

# NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP NANO BẠC SỬ DỤNG DỊCH CHIẾT TỪ CỦ NGHỆ TƯƠI (*Curcuma Longa* L.) VÀ KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN *Vibrio Parahaemolyticus*

Võ Văn Quốc Bảo<sup>1\*</sup>, Lê Thị Kim Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Phương Nga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế;

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Công nghiệp Huế.

\*Tác giả liên hệ: vovanquocbao@huaf.edu.vn

Nhận bài: 25/03/2022 Hoàn thành phản biện: 03/05/2022 Chấp nhận bài: 24/05/2022

## TÓM TẮT

Công nghệ nano xanh có những ứng dụng đáng kể trong các lĩnh vực khoa học nông nghiệp-thực phẩm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tổng hợp các hạt nano bạc từ tiền chất là AgNO<sub>3</sub>, sử dụng dịch chiết từ củ nghệ tươi làm tác nhân khử và alginate như là chất hoạt động bề mặt. Sự hình thành các hạt nano bạc được quan sát bằng sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp phản ứng từ vàng nhạt sang nâu đỏ. Các hạt nano bạc tổng hợp được khảo sát bằng cách sử dụng quang phổ UV-Vis, phân tích TEM và SEM. Kết quả đo phổ UV-Vis cho thấy đỉnh hấp thụ cực đại trong khoảng 416 nm. Phân tích TEM và SEM khẳng định các hạt nano bạc tổng hợp có dạng hình cầu với kích thước hạt khoảng (10 - 45) nm khi sử dụng 20 mL dịch chiết củ nghệ tươi. Các hạt nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ tươi đã ức chế hiệu quả sự phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Hoạt động diệt khuẩn của các hạt nano bạc đối với *V. parahaemolyticus* được thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn từ 6,84 đến 16,70 mm tương ứng nồng độ khảo sát từ 6,25 đến 200 ppm.

**Từ khóa:** Dịch chiết củ nghệ tươi, Nano bạc, *Vibrio parahaemolyticus*

## SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING EXTRACTS FROM FRESH TURMERIC (*Curcuma Longa* L.) AND ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *Vibrio Parahaemolyticus*

Vo Van Quoc Bao<sup>1\*</sup>, Le Thi Kim Anh<sup>1</sup>, Nguyen Thi Phuong Nga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Agriculture and Forestry, Hue University;

<sup>2</sup>Hue Industrial College.

## ABSTRACT

Green nanotechnology has significant applications in the fields of agro-food science. In this study, we synthesized silver nanoparticles from AgNO<sub>3</sub>, using fresh turmeric extract as reducing agent and alginate as surfactant. The formation of silver nanoparticles was observed by the color change of the reaction mixture from light yellow to reddish-brown. and they were investigated using UV-Vis spectroscopy, TEM, and SEM analysis. The UV-Vis spectrometer showed a maximum absorption peak in the range of 416 nm. TEM and SEM analysis confirmed that the synthesized silver nanoparticles were spherical with a particle size of about (10 - 45) nm when using 20 mL of fresh turmeric extract. Silver nanoparticles synthesized from fresh turmeric extract effectively inhibited the growth of *V. parahaemolyticus*. The bactericidal activity of silver nanoparticles against *V. parahaemolyticus* is shown through the antibacterial ring diameter from 6,84 to 16,70 mm, the concentration of silver nanoparticles from 6,25 to 200 ppm (corresponding).

