

## مقاله پژوهشی

## فیتوستنز تک مرحله‌ای، سریع و مقرون به صرفه نانوذرات طلا پایدار و سازگار با محیط زیست با استفاده از گیاه گل نیمروزی

الهه اردونی<sup>۱</sup>، ابراهیم ملاحی<sup>۱\*</sup>، علیرضا عینعلی<sup>۲</sup> و امید عزیزیان شرمه<sup>۱</sup>

۱- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۹/۱۱/۱۶، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۰/۰۲/۱۹، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۰/۰۳/۲۰

### چکیده

پژوهش حاضر، اولین گزارش از سنتز سبز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره آبی گلبرگ گیاه گل نیمروزی می‌باشد. پس از جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری از آن، مقدار ۲ mL از عصاره با غلظت ۱٪ (w/w) به ۴ mL نمک طلا با غلظت ۱ mM در pH ذاتی محلول افزوده شد و با مشاهده تغییر رنگ محلول به ارغوانی و بررسی طیف اسپکتروفوتومتری فرابنفش-مرئی (UV-Vis)، سنتز سبز نانوذرات تایید شد. پس از سنتز نانوذرات طلا، پارامترهای مؤثر بر سنتز شامل: pH و واکنش، غلظت و حجم عصاره، غلظت نمک طلا و زمان واکنش مورد بررسی قرار گرفتند و توسط اسپکتروفوتومتری UV-Vis بهینه شدند. برای مشخصه‌یابی نانوذرات از تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و پراش پرتو ایکس (XRD) و از طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) برای شناسایی گروه‌های عاملی احتمالی دخیل در سنتز نانوذرات طلا استفاده شد. نتایج نشان دادند بهترین شرایط بهینه برای سنتز زیستی نانوذرات طلا توسط این گیاه، pH=۴، حجم ۳ mL عصاره با غلظت ۳٪ (w/w) و نمک طلا با غلظت ۳/۵ mM بوده است. آزمون طیف اسپکتروفوتومتری UV-Vis، رزونانس پلاسمون سطحی برای نانوذرات طلا را در ۵۴۳ nm نشان داد. نتایج بدست آمده از TEM و XRD نشان دادند که، نانوذرات کریستالی طلا با اشکال کروی، مثلثی و چند ضلعی با میانگین اندازه ۱۸/۲۵ nm سنتز شدند. بطور کلی گیاهان بدلیل داشتن ترکیبات موثر فراوان قابلیت سنتز نانوذرات را از طریق مسیر متابولیسم بیولوژیکی خود هستند.

**واژه‌های کلیدی:** فیتوستنز، نانوذرات طلا، گل نیمروزی، بهینه‌سازی.

### ۱- مقدمه

به خود جلب کرده است [۱]. در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیار زیادی برای تولید نانوذرات به دلیل خواص ویژه شیمیایی، نوری و الکتریکی آن‌ها صورت گرفته است که مؤید استفاده‌های گوناگون این مواد در زمینه‌هایی چون

در چند دهه اخیر، تهیه نانوذرات و مطالعه آن‌ها توجه دانشمندان را در حوزه‌های گوناگون علوم بنیادی و کاربردی

\* عهده‌دار مکاتبات: ابراهیم ملاحی

نشانی: زاهدان، خیابان دانشگاه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

تلفن: ۰۵۴-۳۱۱۳۶۳۳۹، دورنگار: ۰۵۴-۳۱۱۳۶۳۳۹، پست الکترونیکی: mollashahi39@chem.usb.ac.ir

که از این خاصیت در شناسایی این نانوذرات استفاده می‌شود [۱۲]. در سال‌های اخیر، نانوذرات فلزی به دلیل کاربردهای متنوع در زمینه‌های مختلف، بطور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. در این بین، نانوذرات طلا بیشتر از سایر نانوذرات فلزی، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. عدم سمیت سلولی نانوذرات طلا برای بافت‌های سالم، سهولت در ساخت، اندازه هسته، نسبت سطح به حجم، انتقال و تنظیم فرآیندهای تحویل دارو؛ این نانوذرات را به کاندیدای مناسبی برای کاربردهای درمانی و تشخیص تبدیل کرده است [۱]. پژوهش‌های متعددی سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره گیاهان را گزارش کرده‌اند. در مطالعات مربوط به سنتز نانوذرات طلا توسط گیاهان، تولید این نانوذرات از عصاره‌های گیاهان *Periploca aphylla* [۱۳]، *Ziziphus zizyphus* [۱۴]، *Chenopodium formosanum* [۱۵]، *Cofea arabia* [۱۶]، *Annona muricata* [۱۷] و *Corchorus olitorius* [۱۸] گزارش شده است. نانوذرات طلا میله‌ای شکل با اندازه زیر ۱۰۰ نانومتر توسط گیاه *Clitoria tematea* نیز گزارش شده است [۱۹]. تحقیقات نشان داده است گیاه دارویی *Artemisia vulgaris* به علت داشتن ترکیبات موثره پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و تریپنوئیدها توانسته است به مدت ۲۴ ساعت به صورت کامل واکنش سنتز نانوذرات طلا را انجام دهد و نانوذرات با اشکال کروی، مثالی و شش ضلعی با اندازه ۵۰-۱۰۰ nm سنتز کند [۲۰]. گیاهان می‌توانند نانوذرات طلا با اندازه و شکل‌های متفاوت سنتز کنند. در مطالعه‌ای مشابه، نانوذرات طلا کروی شکل با ابعاد ۴۰-۵۰ nm توسط گیاه *Artocarpus hirsutus* نیز گزارش شده است [۲۱]. مطالعه حاضر اولین گزارش سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره آبی گیاه نیمروزی با نام علمی *Carpobrotus acinaciformis* (L.) L. Boulos است که قبلاً در جنس *Mesembryanthemum* طبقه‌بندی می‌شده و با نام *Mesembryanthemum acinaciforme* L. نامیده می‌شده است. گیاه مورد نظر، گیاهی گل‌دار است که در رده دولپه‌ای‌ها و در راسته *Caryophyllales* قرار دارد و متعلق به

کاتالیست، اپتیکی، داروهای زیستی، مغناطیس و غیره می‌باشد [۲]. علم فناوری نانو، خواص بنیادی و قابل فهم از موضوعاتی در ترازهای اتمی، مولکولی و سوپر مولکولی را فراهم کرده و راه تکنولوژی جایگزینی را برای کاوش، گردش و موجودیت زیستی ایجاد می‌کند [۳]. این فناوری شامل سنتز نانوذرات با اندازه ۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد [۳]. بطور کلی روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی را می‌توان روش‌های متداول تولید نانوذرات نام برد [۴] که این سه روش خود زیر شاخه دو روش اصلی تولید نانوذرات، یعنی روش بالا به پایین و پایین به بالا هستند [۵]. مهمترین و رایج‌ترین روش در سنتز نانوذرات، روش کاهش شیمیایی می‌باشد که در آن از کاهش نمک فلزات در حضور یک عامل کاهشنده شیمیایی (به عنوان مثال سدیم بور هیدرید  $\text{NaBH}_4$ ) برای کاهش یون‌های فلزی و یک تثبیت کننده (به عنوان مثال پلی وینیل پیرولیدون (PVP) برای کنترل رشد ذرات و جلوگیری از تجمع استفاده می‌شود [۶]. اخیراً استفاده از روش‌های زیستی مانند استفاده از قارچ‌ها [۷]، باکتری‌ها [۸] و عصاره گیاهان [۹] به دلیل ساده بودن، کم هزینه بودن، داشتن راندمان بالا، غیرسمی و سازگار با محیط زیست بودن توجه ویژه‌ای را نسبت به سایر روش‌ها به خود جلب کرده است [۱۰]. سنتز سبز نانوذرات در سال‌های اخیر به دلیل مزیت‌های آن‌ها از جمله سازگاری با محیط زیست، استفاده از منابع طبیعی تجدیدپذیر و ماهیت زیست‌سازگاری بیشتر برای کاربردهای بیولوژیکی، بیش از مسیرهای معمول شیمیایی پایین به بالا توجه زیادی را به خود جلب می‌کنند [۱۱]. نانوذرات فلزی یکی از دسته‌های نانوذرات و نانو ساختارها را شامل می‌شوند که طبق تعریف عمومی، ذراتی از جنس فلز در ابعاد نانومتری هستند که جنس این نانوذرات می‌تواند از یک نوع فلز یا به صورت آلیاژی از دو یا چند فلز باشد. در میان نانو ساختارها، نانوذرات فلزی دارای اهمیت ویژه می‌باشند و این به علت تفاوت زیاد در برخی از خواص فیزیکی آن فلز، در دو حالت اتمی و توده می‌باشد. از جمله خواص جالب نانوذرات فلزی بر همکنش آن‌ها با نور است

تبدیل فوریه-مادون قرمز (FT-IR) مدل (Perkin-Elmer) استفاده شده است.

