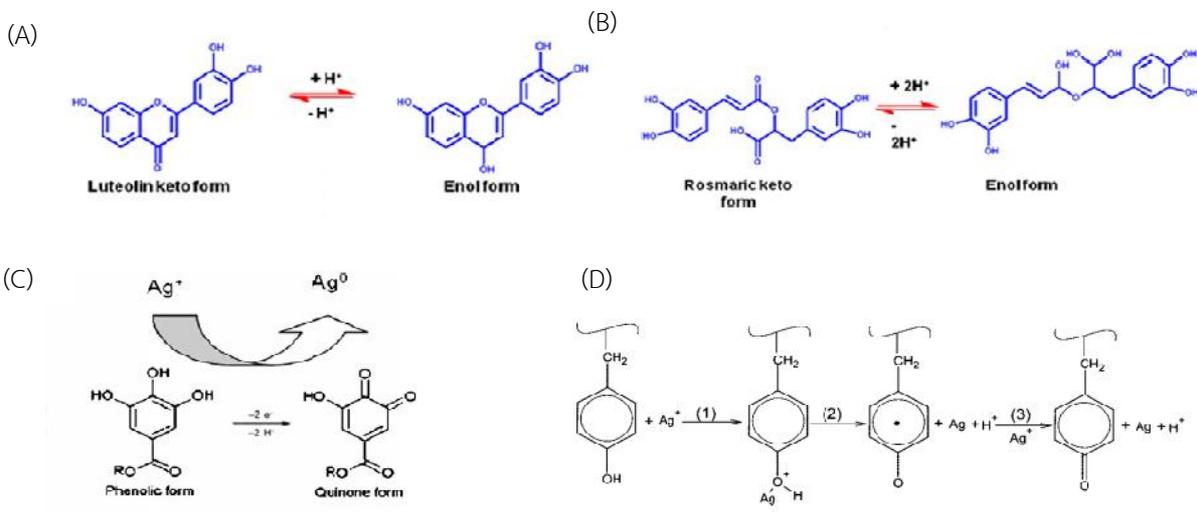
ในปัจจุบันมีนักวิจัยให้ความสนใจเกี่ยวกับ การสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากพืชเพิ่มมากขึ้น แม้ว่าจะยังไม่ทราบกลไกการสังเคราะห์ที่แน่นอน แต่ก็มีข้อสันนิษฐานว่าสารประกอบที่อยู่ในสารสกัดจากพืชเช่น วิตามิน กรดอินทรีย์ พอลิแซ็กคาไรด์ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลแอลคาลอยด์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต มีส่วนช่วยในการรีดิวซ์และทำหน้าที่เป็น สารให้ความคงตัว (Ahmad et al., 2010) จากการศึกษาด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปีพบว่า สารเหล่านี้มีหมู่ไฮดรอกซิล คาร์บอนิล และเอมีน ซึ่งหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้มีบทบาทในการรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออน นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นสารให้ความคงตัวซึ่งช่วยให้ อนุภาคเงินนาโนมีความเสถียรมากขึ้นและช่วยไม่ให้เกิด การรวมตัวของอนุภาคเงินนาโนกลายเป็นอนุภาคที่มี ขนาดใหญ่

สารที่มีบทบาทในการเป็นตัวรีดิวซ์เช่น ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นโมเลกุลโพลีฟีนอลที่ประกอบไปด้วย

คาร์บอน 15 อะตอม ละลายน้ำได้ แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ได้แก่ ซาลิโคน ฟลาโวน ฟลาโวนอล ฟลาโวนอน แอนโทไซยานินและไอโซฟลาโวนอยด์ Ahmad และคณะ (2010) เสนอว่า Luteolin ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกลุ่มของฟลาโวน สามารถถูกดูดซับบนพื้นผิวของอนุภาคนาโนและเกิดอันตรกิริยาขึ้น กลไกภายในที่เกิดขึ้นคือการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลให้เป็นคาร์บอนิลทำให้เกิด reactive hydrogen ที่มีบทบาทในการเปลี่ยน Ag^+ ให้เป็น Ag^0 แสดงในรูปที่ 6(A) นอกจากนี้ยังพบว่า rosmarinic acid เป็น ฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในพืช มีหมู่ไฮดรอกซิลสองหมู่ที่อยู่ในรูป enol ที่มีความเสถียรต่ำทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปที่เสถียรกว่าคือรูป keto ส่งผลให้เกิด reactive hydrogen ขึ้นซึ่งมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนแสดงดังรูปที่ 6(B) สาร Phenolic แสดงดังรูป 6(C) เป็นโมเลกุลที่มีหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์แล้วถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปคลิโนพร้อมกับให้อิเล็กตรอนออกมา ซึ่งจะทำหน้าที่รีดิวซ์ซิล