**Keywords:** Turmeric extract, Silver nanoparticles, *Vibrio parahaemolyticus*

## 1. MỞ ĐẦU

Công nghệ nano được ứng dụng khá rộng rãi trong đời sống và hứa hẹn mở ra một cuộc sống hiện đại hơn. Trong những năm qua, nhiều nano kim loại đặc biệt là nano bạc đã được nghiên cứu và ứng dụng vào nhiều lĩnh vực khoa học và công nghệ nano (Song và cs., 2009), (Veisi và cs., 2019). Tổng hợp nano bạc là một lĩnh vực nghiên cứu rộng do các ứng dụng độc đáo của nó như tạo hợp chất xúc tác, khả năng kháng khuẩn (Awwad và cs., 2020), xử lý nguồn nước sinh hoạt và nuôi trồng thủy sản (Zhang và cs., 2013). Một số quy trình vật lý và hóa học đang được áp dụng để tổng hợp nano bạc nhưng những cách tiếp cận này có khả năng gây độc cho môi trường, sử dụng nhiều năng lượng, tốn kém (Okafor và cs., 2013). Để giải quyết những vấn đề này, nhiều phương pháp sinh học đã được nghiên cứu thay thế bằng cách sử dụng nguồn vi sinh vật và các chất chiết xuất từ thực vật thân thiện với môi trường (Konishi và cs., 2007). Tuy nhiên, việc sử dụng vi sinh vật để tổng hợp nano bạc tốn rất nhiều thời gian so với chiết xuất từ thực vật do cần phải có các kỹ thuật phân lập và chuẩn bị nuôi cấy,... (Alaraidh và cs., 2014). Chính vì vậy, quá trình sinh tổng hợp nano bạc sử dụng các chất chiết xuất từ thực vật làm chất khử và được quan tâm nhiều hơn (Ahmed và cs., 2016). Từ năm 2010, Elumalai và cs., đã tổng hợp nano bạc từ dịch chiết cây cỏ sữa (*Euphorbia hirta* L.) và khảo sát khả năng kháng khuẩn. Các nhà nghiên cứu đã tổng hợp nano bạc bằng cách sử dụng chiết xuất từ lá thực vật càng được đánh giá cao, từ dịch chiết lá thuốc lá (Prasad và cs., 2011), lá chà là (Rauf và cs., 2014), lá thị (Taranath và cs., 2015), lá yền mạch (Amini và cs., 2017), lá quả hồng (Veisi và cs., 2019), lá hoa nhài (Elhawary và cs., 2020), hoa hải đăng (Mathivathani và Kavishadhi, 2021). Ưu điểm chính của việc sử dụng chiết xuất

thực vật để tổng hợp nano bạc là không yêu cầu năng lượng cao, hóa chất độc hại và quan trọng nhất là rẻ, dễ kiếm, dễ mở rộng quy mô, không độc hại, đơn giản và an toàn.

Mục đích của nghiên cứu này là tổng hợp được nano bạc thân thiện với môi trường bằng cách sử dụng chiết xuất củ nghệ tươi như là một chất khử và chất hoạt động bề mặt, cũng như đánh giá tiềm năng kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm chân trắng trong ngành nuôi trồng thủy sản.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nitrat bạc ( $\text{AgNO}_3$ ) được mua từ Sigma-Aldrich Chemical Co. (Mỹ)

Chuẩn bị chiết xuất nghệ: Củ nghệ tươi (*Curcuma longa* L.) được thu nhận từ xã Thủy Biều thành phố Huế, rửa sạch loại bỏ các tạp chất. Sau khi làm sạch vỏ, vật liệu được cắt thành miếng nhỏ và nghiền mịn với nước cất (20 g mẫu trong 100 mL nước cất). Dịch chiết thu nhận được sau khi lọc kỹ bằng giấy lọc Whatman N<sup>o</sup> 1, lưu trữ ở 4 °C và sử dụng trong 24h.

Chủng vi khuẩn: Chủng gây bệnh thủy sinh điển hình *V. parahaemolyticus* (cung cấp bởi Khoa Thủy sản, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế) được sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn của nano bạc. Môi trường LB nuôi cấy vi khuẩn: tryptone 10 g, cao nấm men 5 g, NaCl 5 g, nước cất vừa đủ 1 lít. Môi trường thạch: thành phần như trên có bổ sung thêm 2% agar. Các môi trường trên được hấp khử trùng ở 121°C, 15 phút trước khi sử dụng.

