



سنتز سبز نانوذرات طلا توسط گیاه دارویی آویشن شیراز

جواد بهارآرا^{۱*}، طیبه رضانی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی و مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران
^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

E-mail: baharara@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰

چکیده

امروزه سنتز زیستی نانوذرات طلا مورد توجه قرار گرفته است. عصاره‌های گیاهی سازگار با محیط زیست هستند و با توجه به کاهش هزینه‌ها و عدم استفاده از مواد سمی برای سنتز نانوذرات مناسب می‌باشند. در پژوهش حاضر، روش سبز برای تولید نانوذرات طلا با استفاده از عصاره برگ گیاه آویشن استفاده شده است. عصاره آبیاز برگ گیاه دارویی آویشن شیراز تهیه شد. این عصاره با غلظت مختلف با محلول HAuCl_4 مخلوط گردید. سنتز نانوذرات توسط تغییر رنگ محلول HAuCl_4 بررسی گردید، تشکیل نانوذره طلا با استفاده از طیف سنجی - UV Vis و شکل و اندازه نانو ذرات با میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد، آنالیز انتشار انرژی اشعه ایکس برای تأیید حضور عنصر طلا در نمونه‌ها انجام شد. رنگ محلول HAuCl_4 در ترکیب با عصاره گیاهی آویشن شیراز از زرد به سرخ یا قوتی تغییر یافت، این تغییر رنگ نشان دهنده سنتز نانوذرات طلا بود. طیف سنجی UV-Vis نشان داد که پیک جذبی حدود ۵۴۰ نانومتر می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان داد که نانوذرات در اشکال کروی، نامنظم و پنج وجهی می‌باشند. همچنین اندازه‌های نانو ذرات مختلف بین ۵۰-۱۰ نانومتر تعیین شد. آنالیز انتشار انرژی اشعه ایکس پیک جذبی را در حدود ۲/۳ کیلو وات بدلیل وجود نانو ذرات طلا نشان می‌دهد. نتایج بیان گر آن است که می‌توان توسط عصاره آویشن شیراز نانو ذره طلا سازگار با محیط زیست، بدون استفاده از مواد شیمیایی نامناسب و خطرناک تولید کرد.

کلیدواژه‌ها: سبز، گیاه، آویشن شیراز، طلا، نانوذره

مقدمه

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی می‌باشد که کاملاً متفاوت حالت توده ماده است [25]. نانو ذرات فلزی کاربردهای زیادی در شیمی، فیزیک، علوم مواد و علوم پزشکی دارند [26]. در بین انواع نانوذرات فلزی، نانوذرات طلا بخش مهمی از پژوهش‌ها را معطوف به

در طول دو دهه گذشته، پژوهش بر روی نانوذرات و بکارگیری آن‌ها در زمینه‌های مختلف توسعه یافته است [13]. نانوذرات دارای خصوصیات استثنایی الکترونیکی، کاتالیتیکی، نوری، مغناطیسی و دیگر

سریع‌تر می‌نماید، در واقع با سنتز خارج سلولی نانوذرات نیازی به کشت و نگهداری سلول‌ها در جهت سنتز نانو ذرات نمی‌باشد [24]. استفاده از عصاره‌های گیاهی در سنتز نانو ذرات فلزی بخصوص طلا بسیار امیدوار کننده است و تاکنون با استفاده از گیاهان مختلف همچون دارچین، چای سیاه [6] اکالیپتوس [8] و ریشه شیرین سنتز نانو ذرات طلا انجام شده است [7, 24]. هدف این تحقیق سنتز سبز نانو ذرات طلا با استفاده از عصاره گیاه آویشن شیراز (*Zataria multiflora*) می‌باشد. آویشن شیراز گیاهی بومی ایران و افغانستان از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد خانواده نعناعیان بیشترین پراکندگی را در جهان دارند و تاکنون حدود ۵۰۰۰ گونه از آن معرفی شده است [12]. نعناعیان انواع ترکیبات ترپنوئیدی و آروماتیک را تولید می‌کند که بطور عمده در برگ‌های آن‌ها ذخیره می‌شوند [2]. این گیاه به عنوان طعم دهنده، ضد عفونی کننده، محرک و ضد درد استفاده می‌شود [12]. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده بخش‌های هوایی این گیاه شامل پاراسمین، گاما ترپینن، کارواکرول، تیمول است همچنین ترکیب عمده موجود در آویشن تیمول می‌باشد این موارد دارای گروه‌های عاملی فعال می‌باشند که می‌توانند در بیوسنتز نانو ذرات نقش مهمی داشته باشند [23].

