

سنتز سبز نانوذرات کروی طلا با استفاده از عصاره گیاه آب تره

آرش رزمی¹، مریم نیکخواه²، عبدالرضا باقری^{3*}، مسعود شمس‌بخش⁴ و سعید ملک‌زاده شفارودی⁵

1- دانشجوی دکتری گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

2- دانشیار گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

3- استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

4- دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

5- دانشیار گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

*مشهد، کد پستی 9177948944

Bagheriyazd@gmail.com

(دریافت مقاله: 94/8/24 پذیرش مقاله: 95/3/9)

چکیده- در سال‌های اخیر، به دلیل کاربردهای گسترده نانوذرات طلا، تمایل زیادی برای سنتز آنها بوجود آمده است. اگرچه روش‌های شیمیایی، نانوذرات خالص و همگنی را تولید می‌کنند، با این حال روشی گران بوده و برای محیط زیست خطر آفرین است. استفاده از ارگانیسم‌های زنده و اجزای آنان به عنوان جایگزینی مناسب و سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذرات (سنتز سبز) مطرح است. در این میان استفاده از عصاره گیاهی به دلیل اقتصادی بودن و عدم نیاز به نگهداری کشت‌های سلولی برتر از سایر فرآیندهای بیولوژیک است که می‌تواند در مقیاس وسیع استفاده گردد. در این مطالعه از عصاره برگ گیاه آب تره برای سنتز برون سلولی نانوذرات طلا، به عنوان روشی پربازده، کم‌هزینه و غیرسمی استفاده گردید. نانوذرات بعد از تیمار محلول HAuCl_4 با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی به عنوان عامل احیاء کننده در دماهای مختلف تشکیل شدند. به‌منظور سنجش پیشرفت واکنش از طیف سنجی UV-Vis و نیز جهت تعیین مشخصات نانوذرات سنتز شده از روش‌های تفرق نور پویا (DLS)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) استفاده شد. تشکیل نانوذرات تنها چند دقیقه بعد از واکنش در دمای 60 و 80 سانتی‌گراد با مقدار 1000 میکرولیتر عصاره نشان از سرعت مناسب واکنش است. نتایج TEM نشان داد که در دمای بالا و مقدار بالای شیرابه، نانوذرات کروی کوچک با اندازه 10 تا 50 نانومتر تشکیل می‌شوند. بررسی نتایج حاصل از FTIR نشان از دخیل بودن پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها در سنتز نانوذرات را دارد.

کلیدواژگان: نانوذرات طلا، سنتز سبز، آب تره و عصاره گیاهی.

1- مقدمه

نقره (AgNPs) دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشند [1]. این مواد به واسطه داشتن خواص منحصر به فرد از قبیل: توانایی بالا در جذب و پراکنده کردن نور، سازگاری بالا با بدن موجودات زنده و توانایی میانکنش با مولکول‌های

نانوذرات (nanoparticles) عموماً به ذراتی گفته می‌شوند که اندازه آنان کمتر از 100 نانومتر باشند. در میان انواع مختلف نانوذرات، نانوذرات فلزی نظیر طلا (AuNPs) و

زیستی کاربردهای زیادی در علوم زیستی، پزشکی و کشاورزی دارند [3,2]. کاربردهای گسترده‌ی نانوذرات فلزی سبب شده است که استفاده از روش‌های ساده، کم‌هزینه و غیر سمی برای سنتز این مواد مورد توجه پژوهشگران قرار گیرد [1]. تولید نانوذرات می‌تواند از طریق روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف حاصل شود. سنتز شیمیایی معمولاً شامل احیاء نمک‌های یونی در یک محیط مناسب، با استفاده از عوامل احیاکننده مانند سیترات سدیم است. از آنجا که واکنش‌پذیری نانوذرات بسیار بالاست و تمایل به کلوخه‌ای شدن دارند لذا برای حفظ خواص مطلوبشان، یک پایدارکننده (پوشش دهنده) به آنها اضافه می‌کنند [4]. این روش معمولاً اقتصادی بوده، اما گونه‌های شیمیایی جذب شده بر روی سطح ذرات ممکن است اثرات نامطلوب زیستی و زیست محیطی ایجاد کنند و برای سلامتی مضر باشد [6,5,3]. بنابراین پیشنهاد شده تا از میکروارگانسم‌ها، آنزیم‌ها، گیاهان و عصاره‌های گیاهی به عنوان روش زیست‌سازگار جایگزین برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی جهت سنتز بیولوژیک نانوذرات تحت عنوان سنتز سبز نانوذرات استفاده شود [8,7]. تاکنون سنتز زیستی نانوذرات فلزی، توسط انواع مختلف باکتری‌ها، مخمرها، جلبک‌ها، گیاهان و عصاره گیاهی گزارش شده است [7,5]. استفاده از عصاره گیاهی برای سنتز سبز نانوذرات فلزی به دلیل اقتصادی بودن و عدم نیاز به نگهداری کشت‌های سلولی، برتر از سایر فرآیندهای بیولوژیک است و در مقیاس وسیع قابل استفاده است [8,6,1]. مطالعات انجام شده درگیر بودن پلی فنول‌ها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و بخصوص ترپنوئیدهای گیاهی را در احیاء نمک‌های فلزی جهت سنتز نانوذرات نشان داده‌اند [1]. در این میان از گیاهان مختلفی مانند شمع‌دانی، بومادران، آلوئه ورا، یونجه، یولاف، نخود، درخت کافور، گشنیز، چای، مگنولیا، میخک، رز، زیتون و غیره جهت سنتز نانوذرات نقره و طلا استفاده شده است [8,5,1]. تحقیقات نشان می‌دهند

که سطح نانوذرات تولید شده در این روش، توسط متابولیت‌های گیاه و نیز کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها پوشیده شده و این ترکیبات علاوه بر پایداری، سبب زیست‌سازگاری بیشتر این ذرات می‌شوند و کاربرد آنها را در زمینه‌ی زیستی با چالش‌های کمتری مواجه می‌کنند [1]. نانوذرات طلا معمولاً ساختار کروی با بار مثبت یا منفی دارند اما می‌توانند در اشکال دیگری نظیر منشور، میله و غیره سنتز شوند [9]. این ذرات خاصیتی تحت عنوان رزونانس پلاسمون‌های سطحی (Surface Plasmon Resonance (SPR) دارند که مسئول جذب بالا، پراکنش نوری و رنگی بودن محلول است. از طرفی بسیاری از ویژگی اساسی این ذرات از جمله باند SPR، به شدت به مورفولوژی آنان وابسته است بطوری که محلول کلئوئید طلا با ذرات کروی و قطر حدود 20 نانومتر، باند SPRی ایجاد می‌کند که بیشترین جذب نوری آن در محدوده‌ی 520 نانومتر است و در نتیجه این محلول رنگ قرمز روشن دارد [4]. با بزرگ‌تر شدن اندازه ذرات و یا تجمع آنان این رنگ به سمت آبی ارغوانی سوق می‌یابد که با چشم غیر مسلح و دستگاه اسپکتروفتومتر قابل مشاهده و سنجش است. کنترل شکل و اندازه نانوذرات با استفاده از دماهای مختلف واکنش و غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی امکان‌پذیر است [10]. به عبارتی دیگر، اعمال تیمارهای مناسب از جمله انتخاب دماهای مختلف و غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی جهت سنجش سرعت واکنش، شکل و اندازه نانوذرات از نکات کلیدی است [1].