### 2.2. Tổng hợp các hạt nano bạc

Quá trình sinh tổng hợp nano bạc sử dụng dịch chiết củ nghệ tươi (*Curcuma longa* L.) bằng cách nhỏ từ từ 10, 15, 20, 25 và 30 mL dịch chiết củ nghệ vào 150 mL

dung dịch  $\text{AgNO}_3$  (0,02M) trong bình tam giác 250 mL, khuấy liên tục và xử lý siêu âm ở  $30^\circ\text{C}$  trong 20 phút. Màu của hỗn hợp dung dịch được chuyển sang màu vàng nâu. Sau đó, bổ sung từ từ chất ổn định alginate nồng độ 1% vào dung dịch, rung siêu âm trong 20 phút ở điều kiện nhiệt độ phòng đến khi màu của dung dịch đồng nhất. Sản phẩm thu được bảo quản ở nhiệt độ phòng sau 24 giờ để ổn định.

### 2.3. Khảo sát tính chất đặc trưng của dung dịch nano bạc

#### Phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (UV-VIS)

Phép đo phổ UV-Vis được thực hiện bằng máy quang phổ UV1800 hiệu Shimadzu. Quang phổ từ 190 đến 1100 nm sẽ được quét để tìm đỉnh hấp thụ. Sự hình thành nano bạc được khẳng định bằng phương pháp đo phổ UV-Vis trong phạm vi bước sóng từ 350 đến 500 nm.

#### Phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM)

Hình thái học và kích thước vật liệu được quan sát trên kính hiển vi điện tử quét SEM (Scanning Electron Microscopy), loại S4800 của hãng Hitachi (Nhật Bản) tại Viện Khoa học vật liệu - Viện Hàn lâm & Khoa học công nghệ Việt Nam.

#### Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM)

Phương pháp TEM (transmission electron microscopy) có độ phân giải cao dùng để nghiên cứu hình thái, cấu trúc vật liệu nano. Các phân tích TEM về cấu trúc của vật liệu nano được thực hiện trên thiết bị JEM1010 (JEOL – Nhật Bản) có hệ số phóng đại  $M = 50 - 600.000$ , độ phân giải  $\delta = 3 \text{ \AA}$ , điện áp gia tốc  $U = 40-100 \text{ kV}$ , tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

### 2.4. Khả năng kháng khuẩn của dung dịch nano bạc đối với chủng *Vibrio parahaemolyticus*

Hoạt tính kháng khuẩn của dung dịch nano bạc được đánh giá trên chủng vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch theo tiêu chuẩn CLSI M07-A10, tái bản lần thứ 11 năm 2018 (CLSI, 2018). Chủng vi khuẩn sau khi được hoạt hóa từ ống chủng gốc trên môi trường LB đặc, khuẩn lạc được cấy chuyển sang môi trường LB lỏng và lắc trong khoảng 24 giờ ở nhiệt độ  $37^\circ\text{C}$ . Đĩa thử hoạt tính được chuẩn bị bằng cách cấy trải 200  $\mu\text{L}$  dịch khuẩn, nồng độ tương đương  $5 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$  (sử dụng máy quang phổ UV-vis ở bước sóng 600 nm để xác định mật độ vi khuẩn) lên bề mặt đĩa petri có chứa môi trường LB đặc, để khô và đục 9 giếng, đường kính khoảng 6 mm sao cho mỗi giếng cách nhau khoảng 2 - 3 cm. Sau đó dùng pipet man hút 100  $\mu\text{L}$  dung dịch nano bạc ở các nồng độ khác nhau: 0 (nước cất - đối chứng), 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 150, 200 ppm và Ciprofloxacin 200 ppm (đối chứng dương) vào các giếng thạch trên đĩa petri và giữ các đĩa thí nghiệm ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, Sau đó, ủ ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ.

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được đánh giá bằng cách xác định vùng ức chế vi sinh vật (ZOI) theo công thức (1).  $\text{ZOI (mm)} = D - d$  (1)

Trong đó: D: đường kính vùng ức chế, (mm), d: đường kính giếng thạch (mm). Thí nghiệm được lặp lại ba lần và lấy giá trị trung bình.

