اکوفیزیولوژی و فیتوشیمی گیاهان دارویی و معطر

فیتوسنتز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاه گلدر (*Otostegia persica*)

حلیمه غلامی [۱*]، ابراهیم ملاشاهی [۲]، فاطمه سرگزی [۳]، علیرضا عینعلی [۳]

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

(نویسنده مسئول: Halime.gholami9532@gmail.cim)

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

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: بهمن ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش مقاله: اسفند ۱۴۰۱

نوع مقاله: علمی- پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

چکیده

نانو ذرات نقره در صنایع پزشکی و دارویی بسیار حائز اهمیت می‌باشند. در این تحقیق سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاه گلدر (*Otostegia persica*) مورد بررسی قرار گرفت. روش متداول سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از مواد شیمیایی است که برای محیط زیست مضر و نیز پرهزینه می‌باشد. هدف از این تحقیق استفاده از یک روش دوستدار طبیعت برای سنتز سبز نانوذرات نقره است. به‌طوری که ابتدا با استفاده دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ترکیبات موثره عصاره گیاه مورد آنالیز قرار گرفت و سپس عصاره گیاه گلدر و نیترات نقره در مولفه‌های متفاوت زمان، pH، غلظت عصاره و نمک نقره نیترات و در نهایت حجم عصاره با هم واکنش داده شده و بهینه شدند. در این تحقیق با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری فرابنفش مرئی، میکروسکوپ الکترونی عبوری، آنالیزهای مادون قرمز تبدیل فوریه و پراش پرتو ایکس تشکیل نانو ذرات نقره، میانگین اندازه ذرات و ساختار ذرات مشخص گردید. نتایج نشان داد که این گیاه حاوی ترکیبات فنولی سیناپیک اسید، کافئیک اسید، ترانس فرالیک اسید، گالیک اسید، پارا-کوماریک اسید و وانیلین می‌باشد. پیک مشاهده شده در طول موج ٤٣٧ نانومتر، نشان از تشکیل نانو ذرات نقره داشت. همچنین، غلظت ۱ میلی‌مولار نقره نیترات و دمای ۲۵ و ۸ =pH بهینه‌ترین شرایط تشکیل نانو ذرات نقره بود. میانگین اندازه ذرات نقره ۳۷ نانومتر و شکل آن به صورت کروی به‌دست آمد. به-طور کلی نتایج نشان داد که می‌توان با استفاده از عصاره آبی گیاه گلدر به عنوان یک منبع طبیعی، بی‌ضرر، ارزان و دوستدار طبیعت جهت سنتز نانو ذرات فلزی از جمله نانو ذرات نقره بهره برد.

واژگان کلیدی: سنتز سبز، گیاه گلدر، نانو ذرات نقره.

۱. مقدمه

در عصر حاضر تهیه موادی با ابعاد نانو مورد توجه قرار گرفته که متاسفانه با استفاده از روش‌های شیمیایی این عمل صورت می‌گیرد. افزایش توجهات به مباحث محافظت از محیط‌زیست، شیمی سبز و دیگر فرآیندهای بیولوژیکی منجر به معطوف شدن توجه دانشمندان به سمت تولید نانو ذرات با منشاء طبیعی شده است و بدین منظور انواع گوناگونی از مواد زنده زیستی مثل گیاهان مورد توجه قرار گرفته‌اند. گیاهان به عنوان منابع در دسترس، با توان احیا کنندگی بالا و قیمت ارزان در جهت تهیه نانو مواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند (Sathishkumar et al., 2009). در فرایند سنتز نانو ذرات فلزی ترکیبات مواد موثره گیاهی موجود در آن موجب سنتز نانو ذرات نقره می‌شوند. عصاره‌های گیاهی، منابع غنی از انواع مختلف متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی، آلکالوئیدها و تانن، موسیلاژ و ... می‌باشند (Huang et al., 2007).

سنتز نانو ذرات نقره با رویکرد سبز اخیراً به دلیل غیر سمی بودن و دوستدار محیط زیست بودن توسعه یافته و این بسیار امیدوار کننده است. نانو ذرات نقره در طیف وسیعی از کاربردها از جمله در رنگ‌ها، آنتی بیوتیک‌ها، در زمینه زیست پزشکی مانند انتقال دهنده دارویی در از بین بردن سلول‌های سرطانی و همچنین نانو ذرات مبتنی بر نقره در برابر انواع مختلف باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا موثر شناخته شده‌اند (Bhuiyan et al., 2020). روش‌های بسیاری جهت سنتز سبز ذرات در ابعاد نانو وجود دارد مانند روش سل-ژل، روش احیا شیمیایی، هم رسوبی، سنتز هیدروترمال و غیره (Ahmed, 2015). مواد شیمیایی استفاده شده در این روش‌ها برای محیط زیست مضر محسوب می‌شوند. بنابراین، در زمان‌های اخیر سنتز سبز نانومواد به دلیل کم هزینه بودن، سادگی و طبیعت سازگار با محیط زیست اهمیت پیدا کرده است (Kumar et al., 2020). سنتزسبز نانو ذرات نقره توسط گیاهان مانند عصاره گیاه پاپایا (Bhuiyan et al., 2020)، گل قهر و آشتی (Ahmed, 2015)، درخت حرا (Karpagavinayagam and Vedhi, 2019)، کدو قلیانی (Kanagasubbulakshmi and Kadirvelu, 2017)، درخت مسواک (Barzegar et al., 2017) و قیچ خرفه‌ای (Barzegar et al., 2018) گزارش شده است. اما تا به امروز استفاده از عصاره آبی گیاه گلدر (*Otostegia persica*) در سنتز نانو ذرات نقره گزارشی نشده است، بنابراین، در این تحقیق با استفاده از عصاره آبی گیاه گلدر پرسیکا جهت سنتز سبز نانو ذرات نقره استفاده شده است.

۲. مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری نمونه گیاهی

گیاه گلدر مورد استفاده در این تحقیق در اوایل فصل پاییز از کوه‌های اطراف شهر زابل جمع‌آوری و به ازمایشگاه شیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان شهر زاهدان منتقل شد.

