

بررسی عملکرد آنتی اکسیدانی و تعیین شرایط بهینه سنتز نانو ذرات سبز نقره توسط عصاره آبی گیاه *Falcaria vulgaris* Bernh.

زینب دلفان^۱، غزاله کوچک زاده^{۲*}

^۱ کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد خرم آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم آباد، ایران

^۲ استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد خرم آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۲۱

چکیده

امروزه پیدایش نانوفناوری و سنتز نانو ذرات پیشرفت‌های زیادی را برای بشر به همراه داشته است ولی این فناوری بایستی از لحاظ ایمنی مورد توجه قرار گیرد. در این میان سنتز سبز نانو ذرات به دلیل سازگاری با محیط زیست، غیر سمی بودن و تولید کم هزینه گسترش یافته است، زیرا گیاهان توانایی بسیار خوبی برای کاهش یون‌های فلزی و سنتز نانوذرات دارند. در پژوهش حاضر، شرایط بهینه لازم برای سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه خوراکی دارویی *Falcaria vulgaris* Bernh. (غازیاقی) و اثر آنتی اکسیدانی عصاره و نانو ذره حاصل از آن بررسی شده است. نخست اندام هوایی گیاه قبل از مرحله گلدهی در اواخر اردیبهشت ۱۳۹۸ از دشت‌های جنوب خرم آباد جمع‌آوری و در سایه خشک شد. پس از تهیه عصاره آبی گیاه به روش خیساندن، پارامترهای موثر در سنتز نانو ذرات نقره مانند pH، غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره، دما و زمان بررسی و مقایسه عملکرد آنتی اکسیدانی دو عصاره با استفاده از روش DPPH انجام گرفت. نتایج نشان داد شرایط بهینه سنتز سبز نانو ذرات نقره شامل غلظت ۸ mM نیترات نقره، pH=۱۱، حجم ۴ ml عصاره، دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۱۲۰ دقیقه است. تشکیل نانو ذرات نقره توسط روش‌های ماورابنفش- مرئی، پراش پرتو ایکس و مادون قرمز تایید شد. بررسی ریخت‌شناسی نانو ذرات حاصل شکل کروی با اندازه ذرات ۱۶-۲۹ nm را نشان داد. بیشترین خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در حلال آب با غلظت ۱۲/۵ µl/ml عصاره و نانو ذره نسبت به اسیداسکوربیک بود. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت وجود ترکیبات شیمیایی مختلف که باعث فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره شده است توانایی عصاره و نانو ذره حاصل را به عنوان یک منبع آنتی اکسیدان طبیعی بیان می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، خرم آباد، غازیاقی، نانو ذرات سبز نقره.

مقدمه

سلامتی انسان به وجود می‌آورد (Parka et al., 2013; Rezaei-Zarchi et al., 2010; Beer et al., 2012). البته بیشتر گزارشات نشان دادند نانو ذرات نقره در مقیاس مختلف اثر سمیت متفاوتی دارد (et al., 2014). در پژوهشی نانو ذرات نقره با اندازه‌های ۱۰، ۶۰ و ۱۰۰ نانومتر را به موش‌ها تزریق کردند، دریافتند در موش‌هایی که با نانو ذرات ۱۰ نانومتری تیمار شده بودند بعد از حدود ۶ ساعت انباشتگی در بافت کبد و طحال آن‌ها رخ داد، در حالی که این تغییرات به دنبال تیمار نانو ذرات ۶۰ یا ۱۰۰ نانومتری مشهود نبود (Cho et al., 2018). امروزه سنتز نانو ذرات فلزی به روش‌های شیمیایی و استفاده از کاهنده‌های شیمیایی در تولید آن‌ها باعث نگرانی‌های محققان در جهت آسیب به سلامت انسان و دیگر جانداران، همچنین آسیب‌های محیط زیستی شده است (Sperling et al., 2008). با توجه به اثرات جانبی و مضرات ترکیبات ننگه دارنده شیمیایی، می‌توان از گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی به جای آن‌ها در سنتز نانو ذرات به منظور دستیابی به برخی خواص آن‌ها مانند اثرات ضد میکروبی استفاده کرد (et al., 2019). روش زیستی^۲ یا سنتز سبز یک روش جایگزین روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید نانو ذرات و روشی دوستدار طبیعت است. همچنین از فواید این روش آن است که نیاز به مواد شیمیایی سمی و مضر نداشته و هزینه انجام آن نسبت به سایر روش‌ها کمتر است (Nadaroglu et al., 2017). در سال‌های اخیر روش سنتز سبز نانو ذرات بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این روش در جهت تولید نانو ذرات ایمن و سازگار با محیط زیست است و توجه بسیار زیاد پژوهشگران را در زمینه فناوری نانو به خود جلب کرده است (Shankar et al., 2004). در سنتز سبز از گیاهان و میکروارگانیسم‌ها به عنوان ماده

نانو ذرات فلزی نجیب^۱ به جهت اهمیت و کاربردشان در زمینه الکترونیک، مغناطیس، اپتیک و ذخیره اطلاعات بسیار شناخته شده هستند. خواص منحصر به فرد این نانو ذرات به دلیل اندازه، شکل، ترکیب و ساختار آن‌ها می‌باشد (Ahmad et al., 2010; Grätzel et al., 2001; Tao et al., 2001). البته آنالوگ های طلا و نقره آنها به دلیل ویژگی‌های شگفت انگیز و تنوع کاربرد، بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Sreeprasad et al., 2013). از آن میان نانو ذرات نقره که می‌توانند اندازه-ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر داشته باشند، جلب توجه محققان را در داروهای ضد باکتری، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد میکروبی در زمینه پزشکی کسب کرده‌اند. نقش مهم نانو ذرات در زیست‌شناسی و پزشکی به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها است (Veerasingam et al., 2011). در دوران‌های مختلف ترکیبات ضد میکروبی بر پایه نقره بسیار مورد استفاده بوده است و به دلیل خاصیتی که نقره در از بین بردن انواع میکروارگانیسم‌های بیماریزا دارد، به طور وسیعی برای درمان سوختگی‌های شدید و زخم‌ها کاربرد داشته است. به طوری که امروزه تجاری‌سازی پژوهش‌ها در تولید پوشاک با توانایی خنثی کردن باکتری‌ها، صورت گرفته است (Pareek et al., 2017; Moyer et al., 1965; Zargar and Mohammadi, 2013). اما محدودی گزارشات در زمینه‌های پزشکی و بیولوژیکی ثابت کرده‌اند که برخی از وسایل پزشکی نقره‌دار، یون‌های نقره آزاد می‌کنند که وارد خون شده و در کبد، کلیه، ریه و مغز انباشته، باعث سمی شدن آن و در نهایت منجر به مرگ می‌شود. در نتیجه نانو ذرات نقره ممکن است اثرات سمی داشته که نگرانی‌های زیادی را در ارتباط با استفاده از آن‌ها برای

2. Biological method

1. Noble metal nanoparticles

گیاه در مناطق جنوب غرب، اشتران‌کوه، کوه رزوند، سیلاخور، شوش کنار، همچنین آذربایجان شرقی و غربی به صورت خودرو می‌روید. در گویش محلی استان لرستان به آن پاکزو می‌گویند. در طب سنتی از این گیاه در درمان اسهال خونی، فساد لثه، نقرس، زردی، وزوز گوش و سوزش ادرار استفاده می‌شود، همچنین مشخص شده است این گیاه دارای پالمی‌تیک‌اسید، استاریک‌اسید، اولئیک‌اسید، لینولئیک‌اسید، فورفورالدئید، اسپاراژین، قند، نشاسته و پروتئین است (Haji Sharif, 2007). در غرب ایران از این گیاه به صورت سبزی در سالاد استفاده می‌کنند، همچنین برای رفع سنگ کلیه و مشکلات کبدی کاربرد دارد (Salahshoor et al., 2019). پژوهش‌های فیتوشیمیایی بر روی گیاه غازیاقی نشان از وجود تانین⁴ و ساپونین⁵ در اجزای این گیاه دارد (Jaberian et al., 2005; Soudamani et al., 2013). در بررسی روغن این گیاه ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی یافت شد (Choobkar et al., 2017; Khazaei and Salehi, 2006). ارزیابی روغن فرار گیاه توسط روش کروماتوگرافی گازی نشان داد که ۶۴ ماده از ترکیبات موجود در اسانس این گیاه، دارای ۸۳٪ درصد از کل مقدار اسانس بوده و بیشترین این اجزاء، ترکیبات اسپاتولنول⁶ و کارواکرول⁷ هستند (Khan Ahmadi and Shahrezaei, 2007). هم‌چنین ارزیابی فنل کل و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانلی و متانلی گیاه غازیاقی گویای فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانلی نسبت به متانلی بوده که این موضوع به میزان فنل کل بالای این عصاره نسبت داده می‌شود (Ebrahimi Monfared et al., 2012). در عین حال تاکنون گزارش‌های کمی از سنتز سبز نانو ذرات