### 2.5. Xử lý số liệu

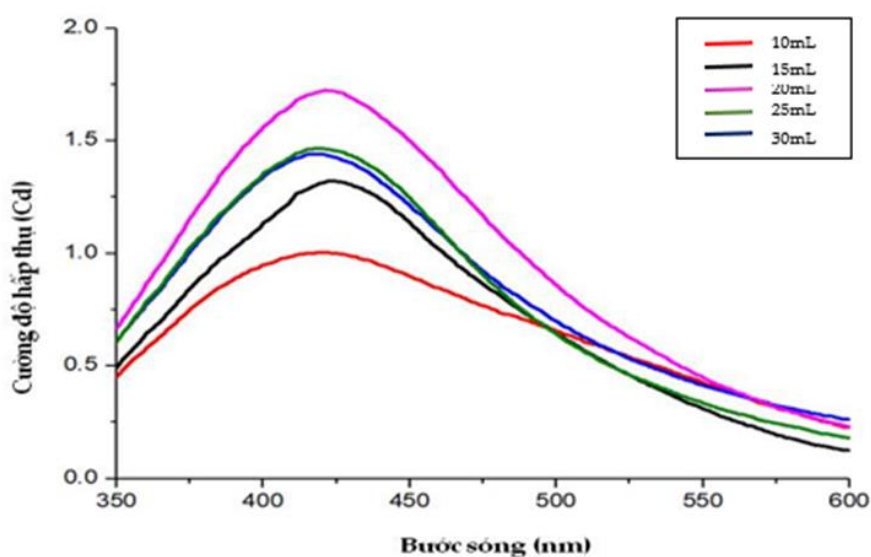
Sử dụng phương pháp phân tích phương sai trên phần mềm phần mềm Microsoft Excel 2013. Xử lý số liệu trên phần mềm SPSS 20 với độ tin cậy  $p < 0,05$  để so sánh sự sai khác có ý nghĩa giữa các giá trị trung bình của các số liệu thực nghiệm.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng lượng dịch chiết củ nghệ đến sự tổng hợp nano bạc

Kết quả thể hiện ở Hình 1 cho thấy lượng dịch chiết củ nghệ bổ sung để làm chất khử  $\text{AgNO}_3$  đã ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm nano bạc sau 20 phút siêu âm ở nhiệt độ  $30^\circ\text{C}$ . Lượng nano bạc tổng hợp tăng dần khi thể tích dịch chiết tăng từ 10 đến 20 mL, vị trí đỉnh hấp thụ ít thay đổi ( $\sim 416 \text{ nm}$ ) và đây cũng là khoảng dao động phổ UV-Vis đặc trưng của dung dịch nano bạc. Giá trị mật độ quang đạt cao

nhất 1,681 Cd tương ứng thể tích dịch chiết 20 mL. Khi tăng thể tích dịch chiết từ 25 đến 30 mL, giá trị mật độ quang giảm dần. Điều này cho thấy chất khử càng nhiều, phản ứng khử ion bạc xảy ra nhanh hơn, dẫn đến hiện tượng các hạt nano bạc tạo thành dễ bị keo tụ. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hồ Thị Phương và cs. (2019) khi chế tạo nano bạc từ dịch chiết củ gừng. Từ nhận định trên, thể tích dịch chiết củ nghệ sử dụng làm chất khử là 20 mL sẽ tổng hợp nano bạc có giá trị mật độ quang cao nhất.