- تهیه عصاره و شناسایی ترکیبات فنولی

گیاه گلدر پس از خشک کردن جهت عصاره گیری مورد استفاده قرار گرفت. جهت عصاره‌گیری ۱۰۰ گرم از گیاه گلدر با ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب دوبار تقطیر به حجم رسانده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه همزن مغناطیس قرار داده شد. عصاره‌ها با کاغذ صافی

واتمن شماره یک فیلتر شدند و در لوله فالکن قرار داده و داخل سانترفیوژ قرار داده شد. در نهایت بعد از رد کردن از فیلتر سر سرنگی به ستون کروماتوگرافی دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)[1] تزریق گردید.

- **بهینه‌سازی pH در سنتز نانو ذرات نقره**

ابتدا ۵ عدد بشر ۵۰ میلی‌لیتری آماده و در هر کدام ۲ سی‌سی عصاره و ٤ سی‌سی نمک نقره نیترات اضافه شد و با همزن مغناطیسی در دمای اتاق و pH های ۲، ٤ ، ٦، ۸ و ۱۰ مورد واکنش قرار گرفت. سپس، بعد از ۲٤ ساعت با دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی طیف آن ثبت شد.

- **بهینه سازی غلظت نمک نقره نیترات جهت سنتز نانوذرات نقره**

ابتدا بشر ۵۰ میلی لیتری آماده و در هر کدام از ظرف‌ها ۲ سی‌سی عصاره و ٤ سی‌سی نمک با غلظت‌های ۱ ، ۲، ۳، ٤، ۵، ٦، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ میلی‌مولار متفاوت اضافه شد و با سدیم هیدروکسید M ۰/۱ به pH بهینه ۸ رسانده شد.

- **بهینه سازی حجم عصاره گیاه گلدر**

برای بهینه‌سازی حجم عصاره گیاه گلدر در ده بشر به صورت جداگانه چهار میلی لیتر نمک نقره با غلظت بهینه یک میلی‌مولار اضافه شد سپس به هر بشر حاوی نمک نقره نیترات به ترتیب ۱، ۲، ۳، ٤، ۵، ٦، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره بوسیله پیپت افزوده شد و سپس همه بشرها به pH بهینه ۸ تنظیم شد و بعد از ۲٤ ساعت از نانو ذره تشکیل شده ، با دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی طیف آن ثبت شد.

- **بهینه سازی غلظت گیاه گلدر**

عصاره گیاه گلدر با درصدهای ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ وزنی-حجمی تهیه شد و در پنج بشر هر کدام چهار میلی‌لیتر نمک نقره نیترات ۱ میلی‌مولار اضافه شد و ٦ میلی لیتر از عصاره با در صد های مختلف در هر کدام از بشر ها اضافه شد و به pH بهینه ۸ رسانده شد و پس از ۲٤ ساعت توسط دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی طیف آن ثبت شد.

- **بهینه سازی زمان واکنش نمک نقره نیترات با عصاره گیاه گلدر**

به منظور به دست آوردن بهینه‌ترین شرایط زمانی لازم جهت سنتز نانو ذرات نقره و به صورت جداگانه در در ساعت‌های مختلف از واکنش تا ۲٤ ساعت از زمان شروع واکنش طیف‌های اسپکتروفتومتر گرفته شد.

- **مشخصه یابی نانو ذرات نقره**

جهت اثبات نانو ذرات نقره بدست آمده از دستگاه طیف سنج مرئی و ماوراء بنفش و برای اثبات شکل و اندازه نانو ذرات سنتز شده از دستگاه عکسبرداری میکروسکوپ الکترونی (TEM[2]) مورد استفاده قرارگرفته شد.

- **آنالیز اماری**

[1] High-performance liquid chromatography
[2] Transmission electron microscope

تجزیه و تحلیل پراش پرتو ایکس توان برای مطالعه ساختار کریستالی نانو ذرات مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری عرض قله-های تشکیل شده در نمونه‌ها از معادله Debye-scherrer مورد محاسبه قرار گرفت.

۳. نتایج و بحث

- **شناسایی ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره گیاه گلدر با استفاده از HPLC**

مطابق نتایج، عصاره آبی گیاه گلدر دارای ترکیبات فنولی از جمله سیناپیک اسید، کافئیک اسید، ترانس فرالیک اسید،گالیک اسید،پارا-کوماریک اسید و وانیلین می‌باشد که در این بین سیناپیک اسید، کافئیک اسید و ترنس-فرولیک اسید از اهمیت زیادی برخوردار هستند. ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی موجود در عصاره آبی گیاه گلدر همانطور که مشاهده می‌شود دارای حلقه بنزن به همراه گروه عاملی هیدروکسیل می‌باشند که اینها شاخصه ترکیبات فنولی هستند. این ترکیبات از این جهت قابل توجه هستند که براساس تحقیقات سالهای گذشته اثبات کرده است که این ترکیبات دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های از جمله آنتی اکسیدانی، آنتی میکروبی، احیا کنندگی و ... می‌باشد که بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاه گلدر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی و احیاکنندگی بسیار خوبی می-باشند. فلاونوئیدها یکی از گسترده‌ترین و متنوع ترین گروه از ترکیبات فیتوشیمیائی گیاهی هستند که دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد درد و سایر موارد فیتوشیمیایی می‌باشند. وجود ترکیبات قطبی پلی فنل مانند فلاونوئیدها و تانن‌ها در گلدر در پژوهش‌های دیگر گزارش شده است (Nourinasab et al., 2013). در تحقیقی دیگر نشان داده است که گیاه گلدر پرسیکا دارای بسیاری از اجزای فعال زیستی مانند فلاونوئیدها و تانن‌ها است اما فاقدآلکالوئید و ساپونین می‌باشد (Tofighi et al., 2009).

این گیاه به دلیل محتوای بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنل، تانن و فلاوونوئیدها دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی است. همچنین عصاره متانولی گیاه گلدر به دلیل داشتن ترکیبات فعال کوئرستین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی معادل چای سبز است (Rakhshani et al, 2021).