روش کار:

این پژوهش تجربی آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد انجام شده است.

تهیه عصاره گیاهی: گیاه آویشن شیراز در هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد با کد هرباریومی ۳۵۳۱۴ شناسایی شد. سپس نمونه‌ها با آب مقطر

خود نموده است. این نانو ذرات بعلت ویژگی‌های منحصر به فرد روزنانس پلاسمون سطح (و خواص اپتیکی کاربردهای فراوانی در رسانش هدفمند دارو تصویربرداری بافت و تومور، درمان‌های گرمایی-نوری و شناسایی ایمنوکروماتوگرافیک پاتوژن در نمونه‌های بالینی دارند [17]. متاسفانه بسیاری از حلال‌های آلی که برای سنتز نانوذرات فلزی استفاده می‌شوند نظیر تیوفنول، مرکاپتوآستات و غیره به اندازه‌ی سمی هستند که در سنتزهای نانوذرات در مقیاس زیاد منجر به آلودگی محیطی گردند [10]. با وجود این که نانوذرات طلا زیست سازگار محسوب می‌شوند ولی استفاده از روش شیمیایی برای تولید آن‌ها می‌تواند منجر به جذب ماده شیمیایی سمی بر روی نانوذره شود و عوارض جانبی در کاربردهای پزشکی را به دنبال داشته باشد [24]. سنتز نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسیم‌ها و یا گیاهان به طور بالقوه می‌تواند به ساخت نانوذرات زیستی سازگار در جهت رفع این نقیصه مهم مفید باشد [24]. بنابراین امروزه گرایش زیادی برای سنتز این نانو ذرات با استفاده از فناوری‌های زیستی وجود دارد، این تکنولوژی سنتز سبز پاک و ساده است و ساخت نانوذرات در فشار، دما و pH نرمال انجام می‌گیرد [29]. به عنوان مثال، تلاش زیادی برای بیوسنتز نانوذرات بخصوص نانوذرات فلزی با استفاده از میکروارگانیسیم‌ها انجام گرفته است [15,21]. امروزه در حالی که استفاده از میکرو ارگانیسیم‌های همچون باکتری‌ها، اکتینومایسین و قارچ در سنتز نانوذرات فلزی ادامه دارد استفاده از قسمت‌های مختلف گیاهی یا گیاه کامل در سنتز نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است [24]. استفاده از عصاره‌های گیاهی برای سنتز نانوذرات فرایند سنتز را آسان‌تر و پیشرفت آن را

استفاده قرار گرفت. مشاهدات این گزارش با قراردادن یک قطره از بهترین نمونه حاصل روی گرید حاصل شده است. توزیع اندازه‌های و تحلیل تصویر با نرم‌افزار ImageJ و با شمارش حداقل ۲۰۰ ذره در تصویر حاصل شد.

• آنالیز شیمیایی با میکروسکوپ الکترونی نگاره (طیف سنجی انتشار انرژی اشعه X)

نانو ذرات طلا پودر شده با دستگاه انجماد خشک به مقدار کم بر فیلم پوشش داده شده با کربن قرار گرفتند و با استفاده از EDS (InCa, England) بررسی شدند.

یافته‌ها:

تغییر در رنگ محلول و طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش: بررسی نتایج نشان داد که زمان شروع تغییر رنگ حدود دو ساعت پس از مخلوط نمودن محلول‌ها در دمای اتاق بود. بهترین پیک جذب در زمان‌های یکسان مربوط به نسبت ۱حجم عصاره گیاه آویشن و ۱۰ حجم H_{AuCl}۴ بود. پیک جذبی شاخص حدود ۵۴۰ نانومتر بود (شکل ۱، AB).

