

بررسی فیتوشیمیایی و فیتوستنز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه کَور (*Capparis spinosa* L.)

امید عزیزیان شرمه¹، محرم ولیزاده^{2*}، جعفر ولیزاده³، مژگان طاهری زاده¹، مریم بیگمی⁴

- 1- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیتوشیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان
- 2- استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان
- 3- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان
- 4- دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

* زاهدان، صندوق پستی 98155-987

m.valizadeh@anrs.usb.ac.ir
(دریافت مقاله: 94/9/17 پذیرش مقاله: 95/2/5)

چکیده - میکروارگانیسم‌ها و گیاهان دارای ظرفیت بالایی برای احیاء فلزات از طریق مسیرهای متابولیکی خود و به اصطلاح بیوستنز نانوذرات هستند. صرف نظر از مزایای زیست محیطی سنتز بیولوژیکی نانوذرات، امکان تولید نانومواد با خصوصیات جدید در این روش وجود دارد. در این مطالعه عصاره آبی میوه گیاه کَور (*Capparis spinosa* L.) برای سنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش پتانسل احیاء کنندگی گیاه، محتوی فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی دو عصاره اتانولی و آبی با روش‌های DPPH و FRAP اندازه گیری شد. عصاره آبی فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به عصاره اتانولی نشان داد، با این وجود، دارای پتانسیل بالایی برای کاهش رادیکال‌های آزاد و یون‌های فلزی بوده است. پس از تهیه عصاره، به منظور فیتوستنز نانوذرات نقره، 2 میلی لیتر عصاره به 4 میلی لیتر از محلول نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار افزوده شد. از عصاره به عنوان عوامل کاهنده و پایدار کننده نانوذرات استفاده شد. تأثیر پارامترهای مؤثر جهت بهینه نمودن نانوذرات نقره نظیر: pH واکنش، میزان عصاره، غلظت یون فلزی و زمان واکنش بوسیله تکنیک اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی (UV-Vis) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد ارزیابی قرار گرفت. طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) برای نانوذرات نقره، بیشترین جذب را در 415 نانومتر نشان داد. از طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) برای شناسایی گروه‌های عاملی احتمالی دخیل در سنتز نانوذرات نقره استفاده شد. نتایج نشان دادند که، نانوذرات حاصل دارای شکل کروی یکنواخت با اندازه 8-12 نانومتر هستند.

کلید واژگان: گیاه کَور، فعالیت آنتی اکسیدانی، نانوذرات نقره، فیتوستنز، میکروسکوپ الکترونی عبوری.

1- مقدمه

نانومتريک در صنایع از خود نشان داده اند، امروزه تمایل

بسیار زیادی به فراوری و استفاده از آنها وجود دارد [1].

به دلیل خواص و ویژگی‌های جدیدی که مواد با ابعاد

فناوری نانو اصطلاحاً به طراحی، بررسی خصوصیات، تولید و استفاده از ساختارها و ابزار و سیستم‌های با کنترل شکل و اندازه در مقیاس نانومتریک اطلاق می‌شود. خواص شیمیایی و فیزیکی نظیر خواص نوری و الکترونیکی نانوذرات با توجه به اندازه کوچک آنها (100-1 نانومتر) قابل تغییر است [2]. روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات نقره وجود دارد که در بیشتر روش‌های شیمیایی، از یک عامل کاهنده شیمیایی مانند سدیم بورهیدرید (NaBH_4) برای کاهش یون‌های فلزی و تثبیت کننده مانند پلی وینیل پیرولیدون (PVP) برای کنترل رشد ذرات و جلوگیری از تجمع آنها استفاده می‌شود [3]. از بین این روش‌ها می‌توان به کاهش: در محلول‌های شیمیایی و آبی [4, 5] سونوشیمی [6]، الکتروشیمیایی [7] و روش کاهش از طریق ریزموج [8] نام برد. اخیراً از طریق روش شیمی سبز که استفاده از مواد سازگار با محیط زیست مانند برگ، میوه و ساقه‌ی گیاه را برای سنتز نانوذرات نقره ارائه می‌دهد، متداول شده است [9, 10]. متابولیت‌های ثانویه گوناگون، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و دیگر کاهنده‌ها در تهیه نانوذرات فلزی به وسیله گیاهان نقش اساسی دارند. گیاهان و محصولات کشاورزی به عنوان منابع تجدیدپذیر و ارزان در جهت تهیه نانومواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. به عبارت دیگر گیاهان به دلیل دارا بودن ترکیبات ثانویه‌ای چون ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی کارخانه‌ای بالقوه جهت انجام واکنش‌های کاهش شیمیایی هستند و به اصطلاح دارای خاصیت احیاکنندگی یا آنتی‌اکسیدانی می‌باشند [1]. از این رو 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. عنصر نقره ذاتاً دارای خاصیت ضد میکروبی خوبی است اما، وجود نسبت سطح به حجم بالا در نانوذرات نقره، موجب افزایش خاصیت ضد میکروبی آن‌ها می‌شود و مهم‌ترین کاربرد آن‌ها در پزشکی

، لوازم آرایشی و بهداشتی و ظروف نگهداری مواد غذایی می‌باشد [11-13].