در این مطالعه از عصاره گیاه آب‌تره برای سنتز سبز نانوذرات طلا استفاده شده است. همچنین اثر دمای واکنش و کمیت عصاره گیاه در سنتز نانوذرات طلا مورد بررسی قرار گرفته است. آب‌تره (بولاغ اوتی، علف چشمه، شاهی آبی) گیاهی دولپه علفی با نام علمی *Nasturtium nasturtium* (N. officinale) از تیره شنببو (*Brassicaceae*) است. این گیاه ارتفاع 10 تا 60

سانتی متر با برگ‌های کوچک به رنگ سبز تیره و گل‌های خوشه‌ای کوچک سفید و ساقه‌های خزنده دارد که از نقاط مختلف آن ریشه‌های کوچک و سفید خارج می‌شود و در ایران بصورت وحشی در کنار جوی‌ها و باتلاق‌ها می‌روید. آب‌تره سرشار از مواد معدنی، ویتامین‌های A، C و یک گلوکوز یددار و محلول در آب به نام گلوکوناستورتین (Gluconastrutine) یا ایزو سولفوسیانواتیل بنزن است [11].

2- مواد و روش‌ها

2-1- تهیه عصاره گیاهی

نمونه‌های برگ گیاه بعد از شستشو، در سایه کاملاً خشک و با آسیاب خانگی پودر شدند. برای تهیه عصاره برگ، یک گرم پودر برگ گیاه به 30 میلی‌لیتر آب دیونیزه در حال جوش افزوده شد و پس از بستن در ظرف با فویل، به مدت 10 دقیقه جوشانده شد. در ادامه عصاره به مدت 5 دقیقه در دمای محیط خنک شد و ابتدا از کاغذ صافی و سپس از فیلتر سرسرنگی $0.2 \mu\text{m}$ عبور داده شد. عصاره فیلتر شده در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تا یک هفته قابل استفاده است.

2-2- سنتز نانوذرات طلا

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره و دماهای مختلف واکنش بر سرعت سنتز، مورفولوژی و اندازه ذرات، 5 کمیت عصاره گیاهی در 4 دمای واکنش مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر از عصاره گیاهی را در لوله‌های 15 میلی‌لیتری ریخته و با آب دیونیزه به حجم 5 میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقدار $20 \mu\text{l}$ از محلول اسید تترا کلرو اوریک با غلظت 250 mM به آن اضافه گردید (غلظت نهایی 1 mM). برای مطالعه اثرات دمایی، تمامی واکنش‌ها در بن‌ماری در دمای 20، 40، 60 و 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از اتمام واکنش، محلول حاوی نانو

ذرات به مدت 10 دقیقه و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد با 10000rpm سانتریفوژ شد. سوپ رویی حاوی عصاره گیاهی پس از حذف کامل نانو ذرات با 3 بار تکرار سانتریفوژ، برای انجام مطالعات طیف سنجی تبدیل فوریه‌ی مادون قرمز (FTIR) به لوله دیگری منتقل گردید. رسوب نانو ذرات نیز پس از رقیق سازی در آب دیونیزه در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

2-3- تعیین مشخصات نانو ذرات

برای سنجش پیشرفت واکنش سنتز نانو ذرات طلا از طیف سنجی UV-Vis استفاده گردید. بدین منظور در زمان‌های مختلف طیف جذبی مقداری از نمونه پس از رقیق‌سازی با آب دیونیزه در محدوده نور مرئی با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis شرکت LSI- Alpha سنجیده شد. میانگین اندازه و توزیع اندازه نانو ذرات طلای سنتز شده با استفاده از دستگاه زتاسایزر Malvern (nano zs) تعیین شد. در این مرحله شاخص عدم تجانس (PDI) نیز تعیین می‌شود که نشان دهنده درجه‌ی همگنی سایز نانو ذرات در محلول است. به منظور ارزیابی شکل و اندازه نانو ذرات، از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل Zeiss - EM10C - 80 KV استفاده گردید. برای شناسایی گروه‌های عاملی درگیر در احیای یون‌های طلا و همچنین عوامل پوشش دهنده نانو ذرات از طیف سنج فوریه مادون قرمز مدل NICOLET IR 100 استفاده و طیف گیری در محدوده $500-4000 \text{ cm}^{-1}$ انجام شد. بدین منظور عصاره گیاهی قبل و بعد از سنتز با نیتروژن مایع منجمد و با خشک‌کن انجمادی خشک گردید و سپس مقدار مشخصی از نمونه با مقدار مشخصی نمک بروماید پتاسیم (KBr) مخلوط و FTIR انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- طیف سنجی UV-Vis

