

地榆-纳米银复合物的制备与表征

孙文杰¹, 陈彦^{1,2*}, 高霞¹, 刘聪燕², 瞿鼎²

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210023

2. 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏省中医药研究院中药新型给药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

摘要: **目的** 以地榆为还原剂及分散剂还原硝酸银溶液制备地榆-纳米银复合物, 并对其进行表征。**方法** 以地榆-纳米银复合物的吸光度为指标, 考察地榆粉末提取时间、地榆提取液加入量、 AgNO_3 溶液浓度、合成温度等对地榆-纳米银复合物形成的影响, 并筛选最佳合成条件。采用透射电子显微镜 (TEM)、X 射线粉末衍射 (XRD)、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、动态激光散射 (DLS) 对地榆-纳米银复合物的理化性质进行表征。**结果** 地榆粉末煮沸 15 min, 地榆提取液 (0.1 g/mL) 与 1 mmol/L AgNO_3 溶液体积比为 1 : 10, 25 °C 反应 1 h 制备地榆-纳米银复合物条件最佳, 所得地榆-纳米银复合物形状近似球形, 平均粒径约为 21 nm, 分布均匀、性质稳定。**结论** 地榆-纳米银复合物制备方法稳定、可行。

关键词: 地榆提取液; AgNO_3 ; 地榆-纳米银复合物; 制备; 透射电子显微镜

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)24-3465-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.007

Preparation and characterization of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites

SUN Wen-jie¹, CHEN Yan^{1,2}, GAO Xia¹, LIU Cong-yan², QU Ding²

1. Affiliated Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: **Objective** To synthesize and characterize *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites by reduction of silver nitrate solution using *Sanguisorbae Radix* as reducing agent and dispersant. **Methods** Taking the absorbance of UV-visible spectroscopy of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites as index to study the influence of different factors, such as extracting time of *Sanguisorbae Radix* powder, reaction temperature of synthesis, volume of *Sanguisorbae Radix* extract, and concentration of AgNO_3 , on the formation of nano-silver composites and to optimize the conditions. TEM, XRD, FT-IR, and DLS could be used to characterize the physicochemical properties of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites. **Results** The optimum conditions were as follows: the boiling time of *Sanguisorbae Radix* powder was 15 min, the volume ratio of 0.1 g/mL *Sanguisorbae Radix* extract and 1 mmol/L AgNO_3 was 1 : 10, the resultant temperature was 25 °C, and the reaction time was 1 h, the *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites obtained were approximately spherical in shape with the mean size about 21 nm in good uniformity and stability. **Conclusion** The preparation of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites is stable and feasible.

Key words: *Sanguisorbae Radix* extract; AgNO_3 ; *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites; preparation; TEM

纳米银是粒径在 1~100 nm 的银簇^[1], 具有表面效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应等独特的物理和化学性质^[2], 因此在许多领域都有广泛应用^[3]。由于纳米银具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化等作用, 其在医学领域的应用近年来越来越受到关注。

纳米银的合成方法主要有物理化学方法, 合成的纳米银可达几纳米, 但合成的纳米银性质往往不稳定, 极易团聚, 且化学试剂易残留^[4]。近年来, 以大分子与纳米银结合制备纳米银复合物的研究成为热点, 如采用透明质酸^[5]、壳聚糖和羧甲基壳聚糖^[6]、

收稿日期: 2013-07-12

基金项目: 江苏省中医药领军人才项目 (LJ200913)

作者简介: 孙文杰 (1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: 18252066593 E-mail: sunwenjie198818@163.com

*通信作者 陈彦 Tel/Fax: (025)85608672 E-mail: ychen202@hotmail.com

聚乙烯吡咯烷酮(PVP)^[7]等制备纳米银复合物。这些大分子中含有许多-OH、-COOH 和-NH₂ 等基团,能与金属离子配位起到分散并稳定纳米银复合物的作用^[5-7]。中药成分中常含有-OH、-COOH 和-NH₂ 等基团,如多酚类、黄酮类等成分不仅可以还原 AgNO₃ 溶液制备纳米银,还可键合到纳米银表面^[8-9]。此类中药纳米银复合物的制备方法具有绿色、安全、稳定的特点。