نتایج حاصل از بررسی با میکروسکوپ الکترونی گذاره: مشاهدات در این قسمت نشان داد که نانوذرات طلا سنتز شده با استفاده از عصاره برگ‌های آویشن شیراز دارای اشکال متنوع از جمله: کروی (پیکان ۱) و پنج وجهی (پیکان شماره ۲) می‌باشند. در این تصاویر مشخص شد که نانو ذرات سنتز شده با آویشن بیشتر به پنج وجهی نزدیک هستند (شکل ۲: D) هم چنین در تصویر مشخص است که نانوذرات شاخص پراکندگی مناسبی دارند و بصورت مجزا قرار گرفته‌اند.

(Kima, Iran) شستشو داده شدند و به مدت یک هفته در دمای محیط خشک گردید. برای تهیه عصاره‌های آبی مقدار ۵ گرم از پودر گیاهی حاصل توزین و در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل و بر روی هات پلیت قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد سپس عصاره گیاهی با کاغذ صافی واتمن صاف و برای استفاده‌های بعدی در دمای ۴ درجه نگهداری شدند.

تهیه محلول کلرواوریک: پودر کلرواوریک ۳ آبه (Sigma, Uk) تهیه و در آب دو بار تقطیر حل گردید. محلول حاصل دور از نور و در یخچال برای استفاده‌های بعدی نگهداری گردید.

سنتز نانو ذره طلا: برای تهیه نانوذرات طلا ابتدا تمام ظروف با تیزاب سلطانی شستشو داده شد. سپس برای شناسایی شرایط بهینه نانوذرات طلا و عصاره گیاهی با نسبت‌های مختلف با یکدیگر مخلوط شدند و در زمان‌های و دماهای مختلف انکوبه گردید.