کاهنده برای تولید نانو ذرات فلزی و اکسید فلزی استفاده می‌شود که این عامل کاهنده تاثیر زیادی بر ریخت‌شناسی¹ ذرات مانند اندازه، خواص فیزیکوشیمیایی و شکل دارد، در واقع ریخت‌شناسی بر روی خواص نانو ذرات تاثیر می‌گذارد (Gour et al., 2019). به سبب محبوبیت فراوان روش‌های سبز، مهمترین چالش، دستیابی به منابع مختلف جهت سنتز سبز نانو ذرات می‌باشد، بدین منظور گسترش روش‌های آزمایشگاهی برای سنتز نانو ذرات توسط منابع میکروبی، قارچی و گیاهی صورت گرفت. اعتقاد بر این است منابع گیاهی که دارای گروه‌های کربوکسیلیک، آمینی، پروتئین و کربوهیدرات در عصاره خود هستند، نقش مهمی را در فرآیند جذب و احیای زیستی² برای تشکیل نانو ذرات به عهده دارند. البته اثر زمان، دما، نور و سایر پارامترها نیز می‌تواند در اندازه و شکل نانو ذرات موثر باشد (Krinsha et al., 2016).

در این پژوهش سنتز نانو ذرات نقره در مجاورت عصاره آبی گیاه خوراکی دارویی غازیاقی³ صورت گرفته است. استفاده از حلال آب در مقایسه با حلال‌های آلی از لحاظ سهولت کاربرد، قیمت ارزان و غیرسمی بودن مزیت دارد. غازیاقی گیاهی علفی و چند ساله که تا حدود ۷۰ سانتی‌متر رشد می‌کند و از خانواده چتریان است. این گیاه برگ‌های دراز به شکل بیضی و نوک تیز و گل‌های سفید یا صورتی کوچک دارد. غازیاقی یک گیاه بومی مربوط به جنوب و میانه اروپا، شرق آسیای میانه و خاورمیانه است. این گیاه نخستین بار در سال ۱۹۲۳ میلادی در مزرعه‌ای در شهر فرانکلین ایالت پنسیلوانیای آمریکا نیز یافت شد (Gress, 1923; USDA, 2012). قدمت این گیاه در اروپا و آسیا بیشتر از آمریکا می‌باشد. در ایران این

4. Tannin
5. Saponin
6. Spathulenol
7. Carvacrol

1. Morphology
2. Bioreduction
3. *Falcaria vulgaris* Bernh.

دستگاه‌های پراش اشعه ایکس شرکت Bruker (model D8ADVANCE) و میکروسکوپ الکترونی روبشی^۳ شرکت tescan استفاده شد. جهت بررسی ساختار شیمیایی و شناسایی ترکیبات آلی، طیف سنجی مادون قرمز و دستگاه FT-IR شرکت Perkin Elmer- RXI به کار رفت. همچنین برای جدا کردن رسوب از محلول واکنش دستگاه سانتریفیوژ شرکت Domel استفاده شد. بررسی pH محلول‌ها توسط دستگاه pH متر شرکت Metrohm انجام شد.

تهیه عصاره: به منظور انجام آزمایش نخستین گام تهیه عصاره گیاهی به روش خیساندن بود، برای این کار مقدار مشخصی از گیاه خشک را وزن کرده همراه با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۴۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن، نخست عصاره تهیه شده توسط گاز استریل سپس کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد. به منظور جداسازی باقی مانده‌های گیاهی، محلول در دور ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از عصاره تهیه شده طیف فرابنفش / مرئی (UV/Vis) گرفته شد، طول موج بیشینه‌ی این ماده در $\lambda_{max}=412$ نانومتر شناسایی شد. در نهایت نمونه برای استفاده بعدی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

سنتز نانوذره سبز و بهینه سازی پارامترهای موثر در سنتز: گام بعدی سنتز سبز نانو ذرات نقره از عصاره آبی گیاه خوراکی دارویی غازیاقی بود. به منظور این کار نخست مقدار pH بهینه شد به طوری که، ۲ میلی لیتر از عصاره تهیه شده به ۴ میلی لیتر محلول ۱ میلی مولار نیترات نقره اضافه گردید. تغییر رنگ محلول از قهوه ای کم رنگ به قهوه‌ای پر رنگ گویای تشکیل نانو ذره بود. پس از تعیین pH بهینه

با استفاده از این گیاه ارائه شده است (Zanganeh et al., 2019; Zanganeh, 2019). از محدود پژوهش‌های انجام شده می‌توان به مطالعه اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی نانو ذرات مس سنتز شده با گیاه غازیاقی توسط زنگنه و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کرد. در پژوهش حاضر عوامل موثر بر سنتز نانو ذرات نقره مانند pH، غلظت نیترات نقره، غلظت عصاره، دما و زمان مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خواص آنتی اکسیدانی عصاره و نانو ذره بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد: نقره نیترات، سدیم هیدروکسید، اسید فسفریک، اسید استیک و اسید بوریک همگی از شرکت مرک خریداری شدند. از اسیدها و سدیم هیدروکسید جهت کنترل pH و برای تهیه بافر برایتون-رابینسون^۱ استفاده شد (Britton and Robinson., 1931). جهت بررسی خواص آنتی اکسیدانی از اسید آسکوربیک محصول شرکت مرک و ۲، ۲- دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل هیدرات^۲ با نام اختصاری DPPH محصول شرکت سیگما استفاده شد.

جمع آوری گیاه: گیاه غازیاقی استفاده شده در این پژوهش از دشت‌های جنوب خرم آباد در اواخر اردیبهشت جمع آوری شد. اندام‌های هوایی گیاه پس از شستشو با آب مقطر در سایه خشک، و در اندازه بزرگ‌تر از الک ۱۶ و کوچک‌تر از الک ۴ دانه بندی شد.

دستگاه‌ها: در این پژوهش، طیف فرابنفش / مرئی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر شرکت Perkin Elmer (model 25 Lambda) در دمای اتاق گرفته شد. به منظور تعیین اندازه، خواص ساختاری، ریخت شناسی و توزیع نانو ذرات سنتز شده از

3. Scanning Electron Microscope (SEM)
4. Gauze

1. Britton-Robinson buffer
2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate

پذیرفت، محلول‌های مرحله بعد با استفاده از شرایط بهینه‌ی حاصل شده، تهیه گردیدند. در نهایت شرایط بهینه سنتز نانو ذره نقره توسط گیاه غازیاقی به صورتی که در جدول ۱ آمده است گزارش شد.