گیاه *Capparis Spinosa* L. از گیاهان دو لپه و جدا گلبرگ متعلق به تیره کاپاریداسه است. کور گیاهی درختچه‌ای با ساقه‌های خوابیده بر روی زمین است که برگ‌های ساده با گوشوارک‌های خارمانند، گل‌های سفید، بزرگ و معطر با کاسبرگ‌های محدب نابرابر، با 8 تا 15 پرچم دارد. کور بزرگترین جنس این خانواده است [14]. میوه و جوانه این گیاه حاوی روتین و کوئرستین (ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی) است. روتین یک آنتی‌اکسیدان بیوفلاونوئیدی قوی در بدن است [15, 16]. مطالعات نشان می‌دهند که عصاره متانولی برگ گیاه کور با تفاوتی اندک، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل بیشتری نسب به میوه و ساقه است [16]. در مطالعه‌ای دیگر به منظور ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، اندام‌های هوایی گیاه کور شامل برگ، گل و میوه، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده بالایی بوده و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تقریباً برابر بودند [17].

در گزارش‌های مربوط به سنتز نانوذرات نقره توسط گیاهان، Ramteke و همکارانش توانستند از عصاره آبی برگ گیاه *Ocimum sanctum* نانوذرات نقره با اندازه 18 نانومتر سنتز کنند [18]. در گزارشی دیگر کابلی فرشچی و همکاران توانستند با استفاده از گیاه کرفس کوهی نانوذرات نقره با اندازه 50-20 نانومتر تولید کنند [19]. همچنین نانو ذرات نقره سنتز شده از گیاهان *Garlic* و *Pinus eldarica* با اندازه‌های به ترتیب 40-10 نانومتر و 30-20 نانومتر خاصیت ضد میکروبی خوبی نسبت به خیلی از باکتری‌های بیماری‌زا از خود نشان داده‌اند [20, 21]. از عصاره گیاه آلوئه‌ورا نیز نانوذرات نقره تهیه شد و نانوذرات تولید شده دارای مورفولوژی کروی در اندازه $4/2 \pm 15/5$ نانومتر بودند [22]. اخیراً سنتز نانوذرات نقره با مورفولوژی کروی و اندازه متوسط 15-10 نانومتر توسط عصاره آبی بذر گیاه کنجد نیز گزارش

شده است [23].

مطالعه حاضر به بررسی سنتز نانوذرات نقره با روشی آسان، کم هزینه و سبز می‌پردازد. ابتدا برای سنجش پتانسیل گیاه در کاهش یون‌های فلزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو عصاره آبی و اتانولی به دو روش DPPH و FRAP مورد بررسی قرار گرفتند و مقدار فنل کل گیاه نیز اندازه‌گیری شد. پس از سنتز موفق نانوذرات نقره، پارامترهای مختلفی چون pH واکنش، میزان عصاره میوه، غلظت یون نقره (I) و زمان واکنش جهت بدست آوردن نانوذراتی یکنواخت و با اندازه کوچک تر مورد ارزیابی قرار گرفت و برای بهینه کردن آنها از اسپکترومتری فرابنفش-مرئی (UV-Vis) استفاده شد. اندازه ذرات و شکل آنها توسط میکروسکوب الکترونی عبوری (TEM) تعیین گردید و برای شناسایی کیفی پایدار کننده‌های اطراف نانوذرات از تکنیک طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) استفاده شد.

مقداری از میوه تازه آن پس از شستشوی کامل با آب دوبار تقطیر و خشک کردن در دمای اتاق و بدون نور توسط آسیاب برقی کاملاً پودر شد. برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی مقدار 10 گرم از پودر گیاه با 100 میلی‌لیتر از آب دوبار تقطیر طی 24 ساعت و در دمای اتاق به هم زده شد. سپس توسط کاغذ صافی واتمن شماره 42 صاف و به منظور حذف کامل ذرات معلق به مدت 30 دقیقه بوسیله دستگاه سانتریفیوژ با سرعت 10000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره مورد استفاده برای سنتز نانوذرات، با نسبت (1 گرم پودر گیاه و 100 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر) به مدت 30 دقیقه در دمای 30 درجه سانتی گراد به هم زده شد. اجازه داده شد این محلول در دمای اتاق خنک شود. پس از آن همانند مراحل گفته شده، مراحل فیلتراسیون و صاف کردن انجام و هر دو عصاره‌ی بدست آمده در دمای 4 درجه سانتی گراد برای استفاده‌های بعدی نگهداری شد.