- **نتایج طیف سنجی فرابنفش-مرئی با نسبت های مختلف عصاره گلدر و نمک نقره نیترات**

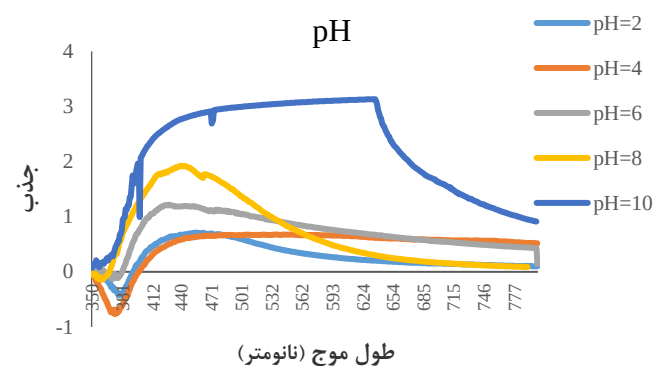
بر اساس نتایج متعدد در تحقیقات گذشته وجود پیک در محدوده ٤٢٠ تا ٤٦٠ نانومتر اثباتی وجود نانو ذرات نقره می‌باشد. در این تحقیق در محلول بهینه سازی شده در ناحیه ٤٣٧ نانومتر پیک مشاهده گردید. در واقع نانو ذرات نقره در این محدوده دارای جذب می‌باشد و تغییر رنگ عصاره پس از انجام واکنش خود می‌تواند اثبات کننده انجام واکنش و سنتز نانو ذرات نقره باشد.

- **بهترین pH در انجام واکنش سنتز نانو ذرات نقره**

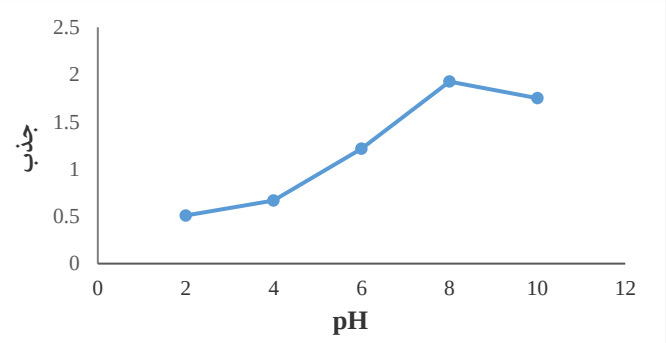
نتایج طیف‌ها در pH های مختلف نشان داد که در pH برابر ۸ بهترین جذب حاصل شده است. طیف‌های اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی حاصل از هر یک از نمونه‌ها جهت بهینه سازی میزان pH در شکل‌های ۱ و ۲ قابل مشاهده است. همچنین، تصاویر تغییر رنگ محلول واکنش با تغییر pH در شکل ۳ نمایش داده شده است.

در تحقیقات گذشته، اثرات pH بر تشکیل نانو ذرات مورد مطالعه قرار گرفته است. گزارش‌ها حاکی از آن است که pHواکنش تأثیر قابل توجهی بر شکل نانو ذرات ندارد و تنها به طور قابل توجهی بر روی اندازه آنها تأثیر می‌گذارد.

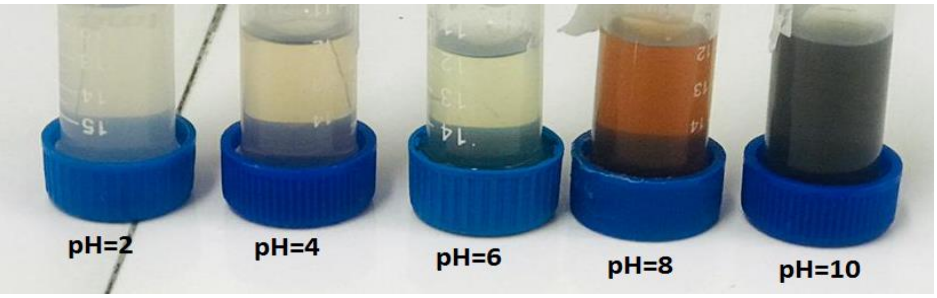
در این تحقیق حاضر، برای مطالعه اثر pH بر سنتز نانو ذرات ۵، pH متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در pH=2 پیکی مشاهده نشد که نشان از عدم وجود نانو ذرات نقره و عدم انجام واکنش می‌باشد. در pH=4 و pH=6 میزان جذب کمی افزایش پیدا کرده است که نشان از تاثیر pH بر انجام واکنش دارد و با افزایش pH طیف‌ها شارپ‌تر می‌شوند. در pH=8 جذب افزایش قابل توجهی داشته و به شارپترین نقطه خودش می‌رسد که نشان از سنتز نانو ذرات نقره با شرایط مساعد دارد. در pH=10 کاهش قابل توجه جذب مشاهده شد که می‌توان ادعا کرد یون‌های نقره در آن هیدرولیز شده‌اند. در pH های بالاتر به دلیل تولید نانو ذرات با اندازه بزرگتر (به دلیل به هم پیوستگی ذرات کوچکتر)، باعث می‌شود که طیف‌ها تقریباً منبسط شوند. پس بهترین pH برای انجام واکنش ۸ می‌باشد (Azizian-Shermeh et al., 2021).



شکل ۱. طیفهای واکنش محلول در pH متفاوت



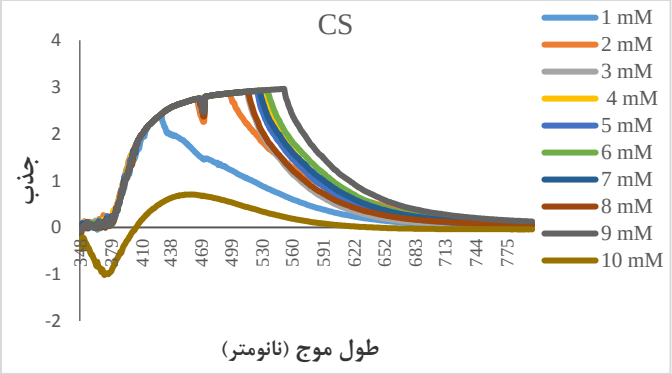
شکل ۲. طیفهای جذبی محلول در pH متفاوت



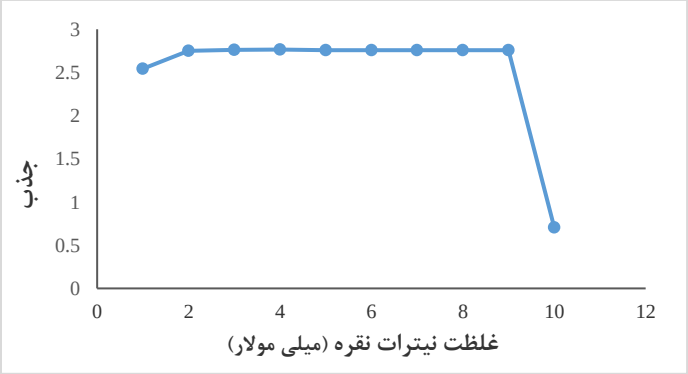
شکل ۳. تغییر رنگ محلول عصاره در pH متفاوت