گلبرگ‌های تازه گیاه دارویی-زینتی گل نیمروزی از دانشگاه سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شد (شکل ۱) و جهت شناسایی و تایید نام، نمونه هرباریومی از آن تهیه و به بخش هرباریوم مرکز پژوهشی گیاهان دارویی و زینتی دانشگاه سیستان و بلوچستان انتقال و شناسایی و نام‌گذاری شد. پس از خشک شدن نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوای ملایم، نمونه‌های خشک شده برای خرد کردن آماده شدند و توسط یک دستگاه آسیاب برقی، کاملاً آسیاب شده و به صورت پودر در آورده شدند. مقدار ۱ گرم از پودر بدست آمده با ۱۰۰ mL از آب دوبار تقطیر مخلوط شد و اجازه داده شد تا به مدت ۳۰ min در دمای ۵۰ °C به هم‌زده و حرارت داده شود. مخلوط حاصل پس از سرد شدن در دمای آزمایشگاه، توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف و برای حذف کامل ذرات معلق در آن به مدت ۳۰ min بوسیله دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm (دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. عصاره بدست آمده در دمای ۴ °C برای استفاده‌های بعدی نگهداری شد (شکل ۱).

ابتدا محلول نمک طلا با غلظت ۱ میلی مولار ساخته شد. محلول استوک اولیه نمک طلا با غلظت ۱ mM از حل کردن ۰/۱۹ g از  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  در بالن ژوژه ۵۰ mL تهیه شد. سپس مقدار ۲ mL از عصاره آبی گیاه به ۴ mL از محلول نمک طلا با غلظت ۱ mM اضافه شد و مقدار pH محلول توسط دستگاه pH متر، عدد ۲/۹۵ قرائت شد. از محلول مورد نظر توسط اسپکتروفتومتر فرابنفش-مرئی طیف‌گیری شد. سپس پارامترهای موثر بر سنتز (pH واکنش، غلظت و حجم عصاره، غلظت نمک طلا و زمان) مطالعه، بررسی و بهینه‌سازی شدند [۲۴].

برای بهینه‌سازی مقدار pH، پنج سری محلول حاوی ۲ mL عصاره و ۴ mL محلول نمک طلا با غلظت ۱ mM ساخته و پس از تنظیم pH (۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰)، حجم نهایی محلول در بالن حجمی به ۱۰۰ mL رسانده شد. طیف‌های جذبی

خانواده *Aizoaceae* می‌باشد. این گیاه، زمینی و خزنده می‌باشد و بومی آفریقای جنوبی است، اما در بسیاری از مناطق دیگر در سراسر جهان، به ویژه استرالیا، کالیفرنیا و مدیترانه که همگی آب و هوای مشابهی دارند نیز یافت می‌شود. این گیاه در خاک‌های شور زندگی می‌کند و در برابر سرما و یخبندان مقاوم است. همچنین دارای خواص دارویی نیز می‌باشد. از عصاره این گیاه در کشورهای مختلف در درمان سینوزیت، اسهال، آگزما در کودکان و درمان سل استفاده می‌شود. همچنین از برگ‌های آن به عنوان دهانشویه، لوسیون و ضد عفونی کننده آب استفاده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد، ترکیبات ثانویه موجود در گیاه مانند پروتوئین‌ها، آنزیم‌ها، فلاونوئیدها، تریپنوئیدها و ... عامل احیای یون‌های فلزی و تثبیت نانوذرات هستند [۲۲، ۲۳]. باتوجه به این که گیاهان منابع مهمی برای سنتز نانوذرات محسوب می‌شوند و تاکنون نیز سنتز زیستی نانوذرات طلا توسط این گیاه گزارش نشده است، این تحقیق به بررسی سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره آبی گیاه گل نیمروزی و بررسی عوامل مؤثر بر سنتز می‌پردازد.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

کلیه مواد استفاده شده با خلوص بالا و از شرکت‌های معتبر تهیه شدند. نمک طلا ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )، سدیم هیدروکسید (NaOH) و هیدروکلریدریک اسید (HCl) همگی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. در حین آزمایش برای ساختن تمامی محلول‌ها و شستشوها از آب دو بار تقطیر استفاده شد. در این پژوهش از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل (Zeiss-EM10C) برای بررسی شکل و اندازه ذرات استفاده شد. برای تعیین فاز کریستالی نانوذرات طلا از آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD) (مدل D8-Advance, Bruker) استفاده شد. همچنین از دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش مرئی مدل (مدل HACH DR-5000) جهت بررسی روند سنتز و بهینه‌سازی پارامترهای موثر استفاده شد. همچنین به منظور بررسی گروه‌های احتمالی دخیل در سنتز از طیف‌سنجی

اسپکتروفوتومتری فرابنفش-مرئی گرفته و در انتها غلظت بهینه نمک طلا (III) تعیین شد. جهت بررسی اثر زمان بر سنتز نانوذرات طلا و بهینه نمودن آن و همچنین بررسی میزان پایدار بودن آن با گذشت زمان، محلول حاصل از اعمال تمامی شرایط بهینه شده در زمان‌های مختلف از ابتدا (لحظه صفر) تا ۵ روز پس از آن در فواصل زمانی مختلف طیف اسپکتروفوتومتری فرابنفش-مرئی در محدوده ۴۰۰ nm تا ۸۰۰ nm گرفته شد و پایداری نانوذرات بررسی گردید.

### ۳- نتایج و بحث

فناوری نانو کاربرد علم کنترل ماده در سطح مولکولی است [۲۵]. نانومواد در مقایسه با موادی که در مقیاس ماکرو هستند خواص فیزیکی و شیمیایی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند [۲۶]. سنتز نانوذرت فلزی توسط گیاهان بسیار مقرون به صرفه بوده و به عنوان یک جایگزین با ارزش برای تولید انبوه نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۵]. پس از افزودن عصاره به محلول حاوی نمک طلا (III)، مشاهده شد که رنگ محلول حاصل به سمت ارغوانی تغییر رنگ داده است که نشان دهنده سنتز موفق نانوذرات طلا است. از محلول حاصل طیف اسپکتروفوتومتری فرابنفش-مرئی گرفته شد. مشاهده شد که نانوذرات حاصل در محدوده ۵۰۰-۵۵۰ nm (رزونانس پلاسمون سطحی) دارای ماکزیم جذب است. از مقایسه طیف جذبی حاصل از عصاره آبی گیاه گل نيمروزی با محلول حاوی نانوذرات طلای سنتز شده از آن، اینگونه استنباط شد که در طول موج مربوطه، عصاره فاقد جذب است، در نتیجه طیف و جذب مشاهده شده صرفاً بدلیل حضور نانوذرات طلا است و عصاره هیچ گونه تداخلی در طیف حاصل ایجاد نمی‌کند (شکل ۲) [۲۴].

pH، یکی از مهمترین فاکتورهای موثر بر سنتز نانوذرات طلا می‌باشد [۲۷]. پیش از این گزارش‌هایی مبنی بر تاثیر pH بر روی چگونگی تشکیل نانوذرات به ثبت رسیده است. گزارش‌ها حاکی از آن است که pH بر روی شکل نانوذرات

محلول‌ها توسط اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی در محدوده جذبی ۲۰۰ nm تا ۸۰۰ nm گرفته و pH بهینه انتخاب شد. برای تنظیم pH محلول از یکی از دو محلول NaOH و یا HCl با غلظت ۰/۱ M استفاده گردید.



شکل ۱: گیاه دارویی-زینتی گل نيمروزی به همراه عصاره آبی گلبرگ آن.