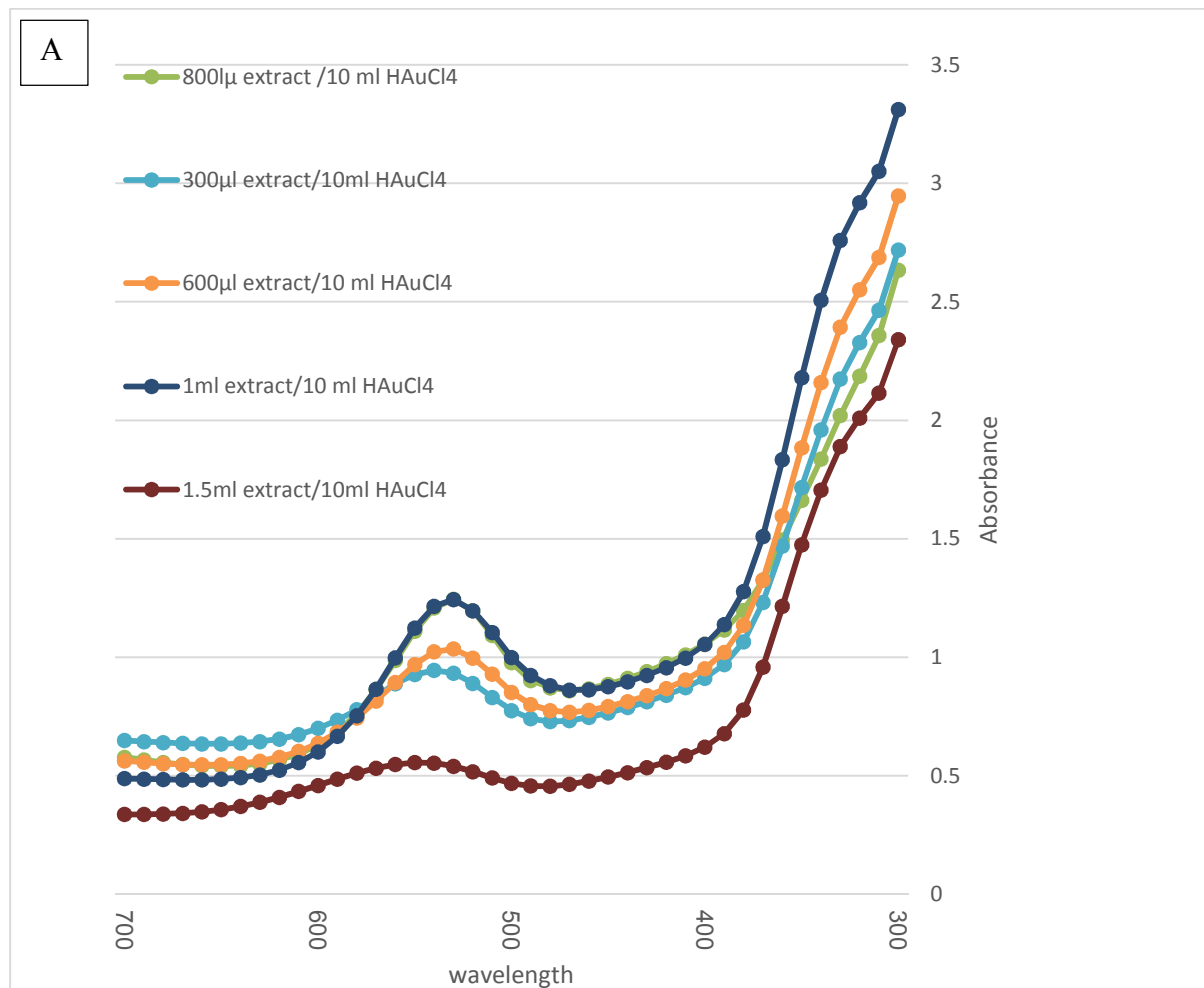
شناسایی نانوذرات طلا

• مشاهدات عینی و طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش: تغییرات رنگ نمونه‌ها بصورت عینی ملاحظه گردید. طیف جذب UV نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری (Biotech, US) در زمان‌های مختلف و غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل، طیف UV جذب نوری ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه را در یک پلیت ۹۶ قرار داده شد و جذب نمونه‌ها در دامنه ۴۰۰-۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

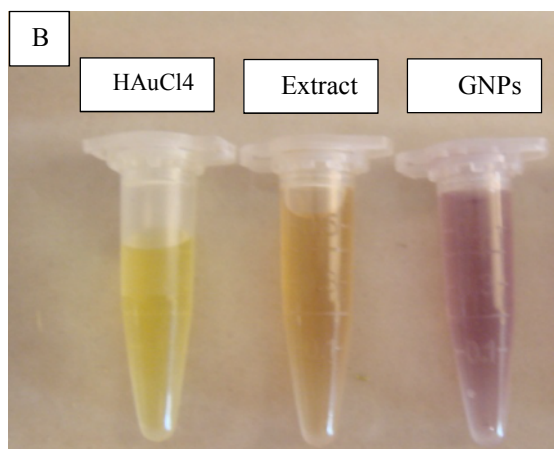
• میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM):

میکروسکوپ الکترونی گذاره (CM-120, Philips) برای شناسایی شکل و ابعاد نانوذرات سنتزی مورد

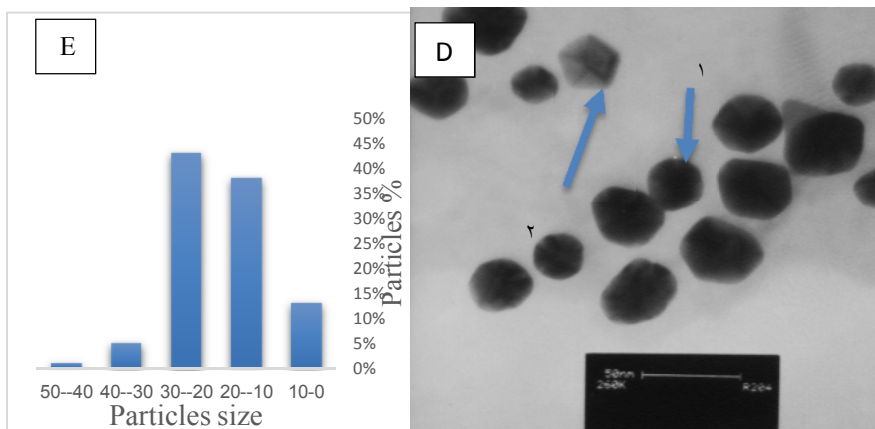
هیستوگرام بدست آماده از تصاویر TEM نشان می‌دهد که محدوده اندازه این نانوذرات بین ۱-۵۰ نانومتر می‌باشد (شکل E).
 نانومتر می‌باشد متوسط اندازه نانو ذرات حدود 22 نانومتر می‌باشد (شکل E).