شکل 1 میوه گیاه *Capparis spinosa* L.

2- بخش تجربی

2-1- مواد شیمیایی

کلیه مواد مورد استفاده با خلوص بالا تهیه شدند. 2-2 دی فنیل-1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت سیگما-آلدریچ و نمک نقره نترات (AgNO_3)، سدیم هیدروکسید (NaOH)، هیدروکلریک اسید (HCl)، آسکوربیک اسید، گالیک اسید، سدیم بیکربنات، 2,4,6-tripyridyl-s- triazine (TPTZ)، آهن سولفات ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)، اتانول و متانول همگی از شرکت مرک تهیه شدند. در طول آزمایش برای شستشو و محلول سازی از آب دوبار یون‌زدایی شده استفاده شد.

2-2- روش کار

2-2-1- آماده سازی عصاره

گیاه کَوَر در شهریور ماه، سال 1393 از منطقه تفتان در استان سیستان و بلوچستان جمع آوری شد (شکل 1).

2-2-2- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت

مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش برنر-ویلیامز که روشی برای اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک رادیکال پایدار 2-2 دی فنیل-1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) است، مورد ارزیابی قرار گرفت [24]. غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها به همراه 1 میلی‌لیتر از DPPH (0/1 میلی‌مولار و 1 میلی‌لیتر متانول) تهیه گردید. بعد از 30 دقیقه قرار دادن در دمای اتاق،

گزارش شد.

2-2-4- اندازه‌گیری مقدار فنل کل

محتوی فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد [26]. به 0/5 میلی‌لیتر از عصاره (مقدار 0/05 گرم پودر نمونه در 1 میلی‌لیتر اتانول)، 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو 10% و پس از 5 دقیقه، 2 میلی‌لیتر از محلول 5% کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از 1 ساعت در طول موج 765 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی در مقابل بلانک قرائت شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنل کل بر اساس میزان معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره گزارش گردید. آزمایش 3 بار تکرار و میانگین آن-ها گزارش شد.

2-2-5- آماده‌سازی محلول نقره نیترات و سنتز نانوذرات نقره

ابتدا محلول نقره نیترات با غلظت 1 میلی‌مولار ساخته شد. سپس مقدار 2 میلی‌لیتر از عصاره به 4 میلی‌لیتر از محلول نقره نیترات ساخته شده در دمای اتاق، افزوده شد. مقدار pH این محلول عدد 5/17 قرائت شد. مشاهده شد که رنگ محلول به سمت قهوه‌ای تغییر رنگ داده است که خود نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره می‌باشد. از محلول مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی (Jenway 6715) طیف‌گیری شد.

2-2-6- بررسی پارامترهای مؤثر بر سنتز نانوذرات نقره

2-2-6-1- تأثیر pH

برای بهینه‌سازی مقدار pH، پنج سری محلول حاوی 2 میلی‌لیتر عصاره و 4 میلی‌لیتر محلول نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی‌مولار ساخته و پس از تنظیم pH (6، 7، 8، 9 و 10)، حجم نهایی محلول در بالن حجمی به 50

جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر با DPPH در مقابل بلانک با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی (UNICO UV 2100) قرائت و درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%IP = [(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}] \times 100$$

%IP درصد مهار رادیکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی‌اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد)، A_{blank} جذب شاهد (حاوی 1 میلی‌لیتر از متانول در 1 میلی‌لیتر از محلول DPPH) و A_{sample} جذب نمونه (حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی (آنتی‌اکسیدان)، متانول و محلول DPPH) می‌باشد.

در این تست از بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، که یک آنتی‌اکسیدان سنتزی است، به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و میانگین آنها گزارش شد.

2-2-3- اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء یون آهن (III)، FRAP

برای اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن، روش بنزی و استرین با کمی تغییر مورد استفاده قرار گرفت [25]. در لوله آزمایش به 200 میکرو لیتر از عصاره (با غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال آب) مقدار 1/8 میلی‌لیتر از محلول تازه فرپ افزوده شد. (محلول فرپ با افزودن 25 میلی‌لیتر بافر استات، 2/5 میلی‌لیتر محلول TPTZ و 2/5 میلی‌لیتر محلول $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ قبل از انجام آزمایش تهیه شد). مخلوط فوق 5 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی در طول موج 595 نانومتر قرائت شد. فعالیت احیاکنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌مول یون آهن (II) بر میلی‌گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد. در این آزمایش از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده و پس از سه بار تکرار آزمایش، میانگین آنها

اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته و زمان بهینه انتخاب شد.