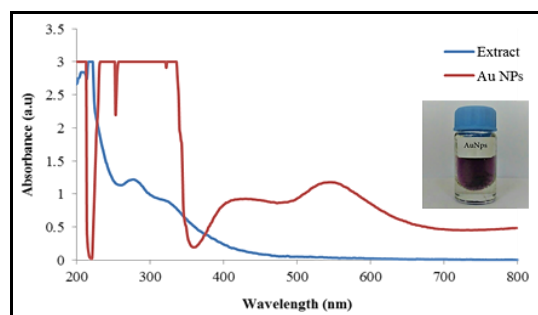
جهت بهینه‌سازی غلظت عصاره گیاه، پنج محلول جداگانه که در هر کدام ۲ mL عصاره که با غلظت‌های متفاوت ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۴٪ (w/w) و در هر کدام ۴ میلی‌لیتر نمک طلا با غلظت ۱ mM در دمای اتاق تهیه شد و pH آن‌ها در pH بهینه تنظیم شد و حجم نهایی محلول در بالن حجمی به ۱۰۰ mL رسانده شد. سپس از همه محلول‌ها بطور جداگانه طیف اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی گرفته شد و در نهایت مقدار غلظت عصاره بهینه انتخاب شد.

برای بهینه‌سازی میزان حجم عصاره مقادیر ۱ mL تا ۵ mL از عصاره گیاه با غلظت بهینه شده به ۴ mL نمک طلا با غلظت ۱ mM در دمای اتاق افزوده شد و pH واکنش برابر با pH بهینه تنظیم شد و حجم نهایی محلول در بالن حجمی به ۱۰۰ mL رسانده شد. از هر یک از محلول‌ها، جداگانه طیف اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی گرفته شد و در نهایت مقدار حجم عصاره بهینه انتخاب شد.

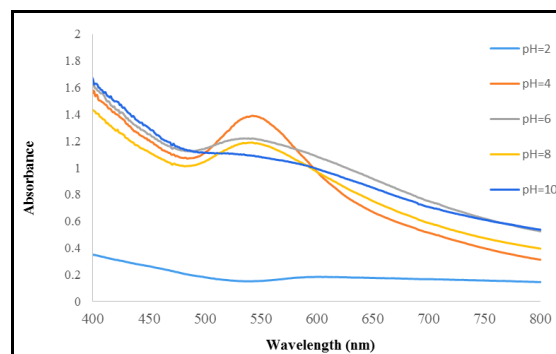
برای بهینه‌سازی غلظت یون طلا (III)، در هشت ظرف مجزا در هر کدام مقدار بهینه حجم عصاره با غلظت بهینه شده و ۴ mL از نمک طلا با غلظت‌های متفاوت، ۰/۵ mM، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ در دمای اتاق فراهم شد و pH همه محلول‌ها برابر pH بهینه تنظیم شد و از محلول‌ها طیف

موجب بوجود آمدن گونه‌های پایدار هیدروکسیدهای یون طلا می‌شود و در انتها از ورود این یون به واکنش احیای بیولوژیکی و زیستی ممانعت می‌شود [۳۰]. در pH های بالاتر از ۴، طیف‌های جذبی، تقریباً پهن‌تر شده است که این پدیده مربوط به سنتز نانوذرات با اندازه بزرگتر بدلیل اتصال نانوذرات به یکدیگر است. پیش از این پهن شدن طیف‌ها در اثر افزایش اندازه نانوذرات گزارش شده است [۳۱]. در نتیجه مقدار  $pH=4$  به عنوان اسیدیته بهینه انتخاب شد. ذاکری و همکاران در مطالعه‌ای بر روی سنتز نانوذرات طلا توسط گندم در یک روش وابسته به  $pH$  گزارش کردند که بهترین اسیدیته جهت سنتز نانوذرات طلا در pH های اسیدی می‌باشد که این مورد با یافته‌های این تحقیق کاملاً مطابقت دارد [۳۲]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اندازه نانوذرات نقره در pH های بالاتر و نانوذرات طلا در pH های پایین‌تر بیشتر است [۲۷، ۳۳]. در مطالعه‌ای مشابه، نانوذرات طلا با اشکال کروی و اندازه میانگین ۱۱-۱۷ nm در  $pH=6$  سنتز شده است [۳۴] که با نتایج حاصل از این تحقیق کاملاً مطابقت دارد. از آنجا که در این روش، از گیاه به عنوان عامل احیاکنندگی در سنتز نانوذرات طلا استفاده شده است، میزان و مقدار آن در حصول شرایط مطلوب‌تر و داشتن نانوذرات با اندازه و شکل بهتر موثر است. ترکیبات ثانویه گوناگون، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و یا دیگر عوامل کاهنده در تهیه نانوذرات فلزی بوسیله گیاهان، نقش اساسی دارند [۳۵]. در بررسی میزان غلظت عصاره، پس از ساخته شدن محلول‌های مورد نظر و گرفتن طیف UV-Vis از هر یک، ملاحظه شد که با افزایش میزان غلظت عصاره، میزان جذب نانوذرات طلا افزایش یافته است. با توجه به نمودار شکل ۴-الف مشاهده شد که نمونه محتوی غلظت ۳٪ (w/w)، طیف دارای مقدار جذب مورد قبول در ناحیه ۵۵۰ nm می‌باشد. با آنکه در غلظت‌های بالاتر از آن جذب افزایش یافته است اما چون به سمت طول موج‌های بالاتر یا طول موج‌های قرمز، جابجایی داشته است این احتمال داده می‌شود که نانوذرات با اندازه بزرگتر تشکیل شده است که مطلوب ما نیست [۳۶].

تأثیر چشمگیری نداشته و تنها اندازه آن‌ها را به میزان زیاد تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۸، ۲۹]. به منظور بررسی تأثیر فاکتور مهم  $pH$  بر سنتز نانوذرات طلا، پس از ساخته شدن نمونه‌ها از هر یک از محلول‌ها به صورت جداگانه طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته شد (شکل ۳).



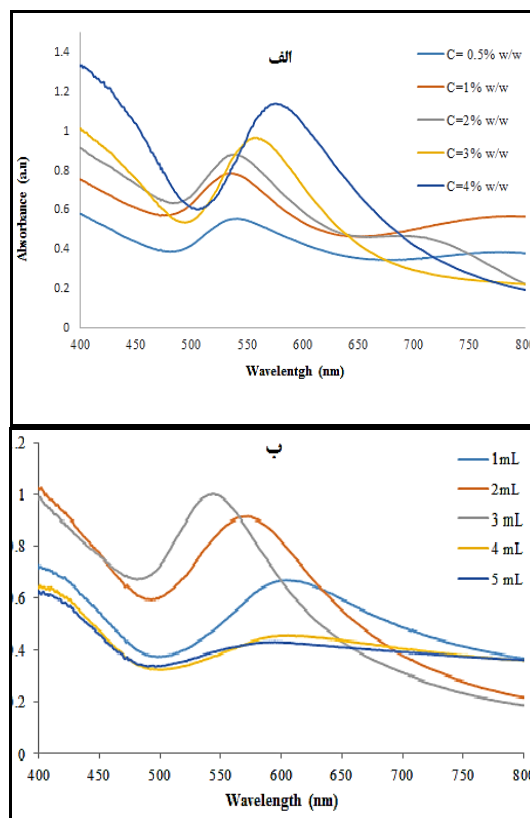
شکل ۲: طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات طلا بدون اعمال شرایط بهینه به همراه عصاره آبی گیاه گل نیمروزی.



شکل ۳: طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات طلا در pH های متفاوت.