شکل ۱: A: طیف سنجی نور مرئی -فرا بنفش از نمونه‌ها حاوی غلظت های مختلف عصاره بعد از ۴ ساعت در دمای اتاق.



شکل ۱: B: مقایسه رنگ محلول‌های عصاره گیاهی، کلرواوریک و نانوذرات سنتز شده (زمان ۴ ساعت) همانگونه که در تصویر ملاحظه می‌گردد ترکیب این دو عصاره منجر به تغییر رنگ محلول‌ها به ارغوانی شده است



شکل ۲: D: تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره از نانوذرات طلای سنتز شده به روش سبز.

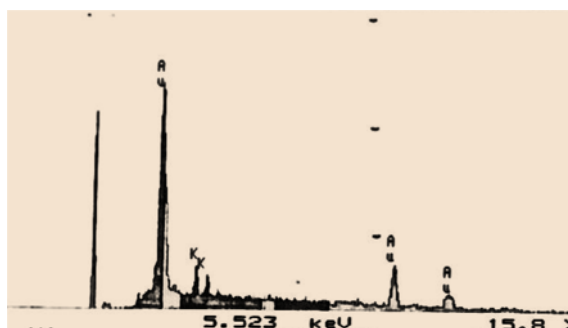
E: نمودار توزیع نانوذره از نظر اندازه با توجه به آنالیز عکس‌های حاصل از TEM

که ممکن است در مراحل بعدی در استفاده از آن مشکلاتی بوجود می‌آید [14]. به همین دلیل، استفاده از گیاهان به عنوان منابع پایدار و در دسترس در تهیه نانوذرات زیست‌سازگار در سال‌های اخیر توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. نانوذرات سنتز شده در این روشها را در کاربردهای زیستی از جمله: نانوحسگرها و حامل داور به می‌توان به کاربرد. [9, 27]. در سال‌های اخیر، استفاده از عصاره گیاهان برای تهیه نانوذرات فلزی به عنوان یک جایگزین آسان و مناسب برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی مطرح شده است. اما در این زمینه مطالعات بسیار محدودی در ایران انجام گرفته است که با توجه به فلور متنوع کشور و طب سنتی غنی ایرانی، مطالعات در زمینه‌هایی که امکان اتصال طب سنتی گیاهی و تکنولوژی مدرن را برقرار کند ضروری بنظر می‌رسد. بنابراین در این مطالعه از گیاه آویشن شیرازی که نوعی گیاه خودرو و دارویی در ایران است برای سنتز نانوذرات طلا استفاده نمودیم. نشانه اولیه برای سنتز نانوذرات تغییر رنگ محلول کلرواریک از زرد کم رنگ به سمت ارغوانی بود. این امر بخوبی شناخته شده است که نانوذرات طلا دارای رنگ قرمز یا قوتی

● بررسی نتایج آنالیز شیمیایی با میکروسکوپ الکترونی

نگاره (طیف سنجی انتشار انرژی اشعه X)

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود پیک مربوط به طلا در محدوده ۲/۳۰ keV وجود دارد و هم چنین حضور پیک‌های ضعیف‌تر نیز در نمودار مشخص می‌باشد.