地榆为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的干燥根^[10],为我国常用中药,始载于《神农本草经》,列为中品,地榆含有多种药用成分,主要为皂苷、鞣质和黄酮类等,具有止血、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、治疗烧伤、抗炎消肿等作用^[11-13]。本研究利用地榆提取液考察制备纳米银复合物的可行性,探究反应条件对地榆-纳米银复合物形成的影响,并对优选条件下形成的纳米银复合物进行理化性质的表征。由于地榆及纳米银均具有较好的药理作用,且纳米银粒子不会引起病原体产生抗体或发生突变^[3,14],因此地榆-纳米银复合物将在抗菌、抗肿瘤等领域发挥作用。

1 仪器与材料

Nano-ZS 型马尔文粒径测定仪,英国马尔文公司;D8 ADVANCE 型 X 射线衍射仪,德国布鲁克公司;Nicolet IS-10 型傅里叶变换红外光谱仪,赛默菲世尔科技公司;Tecnai 12 型透射电子显微镜,荷兰飞利浦公司;UV-1800 型紫外可见分光光度计,上海奥析科学仪器有限公司;Benchtop 型台式冻干机,美国 VirTis 公司;TG16W 台式高速离心机,长沙湘智离心机仪器有限公司;JY5002 型电子天平,FA2104 型万分之一天平,上海良平仪器仪表有限公司。AgNO₃ (AR,南京化学试剂有限公司)、蒸馏水。地榆产地为安徽,亳州市沪谯药业有限公司,生产批号为 20120606,经江苏省中医药研究院钱士辉教授鉴定为地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的干燥根。

2 方法和结果

2.1 地榆提取液的制备

取地榆药材粉末 30 g,加水 300 mL,煮沸 15 min,冷却后纱布粗滤,将粗滤液抽滤得滤液,用蒸馏水定容至 300 mL,即 1 mL 提取液含 0.1 g 生药,4 °C 条件下保存,备用。

2.2 AgNO₃ 溶液的制备

精密称取 425 mg AgNO₃ 于 25 mL 量瓶中,加

蒸馏水溶解至刻度线,即得 100 mmol/L AgNO₃ 溶液。制备纳米银复合物时用蒸馏水将其稀释,得不同浓度的 AgNO₃ 溶液。

2.3 地榆-纳米银复合物溶液的制备

将 10 mL 地榆提取液边搅拌边缓缓加入到 100 mL 1 mmol/L AgNO₃ 溶液中,25 °C 条件下反应 1 h,13 000 r/min 离心 15 min,去除上清液,将沉淀用蒸馏水反复洗涤至少 3 次,以去除纳米银表面的 Ag⁺,然后加入适量蒸馏水,超声约 20 min 将其充分分散,得地榆-纳米银复合物溶液。取适量样品溶液用紫外-可见分光光度计在 300~800 nm 进行波长扫描,并确定地榆-纳米银复合物的最大吸收波长。

2.3.1 地榆粉末提取时间对地榆-纳米银复合物形成的影响 分别取 6 份 15 g 地榆药材粉末,均加水 150 mL,煮沸时间分别为 2、5、15、30、45、60 min,冷却后纱布粗滤,将粗滤液抽滤得滤液,用蒸馏水定容至 150 mL,按“2.3”项下方法分别制备 6 组地榆-纳米银复合物溶液,利用紫外可见分光光度计测定其在 300~800 nm 吸收情况,并记录最大吸收波长 430 nm 处的吸光度(*A*)值。结果 *A* 值分别为 0.483、0.619、0.887、0.743、0.614、0.562。药物煮沸 15 min 时纳米银复合物 *A* 值最大,这也说明了此条件下合成的纳米银复合物最多,之后随着煎煮时间延长,*A* 值变小,可能是因为煮沸时间较长会破坏地榆中的还原性成分,使地榆-纳米银复合物合成量减少。故地榆粉末最佳煮沸时间为 15 min。