2-2-6-5- بررسی تصاویرهای میکروسکوپ الکترونی

عبوری

توزیع شکل و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده با اعمال فاکتورهای مؤثر در هر مرحله توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (Zeiss-EM10C-80 KV) بررسی شد. چندین قطره از محلول حاوی نانوذرات نقره بر روی شبکه‌های دستگاه (از جنس مس پوشش داده شده با کرین) قرار داده و پس از تبخیر حلال آن در دمای آزمایشگاه، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری آن گرفته شد.

2-2-6-6- بررسی طیف تبدیل فوریه مادون قرمز

برای شناسایی کیفی پایدار کننده‌های اطراف نانوذرات نقره، از تکنیک طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (PerkinElmer-FT-IR Spectrum two) استفاده شد. بدین منظور ابتدا نمونه حاوی نانوذرات نقره سنتز شده با اعمال تمامی پارامترهای مؤثر پس از خشک و پودر شدن، با پتاسیم برمید مخلوط و به شکل قرص پتاسیم برمید در آمد. سپس طیف آن در محدوده فرکانس cm^{-1} 4000-400 ثبت شد.

3- نتایج و بحث

3-1- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری فنل کل

چندین روش برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. بکارگیری حداقل 2 روش برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی صحت نتایج را تأیید می‌کند [27]. در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و توان آنتی اکسیدانی احیاء یون آهن (FRAP)، جهت ارزیابی پتانسیل

میلی‌لیتر رساننده شد. طیف‌های جذبی محلول‌ها توسط اسپکتروفتومتر فرابنفش-مرئی در محدوده 200 تا 800 نانومتر گرفته و pH بهینه انتخاب شد. برای تنظیم pH محلول از یکی از دو محلول NaOH و یا HCl با غلظت 0/1 مولار استفاده گردید.

2-2-6-2- تأثیر میزان عصاره

برای بررسی تأثیر میزان عصاره گیاه مقادیر 1 تا 4 میلی‌لیتر از آن به 4 میلی‌لیتر محلول نقره نیترات 1 میلی‌مولار افزوده شد و pH واکنش برابر pH بهینه تنظیم و همانند مرحله قبل حجم نهایی محلول در بالن حجمی به 50 میلی‌لیتر رسانده شد. از هر کدام از محلول‌های ساخته شده، جداگانه طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته و در انتها مقدار حجم بهینه عصاره انتخاب شد.

2-2-6-3- تأثیر غلظت نمک نقره نیترات

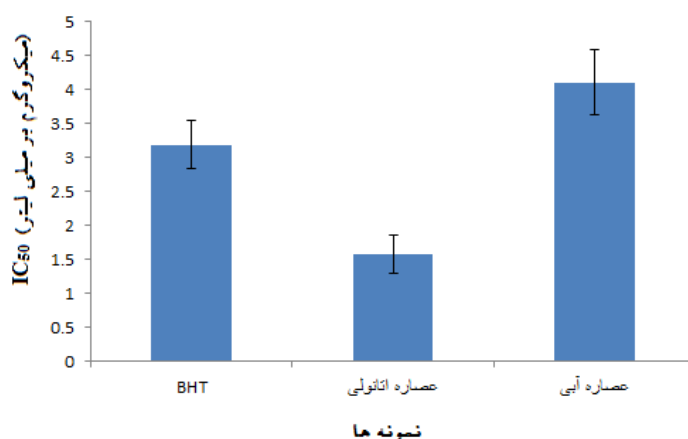
برای بررسی تأثیر غلظت یون نقره (I)، مقدار بهینه شده از حجم عصاره به 4 میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت محلول نقره نیترات (0/5 تا 4) میلی‌مولار افزوده و پس از تنظیم اسیدیته بهینه، حجم نهایی محلول واکنش به 50 میلی‌لیتر رسانده شد. از محلول‌های ساخته شده طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته و غلظت بهینه انتخاب شد.

2-2-6-4- تأثیر زمان واکنش

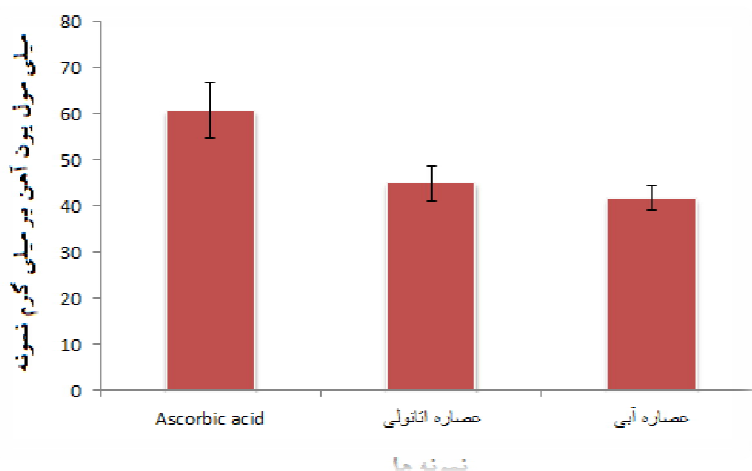
با ثابت نگهداشتن شرایط بیوسنتز نانوذرات نقره در نقاط بهینه شده‌ی پارامترهای pH، میزان عصاره و غلظت محلول نقره نیترات، اثر زمان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، محلولی با اعمال تمامی شرایط بهینه شده قبل، به فاصله هر ده دقیقه از زمان ساخته شدن نمونه تا یک ساعت پس از آن آماده و از تمامی آن‌ها طیف