محلول‌های بعدی با این pH تهیه گردید. در مراحل بعد غلظت نیترات نقره، حجم عصاره، دما و زمان انجام سنتز جهت رسیدن به شرایط کامل بهینه، جداگانه بررسی شد. هر مرحله که بهینه‌سازی صورت



شکل ۱: گیاه خوراکی دارویی غازیاقی

جدول ۱: شرایط بهینه سنتز نانو ذرات سبز نقره با استفاده از عصاره گیاه غازیاقی حاصل شده از آزمایشات مربوطه

زمان	دما	حجم عصاره ۵٪	غلظت نیترات نقره	pH	پارامترهای مورد بررسی
۱۲۰ دقیقه	۴۰°C	۴ میلی لیتر	۸ میلی مولار	۱۱	مقادیر حاصل از آزمایش

روش قابلیت عصاره در به دام انداختن رادیکال آزاد مورد استفاده و انتقال الکترون یا هیدروژن رادیکالی و تبدیل فرم DPPH[•] رادیکالی به فرم کاهش یافته DPPH-H مورد بررسی قرار می‌گیرد. جهت ارزیابی فعالیت به دام اندازی این رادیکال غلظت‌های متفاوت عصاره آبی و نانو ذره‌ی سنتز شده با محلول ۰.۳٪، میلی‌مولار DPPH[•] حل شده در متانل ۹۵٪ مخلوط شد. نخست جذب رادیکال DPPH که به عنوان محلول کنترل شناخته می‌شود بدون آنتی‌اکسیدان توسط دستگاه طیف‌سنج فرابنفش / مرئی در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس جذب مخلوط عصاره با رادیکال DPPH و نانو ذره با رادیکال DPPH در غلظت‌های متفاوت که برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تحت شرایط تاریکی قرار داده شده

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و نانو ذره: پس از سنتز بهینه‌ی نانو ذرات سبز نقره توسط گیاه خوراکی دارویی غازیاقی، در گام آخر به ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه و نانو ذره حاصل از آن پرداخته شد. جهت ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه غازیاقی و نانو ذره حاصل، از روش DPPH استفاده شد. ۲، ۲- دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل هیدرات یا DPPH[•] یک رادیکال آزاد پایدار است که بر روی یکی از اتم‌های پل نیتروزنی خود یک الکترون جفت نشده دارد. میزان مهار و بازدارندگی این رادیکال، اساس بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی است (Hosseini et al., 2014). خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه خوراکی دارویی غازیاقی و نانو ذره حاصل از آن توسط DPPH[•] مورد بررسی قرار گرفت. در این

میلی مولار نیترات نقره انجام شد و طیف فرابنفش / مرئی آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر طیف‌گیری شد، طول موج بیشینه‌ی این ماده در $\lambda_{max} = 430$ نانومتر شناسایی شد. سپس اثر پارامترهای مختلف در تشکیل نانو ذرات نقره توسط گیاه غازیاقی بررسی شد. در بررسی اثر پارامترهای متفاوت، نخست بررسی اثر pH جهت تشکیل نانو ذرات سبز نقره انجام شد. این آزمون توسط محلول‌هایی از مخلوط عصاره گیاه و نیترات نقره در pHهای مختلف اسیدی و بازی با استفاده از بافر برایتون- رابینسون صورت گرفت. بعد از دو ساعت طیف مرئی مخلوط ۲ میلی لیتر عصاره و ۴ میلی لیتر نمک نیترات نقره با غلظت ۱ میلی مولار، توسط طیف‌سنج فرابنفش / مرئی خوانده شد. شکل ۲ نتایج اثر pH بر تشکیل نانو ذرات سبز نقره را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۲ در $pH = 11$ بیشترین مقدار جذب دیده شد که بهترین محیط را برای سنتز سبز نانو ذرات نقره توسط گیاه غازیاقی نشان می‌دهد. از این مقدار pH در بهینه‌سازی دیگر پارامترها استفاده شد.

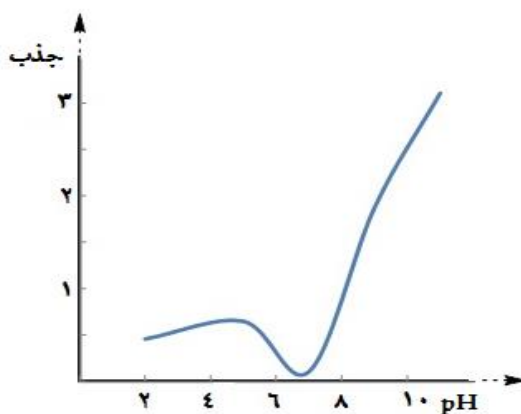
بودند، به‌طور جداگانه توسط دستگاه طیف سنج فرابنفش / مرئی در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به شاهد خوانده شد. در این آزمایش از اسیداسکوربیک که یک آنتی اکسیدان قوی است، به عنوان استاندارد استفاده گردید. درصد مهار رادیکال آزاد (% I) هر عصاره توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%I = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100 \quad (1)$$

در این جا A_{sample} و $A_{control}$ به ترتیب جذب رادیکال DPPH در زمان نخستین ($t=0 \text{ min}$) و جذب آنتی‌اکسیدان پس از ۳۰ دقیقه است (Katalinik et al., 2006; Choi et al., 2002).

نتایج

از آنجایی که بهینه سازی پارامترهای مختلف بر روی خواص و ریخت‌شناسی نانو ذرات تاثیر می‌گذارد، اثر pH، غلظت نیترات نقره، حجم عصاره، دما و زمان، انواع پارامترهایی بودند که در سنتز نانو ذرات نقره توسط گیاه خوراکی دارویی غازیاقی مورد ارزیابی قرار گرفت. سنتز نخست نانو ذرات سبز نقره شامل ۲ میلی لیتر عصاره و ۴ میلی لیتر محلول ۱

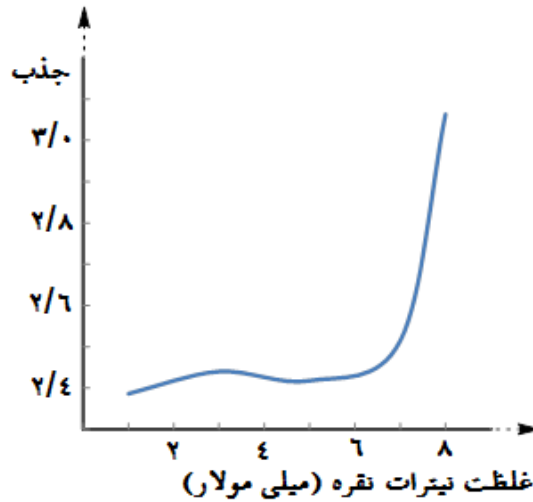


شکل ۲: اثر pH بر سنتز سبز نانو ذرات نقره توسط عصاره گیاه غازیاقی

سنج فرابنفش / مرئی، طیف محلول‌های شامل ۴ میلی لیتر از غلظت‌های ۱، ۳، ۵، ۷ و ۸ میلی مولار از نیترات نقره به همراه ۲ میلی لیتر عصاره گیاه غازیاقی

در گام دوم غلظت‌های متفاوت از محلول نیترات نقره در $pH = 11$ جهت بررسی اثر غلظت و بهینه سازی آن تهیه شد. پس از دو ساعت توسط طیف

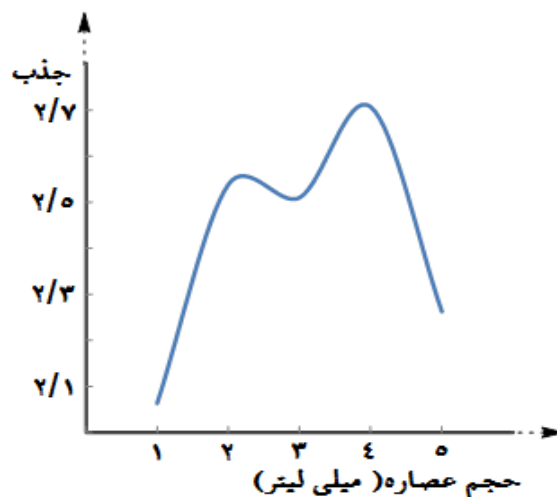
گرفته شد. با توجه به شکل ۳، غلظت بهینه‌ی دارای بالاترین جذب، محلول ۸ میلی مولار نیترات نقره می‌باشد. بدین ترتیب در بهینه‌سازی پارامترهای دیگر این غلظت به کار رفت.



شکل ۳: اثر غلظت‌های متفاوت نیترات نقره بر سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه غازیاقی

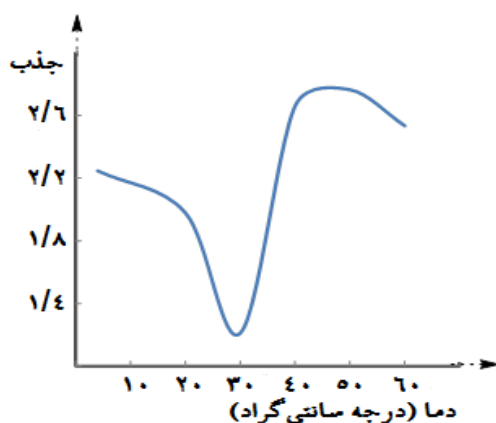
توسط طیف سنج فرابنفش / مرئی خوانده شد. شکل ۴ نشان می‌دهد که مقدار عصاره با حجم ۴ میلی لیتر (۲۱/۴ گرم بر لیتر) دارای بالاترین جذب می‌باشد در واقع تشکیل نانوذرات در این غلظت بیشتر اتفاق افتاده است. بنابراین در بهینه‌سازی پارامترهای دیگر از ۴ میلی لیتر حجم عصاره گیاه غازیاقی استفاده شد.