2.3.2 地榆提取液的用量对地榆-纳米银复合物形成的影响 将 2.5、5、10、25、50、75 mL 煮沸 15 min 的地榆提取液(以下所用药液煮沸时间均为 15 min),分别加入到 6 份 100 mL 1 mmol/L AgNO₃ 溶液中,即地榆提取液与 AgNO₃ 溶液体积比为 1:40、1:20、1:10、1:4、1:2、3:4。按“2.3”项下方法制备地榆-纳米银复合物,考察样品溶液在 300~800 nm 吸收情况。由图 1-a 可知,相同条件下,当 100 mL 1 mmol/L AgNO₃ 溶液中加入地榆提取液的量为 2.5、5、10 mL 时,地榆-纳米银复合物 *A* 值随着地榆提取液加入量的增加而升高,但当地榆提取液的加入量增加到 25、50、75 mL 时,随着提取液量的增加 *A* 值反而降低,且地榆提取液的加入量为 10 mL 时 *A* 值最大,即地榆提取液与 1 mmol/L AgNO₃ 体积比为 1:10 时,合成的地榆-纳米银复合物最多。故选择地榆提取液与 AgNO₃ 体积比为 1:10。

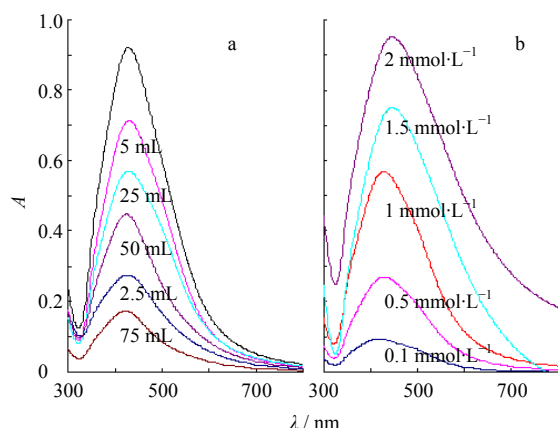


图1 不同地榆提取液 (a) 和 AgNO_3 (b) 用量所制地榆-纳米银复合物的紫外可见吸收光谱图

Fig. 1 UV-vis spectra of *Sanguisorbae Radix* (a) / nano-silver (b) composites with various reacting substances in different amounts

2.3.3 AgNO_3 浓度对地榆-纳米银复合物形成的影响 取 5 份 10 mL 地榆提取液, 分别加入到 100 mL 0.1、0.5、1、1.5、2 mmol/L AgNO_3 溶液中, 按“2.3”项下方法制备地榆-纳米银复合物, 经稀释 1 倍, 考察样品溶液在 300~800 nm 吸收情况。由图 1-b 可知, 相同条件下, 当确定提取液与 AgNO_3 体积比为 1:10 时, 随着 AgNO_3 浓度增大 A 值增大, AgNO_3 溶液浓度为 2 mmol/L 时 A 值最大, 但当 AgNO_3 浓度超过 1.5 mmol/L, 光谱吸收半峰宽增大, 峰位由 430 nm 红移至 441 nm, 表明此时所制纳米银不稳定, 粒径增大^[9], 故本实验选择 AgNO_3 浓度为 1 mmol/L。

2.3.4 合成温度对地榆-纳米银复合物形成的影响 按地榆药液与 AgNO_3 体积比为 1:10, 制备 5 份两者的混合液, 将 5 份混合液分别放置在 4、25、40、50、60 °C 温度条件下反应, 并分别在 15、30、45、60、75 min 时间点取样, 每个时间点取样 5 份, 每份样品 10 mL, 按“2.3”项下方法制备地榆-纳米银复合物, 并利用紫外可见分光光度计测定其在 300~800 nm 吸收情况, 并记录最大吸收波长 430 nm 处的 A 值 (A_{430})。由图 2 可知, 不同温度条件下合成的地榆-纳米银复合物 A_{430} 随时间变化, 且在 25 °C 条件下合成迅速, 合成量最多。因此, 地榆-纳米银复合物的合成温度选择 25 °C。

2.3.5 验证试验 煎煮 3 份地榆药液, 煎煮时间均为 15 min, 分别与 1 mmol/L AgNO_3 溶液按 1:10 的体积比在 25 °C 条件下反应 1 h, 并在 13 000 r/min 离心 15 min, 用蒸馏水洗涤沉淀 3 次, 再用适量蒸馏水溶解, 超声 20 min 得地榆-纳米银复合物溶液,