- **بهترین غلظت نمک نیترات نقره**

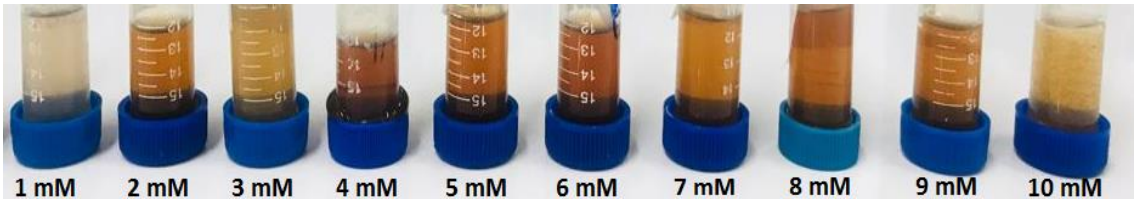
بیشترین جذب در طول موج ٤٣٧ نانومتر در غلظت یک میلی مولار به‌دست آمد. با افزایش غلظت نمک نقره نیترات میزان جذب تا ۱ میلی مولار افزایش یافته و پس از آن جذب ثابت ماند. دلیل آن را می‌توان تشکیل نانو ذرات با ابعاد بزرگتر که در اثر جمع شدن و بهم متصل شدن ذرات خیلی کوچکتر ایجاد شده‌اند، دانست. علت پایین بودن جذب در غلظت ۱۰ میلی مولار، پایین بودن سرعت واکنش میان نمک نقره نیترات و عصاره گیاه گلدراست. طیف اسپکتروفتومتری نمونه‌های تهیه شده جهت بهینه‌سازی میزان غلظت نمک نقره نیترات در شکل ۳ و ٤ قابل مشاهده است. همچنین، تصاویر تغییر رنگ محلول واکنش با تغییر غلظت محلول نقره نیترات در شکل ۵ آمده است.



شکل ۴. طیفهای نانوذرات نقره سنتز شده در غلظتهای مختلف از محلول نیترات نقره



شکل ۵. نمودار جذب محلولهای واکنش در غلظتهای مختلف از محلول نیترات نقره

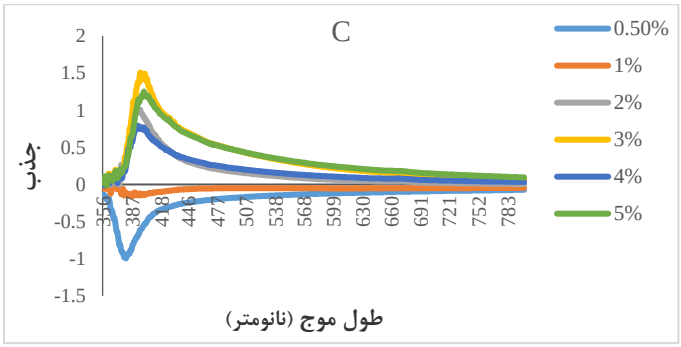


شکل ۶. تغییر رنگ محلول‌های واکنش در غلظت‌های مختلف از محلول نیترات نقره

- **بهترین غلظت عصاره گیاه گلدر**

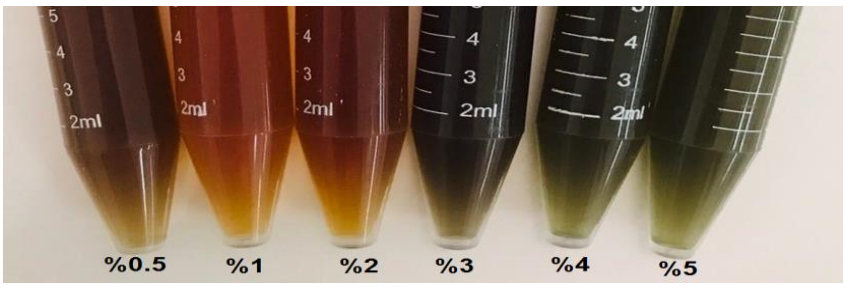
با توجه به طیف‌ها در غلظت‌های مختلف مشخص شد که نمونه در غلظت ۳ درصد بیشترین جذب را دارد و با افزایش میزان غلظت عصاره گیاه گلدر میزان جذب نیز افزایش یافت. طیف‌های اسپکتروفتومتری حاصل از هر یک از نمونه‌ها در شکل ۷ و جذب اسپکتروفوتومتری محلول‌های واکنش در غلظت‌های مختلف در شکل ۸ آمده است. همچنین، شمایی از تغییر رنگ محلول عصاره با تغییر غلظت عصاره در شکل ۹ نمایش داده شده است.

مطابق نتایج آنالیز طیف فرابنفش-مرئی، در غلظت‌های نیم درصد و یک درصد هیچ گونه جذبی مشاهده نشد که نشان از عدم انجام واکنش می‌باشد و در غلظت ۲ درصد جذب کمی افزایش پیدا می‌کند و در غلظت ۳ درصد به اوج خود می‌رسد که در این ناحیه با توجه به میزان جذب نانو ذرات به صورت بهینه در حال سنتز می‌باشد و با افزایش میزان غلظت عصاره جذب شروع به کاهش می‌کند پس بهینه‌ترین غلظت عصاره برای انجام واکنش ۳ درصد می‌باشد.