เวอร์ไอออนให้กลายเป็นอนุภาคเงินนาโน นอกจากนี้โปรตีนก็มีบทบาทในการรีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนเช่นงานวิจัยของ Xie และคณะ (2007) ได้สันนิษฐานว่าโปรตีนจากสาหร่ายที่มีหมู่ไทโรซีน กลไกแสดงดังรูปที่ 6(D) ซึ่งกลไกนี้ประกอบด้วยสามขั้นตอนคือ 1) ซิลเวอร์ไอออนซึ่งเป็น Lewis acid จะจับกับอิเล็กตรอนคูโดดเดี่ยวบนออกซิเจนของไทโรซีน จากนั้น Ag^+ จะรับอิเล็กตรอนจาก ไทโรซีนและเปลี่ยนเป็น Ag^0 2) ไทโรซีนที่มีประจุบวกจะเกิดการย้ายของอิเล็กตรอนอิสระภายในวงอะโรมาติกซึ่งเป็นขั้นตอนที่ช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับโมเลกุล จากนั้นซิลเวอร์ไอออนจะจับกับออกซิเจนบน tyrosyl radical 3) ซิลเวอร์ไอออนจะถูก

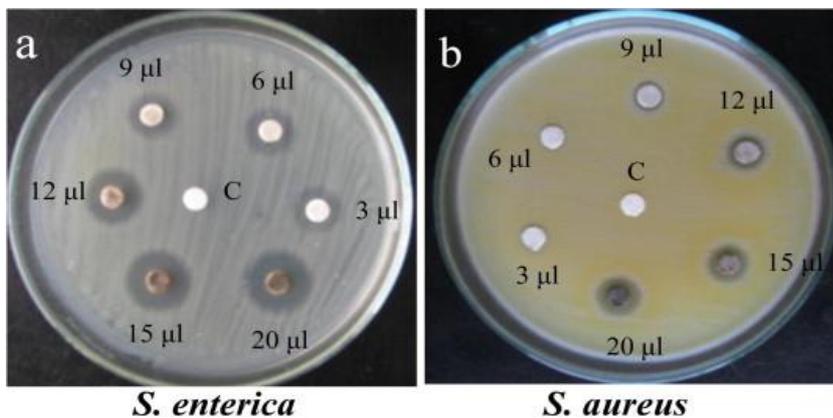
รีดิวซ์พร้อมกับให้โปรตอนออกมา ทำให้สารเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เสถียรขึ้น กลไกการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากพืชอย่างง่ายแสดงดังรูปที่ 7 ซึ่งประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอน 1) ซิลเวอร์ไอออนจะถูกรีดิวซ์จากสารสกัดจากพืชและเกิดเป็นนิวคลีโอ 2) นิวคลีโอของซิลเวอร์จะเกิดการเติบโตขึ้นกลายเป็นอนุภาคเงินนาโน 3) ในระหว่างที่มีการเติบโตของนิวเคลียสมากขึ้นอนุภาคเงินนาโนจะเกิดการรวมตัวกันเป็นรูปร่างต่างๆ เช่น nanotubes, nanoprisms, nanohexahedrons เป็นต้น นอกจากนี้สารที่มีอยู่ในพืชยังทำหน้าที่ช่วยให้อนุภาคเงินนาโนมีความเสถียรอีกด้วย (Makarov et al., 2014)



รูปที่ 6 สารที่มีบทบาทเป็นตัวรีดิวซ์ (A) luteolin (B) rosmarinic acid (Gan et.al., 2012) (C) Phenolic (Durán et.al., 2012) และ (D) Tyrosine residue (Xie et.al., 2007)

ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากใบแค (*Sesbania grandiflora*) พบว่าสามารถต้านเชื้อ *Salmonella enterica* (gram-negative) และ *Staphylococcus aureus* (gram-positive) โดยสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าสังเกตได้จากขอบเขตของการยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 10 mm แสดงดังรูปที่ 8 Singh และคณะ (2013) สังเคราะห์ อนุภาคเงินนาโนจากสารสกัดจากใบ โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*) และ

ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* และ *Cryptococcus neoformans* ผู้วิจัยได้เปรียบเทียบความสามารถในการต้านเชื้อราของ fluconazole และ itraconazole ที่ใช้เป็นยาต้านเชื้อรา กับ fluconazole และ itraconazole ที่มีการผสมรวมกับอนุภาคเงินนาโน พบว่ายาต้านเชื้อราทั้งสองชนิดที่มีการผสมรวมกับอนุภาคเงินนาโนมีความสามารถในการต้านเชื้อราทุกชนิดได้ดีกว่าแบบที่ไม่ได้ผสมกับอนุภาคเงินนาโน



รูปที่ 8 ขอบเขตการยับยั้งเชื้อ (a) *Salmonella enterica* และ (b) *Staphylococcus aureus* ของอนุภาคเงินนาโน (Das et al., 2013)

5. สรุป

บทความนี้ได้นำเสนอวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนวิธีการต่างๆ โดยมุ่งเน้นการนำเสนอวิธีการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนด้วยสารสกัดจากพืช เนื่องจากเป็นวิธีการสังเคราะห์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ต้นทุนต่ำ และมีขั้นตอนการสังเคราะห์ที่ง่าย สามารถควบคุมขนาดและรูปร่างของอนุภาคเงินนาโนได้ด้วยการปรับเปลี่ยนปัจจัยต่างๆ เช่น pH ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชกับเกลือโลหะ และอุณหภูมิ เป็นต้น สำหรับกลไกการสังเคราะห์อนุภาคเงินนาโนจากพืชนั้น

ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ก็มีนักวิจัยได้นำเสนอกลไกการสังเคราะห์ที่น่าจะเป็นไปได้หลายวิธี นอกจากนี้อนุภาคเงินนาโนที่สังเคราะห์ได้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพื่อพัฒนาไปเป็นสารที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Ahamed, M., Majeed Khan, M. A., Siddiqui, M. K. J., AlSalhi, M. S., and Alrokayan, S. A. (2011). Green synthesis characterization and

- evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. *Physica E: Low dimensional Systems and Nanostructures* 43(6): 1266-1271.
- Ahmad, N., Sharma, S., Alam, M. K., Singh, V. N., Shamsi, S. F., Mehta, B. R., and Fatma, A. (2010). Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 81(1): 81-86.
- Andreeva, D. (2002). Low temperature water gas shift over gold catalysts. *Gold Bulletin* 35(3): 82-88.
- Antony, J. J., Sithika, M. A. A., Joseph, T. A., Suriyakalaa, U., Sankarganesh, A., Siva, D., and Achiraman, S. (2013). In vivo antitumor activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Ficus religiosa* as a nanofactory in DAL induced mice model. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 108: 185-190.
- Arunachalam, K. D., and Annamalai, S. K. (2013). *Chrysopogon zizanioides* aqueous extract mediated synthesis, characterization of crystalline silver and gold nanoparticles for biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine* 8: 2375-2384.
- Arunachalam, R., Dhanasingh, S., Kalimuthu, B., Uthirappan, M., Rose, C., and Mandal, A. B. (2012). Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Coccinia grandis* leaf extract and its application in the photocatalytic degradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 94: 226-230.
- Balaji, D. S., Basavaraja, S., Deshpande, R., Mahesh, D. B., Prabhakar, B. K., and Venkataraman, A. (2009). Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 68(1): 88-92.
- Bankar, A., Joshi, B., Kumar, A. R., and Zinjarde, S. (2010). Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 368(1-3): 58-63.
- Bar, H., Bhui, D. K., Sahoo, G. P., Sarkar, P., De, S. P., and Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 339(1-3): 134-139.
- Bindhu, M. R., Sathe, V., and Umadevi, M. (2013). Synthesis, characterization and SERS activity of biosynthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 115: 409-415.
- Chen, X., Yan, J.-K., and Wu, J.-Y. (2016). Characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles prepared with a fungal exopolysaccharide in water. *Food Hydrocolloids* 53: 69-74.
- Cruz, D., Fale, P. L., Mourato, A., Vaz, P. D., Serralheiro, M. L., and Lino, A. R. (2010). Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 81(1): 67-73.
- Das, J., Paul Das, M., and Velusamy, P. (2013). *Sesbania grandiflora* leaf extract mediated green synthesis of antibacterial silver nanoparticles against selected human pathogens. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 104: 265-270.