经检测, 3 批样品溶液在 300~800 nm 的吸收变动小于 2.4% (图 3), 由结果可知该工艺稳定性、重复性良好。

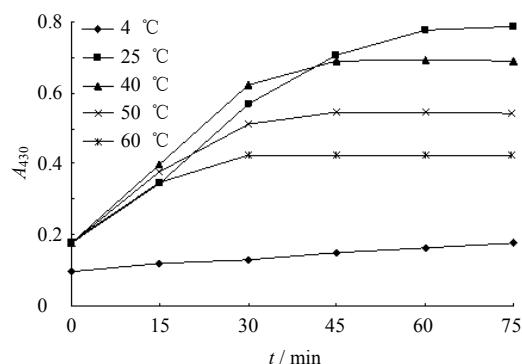


图2 不同温度下地榆-纳米银复合物 A 值随时间的变化曲线

Fig. 2 Change curves of absorbance of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites at different reaction temperatures in various times

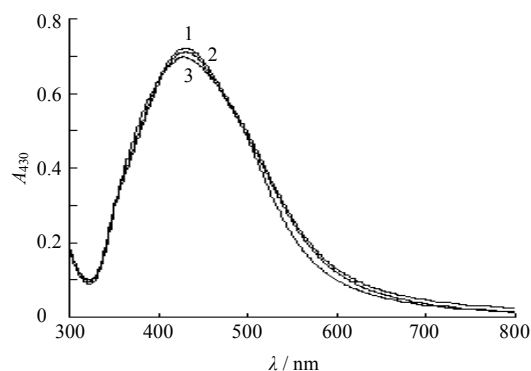


图3 3 批样品的紫外可见吸收光谱图

Fig. 3 UV-vis spectra of three batches of samples prepared under optimized conditions

2.4 地榆-纳米银复合物的表征

2.4.1 透射电子显微镜 (TEM) 表征 取少量样品溶液, 滴加到铜网上, 干燥后, 使用 Tecnai 12 型透射电镜, 调整合适放大倍数, 观察地榆-纳米银复合物的外观形态及粒径分布。由图 4 可见, 25 °C 下地榆提取液与 1 mmol/L AgNO_3 体积比为 1:10 时还原制得的地榆-纳米银复合物近球形, 粒径范围为 8.23~37.17 nm, 平均粒径约为 21 nm, 分散均匀, 未发生团聚。纳米银黑色粒子外包裹有灰色物质, 该物质可能是键合在纳米银表面的地榆有效成分。

2.4.2 X 射线粉末衍射 (XRD) 表征 将样品溶液冷冻干燥得粉末, 在管电压 40 kV, 管电流 40 mA, 2θ 为 10°~80°, 扫描速度为 2°/min, X 射线 ($\text{Cu}_{\text{K}\alpha}$) 入射波长为 0.154 06 nm 条件下进行 XRD 表征。由

图5可见,有4个明显衍射峰即38.268°、44.165°、64.732°、77.439°。此结果与PDF 2卡中04-0783数据(PDF 2卡是X射线衍射标准卡片,为XRD必需产品,与XRD数据处理软件MDI Jade搭配使用,可通过网络下载,链接地址为<http://ishare.iask.sina.com.cn/f/12632978.html>)一致,分别对应标准晶态银卡片上的(111)、(200)、(220)、(311)晶面,说明样品溶液中金属银单质的存在。Scherrer公式:

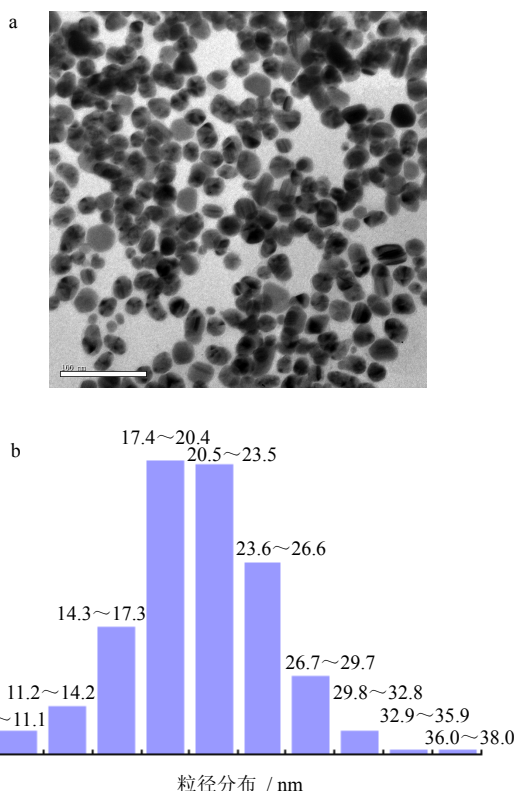


图4 地榆-纳米银复合物TEM图(a)及粒径分布图(b)
Fig. 4 TEM image (a) and particle size distribution (b) of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites

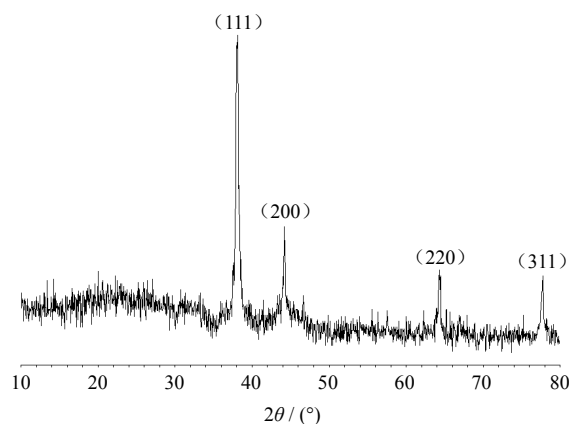


图5 地榆-纳米银复合物的XRD图
Fig. 5 XRD of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites

$D = R\lambda / \beta \cos \theta$, 式中 D 为晶粒直径, R 为 Scherrer 常数 (0.89), λ 为入射 X 射线衍射波长 (0.154 06 nm), β 为衍射峰的半高峰宽 (rad), θ 为 $\{h k l\}$ (晶面的米氏符号, 其中 h 、 k 、 l 称为晶面指数) 晶面的布拉格角。计算粒径大小时, 衍射角 θ 和半峰宽 β 可以在实验数据中获得, 半峰宽 β 角度值须换成弧度值。根据表1中XRD数据结果, 计算晶粒 D 大小, 求平均值约 20.6 nm, 与TEM粒径统计图结果相符。

表1 地榆-纳米银复合物XRD数据
Table 1 XRD data of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites

$\{h k l\}$	$2\theta / (^{\circ})$	β / rad	D / nm
(111)	38.268	0.007 3	20.11
(200)	44.165	0.007 2	20.46
(220)	64.732	0.007 9	20.69
(311)	77.439	0.008 4	21.01

2.4.3 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 表征 将地榆-纳米银复合物样品溶液及地榆提取液冷冻干燥得粉末, 在 4 000~500 cm^{-1} 进行红外扫描。

由图6可见,地榆-纳米银复合物及地榆提取液红外吸收光谱基本相似,推测地榆中的化学成分键合到了纳米银表面。从二者红外吸收结果来看吸收峰强弱及峰位有一定变化,1 027.12 cm^{-1} 吸收峰增强,1 713.22、1 607.18 cm^{-1} 处吸收峰减弱,1 319.50、1 203.75 cm^{-1} 吸收峰消失。经分析 1 713.22 cm^{-1}

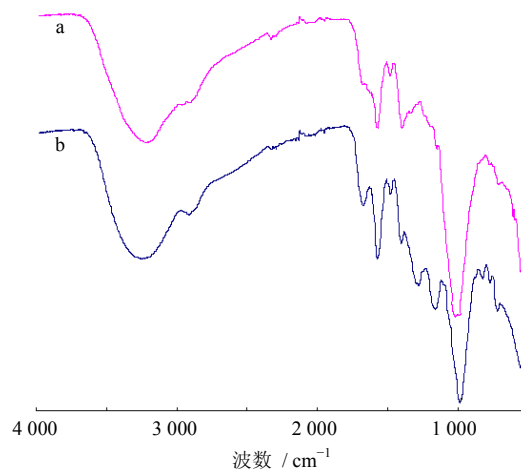


图6 地榆-纳米银复合物(a)及地榆提取液(b)的FT-IR图谱

Fig. 6 FT-IR spectra of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites (a) and *Sanguisorbae Radix* extract (b)