مناسبی در احیاء رادیکال‌های آزاد و یون فلزی آهن (III) بوده است (شکل‌های 2 و 3). قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های موجود، با تغییر رنگ ارغوانی محلول متانولی DPPH به رنگ زرد مشخص می‌گردد (شکل 4). ترکیبات فنلی منشأ اصلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند [28]. میوه گیاه نیز دارای مقدار قابل قبولی از ترکیبات فنلی بوده است (8/61 mgGAE/g.D.W). در مطالعه‌ای که راشدی و همکاران بر روی میزان فنل کل اندام‌های مختلف گیاه کَوَر انجام داده اند، میزان فنل کل در میوه این گیاه را 8/13 mgGAE/g.D.W اندازه‌گیری کرده‌اند که با نتیجه حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد [16].

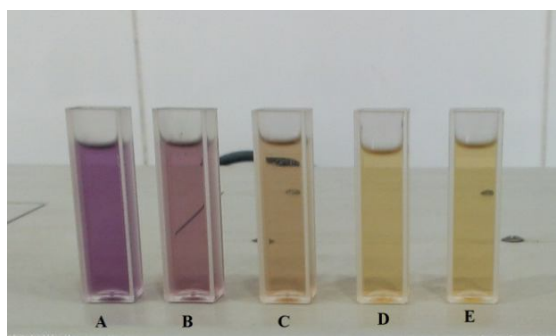
گیاه در کاهش یون‌های فلزی و تبدیل آن‌ها به اتم‌ها فلزی در ابعاد نانومتریک، مورد سنجش قرار گرفت. از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل‌ها دارای پتانسیل بالایی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، مقدار فنل کل گیاه نیز به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شده. نتایج نشان دادند که عصاره اتانولی قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در هر دو روش DPPH و FRAP به ترتیب با مقادیر $IC_{50} = 1/58 \mu\text{g/ml}$ و $45/05 \text{ mMFe}^{2+}/\text{mg sample}$ از خود نشان داده است. عصاره آبی با اینکه خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمتری ($IC_{50} = 4/10 \mu\text{g/ml}$ و $41/71 \text{ mMFe}^{2+}/\text{mg sample}$) نسبت به عصاره اتانولی داشته است، لیکن دارای قدرت



شکل 2 مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در مقابل BHT در روش DPPH



شکل 3 مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در مقابل آسکوربیک اسید در روش FRAP



شکل 4 تغییر رنگ حاصل از احیای رادیکال DPPH توسط عصاره آبی میوه گیاه کَور

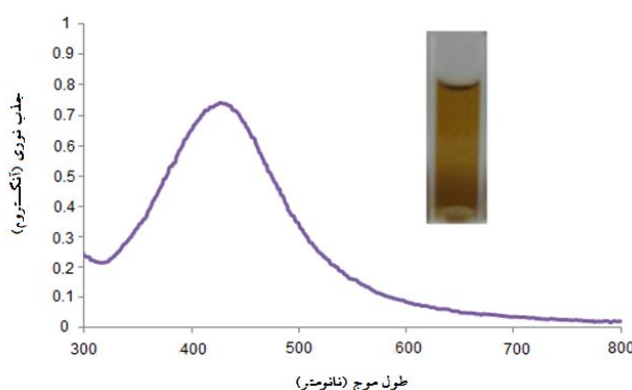
(A) محلول بلانک حاوی DPPH و متانول، (B) محلول حاوی DPPH، متانول و 50 μ l از عصاره آبی، (C) محلول حاوی DPPH، متانول و 100 μ l از عصاره آبی، (D) محلول حاوی DPPH، متانول و 150 μ l از عصاره آبی و (E) محلول حاوی DPPH، متانول و 200 μ l از عصاره آبی

کاهش شیمیایی به روش زیستی برخوردار است و می‌تواند به عنوان کاهنده در کاهش یون‌های فلزی و تبدیل آنها به اتم‌های فلزی در ابعاد نانومتریکی مورد استفاده قرار گیرد.