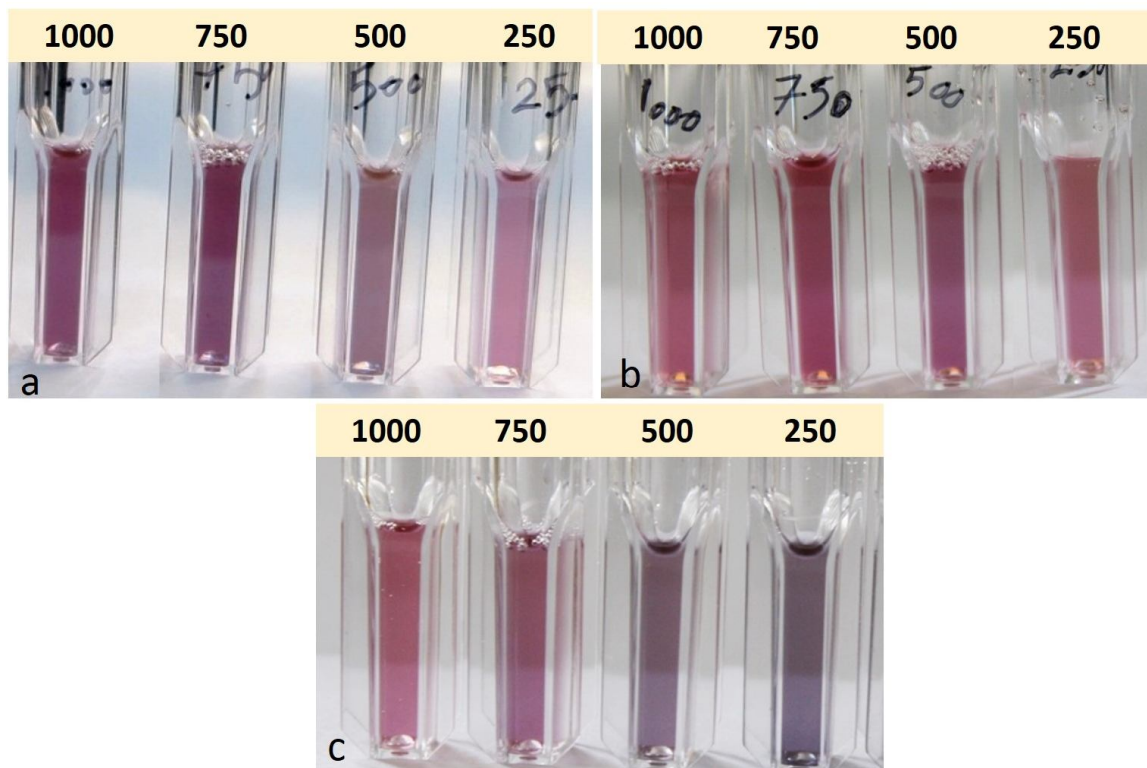
حسب گزارش‌های موجود احیای یون‌های Au^{3+} به نانو

از ادامه کار با بیش از مقدار مذکور عصاره نیز صرف نظر گردید.

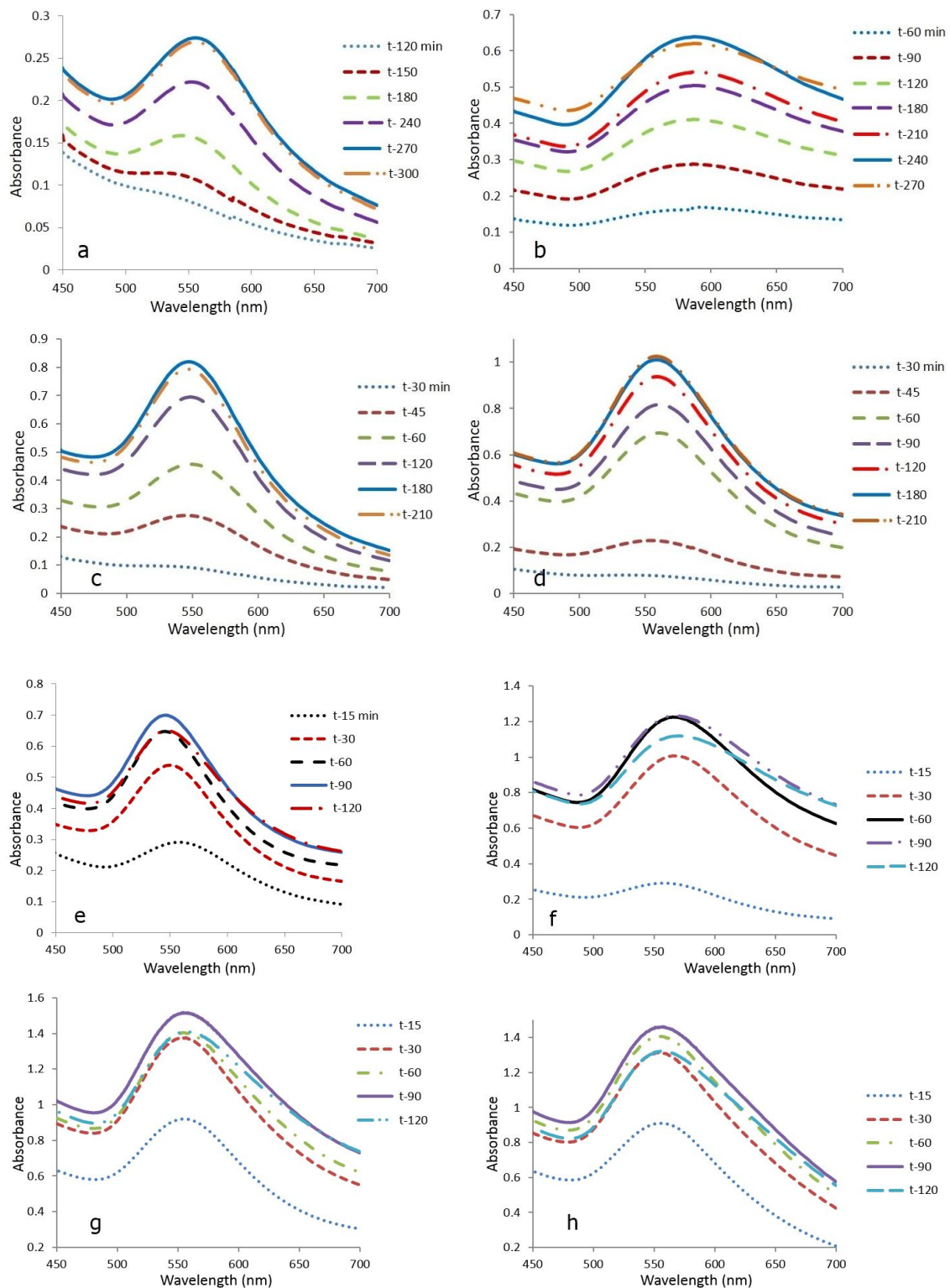
در شکل 2 زمان رویت اولین پیک جذبی در محدوده جذب SPR نانوذرات طلا، در نمونه‌های مختلف متفاوت است. این زمان در دمای 40 درجه سانتی‌گراد با مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره، به ترتیب 180، 120، 60 و 60 دقیقه (تصاویر a، b، c و d)، در دمای 60 درجه سانتی‌گراد (تصاویر e، f، g و h) در مقادیر مذکور عصاره به ترتیب 30، 30، 15 و 15 دقیقه و در دمایی 80 درجه سانتی‌گراد (تصاویر i، j، k و l) به ترتیب 5، 5، 5 و 2 دقیقه است.

در شکل 2 بیشترین زمان تشکیل پیک کامل اولیه مربوط به دمای 40 درجه سانتی‌گراد و مقدار 250 میکرولیتر عصاره و سریعترین زمان تشکیل پیک مربوط به دمای 80 درجه سانتی‌گراد و مقدار 1000 میکرولیتر عصاره است.