为 $\nu_{C=O}$ 吸收峰, $1\,607.18\text{ cm}^{-1}$ 为 β_{N-H} 吸收峰, $1\,027.12\text{ cm}^{-1}$ 为 ν_{C-O} 吸收峰, $1\,319.50$ 、 $1\,203.75\text{ cm}^{-1}$ 为 ν_{C-N} 吸收峰, 峰形的变化是因为地榆提取液成分中的羰基及酰胺键等与 Ag 配位, 减弱了基团的吸收, 其中羰基中的 O 原子可提供电子对填充 Ag 原子空轨道, 使原来分子中的 C=O 变为 C-O 导致 $1\,027.12\text{ cm}^{-1}$ 处 C-O 键的伸缩振动峰增强, 同时 $1\,713.22\text{ cm}^{-1}$ 处的羰基吸收峰减弱^[15-16]。纳米银表面键合有地榆化学成分, 使纳米银不易团聚, 表现出很好的稳定性。

2.4.4 动态激光散射 (DLS) 表征 将样品溶液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 用 DLS 测其粒径分布及 Zeta 电位。图 7 结果显示, 纳米银复合物平均粒径为 78.32 nm , 多分散指数 (PDI) 为 0.176 , Zeta 电位值为 $(-26.3 \pm 4.2)\text{ mV}$ 。已知粒径 PDI 越小粒子分散越均匀, Zeta 电位越高体系越稳定, 实验结果中 PDI 小于 0.2 , Zeta 电位接近 -30 mV , 表明所制纳米银复合物分布均匀, 性质稳定。DLS 结果为流体力学粒径, 此粒径结果与 TEM 粒径统计结果存在一定差异。

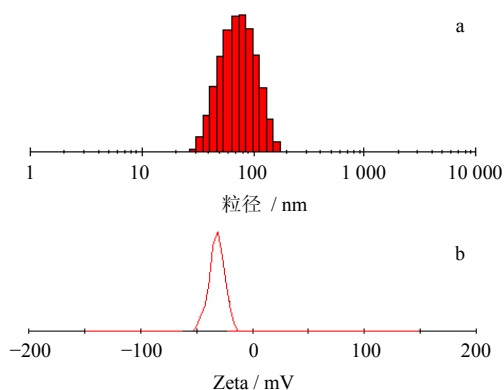


图7 地榆-纳米银复合物粒径分布 (a) 及 Zeta 电位 (b)
Fig. 7 Particle size distribution (a) and Zeta potential (b) of *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites

2.5 地榆-纳米银复合物稳定性考察

利用紫外可见分光光度计测定地榆药液、新制备及已常温放置 2 个月的地榆-纳米银复合物在 $300\sim 800\text{ nm}$ 吸收情况。由图 8 可知, 纳米银复合物常温放置 2 个月, A 值降低不超过 2% , 表明以地榆提取液为还原剂在优化条件下所制纳米银复合物稳定性较好。

3 讨论

本研究以地榆提取液为还原剂及分散剂成功制备了地榆-纳米银复合物, 且在地榆粉末煮沸 15 min ,

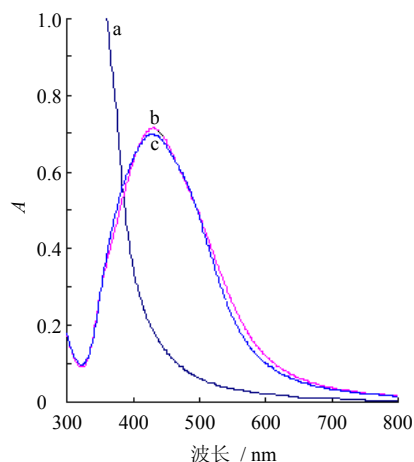


图8 地榆提取液 (a)、反应 1 h (b) 及放置 2 个月 (c) 的地榆-纳米银复合物紫外吸收光谱图

Fig. 8 UV-vis spectra of *Sanguisorbae Radix* extract (a), *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites after 1 h of stirring (b), and *Sanguisorbae Radix*/nano-silver composites after two-month storage (c)

地榆提取液 (0.1 g/mL) 与 1 mmol/L AgNO_3 溶液体积比为 $1:10$, $25\text{ }^\circ\text{C}$ 反应 1 h 条件下所制地榆-纳米银复合物分散均匀、性质稳定。