- Du, L., Xu, Q., Huang, M., Xian, L., and Feng, J.-X. (2015). Synthesis of small silver nanoparticles under light radiation by fungus *Penicillium oxalicum* and its application for the catalytic reduction of methylene blue. *Materials Chemistry and Physics* 160: 40-47.
- Dwivedi, A. D., and Gopal, K. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 369(1-3): 27-33.
- Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T., and Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6(1): 103-109.
- Gan, P. P., and Li, S. F. Y. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 11(2): 169-206.
- Ghosh, S., Patil, S., Ahire, M., Kitture, R., Kale, S., Pardesi, K., and Chopade, B. A. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine* 7: 483-496.
- Guidelli, E. J., Ramos, A. P., Zaniquelli, M. E. D., and Baffa, O. (2011). Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 82(1): 140-145.
- Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Venkataraman, D., Pandian, S. R. K., Muniyandi, J., and Eom, S. H. (2009). Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74(1): 328-335.
- Joshi, P. A., Bonde, S. R., Gaikwad, S. C., Gade, A. K., Abd-El Salam, K., and Rai, M. K. (2013). Comparative Studies on Synthesis of Silver Nanoparticles by *Fusarium oxysporum* and *Macrophomina phaseolina* and Its Efficacy Against Bacteria and *Malassezia furfur*. *Journal of Bionanoscience* 7(4): 378-385.
- Kalishwaralal, K., Deepak, V., Ram Kumar Pandian, S., Kottaisamy, M., BarathManiKanth, S., Kartikeyan, B., and Gurunathan, S. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 77(2): 257-262.
- Kamaraj, C., Rajakumar, G., Rahuman, A. A., Velayutham, K., Bagavan, A., Zahir, A. A., and Elango, G. (2012). Feeding deterrent activity of synthesized silver nanoparticles using *Manilkara zapota* leaf extract against the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Parasitology Research* 111(6): 2439-2448.
- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., and Srinivasan, K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus *sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 79(3): 594-598.
- Kim, Y., Johnson, R. C., and Hupp, J. T. (2001). Gold Nanoparticle-Based Sensing of "Spectro-

- scopically Silent” Heavy Metal Ions. *Nano Letters* 1(4): 165-167.
- Kumar, V., and Yadav, S. K. (2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 84(2): 151-157.
- Lin, L., Wang, W., Huang, J., Li, Q., Sun, D., Yang, X., and Wang, Y. (2010). Nature factory of silver nanowires: Plant-mediated synthesis using broth of *Cassia fistula* leaf. *Chemical Engineering Journal* 162(2): 852-858.
- Loo, Y. Y., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., and Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia Sinensis*. *International Journal of Nanomedicine* 7: 4263-4267.
- Lukman, A. I., Gong, B., Marjo, C. E., Roessner, U., and Harris, A. T. (2011). Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. *Journal of Colloid and Interface Science* 353(2): 433-444.
- Mafuné, F., Kohno, J.-y., Takeda, Y., and Kondow, T. (2002). Full Physical Preparation of Size-Selected Gold Nanoparticles in Solution: Laser Ablation and Laser-Induced Size Control. *The Journal of Physical Chemistry B* 106(31): 7575-7577.
- Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I.V., Taliansky, M.E., and Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae* 6(1): 35-44.
- Marciano, A., Chefetz, B., and Gedanken, A. (2008). Differential adsorption of silver nanoparticles to the inner and outer surfaces of the *Agave Americana* cuticle. *The Journal of Physical Chemistry C* 112(46): 18082-18086.
- Mishra, A., Tripathy, S. and Yun, S. (2011). Bio-synthesis of gold and silver nanoparticles from *Candida guilliermondii* and their antimicrobial effect against pathogenic bacteria. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 11(1): 243-248.
- Montazer, M., and Seifollahzadeh, S. (2011). Enhanced self-cleaning, antibacterial and UV protection properties of nano TiO₂ treated textile through enzymatic pretreatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 87(4): 877-883.
- Mukunthan, K. S., Elumalai, E. K., Patel, T. N., and Murty, V. R. (2011). *Catharanthus roseus*: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1(4): 270-274.
- Nabikhan, A., Kandasamy, K., Raj, A., and Alikunhi, N. M. (2010). Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Colloids and Surfaces B: biointerfaces* 79(2): 488-493.
- Nanda, A., and Saravanan, M. (2009). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 5(4): 452-456.
- Narayanan, K. B., and Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science* 156(1-2): 1-13.
- Pani, A., Lee, H. J., and Yoon, S., (2016). Autoclave mediated one-pot-one-minute synthesis of AgNPs and Au-Ag nanocomposite from