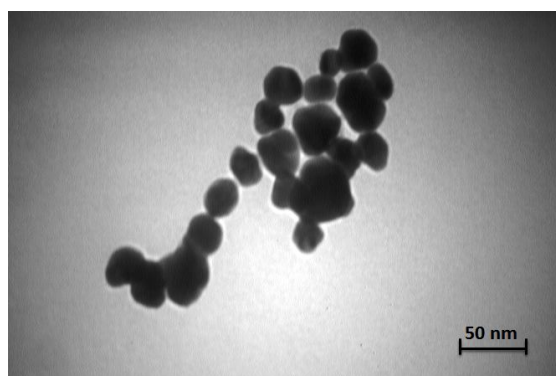
3-2- سنتز اولیه نانوذرات نقره

طول موج رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره سنتز شده تحت شرایط مختلف با اندازه و شکل آنها متفاوت است. بر اساس تئوری Mie، نانوذرات کروی نقره یک باند رزونانس پلاسمون سطحی را نشان دهند، در حالی که ذرات ناهمسانگرد 2 تا 3 باند از آن را نشان می‌دهد [32]. در ابتدا مقدار 2 میلی‌لیتر از عصاره با 4 میلی‌لیتر از محلول نقره نیترات با غلظت 1 میلی‌مولار ساخته شد. اسیدیته واکنش توسط دستگاه pH متر، 5/17 خوانده شد. ملاحظه شد که رنگ محلول به رنگ قهوه ای تغییر رنگ داده است که دلیلی بر سنتز موفق نانوذرات نقره می‌باشد (شکل 5). تحقیقات پیشین نشان می‌دهند که رنگ محلول حاوی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره می‌باشند [33، 34]. از محلول حاصل بصورت مجزا طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی و تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری گرفته شد و مشاهده شد که نانوذرات به شکل کروی، یکنواخت و اندازه آنها بین 50-35 نانومتر است (شکل‌های 5 و 6).

در نتیجه، بالا بودن فعالیت احیاء کنندگی و آنتی‌اکسیدانی میوه گیاه کَور را می‌توان به بالا بودن ترکیبات فنلی نسبت داد. عصاره‌های با محتوی فنلی بالا و خاصیت خوب آنتی‌اکسیدانی می‌توانند برای اهداف تغذیه ای، دارویی و نگهداری مواد غذایی استفاده کرد. مطالعه ای به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کَور نشان داد، عصاره متانولی اندام‌های هوایی، برگ، گل و میوه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی بوده‌اند که در این بین، برگ تقریباً دارای قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به سایر قسمت‌ها بوده است [29]. شرایط اقلیمی محل رویش گیاه، می‌تواند مواد مؤثره گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. در مطالعه ای دیگر عصاره جوانه گل گیاه کَور فعالیت خوبی نسبت به سایر قسمت‌ها از خود نشان داده است که می‌تواند بدلیل تفاوت در شرایط اقلیمی باشد [30]. در پژوهشی ای که بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف (گل، برگ، بذر، میوه و ریشه) گیاه کَور صورت گرفت، مشاهده شد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بتا کاروتن-لینولئیک اسید در عصاره برگ و گل بیشتر از سایر قسمت‌ها بوده است لیکن عصاره میوه نیز دارای فعالیت قابل قبولی بوده است [31]. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که عصاره متانولی برگ گیاه کَور با تفاوتی اندک، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل بیشتری نسب به میوه و ساقه است [16]. بطور کلی نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل حاصل از مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌ها نشان می‌دهند که، گیاه کَور از پتانسیل خوبی در بکارگیری در واکنش‌های



شکل 5 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی و محلول حاوی نانوذرات نقره سنتز شده بدون اعمال شرایط بهینه (شرایط آزمایش: 2 میلی لیتر عصاره، 4 میلی لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار، pH= 5/17، $T=25^{\circ}\text{C}$)

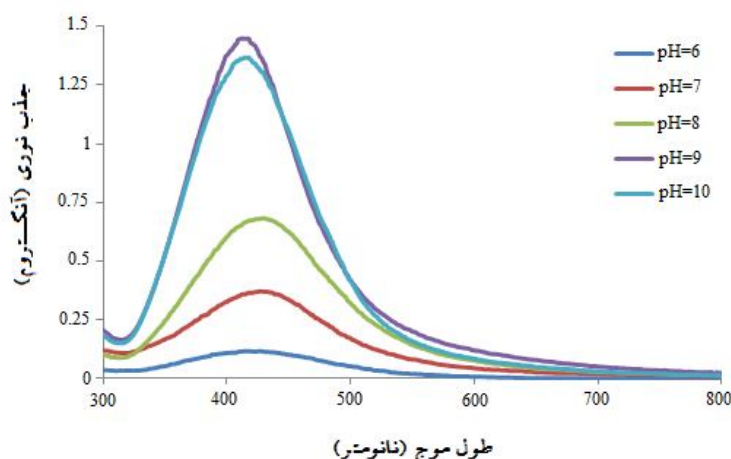


شکل 6 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده بدون اعمال شرایط بهینه (شرایط آزمایش: 2 میلی لیتر عصاره، 4 میلی لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار، pH= 5/17، $T=25^{\circ}\text{C}$)