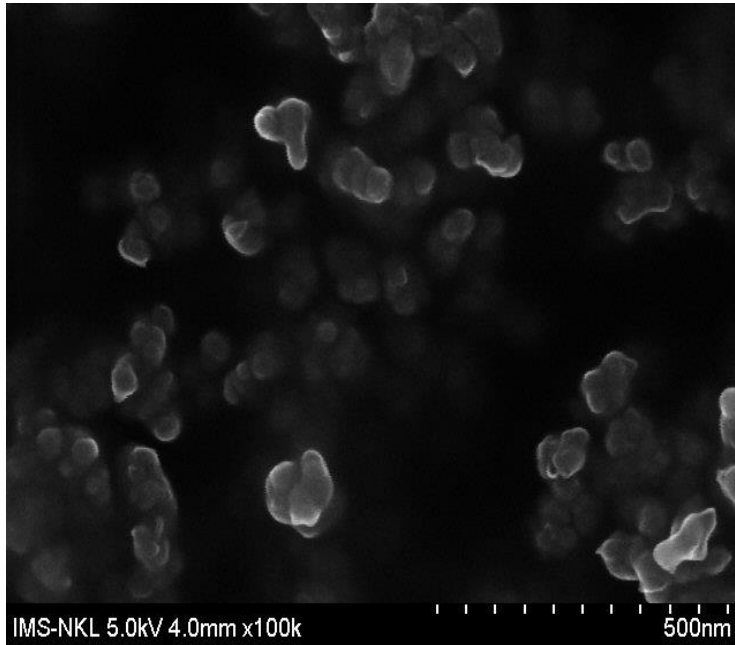


Hình 1. Phổ UV-VIS các mẫu nano bạc phụ thuộc lượng dịch chiết củ nghệ

#### 3.2. Đặc điểm của dung dịch nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ

Hình thái và kích thước của nano bạc được phân tích bởi SEM và TEM. Hình 2 cho thấy hình ảnh SEM của các hạt nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ có

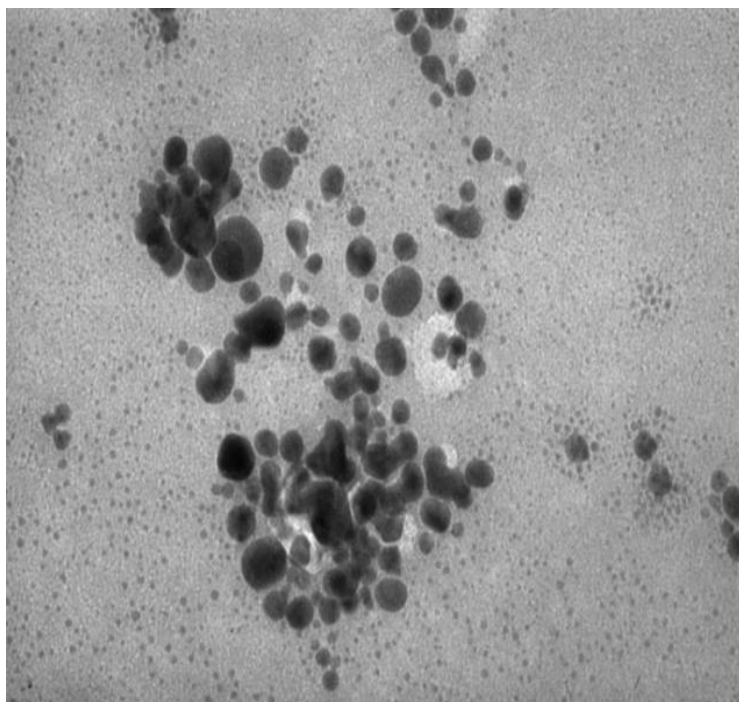
dạng hình cầu, kích thước hạt từ 30 - 50 nm và có xu hướng kết dính. Hiện tượng kết dính có thể được giải thích do sự hiện diện của alginate và các nhóm hydroxyl có trong dịch chiết xuất củ nghệ (Zangeneh và cs., 2019).



**Hình 2.** Ảnh SEM của nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ

Hình dạng, kích thước và sự phân tán các hạt nano bạc được xác định bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Hình 3 cho thấy các hạt nano bạc có dạng cầu với

kích thước hạt dao động từ 10 đến 45 nm. Kích thước các hạt này phù hợp với kết quả của phép đo SEM (Hình 2).



**Hình 3.** Ảnh TEM của nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ ở độ phóng đại 125KX

### 3.3. Ảnh hưởng của dung dịch nano bạc đến khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus*

Ảnh hưởng của dung dịch nano bạc đến khả năng sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được thể hiện thông qua hoạt tính ức chế bằng đường kính

kháng khuẩn. Sau 24 giờ theo dõi khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* trên môi trường LB đặc có bổ sung nano bạc ở các nồng độ khác nhau: 0 ppm (nước cất), 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 150, 200 ppm và Ciprofloxacin 200 ppm (đối chứng dương), kết quả thể hiện ở Bảng 1 và Hình 4.