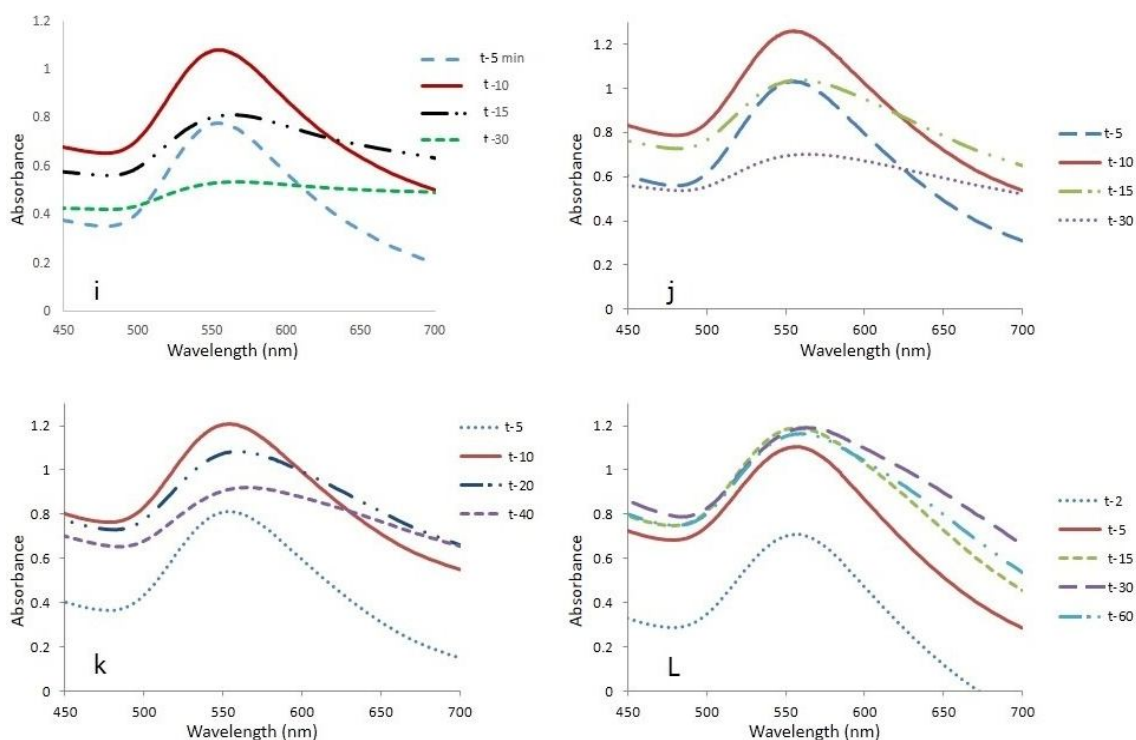
ذرات طلا به کمک عصاره گیاهی با تغییر رنگ واکنش همراه است [1]. در این تحقیق این تغییر رنگ از رنگ زرد عصاره تا قرمز و بنفش بصورت محسوسی مشاهده گردید (شکل 1). همچنین پیشرفت سنتز نانوذرات در زمان‌های مختلف با طیف‌سنجی UV-Vis کنترل گردید. شکل 2 طیف‌های نانوذرات سنتز شده در دماهای مختلف، توسط مقادیر مختلف عصاره و در زمان‌های مختلف را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که هیچ یک از مقادیر عصاره گیاه آب‌تره در دمای 20 درجه سانتی‌گراد، حتی با گذشت یک شبانه روز، موفق به سنتز نانوذرات نشدند، لذا نتایج و نمودارهای این دما در اینجا ذکر نشده است؛ از طرفی مقادیر بالای 1000 میکرولیتر عصاره نیز به محض اضافه نمودن به محلول حاوی نمک طلا، موجب تغییر رنگ به سمت ارغوانی شد، بطوری‌که کنترل واکنش و فرصت اندازه‌گیری سایر پارامترها مقدور نبود، بنابراین



شکل 1 رنگ نانوذرات تولید شده در خاتمه واکنش (A) دمای 40 °C، (B) دمای 60 °C و (C) دمای 80 °C با مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره برگ گیاه آب تره.



شکل 2 طیف‌های UV-Vis ثبت شده برای واکنش سنتز نانو ذرات طلا با عصاره گیاه آب تره؛ تصاویر a, b, c و d دمای 40°C و به ترتیب با مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره



شکل 2 (ادامه) طیف‌های UV-Vis ثبت شده برای واکنش سنتز نانو ذرات طلا با عصاره گیاه آب تره؛ تصاویر e, f, g و h دمای 60°C و به ترتیب با مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره و تصاویر i, j, k و l دمای 80°C و به ترتیب با مقادیر مذکور عصاره

مشاهده شدند (شکل 2). مشابه زمان تشکیل اولین پیک جذبی، زمان حصول شدیدترین پیک جذبی و بیشترین غلظت نانو ذرات نیز با افزایش دمای واکنش و افزایش مقدار عصاره تا حد قابل قبولی کاهش یافته است. این زمان در دمای 40°C درجه سانتی‌گراد با مقادیر 250، 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره، بین 180 تا 270 دقیقه (تصاویر a تا c)، در دمای 60°C درجه سانتی‌گراد (تصاویر e تا h) در رقت‌های مذکور عصاره بین 60 تا 90 دقیقه، و در دمایی 80°C درجه سانتی‌گراد (تصاویر i تا l) بین 5 تا 10 دقیقه است. در بیشتر نمونه‌ها بعد از حصول شدیدترین پیک جذبی، با گذشت زمان شدت جذب باند SPR تغییر محسوسی نداشت و همپوشانی پیک‌ها دیده شد و لذا در این مطالعه زمان حصول بیشترین غلظت نانو ذرات، زمان خاتمه واکنش در نظر گرفته شده است. همچنین در برخی نمونه‌ها بعد از گذشت زمان و ادامه

بطور کلی می‌توان گفت که در تشکیل هسته‌های طلا، مدت زمان تاخیر اولیه وجود داشته و این زمان در دماهای پایین و غلظت‌های کم عصاره بیشتر است. به عبارت دیگر با افزایش دما و غلظت عصاره گیاهی، زمان تاخیر اولیه در تشکیل هسته‌های طلا کاهش می‌یابد که این یافته‌ها در توافق با گزارشات موجود است [12,6,1]. سونگ و همکاران (2009) گزارش کرده‌اند که یک ارتباط خطی صعودی بین تشکیل (غلظت) نانو ذرات و پیک جذبی آنان در زمان‌های مختلف وجود دارد بطوری که تا یک زمان مشخص، با افزایش غلظت نانو ذرات پیک جذبی آنان نیز افزایش یافته و سپس متوقف می‌شود [1]. از طرفی در سنتز نانو ذرات طلا، حضور شدیدترین و متقارن‌ترین پیک‌های جذبی نشان از حصول بیشترین غلظت نانو ذرات است [13,12,1]. در مطالعه ما نیز با گذشت زمان، شدیدترین و متقارن‌ترین پیک‌های جذبی