实验中可观察到纳米银复合物形成前后溶液颜色变化明显, 据文献报道这主要是纳米银表面等离子体共振的原因^[17], 所制备的地榆-纳米银复合物多呈球状, 粒径在 $8.23\sim 37.17\text{ nm}$, 这是由于地榆提取液中含有不同的还原性成分, 还原 Ag^+ 的速率不同, 以致形成的纳米银复合物粒径存在一定差异。

研究表明采用物理和化学方法合成的纳米银高能耗、低收率, 化学试剂易残留在纳米银表面, 造成环境污染, 有一定的毒副作用, 且合成的纳米银不稳定、易团聚^[4]。本研究利用地榆提取液还原制备纳米银复合物, 提取液中的化学成分与纳米银的成功复合使所制样品分散均匀、性质稳定、绿色安全。地榆-纳米银复合物的成功制备, 表明利用中药制备纳米银复合物是可行的, 因中药中常含有多羟基化合物, 可作为还原剂制备纳米银复合物, 本实验为今后中药还原剂的发掘提供了参考。

Jayakumar 等^[18]研究表明高分子物质与纳米银复合使纳米银复合物在生物学上的应用更加广泛。地榆具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、治疗烧伤等药理作用, 地榆中的有效成分结合在纳米银表面可能会增加纳米银抗菌、抗肿瘤、抗氧化的作用, 其药效作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Song J Y, Kim B S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2009, 32(1): 79-84.
- [2] Chandran S P, Chaudhary M, Pasricha R, *et al.* Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract [J]. *Biotechnol Prog*, 2006, 22(2): 577-583.
- [3] Valli J S, Vaseeharan B. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Cissus quadrangularis* extracts [J]. *Mater Lett*, 2012, 82(2): 171-173.
- [4] Loo Y Y, Chieng B W, Nishibuchi M, *et al.* Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis* [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 4263-4267.
- [5] 张柏林, 王英波, 鲁 雄, 等. 脉冲电化学沉积法制备钛基 HA/Ag 复合涂层 [J]. *稀有金属材料与工程*, 2010, 39(10): 1835-1839.
- [6] Saravanan S, Nethala S, Pattnaik S, *et al.* Preparation, characterization and antimicrobial activity of a bio-composite scaffold containing chitosan / nano-hydroxyapatite / nano-silver for bone tissue engineering [J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49(2): 188-193.
- [7] Prajakta K, Parag A, Rohini A, *et al.* Synthesis and electrical characterization of Ag, Au-PVP nanocomposites for humidity sensing [J]. *Sens Lett*, 2012, 10(3/4): 188-193.
- [8] Geethalakshmi R, Sarada D V L. Gold and silver nanoparticles from *Trianthema decandra*: synthesis, characterization, and antimicrobial properties [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 5375-5384.
- [9] Huang J L, Li Q B, Sun D H. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf [J]. *Nanotechnology*, 2007, 18(10): 1-11.
- [10] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [11] 曹爱民, 张东方, 沙 明, 等. 地榆中皂苷类化合物分离、鉴定及其含量测定 [J]. *中草药*, 2003, 34(5): 397-399.
- [12] 夏红旻, 孙立立, 孙敬勇, 等. 地榆化学成分及药理活性研究进展 [J]. *食品与药品*, 2009, 11(7): 67-69.
- [13] 于蓓蓓, 钟方晓, 董 学, 等. 地榆化学成分研究进展 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(13): 103-105.
- [14] Shaligram N S, Bule M, Bhambure R, *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal strain [J]. *Process Biochem*, 2009, 44(8): 939-943.
- [15] Doty R C, Tshikhudo T R, Brust M, *et al.* Extremely stable water-soluble Ag nanoparticles [J]. *Chem Mater*, 2005, 17(18): 4630-4635.
- [16] Shankar S S, Rai A, Ahmad A, *et al.* Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2004, 275(2): 496-502.
- [17] Philip D, Unni C. Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (*Ocimum sanctum*) leaf [J]. *Physica E*, 2011, 43(7): 1318-1322.
- [18] Jayakumar R, Prabakaran M, Shalumon K T, *et al.* Biomedical applications of polymer / silver composite nanofibers [J]. *Biomed Appl Polymeric Nanofibers*, 2012, 246: 263-282.