**Hình 4.** Hoạt tính kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* của nano bạc

**Bảng 1.** Đường kính vòng kháng khuẩn của nano bạc đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Nồng độ nano bạc (ppm)	Đường kính vòng kháng khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> (M ± SD, mm)
6.3	6,84 <sup>b</sup> ± 1,61
12.5	8,52 <sup>b</sup> ± 2,84
25	9,97 <sup>bc</sup> ± 2,03
50	11,39 <sup>c</sup> ± 1,81
100	15,22 <sup>d</sup> ± 2,11
150	16,47 <sup>d</sup> ± 2,42
200	16,70 <sup>d</sup> ± 2,05
Ciprofloxacin	17,16 <sup>de</sup> ± 0,26
H <sub>2</sub> O	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00

*M* ± *SD*: Trung bình mẫu ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái <sup>a, b, c, d, e</sup> trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$

Nồng độ nano bạc khác nhau đều ảnh hưởng sự phát triển và ức chế vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Đường kính kháng khuẩn tăng dần tỷ lệ thuận nồng độ chế phẩm nano bạc. Sau 24 giờ ủ ở 37 °C, mẫu nước cất không thấy biểu hiện của vòng kháng khuẩn, nhưng khi tăng nồng độ nano bạc từ 6,25 đến 200 ppm vòng kháng khuẩn tăng tương ứng từ 6,84 mm đến 16,70 mm (Bảng 1). Nồng độ nano bạc từ 100 đến 200

ppm có khả năng kháng khuẩn cao, đường kính kháng khuẩn gần bằng mẫu đối chứng dương Ciprofloxacin, số liệu thu nhận được chưa thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Kết quả này cho thấy khả năng kháng khuẩn từ nano bạc tổng hợp từ dịch chiết củ nghệ tươi có khả năng thay thế Ciprofloxacin (kháng sinh điều trị nhiễm khuẩn đã bị cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản) là rất hữu hiệu. Cùng quan điểm,

nhóm tác giả Khan và Adil (2020) cho biết đã tổng hợp nano bạc từ dịch chiết cây *Fagonia indica* nhằm thay thế một phần Ciprofloxacin trong việc kiểm soát các vi khuẩn kháng thuốc như *E. coli*, *C. amalonaticus*, *S. sonnei* và *S. typhi*. Kết quả nghiên cứu của Latha và cs.. (2016), cũng đề cập đề khả năng kháng khuẩn *V. parahaemolyticus* từ dung dịch nano bạc được tổng hợp từ dịch chiết cây xuân tiết (*Adathoda vasica* Linn). Như vậy, kết quả nghiên cứu khả năng kháng *V. parahaemolyticus* của dung dịch nano bạc tương đồng với các công trình đã được công bố của các nhóm tác giả trên; nồng độ nano bạc càng cao thì khả năng kháng nấm càng hiệu quả.

#### 4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, dung dịch nano bạc tổng hợp được khi sử dụng 20 mL dịch chiết củ nghệ tươi làm chất khử ở nhiệt độ phản ứng 30°C, khuấy liên tục trong 20 phút kết hợp rung siêu âm trong 20 phút. Dung dịch nano bạc tổng hợp được có màu vàng nâu đặc trưng, các hạt nano bạc có dạng cầu, đường kính từ 10 đến 45 nm. Ngoài ra, dung dịch nano bạc có vị trí của đỉnh hấp thụ ở bước sóng khoảng 416 nm; đây là bước sóng đặc trưng của hạt nano dạng cầu. Dung dịch nano bạc có khả năng kháng khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* ở nồng độ khảo sát (6,25 - 200 ppm) và đạt hiệu quả cao từ 100 ppm. Nghiên cứu này là tiền đề cho việc sử dụng nano bạc để thay thế hoặc giảm liều lượng kháng sinh trong phòng và trị bệnh cho thủy sản.

#### LỜI CẢM ƠN

Công trình được thực hiện với sự tài trợ của Đại học Huế (Đề tài mã số DHH 2018-09-108) và Nhóm nghiên cứu mạnh cấp Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế (HUAUF2021-NCM-02)

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### 1. Tài liệu tiếng việt

Hồ Thị Phương, Nguyễn Thị Lê Na, Nguyễn Trung Thành và Nguyễn Đình Thăng. (2019). Nghiên cứu khả năng ứng dụng dịch chiết củ gừng (*Zingiber officinale* Rosc) để chế tạo hạt nano bạc và đánh giá khả năng kháng khuẩn. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội*, 35(3), 118-127.