واکنش، پیک‌های جذبی به سمت طول موج‌های بلندتر تغییر مکان دادند و یا به دلیل تجمع یا رسوب نانو ذرات تولید شده از شدت جذب آنان کاسته شد که این ویژگی اخیر به‌ویژه در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و غلظت‌های پایین شیرابه کاملاً مشهود است (شکل 2 تصاویر i و j) بطوری که تغییر رنگ از قرمز به سمت بنفش نیز به وضوح دیده می‌شود (شکل 1 تصویر C). خلیل و همکاران (2012) گزارش کردند در سنتز سبز نانو ذرات با گذشت زمان پیک‌های جذبی به دلیل ادامه احیاء ثانویه بر روی هسته‌های نانو ذرات تشکیل شده اولیه و بزرگ‌تر شدن آنان، به سمت طول موج‌های بلندتر تغییر مکان می‌دهند [14].

رابطه افزایش سرعت واکنش با افزایش دمای واکنش و غلظت عصاره گیاهی در سنتز نانو ذرات طلا و نقره در بسیاری از مطالعات گزارش شده است [1، 6، 13، 12، 10]. سونگ و همکاران (2009) نشان دادند که با افزایش دمای واکنش، سرعت واکنش زیاد شده و زمان تشکیل نانو ذرات کاهش می‌یابد بطوری‌که گیاه *Diopyros kaki* در غلظت 5 درصد شیرابه (مشابه 250 میکرولیتر در این تحقیق) توانست در دمای 95 درجه سانتی‌گراد در مدت 5 دقیقه حداکثر نانو ذرات را سنتز کند، در حالی که همین گیاه با همین غلظت در دمای 25 درجه، علاوه بر اینکه زمان تاخیر اولیه زیادی در تشکیل هسته‌های طلا داشت، بعد از گذشت زمان طولانی تنها موفق به سنتز درصدی از نانو ذرات شد. در مطالعه ما نیز هیچ یک از مقادیر شیرابه در دمای 20 درجه سانتی‌گراد، موفق به سنتز نانو ذرات نشدند. در شکل 3 مقارن‌ترین و کم‌عرض‌ترین پیک‌های هر دما در خاتمه واکنش با هم مقایسه شده است (تصاویر a، b و c) و نشان می‌دهد که در یک دمای مشخص با افزایش مقدار عصاره، پیک‌های جذبی شدیدتر و مقارن‌تر شده است که نشان از حصول بیشترین نانو ذرات در کمترین زمان ممکن است. همچنین در این شکل مقایسه پیک‌های جذبی مقدار 250 میکرولیتر عصاره در دماهای مختلف نیز

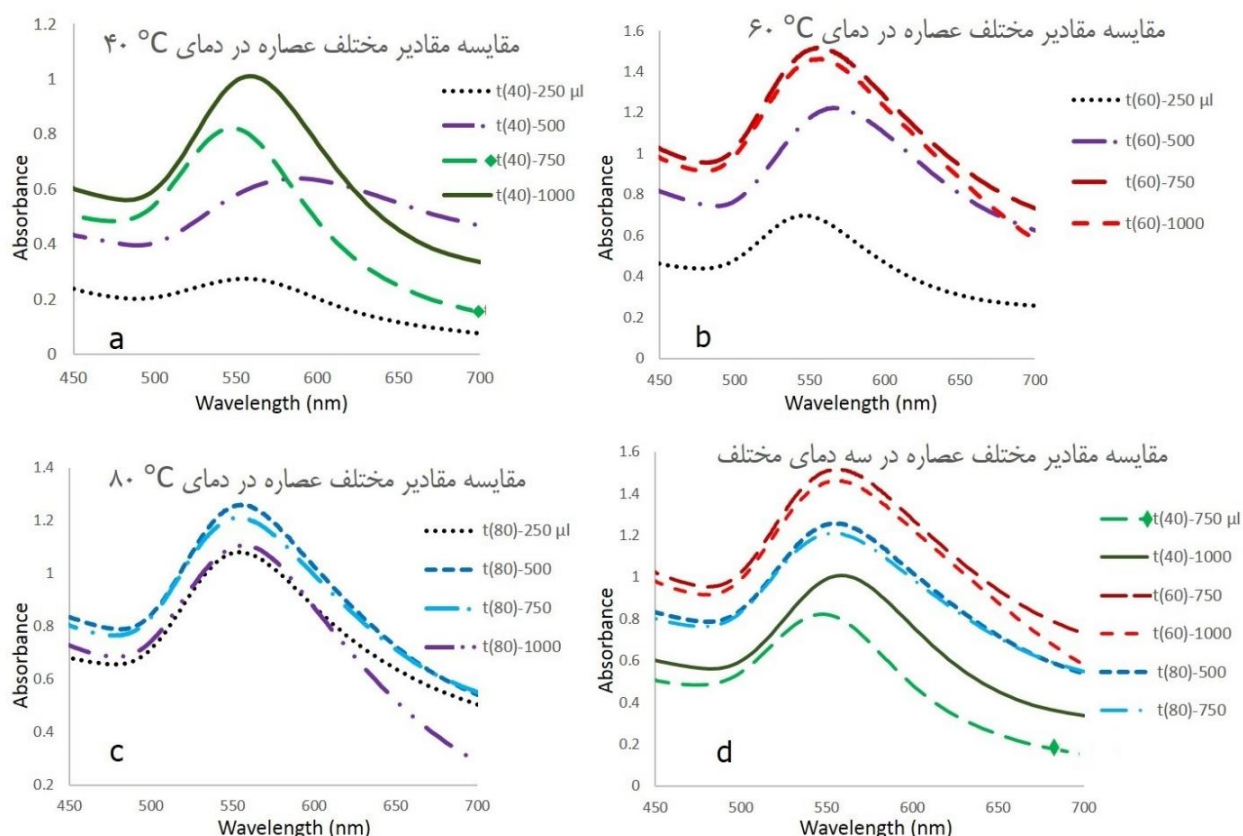
به خوبی رابطه افزایش سنتز نانو ذرات با افزایش دمای واکنش را نشان می‌دهد، بطوری‌که در دمای 40 درجه سانتی‌گراد سنتز نانو ذرات بدون تکمیل واکنش متوقف شده است ولی همین مقدار عصاره در دماهای بالاتر بدون توجه به تقارن پیک جذبی یا اندازه نانو ذرات، موفق به ادامه واکنش شده است.