شکل ۷. طیف‌های اسپکتروفوتومتری فرابنفش مرئی محلول‌های واکنش در غلظت‌های مختلف عصاره

شکل ۸. نمودار اصلی طیف‌های جذبی محلول در غلظتهای مختلف عصاره



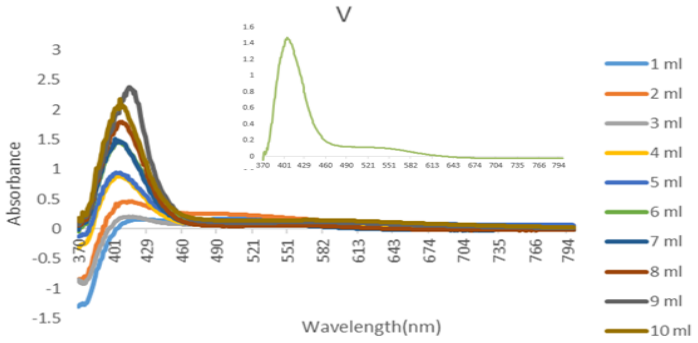
شکل ۹. تغییر رنگ محلول‌های واکنش در غلظت‌های مختلف عصاره گلدر

- **بهترین حجم عصاره گیاه گلدر**

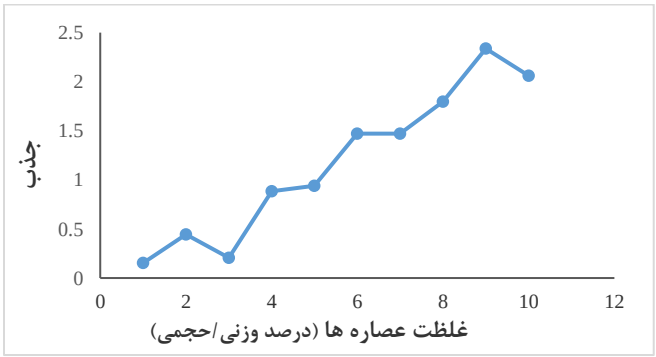
همانطور که در شکل ۱۰ نشان داده شده است، بیشترین جذب در حجم ٦ میلی‌لیتر از عصاره انجام شده است. در شکل ۱۱ جذب محلول‌های واکنش در حجم‌های مختلف آمده است.

در تحقیق حاضر، جهت بهینه‌سازی مولفه حجم عصاره در ده غلظت مورد بررسی قرار گرفت. کمترین میزان جذب مربوط به حجم ۱ میلی‌لیتر بود که هیچ پیکی مشاهده نشد. با افزایش میزان عصاره، جذب بیشتر شد و در حجم ۱۰ میلی‌لیتر به بیشترین میزان خود رسید. دلیل آن را می‌توان به وجود مواد موثره در عصاره گیاه مرتبط دانست که هر چه میزان مواد موثره در محیط بیشتر می‌شود واکنش بیشتر انجام می‌شود. در حجم‌های ۱ تا ۵ میلی‌لیتر میزان جذب پایین گزارش شد که نشان از واکنش ضعف عصاره دارد در غلظت پایین‌تر از سطوح بهینه، کاهش یون‌های فلزی و تثبیت نانوذرات سنتز شده به طور کامل رخ نمی‌دهد و نانو ذرات در اندازه‌های کوچکتر و درشت تولید می‌شوند. اما در ناحیه حجم ٦ میلی‌لیتر جذب ۱/٤٦۱ می‌باشد و در حجم‌های بالاتر این میزان افزایش قابل توجهی داشته است پس بهینه‌ترین حجم ٦ میلی‌لیتر می‌باشد.

علاوه بر این، اضافه کردن بیش از مقدار بهینه، ذرات تثبیت کننده بیشتر انباشته می‌شوند، که منجر به تثبیت و سنتز نانو ذرات درشت ناقص می‌شود. از آنجا ترکیبات شیمیایی فراوانی در عصاره‌ها وجود دارد برای کاهش یون‌های فلزی و تبدیل آنها به نانوذرات نقره، لازم نیست تمام ترکیبات شیمیایی موجود عصاره وارد عمل شود برای همین از انتخاب غلظت‌های بالاتر از ٦ اجتناب می‌کنیم.



شکل ۱۰. طیف‌های اسپکتروفوتومتری فرابنفش مرئی محلول‌های واکنش در حجم‌های مختلف عصاره

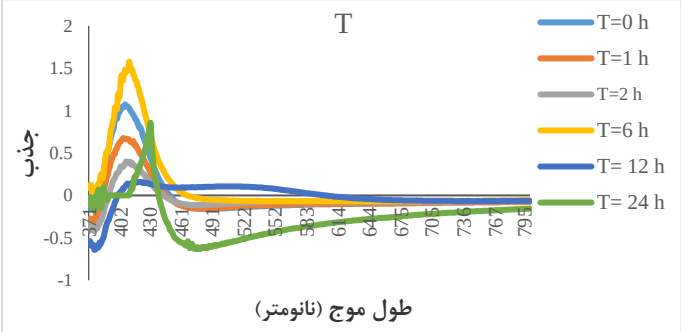


شکل ۱۱. نمودار اصلی طیف‌های جذبی محلول در حجم‌های مختلف عصاره

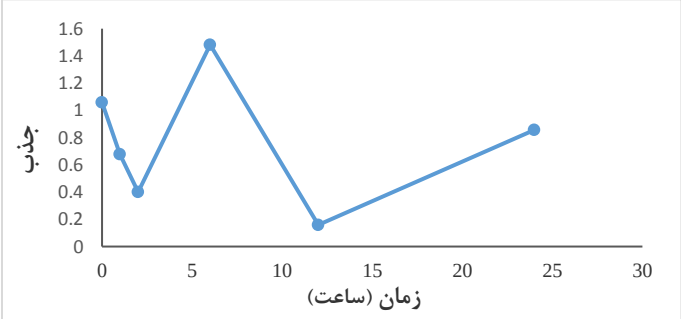
- **بهینه نمودن زمان انجام واکنش**

مولفه دیگر بررسی شده زمان بود که در شکل‌های ۱۲ و ۱۳ نشان داده شده است. از زمان شروع واکنش تا زمان ۲٤ ساعت مورد بررسی قرار داده شده است که در ابتدا شروع واکنش جذب به شدت کاهش پیدا می‌کند و در ساعت‌های ٤ به بالا جذب شروع به شدت گرفتن می‌کند که نشان از شروع سنتز نانو ذرات نقره دارد و در ساعت ٦ واکنش جذب به بیشترین میزان خودش می‌رسد و در اینجا سنتز نانو ذرات افزایش می‌یابد و مشاهدات نشان می‌دهد اندک اندک بعد از ساعت ٦ واکنش میزان جذب شروع به پایین آمدن می‌کند. که کاهش جذب نشان می‌دهد که نانو ذرات به یکدیگر متصل شده و نانو ذره درشت‌تر تولید می‌شود. بنابراین بهترین زمان انجام واکنش همان ساعت ٦ واکنش انتخاب شد.