گام سوم بررسی اثر میزان عصاره در سنتز سبز نانو ذرات نقره بود. برای این منظور مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی لیتر از عصاره به ترتیب با غلظت‌های ۱۰، ۱۶/۷، ۲۱/۴ و ۲۵ گرم بر لیتر به همراه ۴ میلی لیتر محلول نیترات نقره با غلظت ۸ میلی مولار و $pH = 11$ تهیه شد. طیف مخلوط حاصل پس از دو ساعت



شکل ۴: اثر حجم‌های متفاوت عصاره گیاه غازیاقی بر سنتز سبز نانوذرات نقره

فرابنفش / مرئی پس از زمان مشخص خوانده شد. در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، بالاترین میزان جذب دیده شد به طوری که این دما به عنوان دمای بهینه انتخاب شد. نتایج حاصل از آزمون اثر دما بر سنتز سبز نانو ذرات نقره در شکل ۵ آورده شده است. این مقدار دما و دیگر شرایط بهینه برای ارزیابی پارامتر بعدی به کار رفت.



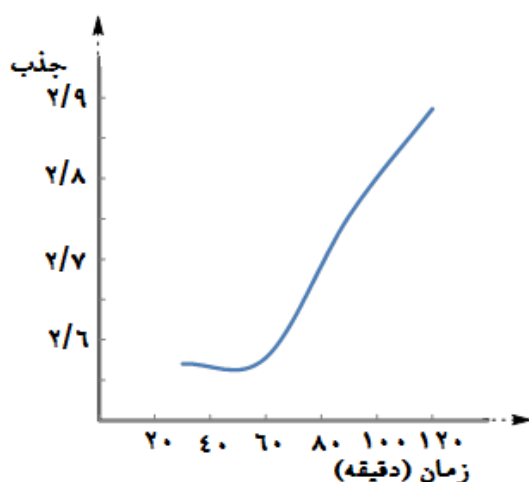
شکل ۵: اثر دما بر سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه غازیاقی

مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت.

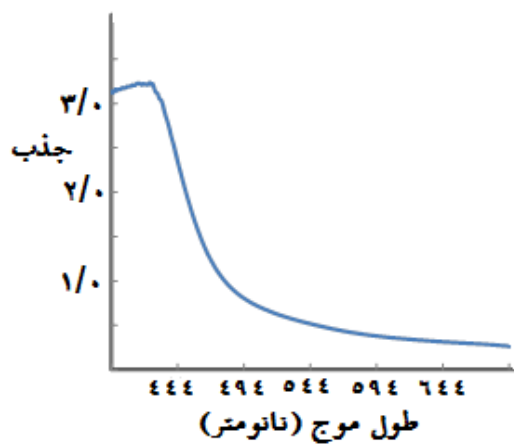
شکل ۷ طیف فرابنفش / مرئی نانو ذرات سبز گیاه غازیاقی را نشان می دهد. بیشینه جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر بود. تغییر رنگ محلول از قهوه ای کم رنگ به قهوه ای پر رنگ نشان دهنده تشکیل نانوذرات می باشد (شکل ۸). جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی است، که برجسته ترین خاصیت نوری نانوساختارهای فلزی می باشد که یکی از خواص متمایز کننده نانو ذرات از مواد در مقیاس بزرگ است. در واقع تحریک پلاسمون های سطح در نانوذرات فلزی باعث ایجاد خاصیت نوری در سایر مواد نوری می شود و طیف گسترده ای از کاربردها در زمینه های مختلف زیست پزشکی، انرژی، حفاظت از محیط زیست و فناوری اطلاعات را به همراه دارد (Garcia, 2012).

گام چهارم ارزیابی اثر دما بر سنتز سبز نانو ذرات نقره با عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی است. در این مرحله محلول ها با شرایط بهینه ی پیشین که در بالا ذکر شد، تهیه شدند. مخلوط عصاره و محلول نیترات نقره به مدت ۲ ساعت در دماهای ۴، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد به طور جداگانه نگه داشته شدند، برای دماهای بالا از حمام آب گرم استفاده شد. طیف مخلوط ها توسط طیف سنج

گام پنجم در بهینه سازی شرایط سنتز سبز نانو ذرات نقره توسط عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی، تعیین اثر زمان بود. مخلوط عصاره و محلول نیترات نقره که با لحاظ کردن شرایط بهینه در آزمون های پیشین تهیه شده بود، در زمان های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ دقیقه توسط طیف سنج فرابنفش / مرئی طیف گیری شد. با ارزیابی داده های حاصل از آزمایش، بهترین زمان برای تشکیل نانو ذرات سبز ۱۲۰ دقیقه می باشد شکل ۶ نتایج آزمایش اثر زمان و زمان بهینه ی تشکیل نانوذرات را نشان می دهد. در نهایت تمام شرایط بهینه برای تشکیل نانو ذرات سبز نقره با استفاده از گیاه خوراکی دارویی غازیاقی به دست آمد که پیش از این در جدول ۱ آورده شده بود. با استفاده از این نتایج سنتز سبز نانو ذرات نقره انجام شد و مشخصه یابی این نانو ذرات توسط روش های



شکل ۶: اثر زمان بر سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه غازیاقی



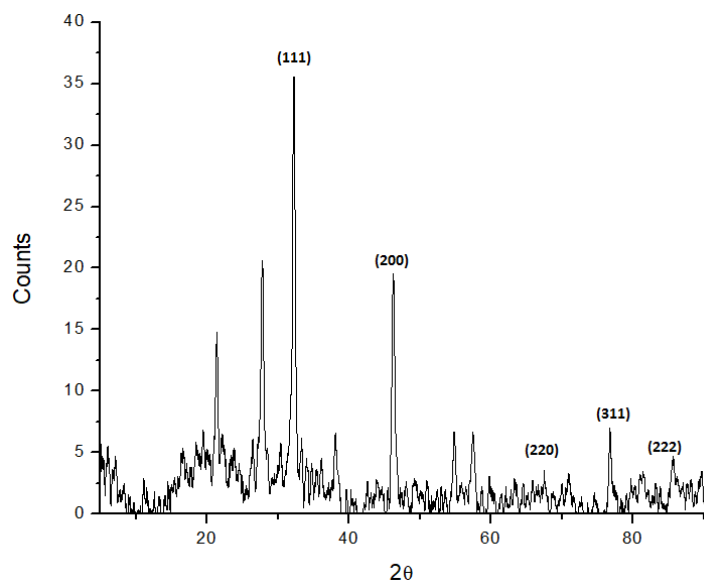
شکل ۷: طیف فرابنفش - مرئی نانو ذرات نقره با عصاره گیاه غازیاقی