در تصویر d شکل 3، پیک‌های مقارن همه‌ی دماها باهم مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود پیک‌های تشکیل شده در دمای 60 و 80 درجه سانتی‌گراد از لحاظ تقارن، شدت جذب و عرض بر پیک‌های دمای 40 درجه سانتی‌گراد ارجحیت دارند. شنی و همکاران (2011) نشان داده‌اند که مشاهده پیک‌های عریض به دلیل تشکیل نانو ذرات بزرگ است که عمدتاً در حضور غلظت پایین عصاره دیده می‌شود [15]. این مورد در پیک جذبی تولید شده در غلظت 250 و 500 میکرولیتر عصاره در نمونه‌های که واکنش در آنها کامل شده است به وضوح مشاهده می‌شود (شکل 3).

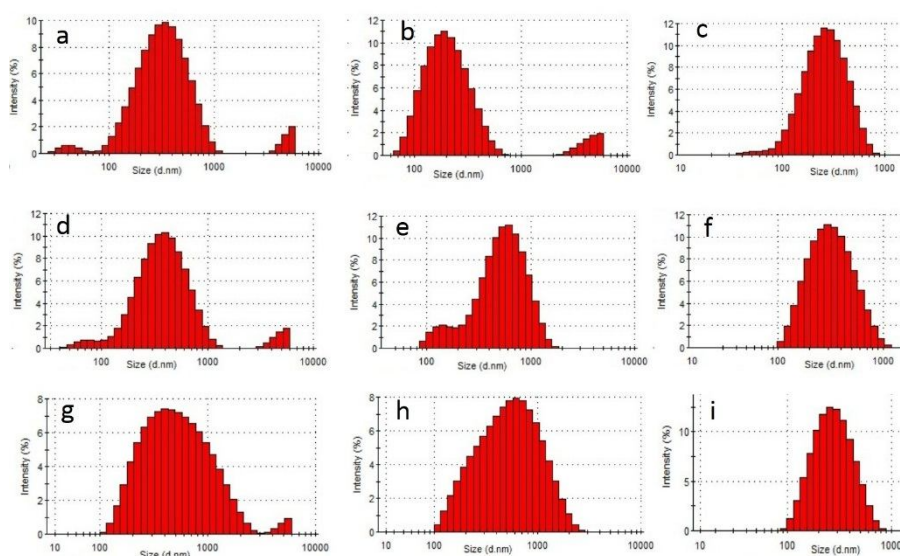
در نمونه‌های با نانو ذرات بزرگ‌تر طول موج بیشینه آنها بزرگ‌تر است از طرفی رنگ این نمونه‌ها از قرمز به سمت بنفش و بنفش خاکستری سوق می‌یابد (شکل 1). البته پهن شدگی پیک‌های جذبی می‌تواند به دلیل تجمع ذرات نیز اتفاق بیافتد.

3-2- تفرق نور پویا (DLS) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

توزیع اندازه نانو ذرات نمونه‌های که رنگ متمایل به قرمز داشتند (شکل 1) و در طیف سنجی UV-Vis پیک جذبی مقارن نشان دادند (شکل 3)، بر حسب درصد پراکندگی نور در شکل 4 مشاهده می‌شود. همچنین میانگین این توزیع و شاخص عدم تجانس (PDI) آنان نیز در جدول 1 ذکر شده است. بزرگی این شاخص نشان دهنده ناهمگونی سایز نانو ذرات است. مطالعات نشان می‌دهند که با افزایش دمای واکنش اندازه نانو ذرات سنتز شده کم می‌شود.



شکل 3 مقایسه مقارنترین طیف‌های UV-Vis ثبت شده برای واکنش سنتز نانوذرات طلا، در خاتمه واکنش هر دما و با مقادیر مختلف عصاره گیاه آب تره؛ تصویر a دمای 40 °C، تصویر b دمای 60 °C، تصویر c دمای 80 °C و تصویر d مقایسه کلی از برترین پیک‌های همه دماهای مذکور



شکل 4 توزیع اندازه نانوذرات سنتز شده با مقادیر مختلف عصاره گیاه آب تره در خاتمه واکنش بر حسب درصد پراکندگی؛ تصاویر a, b و c دمای 40 °C به ترتیب با مقادیر 500، 750 و 1000 میکرولیتر عصاره، تصاویر d, e و f دمای 60 °C و تصاویر g, h و i دمای 80 °C و به ترتیب با مقادیر مذکور عصاره

جدول 1 شاخص عدم تجانس و میانگین توزیع اندازه نانو ذرات سنتز شده با مقادیر مختلف عصاره گیاه آب تره در خاتمه واکنش بر حسب درصد پراکندگی

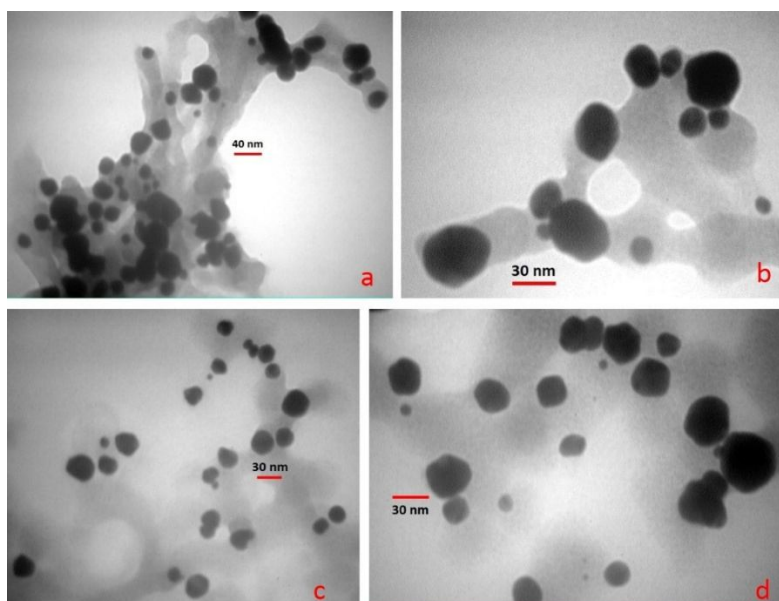
دمای واکنش	شماره	غلظت شیرابه (میکرولیتر)	Z-Average (d.nm)	شاخص عدم تجانس
40	a	500	309	0/38
	b	750	193	0/33
	c	1000	224	0/2
60	d	500	339	0/34
	e	750	434	0/26
	f	1000	282	0/17
80	g	500	435	0/30
	h	750	426	0/29
	i	1000	246	0/15