پس از مخلوط کردن واکنش‌ها باهم و تنظیم pH محلول از رنگ زرد به سمت قهوه‌ایی تغییر کرد و اما به‌خاطر ناپایداری ذرات با گذشت زمان کاهش میزان جذب را به همراه دارند.



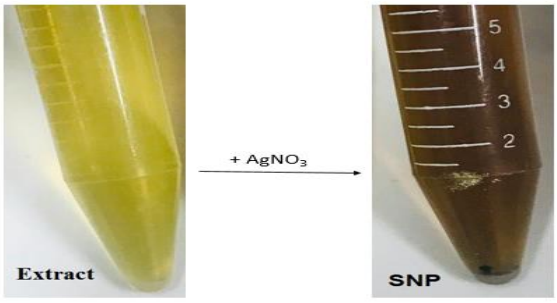
شکل ۱۲. طیف‌های اسپکتروفوتومتری فرابنفش مرئی محلول‌های واکنش در زمان‌های متفاوت



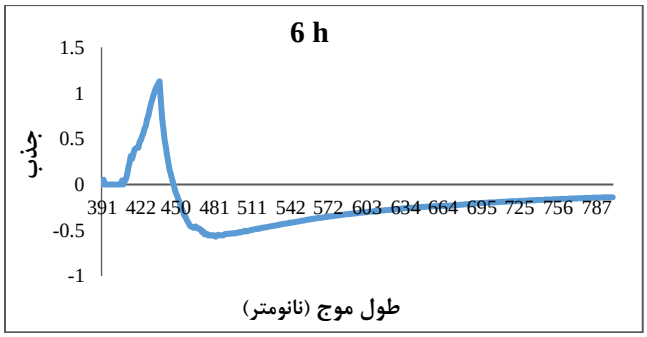
شکل ۱۳. نمودار اصلی طیف‌های جذبی محلول واکنش در دماهای متفاوت

پس از واکنش محلول‌های واکنش با یکدیگر در مرحله اول تغییر رنگ ایجاد شد و که در نمونه نهایی بهینه‌سازی شده این تغییر رنگ همانطور که در شکل ١٤ نشان داده شده از سبز به قهوه‌ایی بوده است. بر اساس تحقیقات گذشته مخلوط واکنش با افزودن غلظت‌های مختلف یون‌های فلزی رنگ را تغییر می‌دهد. این تغییرات رنگ به دلیل تحریک ارتعاشات پلاسمون سطحی در نانوذرات نقره ایجاد می‌شود (GnanaJobitha et al., 2012). پس تغییر رنگ مخلوط واکنش نشان از سنتز نانو ذرات نقره دارد. در ادامه برای اثبات سنتز نانو ذرات نقره از طیف سنجی فرابنفش–مرئی استفاده شد. طیف‌سنجی فرابنفش–مرئی یک روش مهم برای تعیین شکل‌گیری و پایداری نانوذرات فلزی در محلول آبی است (GnanaJobitha et al., 2012). نتایج واکنش نهایی مخلوط

واکنش بهینه‌سازی شده همانطور که در شکل ۱۵ قابل مشاهده هست نشان داد که در ناحیه ٤٣٧ نانومتر قله تشکیل شده است که نشان از وجود نانوذرات نقره در محلول واکنش می‌باشد. در ادامه نانو ذرات نقره برای تعیین شکل و ساختار و میانگین اندازه نانو ذرات نقره سنتز شد. علاوه بر طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی از عکس‌برداری الکترونی و طیف‌سنجی مادون قرمز و پراش پرتو ایکس نیز مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۱۴. تغییر رنگ محلول واکنش پس از بهینه سازی واکنش



شکل ۱۵. طیف جذب محلول واکنش پس از بهینه سازی واکنش

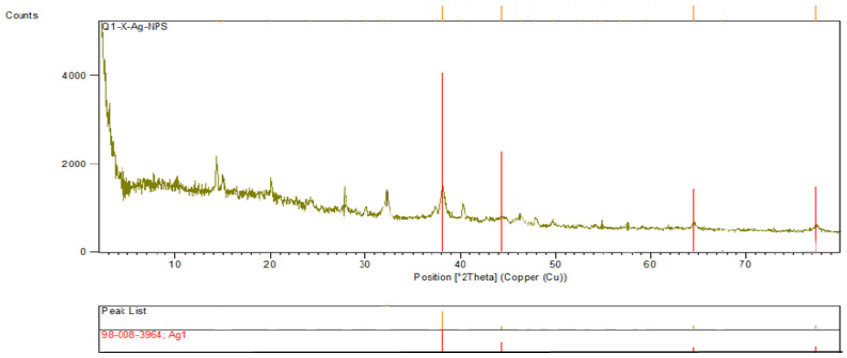
- **بررسی پراش پرتو ایکس در سنتز نانو ذرات نقره**

از تجزیه و تحلیل پراش پرتو ایکس می‌توان برای مطالعه ساختار نانو ذرات استفاده کرد. اندازه‌گیری عرض قله‌های تشکیل شده در نمونه‌ها با استفاده از معادله Debye-scherrer (رابطه ۱) محاسبه شد:

$$D=0.9\lambda/\beta \cos \theta \quad (۱)$$

به‌طوری که، β: پهنای پیک در نصف حداکثر ارتفاع، λ: طول موج پرتوهای ایکس ۱/٤ نانومتر، θ: زاویه بین پرتو تابش و بازتاب و D: اندازه ذرات کریستالی می‌باشد.