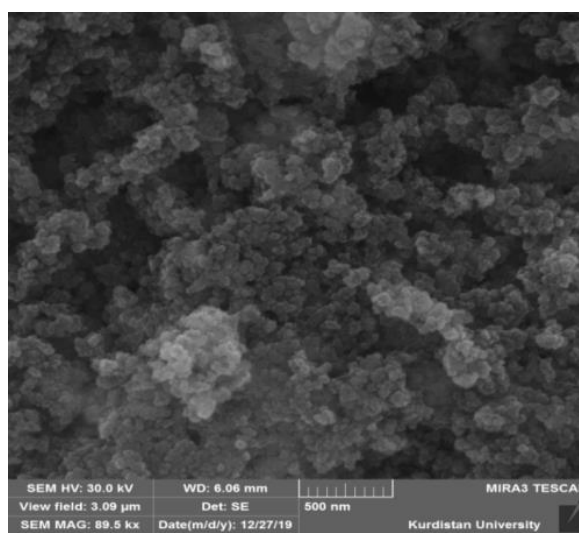
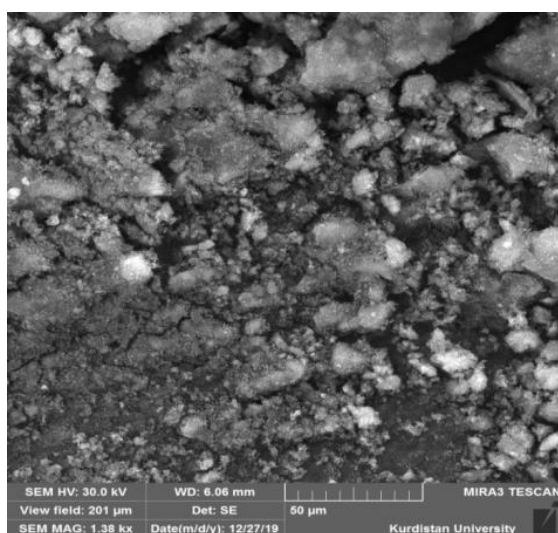
شکل ۸: تغییر رنگ محلول نیترات نقره و عصاره گیاه غازیاقی و تبدیل آن به نانوذرات نقره، (۱) محلول نیترات نقره (۲) عصاره آبی گیاه غازیاقی (۳) نانو ذره سنتز شده

که نتایج به دست آمده در شکل‌های ۹ و ۱۰ نشان داده شده است.

جهت تشخیص خاصیت بلوری، اندازه و ریخت‌شناسی نانو ذرات از تکنیک‌های پراش پرتو ایکس و میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد،



شکل ۹: الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات نقره با عصاره گیاه غازیاقی



شکل ۱۰: ریخت‌شناسی نانو ذرات نقره با عصاره گیاه غازیاقی در بزرگنمایی‌های متفاوت

توجه به الگوی پراش اشعه ایکس مناسب به نظر می‌رسد و می‌تواند نشان‌دهنده تشکیل بلورهای نقره باشد. میانگین اندازه ذرات با استفاده از رابطه شرر که به صورت رابطه‌ی (۲) نمایش داده می‌شود، حدود ۱۶۷۰ نانومتر است.

$$D = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (2)$$

در رابطه‌ی (۲)، λ طول موج پرتو ایکس، θ زاویه‌ی پرتوی فرودی، β عرض پیک در نصف شدت بیشینه و

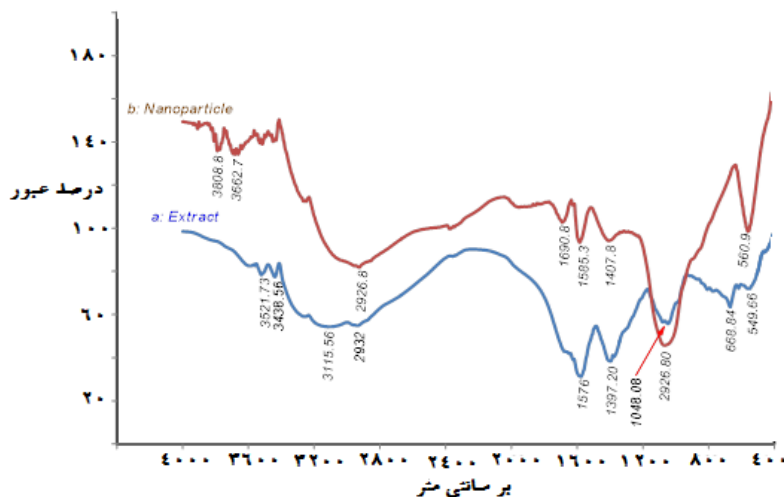
الگوی پراش نانو ذرات سبز نقره سنتز شده در شرایط بهینه بر اساس شاخص‌های میلر در (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) نشانه‌گذاری شدند، که منطبق بر الگوی ساختاری مکعبی مرکز وجوه پرا می‌باشند. الگویی که در فاصله‌ی 2θ بین ۳۰-۱۰ شکل ۹ مشاهده می‌شود را می‌توان به پراش حاصل از عصاره‌ی همراه نانو ذره نسبت داد. شدت پیک‌ها با

1. Face centered cubic (FCC) structure

به ترتیب دلیلی بر وجود گروه‌های عاملی کربوکسیلیک اسید، ارتعاش کششی O-H الکی یا ارتعاش کششی C-H، آمید نوع I یا آلکن (C=C) مربوط به فلاونوئیدها یا آمینو اسیدها یا ارتعاش کششی کتون مزدوج، ارتعاش خمشی O-H کربوکسیلیک اسید یا ارتعاشات خمشی N-H، ارتعاش خمشی C=C دلیلی بر وجود ترین‌ها یا کششی اتری (C-O-C) یا ارتعاش کششی C-N گروه آمینی، ارتعاش حلقه‌های آروماتیک یا خمشی C=C و ارتعاش گروه اتتری C-C-O باشد. پیک مربوط به گروه آمینی دلیلی بر وجود پروتئین در ساختار نانو ذرات است. در واقع پروتئین‌های گیاهی عامل کاهش یون نقره می‌باشند و برخی از آن‌ها اطراف نانو ذرات را احاطه کرده و از تجمع نانو ذرات جلوگیری می‌کند. همچنین می‌توان گفت بعضی از ترکیبات پلی‌هیدروکسی که در آب محلول هستند، مانند آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدها و فلاونوئیدها به عنوان لیگاندهای پوششی نانو ذرات عمل می‌کنند (Zarea, 2015).

D اندازه تقریبی ذرات می‌باشد. تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی مربوط به ریخت‌شناسی نانو ذرات نقره سنتز شده با گیاه دارویی غازیاقی در شرایط بهینه، بیانگر تشکیل نانو ذرات با اندازه تقریبی ۱۶-۲۹ نانومتر است. با توجه به شکل ۱۰ نانو ذرات تشکیل شده شبه کره‌ای بر روی بستر هستند.

شکل ۱۱ طیف FT-IR نانو ذرات سبز نقره و عصاره گیاه غازیاقی را نشان می‌دهد که به منظور تشخیص مولکول‌های زیستی موجود در عصاره گیاه که قابلیت تبدیل نیترات نقره به نانو ذرات نقره را دارند، مورد بررسی قرار گرفت. مشابه بودن طیف FT-IR عصاره و نانو ذره نشان می‌دهد ترکیبات عصاره به صورت لایه‌ای در اطراف نانو ذره قرار گرفته‌اند و باعث افزایش پایداری نانوذره می‌شوند. تحلیل طیف شکل ۱۱ حضور ترکیبات فنلی و الکی را در محدوده 3438 و 3008 cm^{-1} نشان می‌دهد. همچنین پیک‌های موجود در محدوده 3115 و 2926 cm^{-1} ، 1690 ، 1576 ، 1407 ، 1397 ، 1048 ، 826 ، 668 و 560 cm^{-1} می‌تواند



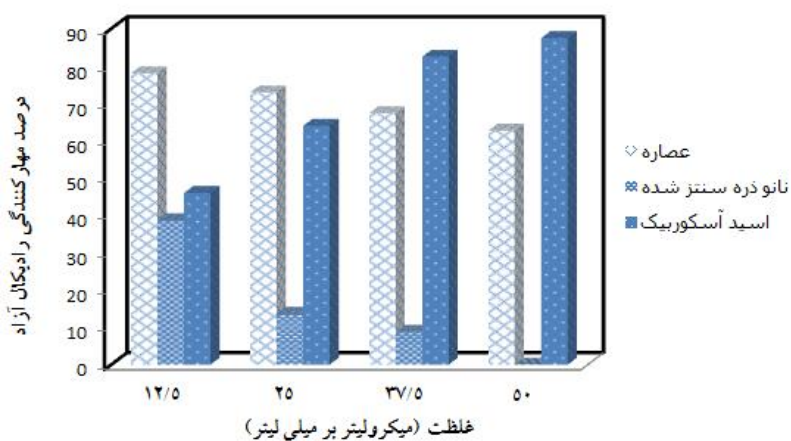
شکل ۱۱: طیف FT-IR: a: عصاره گیاه غازیاقی و b: نانو ذرات نقره با عصاره گیاه غازیاقی

الکترون عمل کرده و میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و نانو ذره بر حسب IC_{50} بیان شد. IC_{50} نشان‌دهنده غلظتی از ترکیب است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال آزاد می‌گردد. این کمیت بوسیله

در گام آخر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی و نانو ذره‌ی سنتز شده آن مورد بررسی قرار گرفت. در واقع عصاره گیاه یا نانو ذره تهیه شده با عصاره به‌عنوان مولکول اهداکننده

همان‌طور که شکل ۱۲ نشان می‌دهد، میزان مهار رادیکال آزاد در غلظت ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه غازیاقی و نانو ذره حاصل از آن بسیار بیشتر از غلظت‌های دیگر است. از آنجایی که تمام آزمایش‌های بهینه‌سازی با عصاره آبی انجام شد میزان مهار رادیکال آزاد توسط عصاره آبی در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد، می‌توان دریافت که میزان مهار رادیکال آزاد ناشی از مقدار متفاوت ترکیبات فنلی می‌باشد.