سونگ و همکاران (2009) نشان دادند که در سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره گیاه مگنولیا با افزایش دمای واکنش از 25 °C به 95 °C، متوسط اندازه نانوذرات از 110 nm به 40 nm کاهش یافت [1]. احتمالاً این کاهش اندازه به این دلیل است که به محض افزایش دمای واکنش، سرعت واکنش افزایش می‌یابد، بنابراین بیشتر یون‌های طلا در تشکیل هسته‌های اولیه ذرات شرکت کرده و مصرف می‌شوند و در نتیجه فرایند احیاء ثانویه بر روی هسته‌های اولیه متوقف شده و رشد ثانویه ذرات به طور چشمگیری کاهش می‌یابد [6]. در مطالعه ما این روند در کوچک شدن PDI نمونه‌ها و همگنی اندازه آنها بسیار مشهود است و روند کاهش PDI در مقادیر یکسان عصاره، در دماهای مختلف کاملاً رعایت شده است (جدول 1).

همان‌گونه که نتایج طیف سنجی UV-vis نشان داد با افزایش مقدار عصاره در هر دما پیک های جذبی متقارن‌تر شده و به سمت طول موج‌های کوتاه‌تر تغییر مکان دادند. حضور پیک جذبی متقارن و کم‌عرض در طیف سنجی UV-vis نشان دهنده تولید نانو ذرات با توزیع اندازه مناسب است [13]. در این تحقیق نتایج DLS و TEM تایید کننده نتایج طیف سنجی UV-vis بود (شکل 2). آنالیز DLS بخوبی نشان می‌دهد که با افزایش مقدار

عصاره در هر دما توزیع اندازه‌ی نانو ذرات یکنواخت شده است (شکل 4). همچنین نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی تایید کننده این موضوع است بطوری که توزیع اندازه نانو ذرات تشکیل شده با مقدار 1000 میکرولیتر عصاره در دمای 80 درجه سانتی-گراد و در زمان خاتمه واکنش نسبتاً یکنواخت و ذرات تا حدود زیادی هم اندازه بوده و اکثر آنان میانگین حدود 30 نانومتر را دارند (شکل 5 تصاویر c و d) در حالی که ذرات تشکیل شده در مقدار 750 میکرولیتر عصاره در شرایط مذکور اندازه‌های مختلف کوچک تا بزرگ در آنان مشاهده شده و پراکنش زیادی دارند و اندازه‌های کوچکتر از 15 و بزرگتر از 40 نانومتر در آنان به وفور یافت می‌شود (شکل 5 تصاویر a و b).

تفاوت قابل ملاحظه در اندازه نانوذرات توسط دو تکنیک DLS و TEM می‌تواند مربوط به جذب ماکرومولکول‌ها (پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها و ...) و ترکیبات شدیداً آب‌دوست بر سطح نانوذرات باشد که منجر به حجم آب‌پوشی بالا در سطح نانوذرات شده و لذا باعث افزایش شعاع هیدرودینامیک می‌شود. همچنین مطالعات نشان می‌دهند که با افزایش غلظت عصاره گیاهی در واکنش، متوسط اندازه نانو ذرات سنتز شده کم می‌شود [16,1] که در توافق با نتایج بدست آمده در این تحقیق است.



شکل 5 نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) در اندازه‌گیری نانوذرات سنتز شده با عصاره گیاه آب تره در دمای 80°C و در خاتمه واکنش؛ تصاویر a و b نتایج حاصل از مقدار 750 میکرولیتر عصاره و تصاویر c و d نتایج حاصل از مقدار 1000 میکرولیتر عصاره

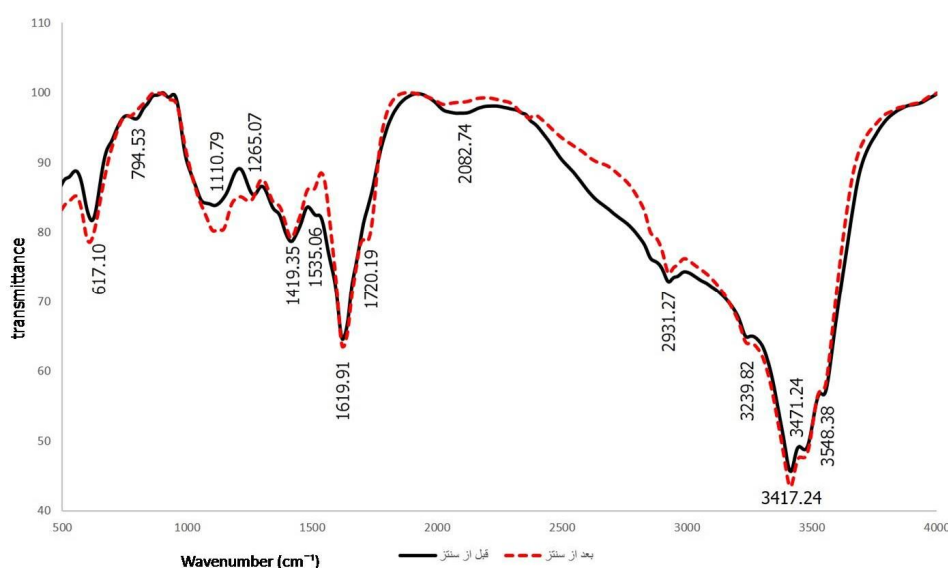
در مطالعه سونگ و همکاران (2009) در دمای 60°C درجه سانتی‌گراد افزایش غلظت عصاره از 5 تا 50 درصد توانست متوسط اندازه ذرات را از حدود 50 به 10 نانومتر کاهش دهد [1]. از طرفی استفاده از غلظت‌های پایین شیرابه منجر به تشکیل اشکال سه ضلعی و شش ضلعی نانوذرات می‌شود در حالی که در غلظت‌های بالاتر بیشتر ذرات کروی مشاهده می‌شود [16,1]. هر چند در مطالعه ما ذرات چند وجهی نادر بودند، با این حال در غلظت‌های پایین شیرابه همواره کشیدگی ذرات وجود داشت و در غلظت‌های بالای شیرابه ذرات کروی غالب بودند.