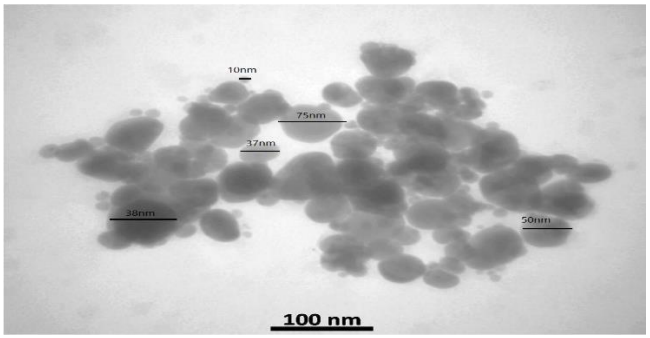
مطابق شکل ١٦، مناطق ٣٨/١٢، ٤٤/٤١، ٦٤/٥٢، ٧٧/٤٢ قله‌های تیز را نشان می‌دهد، که نشانگر سنتز موفق نانو ذرات است. تجزیه و تحلیل نشان داد که نانو ذرات نقره دارای یک ساختار کریستالی شکل با شاخص‌های میلر هستند. در ناحیه ۲۲۰،۲۰۰، ۲۲۲ در یک شبکه مکعبی وجود قله‌های تیز در الگوها، درجه بالایی از بلورینگی را برای نانو ذره‌ها نشان می‌دهد، قله نسبت به سایر قله‌ها شدیدتر بوده، بنابراین نانو ذرات نقره کریستالی در این جهت تشکیل می‌شوند (Azizian-Shermeh et al., 2021; Azizian-Shermeh et al., 2017).



شکل ۱۶. نمودار پراش پرتو ایکس نانو ذرات نقره سنتز شده

- **آنالیز عکسبرداری الکترونی عبوری نانو ذرات نقره**

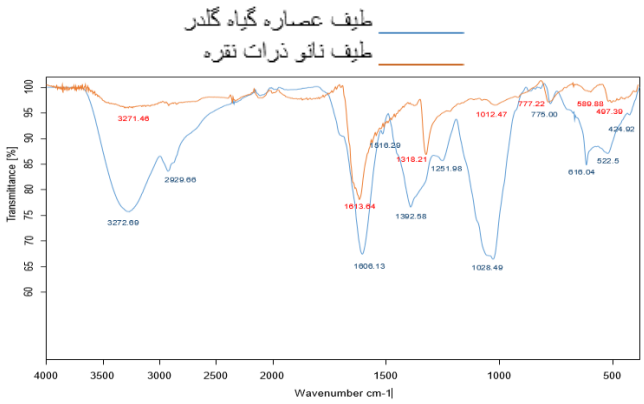
در این تحقیق برای بررسی شکل و تعیین اندازه نانو ذرات نقره از روش عکسبرداری الکترونی عبوری استفاده شد. همانطور که در شکل ١٦ مشاهده می‌شود نانو ذرات نقره ساختار کروی شکل و منظمی دارد و میانگین اندازه ذرات سنتز شده نیز حدود ۳۸ نانومتر به‌دست آمد. یکی از مشکلات اساسی در سنتز نانو ذرات کنترل شکل و اندازه آنها می‌باشد. شکل نانوذرات یک معیار بسیار مهم برای تعیین کاربرد آن است، زیرا شکل آنها ارتباط مستقیمی با خواص نوری و الکتریکی آنها دارد. اندازه و شکل نانو ذرات نقره با اعمال پارامترهای مختلف قابل کنترل است و با تغییر در هر یک از آنها اندازه و شکل را می‌توان در مراحل سنتز تغییر داد (Azizian-Shermeh et al, 2021, Azizian-Shermeh et al, 2017).



شکل ۱۶. تصویر عکسبرداری الکترونی عبوری از نانوذرات نقره

- **آنالیز مادون قرمز تبدیل فوریه نانو ذرات نقره سنتز شده و عصاره خشک گیاه گلدر**

در این تحقیق برای بررسی و شناسایی ترکیبات فعال گیاه گلدر که در احیا یون‌های نقره به نانو ذرات فلزی دخیل بوده‌اند از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد که نمودارهای مربوط به نانو ذرات نقره و عصاره خشک گیاه گلدر در شکل ۱۷ قابل مشاهده می‌باشد. آنالیزها نشان داد که عصاره خشک گیاه در نواحی باندهای شفاف در مساحت ۳۲۷۲/٦۹، ۲۹۲۹/٦٦، ١٦١٣/٦٤، ١٦٠٦/١٣، ١٥١٦/٢٩، ١٣٩٢/٥٨، ١٣١٨/٢١، ١٣١٨/٢١، ١٢٥١/٩٨، ١٠٢٨/٤٩ و ١٠١٢/٤٧ وجود دارد که نشان‌دهنده وجود گروه‌های عاملی فنلی OH–، CH-آلیفاتیک، C=C آروماتیک، N=O، C-O می‌باشد. همچنین، مطابق نتایج وجود این ترکیبات نشان از وجود ترکیبات فنولی در عصاره گیاه گلدر دارد. ترکیبات فنولی موجود در گیاه گلدر سیناپیک اسید، کافئیک اسید، ترانس فرالیک اسید،گالیک اسید،پارا-کوماریک اسید و وانیلین می‌باشند.