##### 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B.L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17-28.

Alaraidh, I.A., Ibrahim, M.M., & El-Gaaly, G.A. (2014). Evaluation of green synthesis of Ag nanoparticles using *Eruca sativa* and *Spinacia oleracea* leaf extracts and their antimicrobial activity. *Iranian Journal of Biotechnology*, 12(1), 50-55.

Amini N., Amin, G., & Jafari Azar, Z. (2017). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Avena sativa* L. Extract. *Nanomedicine Research Journal*, 2(1), 57-63.

Awwad, A.M., Salem, N.M., Aqarbeh, M.M., & Abdulaziz, F.M., (2020). Green synthesis, characterization of silver sulfide nanoparticles, and antibacterial activity evaluation. *Chemistry International*, 6(1), 42-48.

Elhawary, S., EL-Hefnawy, H., Alzahraa, FA., Sobeh, M., Mostafa, E., Osman, S., & El-Raey, M., (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using extract of *Jasminum Officinale* L. leaves and evaluation of cytotoxic activity towards bladder (5637) and breast cancer (MCF-7) cell lines. *International Journal Nanomedicine*, 15, 9771-9781. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2018). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. approved standard M07-A10, 11<sup>th</sup> edition.

Elumalai, E., Prasad, T., Kambala, V., Nagajyothi, P., & David, E., (2010). Green synthesis of silver nanoparticles using *Euphorbia hirta* L. and their antifungal activities. *Archives of Applied Science Research*, 2(6), 76-81.

Konishi, Y., Ohno, K., Saitoh, N., Nomura, T., Nagamine, S., & Hishida, H. (2007).

- Bioreductive deposition of platinum nanoparticles on the bacterium *Shewanella algae*. *Journal of Biotechnology*, 128(3), 648-653.
- Khan, T., & Adil, M., (2020). Synthesis of antibacterial silver nanoparticles through the interaction of reduced dose of antibiotic and aqueous callus extract of *Fagonia indica*. *International Journal of Infectious Diseases*, 101(1).
- DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.09.065>
- Mathivathani, K., & Kavishadhi, N. C., (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Catharanthus Roseus* flower extracts and the determination of their antioxidant, antimicrobial, and photocatalytic activity. *Journal of Nanotechnology*, ID 5512786, 18 pages.
- Okafor, F., Janen A., Kukhtareva, T., Edwards, V., & Curley, M., (2013). Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. *International Journal of Environmental research and Public Health*, 10(10), 5221-5238.
- Prasad, K.S., Pathak, D., Patel, A., Dalwadi, P., Prasad, R., & Patel P., (2011). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Nicotiana tobaccum* leaf extract and study of their antibacterial effect. *African Journal of Biotechnology*, 10(41), 8122-8130.
- Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B.S., Muhammad, N., & Khan, H., (2014). Antipyretic and antinociceptive activity of *Diospyros lotus L.* in animals. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine*, 4(1), S382-S386.
- Song, J.Y., & Kim, B.S. (2009). Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(1), 79-84.
- Taranath, T., Hedaginal, B., Rajani, P., & Sindhu, M., (2015). Phytosynthesis of silver nanoparticles using the leaf extract of *Diospyros malabarica* (desr.) Kostel and its antibacterial activity against human pathogenic gram negative *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 30(2), 109-114.
- Veisi, H., Kazemi, S., Mohammadi, P., Safarimehr, P., & Hemmati, S., (2019). Catalytic reduction of 4-nitrophenol over Ag nanoparticles immobilized on *Stachys lavandulifolia* extract-modified multi walled carbon nanotubes. *Polyhedron*, 157, 232-240.
- Zangeneh, M.M., Saneei, S., & Zangeneh, A., (2019). Preparation, characterization, and evaluation of cytotoxicity, antioxidant, cutaneous wound healing, antibacterial, and antifungal effects of gold nanoparticles using the aqueous extract of *Falcaria vulgaris* leaves. *Applied Organometallic Chemistry*, 33(11), e5216.
- Zhang, H., (2013). *Application of silver nanoparticles in drinking water purification*. Doctor of Philosophy in Civil and Environmental Engineering, University of Rhode Island.