آنالیز همبستگی خطی به‌دست آمده از فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و نانو ذره حاصل از آن در غلظت‌های مختلف نمونه تعیین گردید و با نتایج به‌دست آمده از اسیداسکوربیک به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه شد. ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد با حلال آب در غلظت‌های متفاوت حاوی ۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵ و ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره و نانو ذره حاصل از آن صورت گرفت و نتایج حاصل با میزان مهار رادیکال آزاد توسط اسیداسکوربیک مقایسه گردید. نتایج حاصل از این آزمون در شکل ۱۲ نشان داده شده است.



شکل ۱۲: نمودار مقایسه میزان مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های متفاوت عصاره

آبی به روش رادیکال DPPH

سلول‌ها جلوگیری می‌کند (Dousti et al., 2019). آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی علاوه بر کاربردشان در غذا و سلامت انسان، در زمینه‌های دیگر مانند کنترل پلیمریزاسیون در صنعت لاستیک، پلاستیک و چاپ، همچنین به عنوان نگه دارنده پلاستیک‌های شفاف در برابر نور ماوراء بنفش یا در طراحی بهتر سوخت اتومبیل و روغن‌های روان‌کننده‌ی آن به کار می‌روند (Miguel, 2010). آنتی‌اکسیدان‌ها در خود گیاه نیز بر روی عملکرد هورمون‌ها، رفع آلودگی میکروبی، دور کردن علف‌خواران و محافظت در برابر تابش اشعه ماوراء بنفش موثر هستند (Sumner et al., 2015).

بحث

از آنجایی که در سال‌های اخیر مقدار فراوانی پلی‌فنل‌های غذایی مانند آنتی‌اکسیدان‌ها به‌دلیل خواص شگرفشان در رژیم غذایی انسانی قرار گرفته‌اند، یافتن گیاهانی که دارای این خاصیت هستند توجه پژوهشگران را به خود جلب نموده است. مشخص شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی فرآورده‌های گیاهی بیشتر به وجود متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات فنولیک مانند فلاونوئیدها و اسیدفنولیک، اسیداسکوربیک، ویتامین E و کاروتنوئیدهای مختلف نسبت داده می‌شود، که از آسیب‌های اکسیداتیو

مهارکنندگی سرطان و پیشگیری کنندگی از بیماری آلزایمر را برای لیمونن بیان کرد. همچنین اسپاتونول به‌عنوان آفت‌کش مورد استفاده قرار گرفته و خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی و اثر ضدسرطانی آن و ترکیب کارواکرول نیز به اثبات رسیده است (Bakhshi Khaniki and Hosseinzadegan, 2014). در این کار عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی و نانو ذره حاصل از آن به‌عنوان مولکول دهنده الکترون به رادیکال DPPH و تبدیل آن به آنتی‌اکسیدان --DPPH H عمل کرده است (شکل ۱۳).

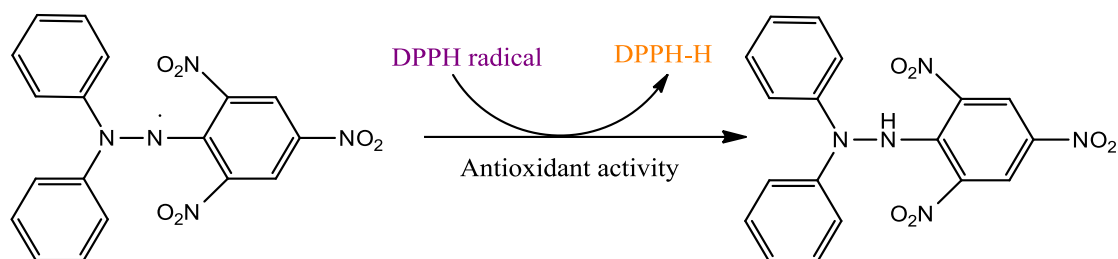
با در نظر گرفتن فعالیت مناسب آنتی‌اکسیدانی گیاه غازیاقی ناشی از ترکیبات فنلی، سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از این گیاه خوراکی دارویی انجام شد. پژوهش‌ها نشان داده است که عصاره گیاهان دارای ترکیبات طبیعی فنلی می‌باشد که به‌عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده در تشکیل نانو ذرات نقش ایفا می‌کنند (Kamari Bidkorpheh et al., 2019). در زمینه سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاهان دارویی و بهینه‌سازی پارامترهای سنتزی پژوهش‌های فراوانی صورت گرفته است (Ahmad et al., 2016; Ferreyra Maillard et al., 2018; Roy et al., 2019). به‌عنوان نمونه در پژوهشی از عصاره برگ و ریشه گیاه زرشک نانو ذرات نقره تهیه گردید. شرایط بهینه برای تشکیل این نانو ذرات غلظت ۳mM نیترات نقره، حجم ۵ml عصاره و زمان ۱۲ ساعت در دمای اتاق بود. در هر کدام از این شرایط، افزایش پیک جذبی فرابنفش - مرئی نشان‌دهنده‌ی افزایش تبدیل یون نقره به نقره صفر ظرفیتی بوده است، در پژوهش ذکر شده میانگین اندازه نانو ذرات سنتز شده ۵۰ نانومتر بود (Behravan et al., 2019). همچنین در پژوهشی دیگر عوامل موثر بر سنتز نانو ذرات نقره از عصاره آبی رزماری بررسی شد. نتایج نشان داد

بیشتر پژوهش‌ها نشان داده است گیاهان دارای ترکیبات فنولی با اثر آنتی‌اکسیدان قوی می‌توانند مهارکننده‌ی بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، دیابت و بیماری‌های عصبی باشند (Aryal et al., 2019). ترکیبات آنتی‌اکسیدان از بین برنده رادیکال‌های آزاد هستند، رادیکال‌های آزاد در متابولیسم هوازی سلول به‌طور پیوسته تولید می‌شوند. رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های اکسیژن فعال علاوه بر پیری در آسیب‌شناسی بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، بیماری‌های عروق کرونر، فشار خون بالا، دیابت و اختلالات عصبی دخیل هستند. بسیاری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مصنوعی دارای اثرات سمی یا جهش‌زا هستند، به‌همین دلیل تقویت پژوهش‌ها در مورد خواص آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گسترش بیشتری یافته است (Safari and Ahmadi-Asbchin, 2019). یکی از روش‌های ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی استفاده از رادیکال DPPH است که در این پژوهش به کار رفته است. رادیکال DPPH توانایی جدا کردن هیدروژن فنولیک مولکول اهدا کننده الکترون را دارد و این، مکانیسم کلی فعالیت مهارکننده‌های آنتی‌اکسیدانی است (Mensor et al., 2001; Karamian et al., 2018). پژوهش‌های گذشته نشان داده است که روغن فرار گیاه غازیاقی دارای ترکیباتی مانند اسپاتونول، کارواکرول، آلفا-پینن^۱ و لیمونن^۲ می‌باشد (Choobkar et al., 2017; Shafaghat, 2011). کارواکرول و اسپاتونول به‌ترتیب متعلق به مونوترپن‌ها^۳ و سزکوئی‌ترپن‌ها^۴ هستند (Zanganeh et al., 2019). می‌توان خواص ویژه‌ای مانند خاصیت ضد التهابی، ضد باکتریایی و مهارکنندگی سرطان را برای آلفا-پینن و خاصیت ضد توموری، ضد سرطانی،

1. Alpha-Pinene
2. Limonene
3. Monoterpene
4. Sescuierpene

شکل‌های ۲ تا ۶ آورده شده است. برای اثبات وجود نانو ذرات بایستی از روش‌های دستگاهی استفاده شود. در این پژوهش نیز مانند دیگر مطالعات، بررسی ساختار و ریخت‌شناسی نانو ذرات نقره صورت گرفت که در شکل‌های ۷ تا ۱۱ نمایش داده شده است. همه روش‌ها وجود نانو ذرات صفر ظرفیتی نقره را تایید می‌کند و اندازه تقریبی نانو ذرات سنتزی در کار حاضر حدود ۱۶ تا ۲۹ نانومتر به دست آمد.