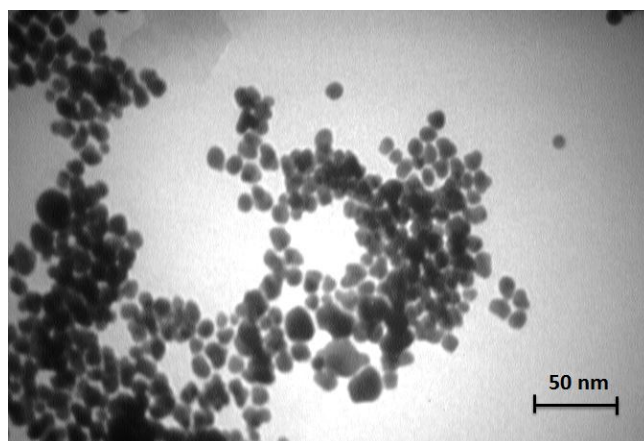
3-3- تأثیر pH واکنش

pH یکی از مهمترین فاکتورهای مؤثر بر سنتز نانوذرات می باشد [35]. پیش از این گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر pH بر روی روند تشکیل و پایداری نانوذرات به ثبت رسیده است. گزارش‌ها حاکی از آن است که pH بر روی شکل نانوذرات تأثیر چشمگیری ندارد و تنها اندازه‌ی آنها را به میزان زیاد تحت تأثیر قرار می‌دهد [36، 37]. برای تخمین میزان پایداری نانوذرات نقره سنتز شده، طیف جذبی آنها در محدوده pH 6 تا 10 گرفته شد (شکل 7). مشاهده شد که با افزایش میزان pH واکنش، جذب حاصل از رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره افزایش یافته است اما این افزایش جذب تا $\text{pH}=9$ مشاهده می‌شود. اما در اسیدیته بالاتر افت شدیدی در میزان جذب ملاحظه شده است. به نظر می‌رسد که در pH بالای 9 با هیدرولیز

گسترده یون نقره مواجه هستیم به طوری که باعث بوجود آمدن گونه‌های پایدار هیدروکسیدهای یون نقره شده و در نهایت موجب جلوگیری از ورود این یون به واکنش احیای زیستی می‌شود [38]. در نتیجه در pH برابر 9 بعنوان اسیدیته بهینه انتخاب شد. تغییر شدید در طیف‌های اسپکتروفتومتری محلول‌های با اسیدیته متفاوت نشان دهنده این است که در مورد گیاه کور نیز اندازه و پایداری نانوذرات تولید شده تا حدود زیادی به این پارامتر وابسته است. از نمونه سنتز شده تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری گرفته شد و مشاهده شد که با اعمال شرایط بهینه pH، نانوذرات سنتز شده یکنواخت تر و اندازه آنها کوچک تر شده است. متوسط اندازه نانوذرات حاصل بین 25-30 نانومتر محاسبه شده است (شکل 8).



شکل 7 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات نقره سنتز شده در pHهای متفاوت (شرایط آزمایش: 2 میلی لیتر عصاره، 4 میلی لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار، متفاوت pH، $T=25^{\circ}\text{C}$)

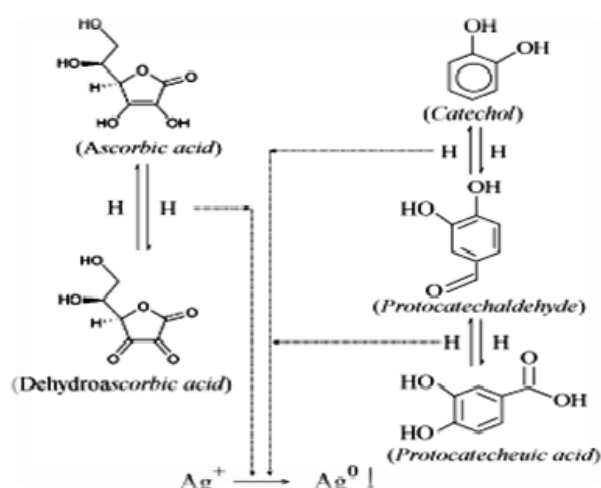


شکل 8 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده با بهینه نمودن پارامتر pH (شرایط آزمایش: 2 میلی لیتر عصاره، 4 میلی لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار، $\text{pH}=9$ و $T=25^{\circ}\text{C}$)