با توجه به یافته‌های مربوط به بهینه  $pH$ ، مشاهده شد که در  $pH=2$  تغییر قابل ملاحظه‌ای در جذب ملاحظه نشده به گونه‌ای که می‌توان ادعا نمود که سنتز قابل ملاحظه‌ای صورت نگرفته است. اما با افزایش تدریجی میزان  $pH$  محلول تا ۴، جذب محلول حاصل افزایش می‌یابد که مربوط به افزایش در میزان سنتز نانوذرات است. در  $pH=4$ ، پیک شاری ملاحظه می‌شود. اما در pH های بالاتر از آن افت محسوسی در مقدار جذب مربوط به نانوذرات طلا مشاهده شده است. اینگونه به نظر می‌رسد که در pH های مختلف (۱۰ و ۸ و ۶  $pH$ ) یون‌های طلا هیدرولیز شده به گونه‌ای که

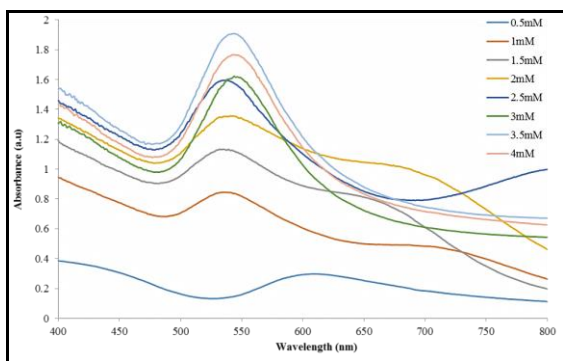
شده نقش به سزایی دارند. گزارشات نشان می‌دهد با افزایش مقدار عصاره، میزان ترکیبات طبیعی موثره موجود در گیاه افزایش یافته و نانوذرات بیشتری تولید می‌گردد و جذب افزایش می‌یابد [۳۹]. تحقیقات نشان می‌دهد که در سنتز زیستی نانوذرات نسبت حجمی عصاره و نمک فلزی تاثیر به سزایی در تولید و پایداری نانوذرات حاصل دارد. به صورتیکه بهترین نسبت، نسبت ۳:۷ عصاره و نمک گزارش شده است [۴۰]. یافته‌های مربوط به انتخاب حجم عصاره مورد نیاز در این پژوهش نیز این گزارشات را تایید می‌کنند. همچنین مطالعات نشان می‌دهند، در غلظت‌های کمتر از میزان بهینه، عمل احیاء کنندگی و پایدارسازی نانوذرات به صورت کامل اتفاق نیافتاده و نانوذرات به میزان کمتر و با اندازه درشت‌تری بدست می‌آید. همچنین با افزودن مقدار بیشتر از میزان بهینه، ذرات پایدار کننده به دور خود بیشتر تجمع کرده که این عمل موجب می‌گردد پایدارسازی بطور کامل انجام نشده و ذرات با اندازه درشت‌تری بدست آید. پژوهش‌ها حاکی از آن است که با افزایش در اندازه نانوذرات و میزان جذب کاهش یافته و متقابلاً با افزایش در توزیع ذرات، پهنای طیف‌ها افزایش می‌یابد [۴۱]. در نتیجه روند افزایش جذب به تناسب افزایش میزان غلظت عصاره تا ۳٪ (w/w) و حجم عصاره تا ۳ mL در این تحقیق صعودی است اما در غلظت‌ها و حجم‌های بالاتر، کاهش محسوسی در میزان جذب مشاهده می‌شود. گزارش شده است که افزایش قدرت کاهش باعث افزایش شدت باند رزونانس پلاسمون سطحی و تولید نانوذرات کوچکتر می‌شود [۴۲، ۴۳]. در مطالعه‌ای مشابه که بر روی تاثیر میزان عصاره گیاهی با حجم‌های ۵-۰/۴ mL بر روند سنتز نانوذرات طلا انجام شد، نتایج نشان داد میزان افزایش عصاره در حصول نانوذراتی مطلوب تاثیر دارد اما این افزایش تا میزان معینی است به گونه‌ای که در حجم‌های بیشتر افت شدیدی در میزان جذب نانوذرات مشاهده شده که بهترین شرایط برای سنتز نانوذرات طلا با اشکال کروی و اندازه ۱۰-۱۸ nm در حجم ۳ mL از عصاره بوده است که با نتایج حاصل از این تحقیق کاملاً مطابقت دارد [۴۴].



شکل ۴: طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات طلا.

بنابراین نمونه با غلظت ۳٪ (w/w) به عنوان بهینه انتخاب شد. در بررسی تاثیر میزان حجم عصاره بر سنتز نانوذرات طلا (شکل ۴-ب)، مشاهده شد که با افزایش میزان حجم عصاره از ۱-۳ mL، میزان جذب افزایش داشته است و در حجم‌های بیشتر (۴ mL و ۵ mL) از عصاره، میزان جذب مربوط به نانوذرات به یکباره کاهش یافته است. در نتیجه حجم ۳ mL از عصاره به عنوان بهینه انتخاب شد. در سنتز نانوذرات بوسیله عصاره گیاهان، عصاره نقش کاهندگی و احیاء کردن یون‌های فلزی و همچنین پایدار کردن این نانوذرات را ایفا می‌کند [۳۷]. در نتیجه ترکیبات ثانویه گوناگون، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و یا دیگر عوامل کاهنده (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) در تهیه نانوذرات فلزی بوسیله گیاهان، نقش اساسی دارند [۳۸]. گیاه گل نیمروزی نیز دارای ترکیبات موثر فراوانی همچون ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، فنل‌ها، کتون‌ها، ترکیبات ترپنی و ... است که هر یک از این ترکیبات در احیای یون‌های فلزی و تثبیت نانوذرات سنتز

حاضر غلظت ۳/۵ mM از نمک طلا به عنوان غلظت مناسب جهت سنتز نانوذرات انتخاب شد که با مقالات مشابه کاملاً مطابقت دارد. در گزارشی مشابه، نتایج نشان داد که سنتز نانوذرات طلا کاملاً وابسته به غلظت نمک طلا است و به گونه‌ای که در غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر از شرایط بهینه، سنتز به درستی اتفاق نمی‌افتد به گونه‌ای که بهترین غلظت نمک طلا برای سنتز نانوذرات طلا، غلظت ۲ mM بوده است. [۲۴].

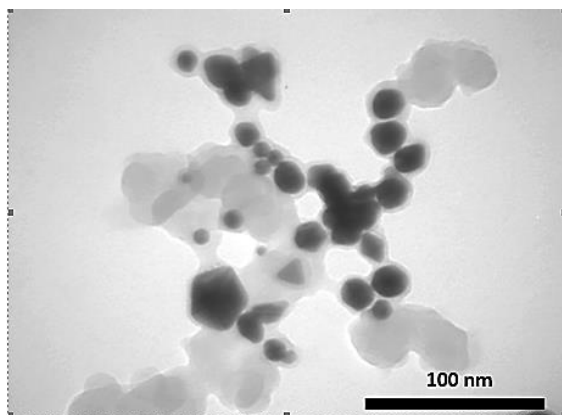


شکل ۵: طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات طلا در غلظت‌های متفاوت از نمک طلا.

با ثابت نگه داشتن شرایط بیوسنتز نانوذرات طلا در نقاط بهینه شده پارامترهای pH، حجم و غلظت عصاره، غلظت نمک طلا، اثر زمان نیز مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۶). نتایج حاصل از تاثیر زمان مجاورت ۴ mL از نمک طلا با غلظت ۳/۵ mM با ۳ mL از عصاره گیاه با غلظت بهینه ۳٪ (w/w) و تنظیم pH=۴ در دمای محیط بر روند واکنش توسط دستگاه اسپکتروفتومتری نشان داد که در ساعات اولیه سنتز از زمان صفر تا ۶ ساعت، نانوذرات در حال تشکیل‌اند و جذب افزایش می‌یابد اما در زمان‌های بالاتر تغییر قابل ملاحظه‌ای در جذب مشاهده نمی‌شود و این به معنای پایدار بودن نانوذرات در طی زمان است. در شکل ۸ نمودار جذب اسپکتروفتومتری محلول‌های حاوی نانوذرات طلا در زمان‌های مختلف آورده شده است. زمان نیز یکی از فاکتورهای موثر بر سنتز و پایداری نانوذرات می‌باشد.