شکل ۳: نمودار حاصل از آنالیز EDX برای نانوذرات طلا

بحث:

به دلیل خواص و ویژگی‌های جدیدی که مواد با ابعاد نانو در صنعت و پزشکی نشان داده‌اند، امروزه تمایل بسیاریزادی به فرآوری و کاربرد آنها وجود دارد [11]. تهیه شیمیایی روش معمول ساخت نانوذرات هستند، اما این روشها گران‌قیمت‌اند هم چنین روش‌های شیمیایی به طور معمول منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی روی نانوذرات می‌شوند

پیک جذبی و سنتز نانو ذرات طلا افزایش می‌یابد و بعد از این زمان پیک‌های جذبی بعدی با پیک ۴ ساعت هم پوشانی پیدا می‌کنند که نشان دهنده کامل شدن واکنش می‌باشد. برای تعیین شکل و سایز نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی گذاره استفاده گردید. میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) یک تکنیک قدرتمند و منحصر به فرد برای توصیف ساختار و تعیین شکل است [28]. شکل A۲ و B نمونه میکروگراف TEM از نانوذرات طلا را نشان می‌دهد شکل‌های مختلف از نانو ذرات در محلول کلئیدی وجود دارد. نمودار توزیع نانوذرات حاصل از تصاویر میکروسکوپ TEM دامنه پراکندگی نانوذرات در حدود ۱۰-۵۰ نانومتر و اندازه متوسط ۲۰/۵۲ نانومتر نشان می‌دهد. توجه داشته باشید که تمام نانوذرات خوبی از یکدیگر جدا شده‌اند که نشان می‌دهد شاخص پراکندگی در این نانو ذرات مناسب است. در مطالعه‌ای مشابه از کیتوزان برای سنتز نانو ذرات طلا توسط "استفاده شد. آنالیز تصاویر حاصل از TEM در این مطالعات نشان داد که اندازه GNPs بین ۱۰ تا ۵۰ نانومتر بودند و اشکال متنوعی از نانوذرات طلا سنتز شده بودند [26]. انرژی انتشاری طیف‌سنجی اشعه X (EDS) برای تایید حضور عنصری طلا در محلول استفاده گردید. پیک جذب نوری در حدود KV ۲/۳۰ مربوط به عنصر طلا می‌باشد این مقدار با توجه به رزونانس پلاسمون سطح طلا تعیین می‌شود [4] در این تصویر محور عمودی نمایش تعداد شمارش اشعه ایکس در حالی که محور افقی انرژی را بر حسب KV نشان می‌دهد. نمایش قله پتاسیم ضعیف، ممکن است ناشی از عصاره گیاهی باشد نتایج مشابهی در سنتز نانو ذرات با پوست موز، برگ سرو نیز گزارش شده است [5, 20]

می‌باشد این رنگ به دلیل ارتعاشات پلاسمون سطحی در نانو ذرات فلز طلا ایجاد می‌گردد [14]. در مطالعه حاضر مشاهده گردید که تغییر رنگ در نمونه رخ داد و در نسبت های مناسب با گذشت زمان بیشتر میزان تغییر رنگ نیز افزایش یافت که موید حضور بیشتر نانوذرات در محلول می‌باشد. در کار مشابهی kumar و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز تغییرات رنگ بوجود آمده در محلول حاوی عصاره گیاه *Turbinaria conoides* و کلروایک را بعنوان یکی از نشانه های سنتز نانوذرات طلا قلمداد نمودند [19]. هم چنین در بسیاری از تحقیقات دیگر نیز تغییر رنگ محلول‌ها به عنوان شاخصی از شروع سنتز نانوذرات در نظر گرفته شده است [18]. طیف سنجی نور مرئی- فرابنفش به طور گسترده‌ای برای مشخص کردن خواص نوری و ساختار الکترونی نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرد [1]. پیک‌های جذبی در محلول‌های کلئیدی طلا بین ۵۰۰-۶۰۰ قرار دارد [16]. در مطالعه حاضر طیف جذبی نانوذرات در محدوده ۳۰۰-۷۰۰ نانومتر در زمان‌های مختلف و نسبت‌های مختلف عصاره سنجیده شد. حداکثر جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر اتفاق افتاد که با داده‌های حاصل از تحقیقات Arulkuma و همکاران، و Raveendran و همکاران مطابقت دارد، در مطالعات ذکر شده از روشی سبز برای سنتز نانوذرات طلا استفاده شد و پیک جذبی نانوذرات حاصل در محدوده ۵۴۰-۵۶۰ قرار داشت [3, 22]. بهترین حالت سنتز نانو ذرات در نسبت عصاره ۱ و 10 کلروایک روی داد. نانوذرات سنتزی بدون اضافه کردن عوامل پایدار کننده مختلف فیزیکی و شیمیایی به خوبی متفرق بودند. هم چنین مطالعات نشان داد که در نسبت مناسب عصاره و محلول کلروایک با افزایش زمان تا حدود ۴ ساعت میزان