شکل ۱۷. نمودار مادون قرمز تبدیل فوریه نانو ذرات نقره سنتز شده و عصاره خشک گیاه گلدر

مقایسه نمودار طیف فرابنفش-مرئی نانو ذرات نقره و عصاره خشک گیاه گلدر نشان می‌دهد که پس انجام واکنش عصاره گیاه و یون‌های نقره با یکدیگر، ترکیبات فنولی موجود در گیاه که دارای گروه عاملی OH و حلقه اروماتیک می‌باشند در طی واکنش، مصرف شده و با دادن الکترون به یون‌های نقره و تبدیل آن‌ها به نانوذرات نقره، تغییر ماهیت دادند. همانطور که در شکل ۱۷ مشاهده می‌شود این ترکیبات پس از انجام واکنش کامل حذف شده‌اند. بنابراین نتایج نشان داد که عصاره گیاه گلدر به دلیل داشتن ترکیبات فنولی این توانایی را دارند که با یون‌های نقره در محلول نقره نیترات واکنش داده و تبادل الکترون انجام بدهد و یون نقره (Ag^{+}) را به نقره خنثی (Ag^{0}) در ابعاد نانو احیا کند که این روش یک روش دوستدار طبیعت یا به اصطلاح سنتز سبز می‌باشد که روش ارزان و آسان برای سنتز نانوذرات نقره می‌باشد (Sathishkumar et al., 2009) در سنتز سبز نانو ذرات، ترکیبات موثره موجود اکسید می‌شوند و سبب احیا یون‌های فلزی می‌شوند. عصاره‌های گیاهی، منابع بزرگی از متابولیت‌های ثانویه متعدد هستند که دارای قدرت احیا کنندگی می‌باشند. این ترکیبات دارای گروه‌های عاملی مختلفی از جمله گروه‌های هیدروکسیل، کتون، آلدهید، فنلی، اسیدی و غیره هستند (Huang et al., 2007).

۴. نتیجه‌گیری

در این تحقیق با استفاده از عصاره آبی گیاه گلدر و نمک نقره نیترات با روشی سبز و دوستدار طبیعت، نانو ذرات نقره سنتز شد. جهت حصول بهترین نانو ذرات نقره با شکل یکنواخت و اندازه کوچکتر، شرایط ایجاد سنتز نانو ذرات نقره در شرایط متفاوت بهینه‌سازی شد. در این بهینه‌سازی مولفه‌های زمان، pH، غلظت عصاره و نمک نیترات نقره و در نهایت حجم عصاره مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که بهترین شرایط سنتز نانو ذرات در pH برابر ۸، غلظت نمک ۱ میلی‌مولار، غلظت عصاره ۳ درصد، حجم ٦ میلی‌مولار و در ٦ ساعت بعد از شروع واکنش می‌باشند.

همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره آبی گیاه گلدر به عنوان پایدارکننده و عامل کاهنده یون‌های نقره به نقره فلزی می باشد و ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاه این توانایی را دارند که با یون‌های نقره در محلول نقره نیترات واکنش داده و تبادل الکترون انجام دهند و یون نقره (Ag^{+}) را به نقره خنثی (Ag^{0}) در ابعاد نانو احیا کنند. بنابراین، از ترکیبات فنولی موجود در عصاره آبی گیاه گلدر می‌توان به‌عنوان یک منبع طبیعی، بی‌ضرر، ارزان و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی جهت سنتز نانو فلزات از جمله نانو نقره که در صنایع پزشکی و دارویی بسیار حائز اهمیت هستند، بهره برد.

۵. منابع

Ahmed, E.M. 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2): 105-121.

Azizian Shermeh, O., Valizadeh, M., Valizadeh, J., Taherizadeh, M. and Beigomi, M. 2017. Phytochemical investigation and phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Capparis spinosa* L. *Modares Journal of Biotechnology*, 8(1): 80-90.

Azizian-Shermeh, O., Jalali-Nezhad, A.A., Taherizadeh, M. and Qasemi, A. 2021. Facile, low-cost and rapid phytosynthesis of stable and eco-friendly silver nanoparticles using Boerhavia elegans (Choisy) and study of their antimicrobial activities. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31: 279-291.

Barzegar, R., Nemati, Z. and Hemmati, Z. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles by using Salvadora persica leaf extract and evaluation of their antifungal activities. *Biology, Engineering, Medicine and Science Reports*, 3(1): 6-8.

Barzegar, R., Safaei, H.R., Nemati, Z., Ketabchi, S. and Talebi, E. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using Zygophyllum qatarense Hadidi leaf extract and evaluation of their antifungal activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(3): 168-171.

Bhuiyan, M. S. H., Miah, M. Y., Paul, S. C., Aka, T. D., Saha, O., Rahaman, M. M. and Ashaduzzaman, M. 2020, Green synthesis of iron oxide nanoparticle using Carica papaya leaf extract: application for photocatalytic degradation of remazol yellow RR dye and antibacterial activity. *Heliyon*, 6(8), e04603.

GnanaJobitha, G., Annadurai, G. and Kannan, C. 2012. Green synthesis of silver nanoparticle using Elettaria cardamomom and assesment of its antimicrobial activity. *International Journal* of *Pharmaceutical Sciences and Research* (IJPSR), 3(3): 323-330.

Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., Wang, H., Wang, Y., Shao, W., He, N. and Hong, J. 2007. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf. *Nanotechnology*, 18(10): 105104.

Kumar, K., Smita, L. and Cumbal, A. 2014. DebutBiogenic synthesis of iron oxide nanoparticles for 2-arylbenzimidazole fabrication. *Journal* of *Saudi Chemical Society*, 18(4): 364-369.

Karpagavinayagam, P. and Vedhi, C. 2019. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Avicennia marina flower extract. *Vacuum*, 160: 286-292.

Kanagasubbulakshmi, S. and Kadirvelu, K. 2017. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Lagenaria siceraria and evaluation of its antimicrobial activity. *Defence Life Science Journal*, 2(4): 422-427.

Nourinasab, N., Goreishi, S.M. and Banifatemi, S.S. 2019. Evaluation and optimization of supercritical extraction of insulin from Otostegia persica. *Boletin del Grupo Espanol del Carbon*, (51): 13-19.

Rakhshani, A., Alizadeh, E., Ahmadifar, E. and Shahriari Moghadam, M. 2021. Effect of dietary golder powder (*Otostegia persica*) on blood parameters, antioxidant defense and immune of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatics Physiology and Biotechnology*, 9(1): 39-56.

Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S.W., Cho, C.W., Kim, S. and Yun, Y.S. 2009. Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2): 332-338.

Tofighi, Z., Alipour, F., Yassa, N., Hadjiakhoondi, A., Hadavinia, H., Goodarzy, S. and Golestani, R. 2009. Chemical composition and antioxidant activity of *Otostegia persica* essential oil from Iran. *International Journal* of *Essential Oil Therapeutics*, 3: 45-48.