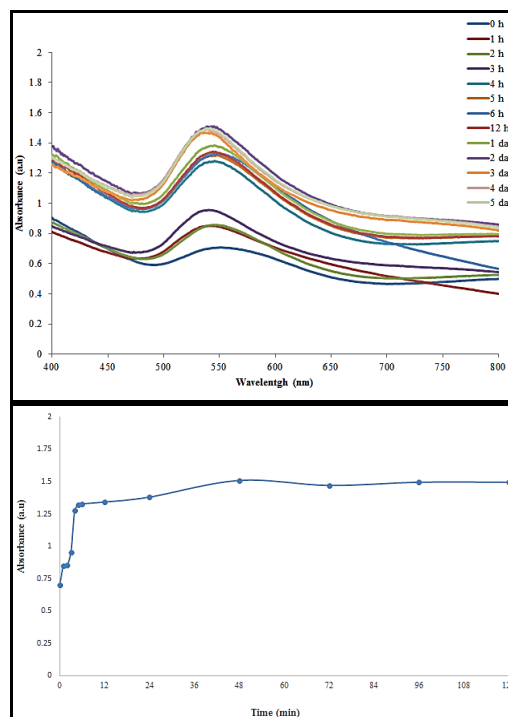
شکل شماره ۵، تاثیر غلظت یون فلزی بر سنتز نانوذرات را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۵ ملاحظه شد که هر چه غلظت نمک طلا افزایش می‌یابد جذب نیز افزایش می‌یابد. این روند تا غلظت ۳/۵ mM ادامه پیدا می‌کند. اما در غلظت بیشتر از آن، جذب کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل چسبیدن نانوذرات به یکدیگر و تولید نانوذراتی درشت‌تر و کاهش میزان نانوذرات سنتز شده باشد. در غلظت‌های پایین‌تر نیز واکنش بین عصاره و نمک طلا به کندی انجام شد و سنتز نانوذرات دیرتر انجام شد. در نهایت همان نمک طلای ۳/۵ mM به عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید. افزایش جذب در اثر افزایش غلظت یون فلزی به این دلیل است که یون‌ها بیشتر در معرض عمل کاهش قرار می‌گیرند و در نتیجه، نانوذرات بیشتری تولید خواهد شد [۴۵]. در مطالعه‌ای دیگر در این زمینه مشاهده گردید با افزایش غلظت از ۱-۳ mM از نمک فلزی، میزان جذب افزایش چشمگیری یافته است [۴۶]. همچنین کاهش در میزان جذب در اثر افزایش بیش از حد غلظت یون فلزی، می‌تواند به دلیل چسبندگی نانوذرات به هم و سنتز نانوذراتی با اندازه کمی بزرگتر باشد [۴۷]. در این پژوهش نیز از غلظت‌های کمتر و بیشتر از نمک طلا تا ۱ mM استفاده شد که با افزایش غلظت نمک طلا تا ۳/۵ mM میزان جذب بطور چشمگیری افزایش یافت اما در غلظت بالاتر از نمک طلا میزان جذب کاهش یافت در نتیجه غلظت ۳/۵ mM برای نمک طلا به عنوان بهینه انتخاب شد. گزارشات نشان می‌دهند که افزایش جذب در اثر افزایش غلظت یون فلزی بدین دلیل است که یون‌ها بیشتر در معرض عمل کاهش قرار خواهند گرفت و نانوذرات بیشتری تولید خواهد شد [۴۸]. در مطالعه‌ای مشابه، مشاهده شد که با افزایش غلظت از ۱ mM به ۳ mM از نمک فلزی، میزان جذب افزایش چشمگیری خواهد یافت [۴۹]. همچنین کاهش در میزان جذب در اثر افزایش بیش از حد غلظت یون فلزی، می‌تواند بدلیل چسبندگی نانوذرات به هم و سنتز نانوذراتی با اندازه کمی بزرگتر باشد [۵۰]. لذا در مطالعه

نانوذرات طلا توسط گیاهان مختلف در زمان‌های بسیار کم: ۲ min [۵۵]، ۴ min [۵۶]، ۵ min [۵۷]، ۱۰ min [۶۰-۵۸]، ۲۰ min [۶۳-۶۱]، ۲۵ min [۶۴، ۶۵] و یا طولانی: ۱۲ h [۶۶]، ۱۸ h [۶۷] و ۷۲ h [۶۸] سنتز شده‌اند.



شکل ۷: تصویر TEM نانوذرات طلای سنتز شده.

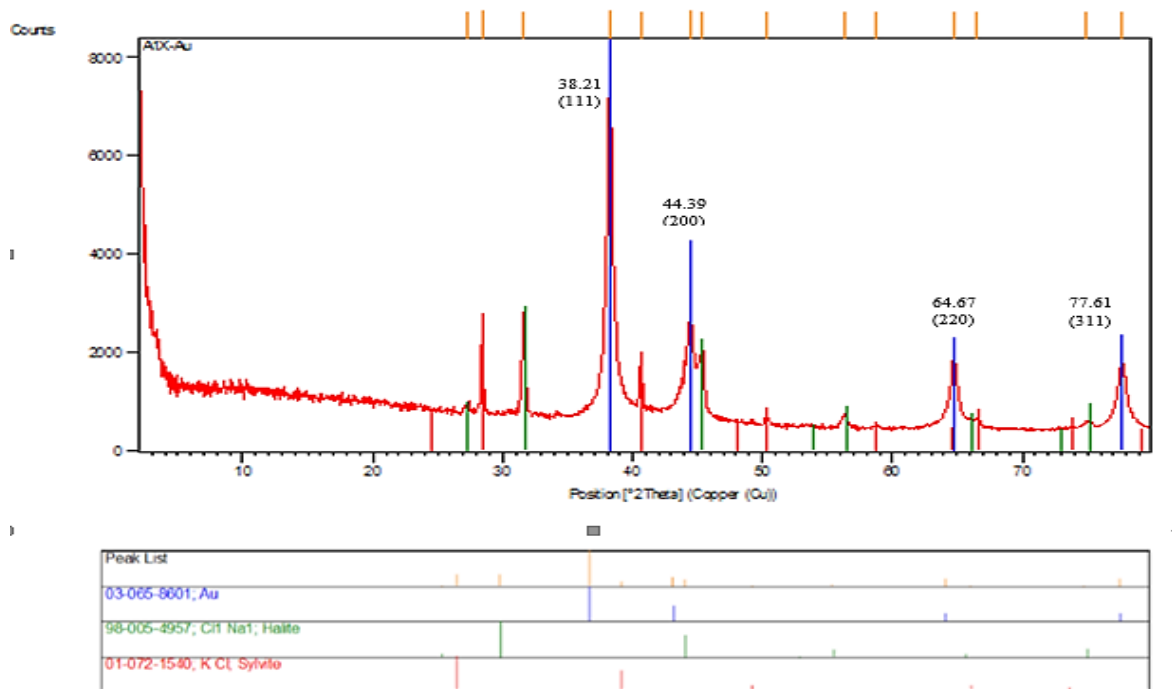
یکی از روش‌های مشخصه‌یابی نانوذرات طلا، استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری است که به کمک آن می‌توان شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده را مشخص کرد. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری بدست آمده از نانوذرات طلا که تحت شرایط بهینه ساخته شد نشان از سنتز دقیق و کامل نانوذرات طلا را دارد. اندازه نانوذرات حاصله ۱۸/۲۵ nm و با اشکال کروی، مثلثی و چند ضلعی بوده است (شکل ۷). می‌توان بین تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری و طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته شده از نانوذرات رابطه برقرار کرد. بطور کلی هر چه شدت پیکرها بیشتر و شارپ تر باشد، سنتز نانوذرات بهتر، اندازه آن‌ها کوچکتر و شکل آن‌ها یکنواخت تر خواهد بود [۲۴]. تاکنون سنتز نانوذرات فلزی نظیر نقره توسط گیاهانی چون چای سبز با اندازه ۵۲/۲۳-۱۴/۱۸ nm [۶۹]، نانوذرات طلا توسط گیاه آقطی با اندازه ۱۱-۱۷ nm [۳۴]، نانوذرات طلا توسط گیاه اشنان با اندازه ۱۰-۱۸ nm [۴۴] گزارش شده است.



شکل ۶: طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات طلا و روند تغییر در میزان جذب آن‌ها در زمان‌های متفاوت.