نتیجه گیری:

در این مطالعه توسط گیاه دارویی آویشن شیراز نانو ذره طلا که سازگار با محیط زیست است سنتز شد. این نانو ذره دارای محدوده اندازه مناسب و پایداری مطلوب در دمای محیط است.

منابع:

- [8] Dubey M, Bhadauria S, Hb bsK: 2009. Green synthesis of nanosilver particles from extract of eucalyptus hybrida (safeda) leaf. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures , 4:537 - 543
- [9] Gardea-Torresdey JL TK, Gamez G, Dokken K.,Tehuacanero Set al: 1999;Gold Nanoparticles Obtained by Bio-Precipitation from Gold(III) Solutions. Journal of Nanoparticle Research, 1:397-404
- [10] Ghosh S, Patil Sn, Ahire M, Kitture Ri, Gurav DjD, nde AMJ, Kale Sa, Pardesi Ks, Shinde V, Bellare J et al: 2012.Gnidia glauca flower extract mediated synthesis of gold nanoparticles and evaluation of its chemocatalytic potential. al Journal of Nanobiotechnology, 10:17.
- [11] Harekrishna Bar DKB, Gobinda P. Sahoo, Priyanka Sarkar, Santanu Pyne, Ajay Misra *: 2009 .Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of Jatropha curcas. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 348: 212–216.
- [12] Khanzadi S, Razavilar V, Basti A, Jamshidi A: 2007.Effects of Zataria multiflora Boiss. essential oil, acetic acid, temperature and storage time on probability of growth initiation of Clostridium botulinum type A in Brain Heart Infusion broth JMUMAC, 2(2):23-31.
- [13] Kumar V, Yadav SK: 2009.Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. J Chem Technol Biotechnol, 84:151-157.
- [14] Marshall AT HR, Davies CE, Parsons JG et al: 2007, Accumulation of gold nanoparticles in Brassica Juncea. Int J Phytoremediation, 9:197-206.
- [15] Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, Senapati S, Sainkar SR, Khan MI, Parischa R: 2001.Bioreduction of AuCl₄⁻ Ions by the Fungus, Verticillium sp. and Surface Trapping of the Gold Nanoparticles Formed. Angew Chem Int Ed:40(19): 3585-3588.
- [16] Pandey S, Oza G, Mewada A, Sharon M: 2012,Green Synthesis of Highly Stable Gold Nanoparticles using Momordica charantia as Nano. Applied Science Research, 4: 1135-1141.
- [1] Abdelhalim M, Mady M, Ghannam M: 2012 .Measurements, physical Properties of Different Gold Nanoparticles: Ultraviolet-Visible and Fluorescence. 2012, J Nanomed Nanotecho, Vol. 3, pp. 2-5. 3. J Nanomed Nanotecho, 3(2):2-5.
- [2] ARAB R, ETTEHAD G: 2008.Effect of Zataria Multiflora Boiss Common Pathogenic Gram Positive Cocci Gram-Negative Bacilli Journal of animal and veterinary advances, 769(1680-5593):695-696 .
- [3] Arulkumar S, Sabesan M: 2010 .Biosynthesis and characterization of gold nanoparticle using antiparkinsonian drug Mucuna pruriens plant extract. Int J Res Pharm Sci, 1(4):417-420.
- [4] Arunachalam K, Annamalai S, S H: 2013 .One-step green synthesis and characterization of leaf extract-mediated biocompatible silver and gold nanoparticles from Memecylon umbellatum. International Journal of Nanomedicine, 8:1307–1315.
- [5] Bankar A, Joshia B, Kuma A, Zinjarde S: 2012 .Banana peel extract mediated synthesis of gold nanoparticles Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 80(1):45–50
- [6] Banoo M, Mokhtari N, Sepahi AA, Fesharaki P, H R Monsef-Esfahani, Ehsanfar Z, Khoshayand MR, Shahverdi A: 2010 .The green synthesis of gold nanoparticles using the ethanol extract of black tea and its tannin free Fraction. Iranian Journal of Materials Science & Engineering, 7:48-53.
- [7] Dinesh S, Karthikeyan S, Arumugam P, : 2012.Biosynthesis of silver Nanoparticles from Glycyrrhiza Glabra root extract Elixir Optical Materials, 44: 7364-7366.