غلظت ۱mM نیترات نقره، غلظت ۲۰g/l عصاره، pH برابر ۹ و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بهترین شرایط برای حصول نانو ذرات نقره صفر ظرفیتی بود. اندازه تقریبی نانو ذرات سنتز شده در این کار حدود ۲۰ تا ۳۰ نانومتر گزارش شد (Heidari et al., 2016). البته پژوهش‌ها در این زمینه بسیار است، اما در این کار نانو ذرات صفر ظرفیتی نقره با گیاه غازیاقی در شرایط بهینه‌ی جدول ۱ سنتز شد. نتایج اثر pH، اثر غلظت نیترات نقره، حجم عصاره، دما و زمان به ترتیب در



شکل ۱۳: نمایش مهارکنندگی رادیکال DPPH و تبدیل آن به آنتی‌اکسیدان DPPH-H

اکسیدانی مناسب عصاره گیاه باعث سنتز نانو ذرات نقره شده است (Gorjian et al., 2019).

نتیجه‌گیری نهایی

سنتز نانوذرات به روش زیستی یا سنتز سبز یک روش سالم و دوستدار محیط زیست می‌باشد، از این رو در زمینه نانو فناوری توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. همچنین یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که در جهت جلوگیری از بیماری‌های مختلف و حتی فساد غذایی موثر هستند، از دیگر فواید مهم گیاهان است. در این پژوهش از عصاره‌ی آبی گیاه خوراکی دارویی غازیاقی برای سنتز نانو ذرات نقره به عنوان یک عامل کاهنده و پایدارکننده استفاده شد. در واقع ارزیابی شرایط بهینه سنتز سبز نانو ذرات نقره بدون استفاده از مواد سمی و

یافته‌های این پژوهش در زمینه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی و نانو ذره‌ی حاصل از آن مطابق شکل ۱۲ بیانگر آن است که میزان مهار رادیکال آزاد در غلظت کم یعنی ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه و نانو ذره نسبت به دیگر غلظت‌ها بیشتر می‌باشد. در واقع وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه و نانو ذره‌ی حاصل از آن، نتایج به دست آمده از طیف مادون قرمز آن‌ها و یافته‌های دیگر پژوهش‌گران در مورد وجود ترکیبات فنلی را تایید می‌کند. بر اساس شکل ۱۲ خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی بیشتر از نانو ذره‌ی سنتز شده با این عصاره بوده است و روند کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت، در هر دو مورد عصاره گیاهی و نانو ذره‌ی سنتز شده یافت شد. می‌توان گفت فعالیت آنتی

این پژوهش و پژوهش‌های مشابه می‌توان از این گیاه و نانو ذره‌ی نقره سنتز شده به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بهره گرفت.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد می‌باشد. به این منظور از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد به دلیل پشتیبانی تجهیزات و امکانات سپاس‌گزاری به عمل می‌آید.

خطرناک انجام شد به‌طوری‌که می‌تواند در صنعت غذا و دارو کاربرد داشته باشد. ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی و نانو ذره‌ی حاصل از آن به روش متداول DPPH انجام شد، که گویای توانایی بسیار زیاد این گیاه در جلوگیری از واکنش اکسایشی ناشی از رادیکال آزاد DPPH بود. البته فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه خوراکی دارویی غازیاقی بیشتر از نانو ذره‌ی حاصل از آن در غلظت مشابه گزارش شد. با توجه به یافته‌های

References

- Ahmad, A., Wei Y. and Syed F. 2016. Amphotericin B-conjugated biogenic silver nanoparticles as an innovative strategy for fungal infections. *Microbial Pathogenesis*, 99: 271-281.
- Ahmad, N., Sharma, S., Alam Md, K., Singh, V.N., Shamamsi, S.F. and Mehta, B., et al. 2010. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81: 81-86.
- Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. and Koirala, N. 2019. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal, *Plants*, 8(4): 96-107.
- Bakhshi Khaniki, Gh. and Hosseinzadegan, R. 2014. Investigation of Chemical composition of essential oil of *Teucrium polium* L. in different habitats of Mazandaran Province, *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 3 (12): 47-55. (In Persian)
- Beer, C., Foldbjerg, R., Hayashi, Y., Sutherland, D.S. and Autrup, H. 2012. Toxicity of silver nanoparticles- Nanoparticle or silver. *Toxicology Letters*, 208: 286-292.
- Behravan, M., Hossein Panah, A., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi, R. and Mirzapour, A. 2019. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 124: 148-154.
- Britton, H.T.S. and Robinson, R.A. 1931. CXCVIII.—Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal, *Journal of the American Chemical Society (Resumed)*, 0: 1456-1462.
- Cho, Y.M., Mizuta, Y., Akagi, J., Toyoda, T., Sone, M. and Ogawa, K. 2018. Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *Journal of Toxicologic Pathology*, 31(1): 73-80.
- Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., Ahn H.J., Lee M.Y., Park S.H. and Kim, S.K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants flavonoids by assay- guided comparison, *Plant Science*, 163: 1161-1168.
- Choobkar, N., Kakoolaki, S. and Mohammadi, F. 2017. The biological effects of herbal medicine, *Falcaria vulgaris*: An article review, *Iran J Aquat Anim Health*, 3(1): 74-83.
- Doosti, B., Nabipour, F. and Hajiamraei, A. 2019. Green synthesis of silver nanoparticle by using the aqueous extract of *Fumaria parviflora* and investigation of their antibacterial and antioxidant activities. *Razi Journal of Medical Sciences*, 26 (6): 105-117. (In Persian)
- Ebrahimi Monfared, K., Rafiee, Z. and Jafari, S.M. 2012. Phenolic content and antioxidant activity of *Flacaria vulgaris* extracts. *Analytical Chemistry Letters*, 2 (3): 159-170.

13. Ferreyra Maillard, A.P.V. and Dalmasso, P. R. 2018. Interaction of green silver nanoparticles with model membranes: possible role in the antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B.*, 171: 320-326.
14. Garcia, M.A. 2012. Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45: 389501 (1pp).
15. Gorjian, F., Mirza jani, R. and Kolahi, M. 2019. Phytochemical, antioxidant and phenolic content survey of leaves and flowers hydroalcoholic extracts of the *Conocarpus erectus* and biosynthesis of gold and silver nanoparticles using this extracts. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal plants*, 7 (1): 87-100.
16. Gour, A. and Kumar Jain, N. 2019. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 47(1): 844-851.
17. Grätzel, M. 2001. Photoelectrochemical cells. *Nature*, 414: 338-344.
18. Gress, E.M. 1923. *Falcaria rivini*, A plant new to the UNITED STATES. *Rhodora*, 25 (289): 12-13.
19. Haji Sharif A. 2007. The secret and mystery of herbal medicine, 4th, Tehran, Hafez Novin, pp: 944. (In Persian)
20. Heidari M. and Bagheri M. 2019. The antimicrobial effects of Hydro- extract of *Mentha piperita* Lamiaceae essential oil Nanoemulsion on gram- negative bacteria of *Escherichia coli*: aLaboratory study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 18(6): 515-528. (In Persian)
21. Heidari, R., Rashidpour, M. and Azadpour, M. 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* L.: synthesis and antibacterial activities, *Journal of Nanomaterials*, 8 (26): 99-106. (In Persian)
22. Hosseini, S., Gharachorloo, M., Ghiassi Tarzi, B. and Ghavami M. 2014. A review of antioxidant capacity assays (Reactions, Methods, Pros and Cons), the *Society for Information Display*, 11(4): 89-111.
23. Jaberian, H., Piri, K. and Nazari, J. 2013. Photochemistry composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*, 136: 237-244.
24. Karamian, R., Asadbeigy, M. and Yari, S. 2018. Antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* L. extract and protective effect of its leaf extract on ethanol-Induced nephrotoxicity in Male Rate, *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 26 (4): 1-12. (In Persian)
25. Kamari Bidkorpheh, M., Jamzad, M. and Naderi, F. 2019. Evaluation of the aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. potential in the synthesis of Iron oxide nanoparticles, *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 26 (2): 117-128. (In Persian)
26. Katalinik, V., Milos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols, *Food Chemistry*, 94: 550-557.
27. Khan Ahmadi, M. and Shahrezaei, F. 2007. Study on chemical constituents of the essential oil of *Falcaria vulgaris* Bernh. 6 (23): 52- 57. (In Persian)
28. Khazaei, M. and Salehi, H. 2006. Protective effect of *Folcaria vulgaris* extract on ethanol induced gastric ulcer in rat. *Iranian Journal Pharmacology and Therapeutics*, 5: 43-46.
29. Krinsha, V.C., Ranger, K., Lavate, R.A. and Kumbhar, D.A. 2016. Sathe S.S, Kokare B.N., green synthesis of silver nanoparticles from plants. *Proceeding of international conference on advances in materials science* ISBN 978-93-5254-490-5.
30. Mensor, L.L., Menezes, F.S., Leitão ,G. G., Reis, A.S., Santos, T.C., Coube, C.S. and Leitão, S.G. 2001. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method, *Phytotherapy Research*, 15: 127-130.
31. Miguel M.G. 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25: 291-312.
32. Moyer, C.A., Brentano, L., Gravens, D.L., Margraf, H.W. and Monafu, W.W. 1965. Treatment of large human burns