در مطالعه‌ای مشابه، در واکنشی وابسته به زمان در سنتز نانوذرات، Ramteke و همکاران گزارش کردند که با افزایش زمان از لحظه شروع واکنش تا ۱۲۰ min بعد از آن، از زمان ۶۰ min به بعد تغییر محسوسی در مقدار جذب مربوط به نانوذرات مشاهده نشد که کاملاً با یافته این تحقیق مطابقت دارد [۵۱]. برای بررسی پایداری نانوذرات، جذب حاصل از طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی در زمان‌های مختلف (صفر ساعت تا ۵ روز) بررسی شد و مشاهده کردیم که از همان ساعات اولیه پس از مخلوط کردن واکنشگرها باهم تغییر رنگ حاصل شده و جذب افزایش می‌یابد که نشان دهنده سنتز نانوذرات در ساعات اولیه است اما با گذشت زمان، بعد از ۶ ساعت طیف جذبی تقریباً ثابت باقی ماند که بیانگر پایدار بودن نانوذرات سنتز شده در طی زمان است. چنین واکنش سریع در سنتز سبز نانوذرات طلا در دمای اتاق نیز گزارش شده است [۵۴-۵۲]. در گزارش‌هایی مشابه،



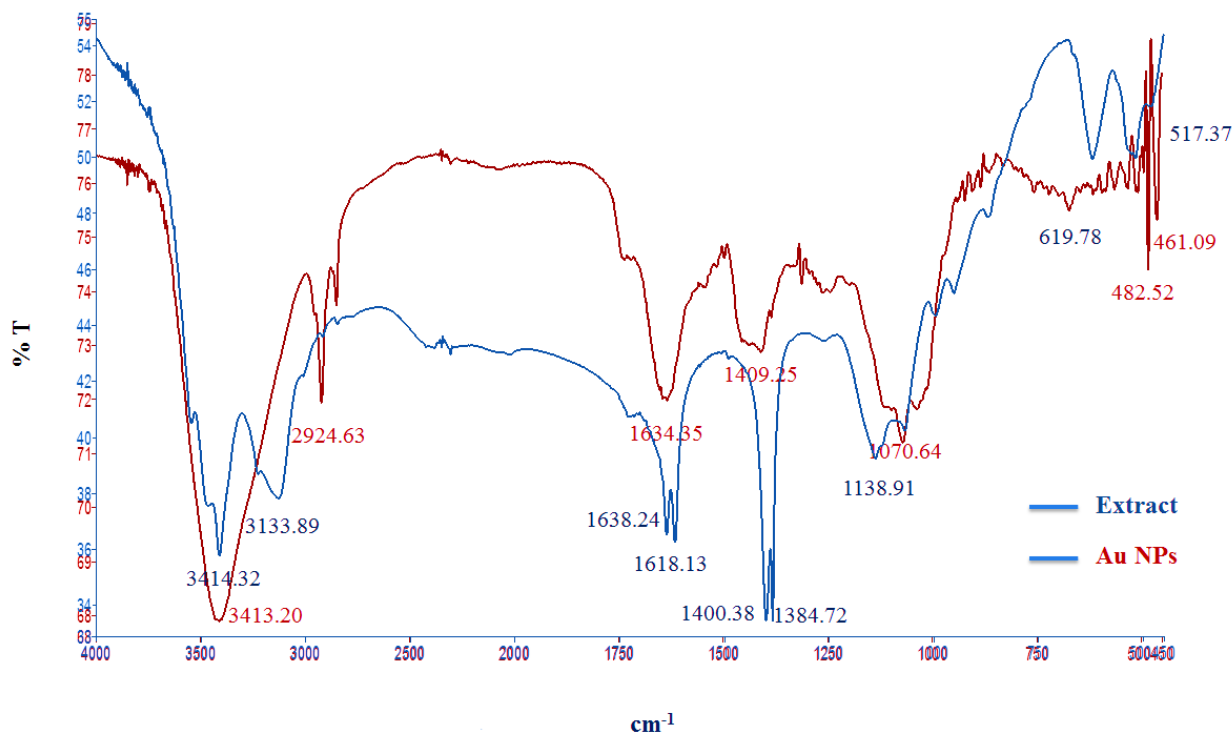


شکل ۸: الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات طلا سنتز شده.

که  $\beta$  پهنای پیک‌ها در نصف ارتفاع ماکزیمم،  $\lambda$  طول موج اشعه ایکس برابر با  $1.54 \text{ \AA}$ ،  $\theta$  زاویه پراش و  $D$  اندازه متوسط دانه بلوری می‌باشد.  $0.9$  مقدار ثابت شرر (برای ساختارهای بلوری دارای تقارن مکعبی این مقدار فرض می‌شود). همانطور که در شکل ملاحظه می‌شود، در نواحی  $38.21$ ،  $44.39$ ،  $64.67$  و  $77.61$  نانوذرات طلا پیک‌های مشخصی وجود دارد که دلیلی بر سنتز موفق می‌باشد. آنالیز ساختاری نشان می‌دهد که طلا دارای ساختار بلوری با شاخص‌های میلر  $(111)$ ،  $(200)$ ،  $(220)$ ،  $(311)$  در شبکه مکعبی می‌باشد. در تحقیقی مشابه، آنالیز ساختاری نانوذرات سنتز شده توسط گیاهان نشان داد که نانوذرات بدست آمده ساختار بلوری در شبکه مکعبی دارند که بیشترین درجه بلورینگی آن در شاخص میلر  $(111)$  بوده است و صفحات بلوری نانوذرات بیشتر در این جهت تشکیل شده است که کاملاً با نتایج حاصل از پژوهش پیش‌رو، مطابقت دارد [۷۳].

همچنین تحقیقات نشان می‌دهد که عواملی نظیر pH واکنش، مقدار عصاره، غلظت نمک یون فلزی و زمان واکنش، بر اندازه و شکل نانوذرات تاثیر خواهد گذاشت [۷۰]. یکی از ویژگی‌های سنتز نانوذرات طلا توسط روش زیستی گیاهی، سنتز نانوذرات با اشکال و اندازه‌های متفاوت است. بگونه‌ای که تاکنون مطالعات مختلفی سنتز نانوذرات طلا توسط گیاهان با اشکال کروی، مثلثی، چهار وجهی، پنج وجهی، شش وجهی و چند وجهی را تایید کرده‌اند [۶۳، ۶۶، ۷۱، ۷۲]. برای بررسی بیشتر و مطالعه ساختار بلوری نانوذرات طلا سنتز شده، از الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) استفاده شد (شکل ۸). میانگین اندازه دانه‌های بلوری با محاسبه پهنای پیک‌های تشکیل شده در نمونه‌ها با استفاده از فرمول دبای-شرر (رابطه ۱) برآورد شد:

$$D = 0.9\lambda / \cos\theta \quad (1)$$



شکل ۹: طیف FT-IR نانوذرات طلا و عصاره گیاه.

فول ها، فلاونوئیدها و پروتئین ها در گیاهان این نقش را بازی می کنند [۷۴]. تحقیقی مبنی بر سنتز نانوذرات طلا توسط پروتئین خالص شده وجود دارد که دال بر تاثیر این مولکول زیستی در سنتز نانوذرات دارد [۷۵]. پیش از این نیز تاثیر وجود این مولکول زیستی بر سنتز نانوذرات گزارش شده است [۷۶]. نقش سایر مولکول های زیستی نظیر کربوهیدرات هایی مانند گلوکز و مالتوز در احیا و تثبیت نانوذرات نیز گزارش شده است [۷۷]. فلاونوئیدها نیز از این امر مستثنی نبودند و برخی از پژوهش ها وجود این دسته از ترکیبات ثانویه را علت سنتز نانوذرات فلزی دانستند [۷۸]. همانطوریکه بیان شد، گیاه گل نیمروزی نیز دارای ترکیبات طبیعی فراوانی چون آنتی اکسیدان ها، فول ها، فلاونوئیدها و ... می باشد که طیف FT-IR حاصل از عصاره آبی این گیاه در این پژوهش این ادعا را ثابت می کند. پس این ترکیبات در واقع نقش احیا و پایداری نانوذرات طلا را ایفا کردند.