- Zataria multiflora. *pajouheshmag J*, 71:52-56.
- [24] Sathishkumar M, Sneha K, Won S, Cho C, Kim S, Yun Y: 2009. Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated greensynthesis of nanocrystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73:332–338.
- [25] Shabnam N, pardha-Saradhi: 2013. Photo synthetic Electron Transport System Promote s Synth esis of Au-Na noparticles. *PLoS ONE*, 8(8):1-7.
- [26] Sun C, Qu R, Chen H, Ji C, Wang C, Sun Y, Wang B: 2008. Degradation behavior of chitosan chains in the ‘green’ synthesis of gold nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 343: 2595–2599.
- [27] Talley CE JJ, Oubre C, Grady NK, Hollars CW, Lane SM, Huser TR, Nordlander P, Halas NJ: 2005. Surface-enhanced Raman scattering from individual Au nanoparticles and nanoparticle dimer substrates. *Nano Letters*, 5:569–1574.
- [28] Wang Z: 2000. Transmission Electron Microscopy of Shape-Controlled Nanocrystals and Their Assemblies., 2000, B, Vol. 146, pp. . 6. *J Phys Chem*, 146(6):1153–1175.
- [29] Xiao-rong Z, Xiao-xiao H, Ke-min W, Xiao-hai Y: 2011. Different Active Biomolecules Involved in Biosynthesis of Gold Nanoparticles by Three Fungus Species. *Plant Resources Conservation and Utilization Research*, 2(1):53-64.
- [17] Philip D: 2009. Honey mediated green synthesis of gold nanoparticles. *electrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 73:650–653.
- [18] Prakasha P GP, Emmanuela R, Arokiyarajb S: 2013. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract of *Mimusops elengi*, Linn. for enhanced antibacterial activity against multi drug resistant clinical isolates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108:255–259.
- [19] Rajeshkumar S MC, Vanaja M, Gnanajobitha G: 2013. Antibacterial activity of algae mediated synthesis of gold nanoparticles from *Turbinaria conoides*. *Der Pharma Chemica*, 5:224-229.
- [20] Rajeshkumar S, Malarkodi C, Vanaja M, Gnanajobitha G, Paulkumar K: 2013. Antibacterial activity of algae mediated synthesis of gold nanoparticles from *Turbinaria conoides*. *Der Pharma Chemica*, 5(2):224-229.
- [21] Rajeshkumar S, Malarkodi C, Vanaja M, Gnanajobitha G, Paulkumar K, Kannan C, Annadurai G, : 2013. Antibacterial activity of algae mediated synthesis of gold nanoparticles from *Turbinaria conoides*. *Der Pharma Chemica*, 5(2):224-229.
- [22] Raveendran P, J F, Wallen LS: 2006. A simple and ‘‘green’’ method for the synthesis of Au, Ag, and Au–Ag alloy nanoparticles. *Green Chem*, 8:34–38.
- [23] Sadeghzadeh L, sefedkon f, owlia p: 2006. Chemical composition and anti microbial activity of the essential oil of