- Melia azedarach bark extract with antimicrobial activity against food pathogens: Chemistry Central Journal 10(15): 1-11.
- Philip, D. (2011). Mangifera Indica leaf-assisted biosynthesis of well- dispersed silver nanoparticles. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 78(1): 327-331.
- Prathna, T. C., Chandrasekaran, N., Raichur, A. M., and Mukherjee, A. (2011). Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by Citrus limon (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 82(1): 152-159.
- Raghunandan, D., Mahesh, B., Basavaraja, S., Balaji, S. D., Manjunath, S. Y., and Venkataraman, A. (2011). Microwave-assisted rapid extracellular synthesis of stable bio-functionalized silver nanoparticles from guava (Psidium guajava) leaf extract. Journal of Nanoparticle Research 13(5): 2021-2028.
- Sahu, N., Soni, D., Chandrashekhar, B., Sarangi, B., Satpute, D., and Pandey, R. (2013). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using Cynodon dactylon leaves and assessment of their antibacterial activity. Bioprocess and Biosystems Engineering 36(7): 999-1004.
- Sathishkumar, G., Gobinath, C., Karpagam, K., Hemamalini, V., Premkumar, K., and Sivaramakrishnan, S. (2012). Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using Morinda citrifolia L. and its inhibitory activity against human pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 95: 235-240.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., and Yun, Y.-S. (2010). Immobilization of silver nanoparticles synthesized using Curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. Bioresource Technology 101(20): 7958-7965.
- Saxena, A., Tripathi, R.M. and Singh, R.P. (2010). Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (Allium cepa) extract and their antibacterial activity. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 5(2): 427-432.
- Shameli, K., Ahmad, M. B., Zamanian, A., Sangpour, P., Shabanzadeh, P., Abdollahi, Y., and Zargar, M. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles using Curcuma longa tuber powder. International Journal of Nanomedicine 7: 5603-5610.
- Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., and Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. Journal of Colloid and Interface Science 275(2): 496-502.
- Sheny, D. S., Mathew, J., and Philip, D. (2011). Phytosynthesis of Au, Ag and Au-Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of Anacardium occidentale. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 79(1): 254-262.
- Singh, M., Kumar, M., Kalaivani, R., Manikandan, S., and Kumaraguru, A. K. (2013). Metallic silver nanoparticle: a therapeutic agent in combination with antifungal drug against human fungal pathogen. Bioprocess and Biosystems Engineering 36(4): 407-415.
- Sintubin, L., De Windt, W., Dick, J., Mast, J., van der Ha, D., Verstraete, W., and Boon, N. (2009). Lactic acid bacteria as reducing and capping

- agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84(4): 741-749.
- Sintubin, L., Verstraete, W., and Boon, N. (2012). Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives. *Biotechnology and Bioengineering* 109(10): 2422-2436.
- Subba Rao, Y., Kotakadi, V. S., Prasad, T. N. V. K. V., Reddy, A. V., and Sai Gopal, D. V. R. (2013). Green synthesis and spectral Characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 103: 156-159.
- Tripathy, A., Raichur, A., Chandrasekaran, N., Prathna, T. C., and Mukherjee, A. (2010). Process variables in biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves. *Journal of Nanoparticle Research* 12(1): 237-246.
- Veerasamy, R., Xin, T. Z., Gunasagaran, S., Xiang, T. F. W., Yang, E. F. C., Jeyakumar, N., and Dhanaraj, S. A. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Saudi Chemical Society* 15(2): 113-120.
- Vivek, R., Thangam, R., Muthuchelian, K., Gunasekaran, P., Kaveri, K., and Kannan, S. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Process Biochemistry* 47(12): 2405-2410.
- Wang, J. C., Neogi, P., and Forciniti, D. (2006). On one-dimensional self-assembly of surfactant-coated nanoparticles. *The Journal of Chemical Physics* 125(19): 194717-6
- Xie, J., Lee, J. Y., Wang, D. I. C., and Ting, Y. P. (2007). Silver Nanoplates: From Biological to Biomimetic Synthesis. *ACS Nano* 1(5): 429-439.
- Yuvarajan, R., Natarajan, D., Ragavendran, C., and Jayavel, R. (2015). Photoscopic characterization of green synthesized silver nanoparticles from *Trichosanthes tricuspidata* and its antibacterial potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 149: 300-307.
- Zargar, M., Hamid, A. A., Bakar, F. A., Shamsudin, M. N., Shameli, K., Jahanshiri, F., and Farahani, F. (2011). Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using vitex negundo L. *Molecules* 16(8): 6667-6676.
- Zhang, H., Li, Q., Lu, Y., Sun, D., Lin, X., Deng, X., and Zheng, S. (2005). Biosorption and bioreduction of diamine silver complex by *Corynebacterium*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 80(3): 285-290.
- Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., and Hupka, J., (2009). Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chemistry* 1: 1560-1566.