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز برای شناسایی ترکیبات احیا کننده و پایدار کننده در اطراف نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۹). باندهایی واضح در ناحیه  $3414/32$ ،  $3413/20$ ،  $2924/63$ ،  $1638/24$ ،  $1618/13$ ،  $1400/38$ ،  $1409/25$ ،  $1138/91$ ،  $1138/72$ ،  $1070/64$ ،  $619/78$ ،  $482/52$ ،  $461/09$ ،  $517/37$   $\text{cm}^{-1}$  را نشان می دهد که به ارتعاشات کششی O-H و N-H، ارتعاشات کششی ترکیبات آروماتیک، C-H آلکان ها، و همچنین گروه های C-N، C-O، C=N، C=C، N=O، C=O نسبت داده می شوند و بیانگر حضور ترکیبات پروتئین ها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و ویتامین ها در عصاره گیاه است. این ترکیبات علاوه بر احیاء یون های طلا، اطراف نانوذرات مربوط را فراگرفته و عامل پایداری این ذرات شده و از تجمع و آلودگی شدن آن ها ممانعت می کند.

بر اساس سایر پژوهش های انجام شده در زمینه سنتز گیاهی نانوذرات، گیاه می تواند عامل احیاکنندگی و پایدارکنندگی را ایفا می کند. مطالعات نشان می دهد که مولکول هایی نظیر

## ۴- نتیجه گیری

طلا به عنوان یک فلز نجیب و پایدار تاکنون کاربردهای بسیاری در زمینه‌های مختلف است، اما نانوذره‌های طلا دارای خواص فیزیکی-شیمیایی منحصر بفردی همچون اندازه کوچک، شکل‌های مختلف، سطح مخصوص زیاد، سازگاری زیستی و غیره هستند. امروزه تهیه نانوذرات زیستی با توجه به کارایی آن‌ها در پزشکی و علوم زیستی رو به افزایش است. از سوی دیگر افزایش آگاهی نسبت به شیمی سبز و فرآیندهای زیستی، استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست را برای تهیه غیر سمی نانومواد زیستی ضروری کرده است. استفاده از بستر گیاهی برای تهیه نانوذرات یک روش نوظهور و طبق اصول شیمی سبز است و روشی ساده نسبت به روش‌های پیچیده تری چون الکتروشیمیایی، فتوشیمیایی و یا میدان فراصوت است. بطور کلی استفاده از ظرفیت بالای گیاهان، ما را به دست یافتن به نانوذراتی با پایداری خیلی بیشتر از روش‌های شیمیایی می‌رساند. مطالعه حاضر اولین گزارشی از فیتوستنژ آسان، مقرون به صرفه و تک مرحله‌ای نانوذرات طلا با استفاده از عصاره آبی گلبرگ گیاه گل نیمروزی را نشان داده است. گلبرگ گیاه به عنوان یک عامل کاهنده و پایدار کننده در سنتز نانوذرات طلا مورد استفاده قرار گرفته است. یکی از محدودیت‌ها در اکثر روش‌های سنتز نانوذرات، پراکنش زیاد نانوذرات در دامنه وسیع از اندازه‌ها در ابعاد نانومتریکی می‌باشد. این محدودیت بزرگ را می‌توان با روش‌های مختلف از قبیل، تغییرات pH، غلظت و حجم عصاره گیاهی، غلظت‌های مختلف محلول نمکی و مدت زمان، رفع کرد و دامنه تغییرات اندازه نانوذرات را کاهش داد و به یک شرایط بهینه و مناسب دست پیدا کرد. در این مطالعه نیز تاثیر پارامترهای موثر ذکر شده بررسی و بهینه شدند. شکل و اندازه نمونه سنتز شده با شرایط اعمال شده مورد مطالعه قرار گرفت. بطور کلی، با توجه به نتایج این تحقیق و سایر گزارشات مبنی بر تولید نانوذرات با استفاده از مواد بیولوژیک مانند میکروارگانیزم‌ها، بیوماس گیاهی و حتی عصاره‌های گیاهی، می‌توان روش‌های

بیولوژیکی و سبز را به عنوان روش‌های مکمل برای روش‌های فیزیکی و شیمیایی تولید این نانوذرات قلمداد نمود. علاوه بر این با در نظر گرفتن جنبه‌های ایمنی و زیست‌محیطی تولید نانوذرات، این روش‌ها به عنوان دوستدار محیط زیست نیز مورد توجه می‌باشند.

## سپاسگزاری

مطالعه حاضر مستخرج از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد سرکار خانم الهه اردونی می‌باشد. بدینوسیله نویسنده‌گان بر خود لازم می‌دانند که مراتب سپاس خود را از حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه سیستان و بلوچستان جهت به پایان رسیدن این پایان‌نامه اعلام نمایند.

## مراجع

- [1] K. Saeed, I. Khan, *Arabian Journal of Chemistry*, **17**, 2017, 1.
- [2] J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y.S. Chan, A. Dufresne, M. K. Danquah, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **9**, 2018, 1050.
- [3] S. Bayda, M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, F. Rizzolio, *Molecules*, **25**, 2020, 112.
- [4] R.A. Hamouda, M.H. Hussein, R.A. Abo-elmagd, S.S. Bawazir, *Scientific Reports*, **9**, 2019, 13071.
- [5] V. Pareek, A. Bhargava, R. Gupta, N. Jain, J. Panwar, *Advanced Science, Engineering and Medicine*, **9**, 2017, 527.
- [6] M. Ismail, R. Jabra, *Journal of Materials and Environmental Science*, **8**, 2017, 4152.
- [7] M. Guilger-Casagrande, R. Lima, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **7**, 2019, 287.
- [8] D.G. Panpatte, Y.K. Jhala, "Nanotechnology for Agriculture Advances for Sustainable Agriculture", Springer, Singapore, 2019.
- [9] S. Pirtarighat, M. Ghannadnia, S. Baghshahi, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **9**, 2019, 1.
- [10] A. Gour, N.K. Jain, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **47**, 2019, 844.
- [11] V.N. Kalpana, V. Devi-Rajeswari, *Bioinorganic Chemistry and Applications*, **2018**, 2018, 1.
- [12] K.K. Harish, V. Nagasamy, B. Himangshu, K. Anuttam. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, **4**, 2018, 1.
- [13] M. Kaykhahi, N. Haghpaizir, J. Walisadeh, *Journal of Nanostructures*, **8**, 2018, 152.
- [14] M.N. Chen, C.F. Feng-Chan, S.L. Huang, Y.S. Lin, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **34**, 2019, 115.
- [15] A.A. Aljabali, Y. Akkam, M.S. Al-Zoubi, K.M. Al-Batayneh, B. Al-Trad, O. Abo Alrob, A. M. Alkilany, M. Benamara, D.J. Evans, *Nanomaterials*, **174**, 2018, 1265.
- [16] W.J. Keijok, R.H. Arruda Pereira, L.A. Contreras Alvarez, A.R. Prado, A. Romero da Silva, J. Ribeiro, J. Pinto de Oliveira, *Scientific Reports*, **9**, 2019, 16019.
- [17] A. Folorunso, S. Akintelu, A.K. Oyebamiji, S. Ajayi, B. Abiola, Abdusalam, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **9**, 2019, 111.