- with 0.5% silver nitrate solution. Archives of Surgery, 90: 812-867.
33. Nadaroglu, H. and Gungor, A. A. 2017. Ince S, Synthesis of nanoparticles by green synthesis method. Juneau Icefield Research Program, 1(1): 6-9.
 34. Pareek, V., Bhargava, A., Gupta, R., Jain, N. and Panwar, J. 2017. Synthesis and applications of noble metal nanoparticles: A Review. Advanced Science, Engineering and Medicine, 9: 527-544.
 35. Parka, E., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K. and Lee, S.H. 2010. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles, Environmental Toxicology and Pharmacology, 30(2): 162-8.
 36. Ranjbar, A., Ataie Z., Khajavi F., and Ghasemi, H. 2014. Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress biomarkers in rat. Nanomedicinal Journal, 1(3): 205-211.
 37. Rezaei-Zarchi, S., Taghavi-Foumani, M. H., Razavi Sheshdeh, S.A.R. and Negahdary M. 2013. The effect of silver nanoparticles on blood cells in male rats. The Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization, 10(2): 147-153. (In Persian)
 38. Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A.K. and Yilmaz, M.D. 2019. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. Royal Society of Chemistry Advances, 9(5): 2673-2702.
 39. Safari, M. and Ahmadi-Asbchin, S. 2019. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves, Biotechnology and Biotechnological Equipment, 33 (1): 372-378.
 40. Shafaghat, A. 2011. Volatile oil constituents and antibacterial activity of different parts of *Falcaria vulgaris* Bernh. Growing wild in two localities from Iran, Natural Product Research, 25(4): 368-373.
 41. Salahshoor, M.R., Mohammadi, M.M., Roshankhah, Sh., Najari, N. and Jalili, C. 2019. Effect of *Falcaria vulgaris* on oxidative damage of liver in diabetic rats. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 18 (1): 15- 23.
 42. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., 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: 469-502.
 43. Sperling, R.A., Zhang, F., Zanella, M., Parak, W.J. 2008. Biological applications of gold nanoparticles. Chemical Society Reviews, 37: 1896-1908.
 44. Sreepasad, T.S. and Pradeep, T. 2013. Springer Handbook Nano- materials. Springer, Berlin, Heidelberg, pp: 1221.
 45. Soudamani, S., Yuvaraj, S., Malini, T. and Balasabramanian, K. 2005. Experimental diabetes has adverse effects on the differentiation of ventral prostate during sexual maturation of rats. The Anatomical Record Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 287: 1281-1289.
 46. Sumner, L.W., Lei, Z., Nilolau, B.J., Saito, K. 2015. Modern plant metabolomics: advanced natural product gene discoveries, improved technologies, and future prospects, Natural Product Reports, 32: 212-229.
 47. Tao, A., Kim, F., Hess, C., Goldberger, J., He, R. and Sun, Y., et al. 2003. Langmuir- Bldgett silver nanowire monolayers for molecular sensing using surface- Enhanced Raman Spectroscopy. Nano Letters, 3(9): 1229-1233.
 48. USDA APHIS. 2012. Weed Risk Assessment for *Falcaria vulgaris* Bernh. (Apiaceae)-Sickleweed. United States Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), Version 1. www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/weeds/downloads/wra/Falcaria_vulgaris
 49. Veerasamy, R., Xin, T.Z., Gunasagaran S., Wie Xiang, T.F., Chou Yang, E.F., and Jeyakumar N. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. Journal of Saudi Chemical Society, 15: 113-120.

50. Zanganeh, M.M. 2019. Green synthesis and chemical characterization of silver nanoparticles from aqueous extract of *Falcaria vulgaris* leaves and assessment of their cytotoxicity and antioxidant, antibacterial, antifungal and cutaneous wound healing properties. *Applied Organometallic Chemistry*, 33 (9): e4963.
51. Zanganeh, M.M., Ghanei alvar, H., Akbari bazm, M., Ghanimatdan, M., Abbasi, N., Goorani, S., Pirabbasi, E. and Zanganeh, A. 2019. Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under *in vitro* and *in vivo* condition. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 197: 111556.
52. Zarea, E. 2015. Green synthesis of Ag, Fe₃O₄, ZnO, CuO and TiO₂ nanoparticles in some medicinal plants and study of antibacterial and antifungal effects, Master thesis, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman. (In Persian)
53. Zargar, M. and Mohammadi Bandari, N. 2013. Silver nanoparticles and their applications. *Applied Biology*, 11(3):13-31. (In Persian)

Determine optimal conditions of synthesis of silver green nanoparticles by aqueous extract of *Falcaria vulgaris* edible- plant and evaluation of its antioxidant properties

Delfan, Z.¹, Kochackzadeh, Gh.^{2*}

¹M.Sc., Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran

²Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran

Received: 6-6-2020 Accepted: 12-10-2020

Abstract

Nowadays, the advent of nanotechnology and the synthesis of nanoparticles have brought many developments to humans, but this technology must be considered in terms of safety. Meanwhile, the synthesis of green nanoparticles has expanded due to more compatibility with the environment and that they are low costs and non-toxic, because the plants have a very good ability for reducing the metal ions and synthesizing nanoparticles. In recent research, the optimum conditions for the green synthesis of silver nanoparticles using the extract of *Falcaria vulgaris* Bernh. and its antioxidant effect were investigated. In this research, first aerial parts of plant were collected plains south of Khorramabad before the flowering stage in May and dried in shade. After preparing the aqueous extract of plant by soaking, effective parameters of nanoparticles synthesis such as pH, AgNO₃ concentration, extract concentration, temperature and time were evaluated. Optimal conditions of silver nanoparticles synthesis by plant are include pH=11, AgNO₃ concentration= 8 mM, extract value= 4 cc, temperature= 40°C and time= 120 minute. The formation of silver nanoparticles was confirmed by the techniques of UV-Vis, X ray diffraction and FT-IR. The study of the morphology of the resulting nanoparticles showed a spherical shape with a particle size of 16-29 nm. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract and synthesizing nanoparticle by conventional DPPH method were carried out. Maximum value of free radical inhibition at 12.5 µl/ml concentration of extract and nanoparticle compared to ascorbic acid was reported. Finally, it can be concluded that the presence of various chemical compounds that have caused the antioxidant activity of the extract expresses the extract and the resulting nanoparticles as a source of natural antioxidants.

Keywords: Silver nanoparticles, *Falcaria vulgaris* edible- medicinal plant, Antioxidant properties

*Corresponding author; gh_kouchakzadeh@yahoo.com