3-3- نتایج حاصل از FTIR

ماهیت بیومولکول‌های احیاء کننده در تشکیل نانوذرات طلا، توسط آنالیز FTIR عصاره مورد مطالعه قرار گرفت. همان‌طور که در شکل 6 دیده می‌شود، طیف FTIR عصاره قبل از احیاء نمک طلا باندهایی را نشان می‌دهد که هر باند مربوط به گروه‌های عاملی خاصی است. پیک پهن و جذب شدید در محدوده 3400 cm^{-1} مربوط به

نوسانات کششی گروه عاملی هیدروکسیل (OH) در الکل‌ها، فنل‌ها و اسید کربوکسیلیک است [17,18] و از آنجا که این ناحیه دارای دو باند است می‌تواند منسوب به نوسانات انبساطی N-H در آمیدها و آمین‌ها باشد [19]. باند 2931 cm^{-1} می‌تواند مربوط به نوسانات کششی آمین‌های نوع دوم (N-H) [1]، آمیدها [18]، یا نوسانات کششی C-H زنجیره‌های هیدروکربنی باشد [17-19]. باند 1619 cm^{-1} مربوط به باند آمید I پروتئین‌ها و یا نوسانات کششی C-O آمینو اسیدها باشد موجود در عصاره است [18]. باند 1535 cm^{-1} مربوط به گروه‌های C=C در حلقه‌های آروماتیک است.

باند 1419 cm^{-1} مربوط به پیوند CH-CH موجود در قندها یا لیپیدهای عصاره است [17]. باند 1265 cm^{-1} مربوط به باند آمید III پروتئین‌ها است. باند 1110 cm^{-1} مربوط به نوسانات کششی C-O در الکل‌های نوع اول و یا C-N در آمین‌های آلifatیک است. همچنین می‌تواند مربوط به باند C-CHO آلدیدها، نوسانات کششی C-CO-C کتون‌ها و یا ترکیبات هالوژنی نظیر فلوریدها باشد [18].



شکل 6 طیف FTIR عصاره گیاه آب تره قبل و بعد از احیاء نمک طلا

نانوذرات طلا می‌باشد و به کمک پارامترهایی مانند دما، غلظت عصاره و زمان می‌توان تا حدی این واکنش را در جهت حصول بیشترین و همگن‌ترین نانوذرات با اندازه مورد نظر کنترل نمود.

5- منابع

- [1] Song, J. Y., Jang, H-K., and Kim, B. S. (2009) Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. *Process Biochemistry*. 44(10), 1133–1138.
- [2] Jain, K.K. (2005) Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. *Clinica Chimica Acta*. 358, 37–54.
- [3] Singh, M., Manikandan, S., and Kumaraguru, A. K. (2011) Nanoparticles: A new technology with wide applications. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 1(1), 1–11.
- [4] Azzazy, H. M., Mansour, M. M., Samir, T. M., and Franco, R. (2012) Gold nanoparticles in the clinical laboratory: principles of preparation and applications. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 50(2), 193–209.
- [5] Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., and Parikh, R. Y. (2010) Biological synthesis of metallic

باند 794 cm^{-1} مربوط به باند C-H آلدهیدها و یا ترکیبات هالوژنی نظیر کلریدها و برمیدهاست [18]. عصاره بعد از احیاء نمک طلا، طیف‌های FTIR مشابه قبل از احیاء نمک طلا، ولی با شدت کمتر را نشان داد. این کاهش پیک نشان از فعالیت انواع مختلف ترکیبات فنلی، الکلی، قندها و پروتئین‌های موجود در عصاره است. اما کاهش باند بیشتر در ناحیه $2000\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ و 1550 cm^{-1} دیده می‌شود. بعلاوه حضور باند جدیدی در 1500 cm^{-1} در طیف پس از احیاء که مربوط به نوسانات کششی گروه عاملی C=O ترکیبات کربونیل و یا کربوکسیلیک اسید است [۱۷، ۱۸] و نشان از این دارد که پلی‌ال‌ها عمدتاً مسئول احیاء یون‌های طلا بوده، که به موجب آن خودشان به گروه‌های کربونیل غیر اشباع اکسید شده و سبب ایجاد پیک‌های مذکور می‌شوند [20].

4- نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد که عصاره گیاه آب تره در زمان کوتاه قادر به احیاء یون‌های طلا به صورت

- limon* (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 82(1), 152–159.
- [14] Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., and El-Magdoub, F. (2012) Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. *Arabian Journal of Chemistry*. 5(4), 431–437.
- [15] Shen, D. S., Mathew, J., and Philip, D. (2011) Phytosynthesis of Au, Ag and Au-Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*. 79(1), 254–62.
- [16] Kasthuri, J., Kathiravan, K., and Rajendiran, N. (2009) Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *Journal of Nanoparticle Research*. 11(5), 1075–85.
- [17] Ashokkumar, R., and Ramaswamy, M. (2014) Phytochemical screening by FTIR spectroscopic analysis of leaf extracts of selected Indian Medicinal plants. *Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(1), 395–406.
- [18] Ragavendran, P., Sophia, D., Arul Raj, C., and Gopalakrishnan, V.K. (2011) functional group analysis of various extracts of *Aerva lanata* (L.) by ftir spectrum. *Pharmacologyonline*. 1, 358–364.
- [19] Castro, L., Blázquez, M. L., Muñoz, J. a., González, F., García-Balboa, C., and Ballester, A. (2011) Biosynthesis of gold nanowires using sugar beet pulp. *Process Biochemistry*. 46(5), 1076–1082.
- [20] Jain, D., Kumar, D.H., Kachhawaha, S., and Kothari S.L. (2009) Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 4 (3), 557–563.
- nanoparticles. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. 6(2), 257–262.
- [6] Song, J.Y., and Kim, B.S. (2009) Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extract. *Bioprocess Biosyst Eng*. 32, 79–84.
- [7] Narayanan, K. B., and Sakthivel, N. (2011) Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Advances in colloid and interface science*. 169(2), 59–79.
- [8] Shankar S. S., Ahmad, A., and Sastry, M. (2003) Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology Progress*. 19, 1627–1631.
- [9] Liu, W. T. (2006) Nanoparticles and their biological and environmental applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 102(1), 1–7.
- [10] Chandran, S. P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., and Sastry, M. (2006) Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe vera Plant Extract. *Biotechnology Progress*. 22(2), 577–583.
- [11] شاه‌رخی، ن، خاکساری حداد، م، شعبانی، م و حیدری، م.ر. (1386) اثرات خوراکی گیاه بولاق اوتی در کنترل قند و چربی در موش‌های صحرایی دیابتی. مجله علوم پزشکی رفسنجان، دوره ششم، شماره چهارم. 245-256
- [12] Noruzi, M., Zare, D., Khoshnevisan, K., and Davoodi, D. (2011) Rapid green synthesis of gold nanoparticles using *Rosa hybrida* petal extract at room temperature. *Spectrochimica Acta part A*. 79(5), 1461–1465.
- [13] Prathna, T. C., Chandrasekaran, N., Raichur, A. M., and Mukherjee, A. (2011) Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by *Citrus*