- آنتی‌باکتریایی نانوذرات طلائی بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی گیاه آشنان"، مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، شماره ۵، ۱۳۹۶، ۳۸-۵۲.
- [45] K. Chaloupka, Y. Malam, A.M. Seifalian, *Trends in Biotechnology*, **28**, 2010, 580.
- [46] V.T.P. Vinod, P. Saravanan, B. Sreedhar, D.K. Devi, R.B. Sashidhar, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **83**, 2011, 291.
- [47] A. Fernandez, P. Picouet, E. Lorete, *International Journal of Food Microbiology*, **142**, 2010, 222.
- [48] A. Rai, A. Singh, A. Ahmad, M. Sastry, *Langmuir*, **22**, 2006, 736.
- [49] F. Benakashani, A. Allafchian, S. Jalali, *Karbala International Journal of Modern Science*, **23**, 2016, 12.
- [50] G. Bagherzade, M.M. Tavakoli, M.H. Namaei, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **53**, 201, 45.
- [51] C.H. Ramteke, T. Chakrabarti, B. Ketan Sarangi, R.A. Pandey, *Journal of Chemistry*, **15**, 2013, 1.
- [52] D. Philip, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **77**, 2010, 807.
- [53] S.L. Smitha, D. Philip, K.G. Gopchandran, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **74**, 2009, 735.
- [54] M. Noruzi, D. Zare, K. Khoshnevisan, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy A*, **79**, 2011, 1461.
- [55] D. Philip, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **77**, 2010, 807.
- [56] N.K.P. Bogireddy, K.K.H. Anand, B.K. Mandal, *Journal of Molecular Liquids*, **211**, 2015, 868.
- [57] J. Yu, D. Xu, H.N. Guan, C. Wang, L.K. Huang, *Materials Letters*, **166**, 2016, 110.
- [58] M.V. Sujitha, S. Kannan, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **102**, 2013, 15.
- [59] R. Emmanuel, C. Karupiah, S.M. Chen, S. Palanisamy, S. Padmavathy, P. Prakash, *Journal of Hazardous Materials*, **279**, 2014, 117.
- [60] C.G. Yuan, C. Huo, S. Yu, B. Gui, *Physica E*, **85**, 2017, 19.
- [61] K. Leonard, B. Ahmmad, H. Okamura, J. Kurawaki, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **82**, 2011, 391.
- [62] K.M. Kumar, B.K. Mandal, H.A.K. Kumar, S.B. Maddinedi, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **116**, 2013, 539.
- [63] S. Vijayakumar, B. Vaseeharan, B. Malaikozhundan, *Microbial Pathogenesis*, **102**, 2017, 173.
- [64] F.C. Cabrera, H. Mohan, R.J. Dos Santos, *J Nanomater*, **110**, 2013, 1.
- [65] M. Bahram, E. Mohammadzadeh, *Analytical Methods*, **17**, 2016, 6916.
- [66] B. Kumar, K. Smita, L. Cumbal, A. Debut, *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, **47**, 2017, 138.
- [67] K.D. Arunachalam, S.K. Annamalai, S. Hari, *International Journal of Nanomedicine*, **8**, 2013, 1307.
- [68] B. Paul, B. Bhuyan, D.D. Purkayastha, S. Vadivel, S.S. Dhar, *Materials Letters*, **185**, 2016, 143.
- [69] معصومه اعتمادی، داود محبی کلهری، امید عزیزیان شرمه، علی قاسمی، "فیتوستنر نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی چای سبز (Camellia sinensis L.) و بررسی فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها" مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی فسا، شماره ۷، ۱۳۹۶، ۵۲-۳۹.
- [۷۰] امید عزیزیان شرمه، محرم ولی‌زاده، جعفر ولی‌زاده، مژگان طاهری‌زاده، مریم بیگمی، "بررسی فیتوشیمیایی و فیتوستنر نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه کور (Capparis spinosa L.)" مجله علمی زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، شماره ۸، ۱۳۹۶، ۱۲۳-۱۰۷.
- [71] V. Karthika, A. Arumugam, K. Gopinath K, *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, **167**, 2017, 189.
- [18] E.H. Ismail, A.M.A. Saqer, E. Assirey, A. Naqvi, R.M. Okasha, *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, 2018, 19.
- [19] V. Annavaram, V.R. Posa, D. Vijaya Lakshmi, J. Sumalatha, A.R. Somala, *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, **47**, 2016, 681.
- [20] B. Sundararajan, B.R. Kumari, *Trace Elements in Medicine and Biology*, **43**, 2017, 187.
- [21] I. Vijayashree, P. Niranjana, G. Prabhu, V. Sureshbabu, J. Manjanna, *Journal of Cluster Science*, **28**, 2017, 133.
- [22] K.A. Youssif, A. Elshamy, M.A. Rabeh, N.M. Gabr, E.G. Haggag, *Journal of Advanced Pharmacy Research*, **3**, 2019, 158.
- [23] B.E. Omoruyi, G. Bradley, A.J. Afolayan, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **12**, 2012, 215.
- [24] O. Azizian Shermeh, M. Valizadeh, M. Taherizadeh, M. Beigomi, *Applied Nanoscience*, **8**, 2019, 1059.
- [25] S. Irvani, *Green Chemistry*, **13**, 2011, 2638.
- [26] V.K. Sharma, R.A. Yngard, Y. Lin, *Advances in Colloid and Interface Science*, **145**, 2009, 83.
- [27] J.L. Gardea-Torresdey, K.J. Tiemann, G. Gamez, K. Dokken, S. Tehuacanero, M. Jose-Yacaman, *Journal of Nanoparticle Research*, **1**, 1999, 397.
- [28] S.S. Waghmar, A.M. Deshmukh, Z. Sadowski, *African Journal of Microbiology Research*, **8**, 2014, 138.
- [29] V. Armendariz, I. Herrera, J.R. Peralta-Videa, M. Jose-Yacaman, *Journal of Nanoparticle Research*, **6**, 2004, 377.
- [30] N. Kaushik Thakkar, S. Snehit Mhatre, Y. Rasesh-Parikh, *Nanomedicine*, **6**, 2010, 257.
- [31] D.S. Shenya, J. Mathewa, D. Philip, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **79**, 2011, 254.
- [32] M. Zakeri, J. Fassihi, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **30**, 2011, 35.
- [33] J.J. Mock, M. Barbic, D.R. Smith, D.A. Schultz, S. Schultz, *Journal of Chemical Physics*, **116**, 2002, 6755.
- [۳۴] امید عزیزیان شرمه، جعفر ولی‌زاده، میثم نوروزی‌فر، علی قاسمی، محرم ولی‌زاده، "بهنه‌سازی، مشخصه‌یابی و فعالیت ضد میکروبی نانوذرات طلائی بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی گیاه *Sambucus ebulus L.*" فصلنامه علمی اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، شماره ۱۴، ۱۳۹۵، ۱۸-۱.
- [35] O. Azizian Shermeh, A. Einali, A. Ghasemi, *Advanced Powder Technology*, **28**, 2017, 3164.
- [۳۶] امید عزیزیان شرمه، مژگان طاهری‌زاده، محرم ولی‌زاده، علی قاسمی، مریم بیگمی، افسانه کمالی دلجو. "مطالعه اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی (Kelussia odoratissima Mozaff.) علیه برخی از میکروب‌های بیماری‌زا با منشا غذایی، مجله علمی علوم غذایی و تغذیه، شماره ۱۶، ۱۳۹۷، ۴۸-۳۱.
- [37] D. Philip, D. Green, *Physica E*, **42**, 2010, 1417.
- [38] A. Heidari, A. Ghahghaei, J. Valizadeh, *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **44**, 2014, 423.
- [39] S.H. Prabha Dubeya, M. Lahtinen, M. Sillanpaa, *Process Biochemistry*, **45**, 2010, 1065.
- [40] E. Castro-Longoria, R. Alfredo, R. Vilchis-Nestorb, M. Avalos-Borja, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **83**, 2011, 42.
- [41] F. Ozogul, A. Polat, Y. Ozogul, *Food Chemistry*, **85**, 2004, 49.
- [42] S.P. Dubeya, M. Lahtinen, M. Sillanpaa, *Process Biochem*, **45**, 2010, 1065.
- [43] A.D. Dwivedi, K. Gopal, *Colloids and Surfaces A*, **369**, 2010, 27.
- [۴۴] امید عزیزیان شرمه، مژگان طاهری‌زاده، محرم ولی‌زاده، جعفر ولی‌زاده، علی قاسمی، بهروز نارویی، "بهنه‌سازی، مشخصه‌یابی و بررسی فعالیت

- [75] S.A. Khan, A. Ahmad, *RSC Advances*, **4**, 2014, 7729.
- [76] A. Bankar, B. Joshi, A.R. Kumar, S. Zinjarde, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **368**, 2010, 58.
- [77] E. Filippo, A. Serra, A. Buccolieri, D. Manno, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **356**, 2010, 344.
- [78] T.F. Speth, R. Varma, *Accounts of Chemical Research*, **44**, 2011, 469.
- [72] J. Lv, Y. Yi, G. Wu, *Materials Letters*, **187**, 2017, 148.
- [۷۳] امید عزیزیان شرمه، جعفر ولی‌زاده، علی قاسمی، "بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره بیوستنز شده با استفاده از عصاره آبی گیاه آفتی" مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، شماره ۴۴، ۱۳۹۵، ۹۲-۱۰۸.
- [74] M. Shokrzadeh, S.S. Saravi, *Journal of Medicinal Plants Research*, **4**, 2010, 95.