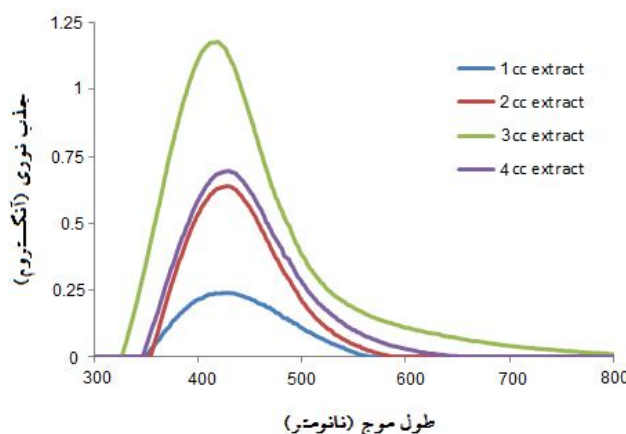
3-4- تأثیر میزان عصاره

با افزایش مقدار حجم عصاره، جذب خوانده شده افزایش می یابد و این افزایش در میزان جذب، نشان دهنده ی افزایش در سرعت و مقدار تشکیل نانوذرات می باشد [39]. گیاه گور حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی فراوانی می باشد [16]. شکل 9، تصویر مکانسیم پیشنهادی کاهش یون نقره توسط عوامل کاهنده موجود در گیاهان را نشان می دهد. از آنجا که در این روش، از گیاه به عنوان عامل احیاء کننده در سنتز نانوذرات نقره استفاده شده است، در نتیجه میزان

و مقدار آن در حصول شرایط مطلوب تر و داشتن نانوذرات پایدار با اندازه و شکل بهتر مؤثر است. به منظور انتخاب میزان عصاره ی مصرفی بهینه، مقادیر 1 تا 4 میلی لیتر از عصاره به 4 میلی لیتر محلول نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی مولار افزوده و اسیدیته و واکنش برابر 9، تنظیم شد. طیف های جذبی اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته شده از نانوذرات نقره سنتز نشان می دهند که در حجم 3 میلی لیتر از عصاره، نانوذرات بیشترین میزان جذب را دارا هستند (شکل 10).



شکل 9 مکانیسم کاهش یون نقره توسط عوامل کاهنده (آنتی اکسیدان‌ها) موجود در گیاهان



شکل 10 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات نقره سنتز شده در حجم‌های متفاوت از عصاره

(شرایط آزمایش: حجم‌های متفاوت از عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی‌مولار، pH=9، $T=25^\circ C$)

این مورد نانوذرات، آزادی عمل نداشته و به یکدیگر متصل می‌شوند و اصطلاحاً می‌چسبند. در نتیجه مقدار از مقدار نانوذرات پایدار با اندازه مناسب در محیط کم شده و میزان جذب خوانده شده کاهش پیدا خواهد کرد. همچنین مطالعات نشان می‌دهند که، در غلظت‌های کمتر از میزان بهینه عامل احیاء کننده و پایدار کننده، عمل احیاء کنندگی و پایدار سازی نانوذرات بصورت کامل اتفاق نیافتاده و نانوذرات به میزان کمتر و با اندازه درشت‌تری به دست 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

می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش حجم عصاره از 1 میلی‌لیتر تا 3 میلی‌لیتر، میزان جذب بیشتر، پیک‌ها شارپتر و سنتز نانوذرات نقره بهتر و سریعتر انجام شده است. عبارت دیگر نانوذراتی با اندازه ی کوچک تر و یکنواخت تر تولید شده است. این افزایش در میزان جذب، به این دلیل است که، با افزایش میزان عصاره در حجم ثابت از محیط واکنش (50 میلی‌لیتر)، کاهش یون‌های Ag^+ سریعتر و بیشتر انجام شده و موجب می‌شود تا نانوذرات نقره جذب قابل ملاحظه‌ای از خود نشان دهند. اما در حجم 4 میلی‌لیتر از عصاره، با اینکه میزان نانوذرات نقره بیشتری سنتز شده است و جذب باید افزایش یابد، اما در

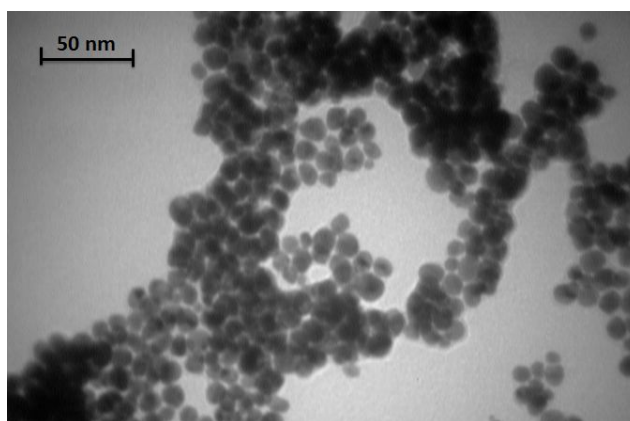
نانوذرات سنتز شده با اعمال شرایط بهینه میزان عصاره برابر 18-23 نانومتر محاسبه شد.

3-5- تأثیر غلظت نمک نقره نیترات

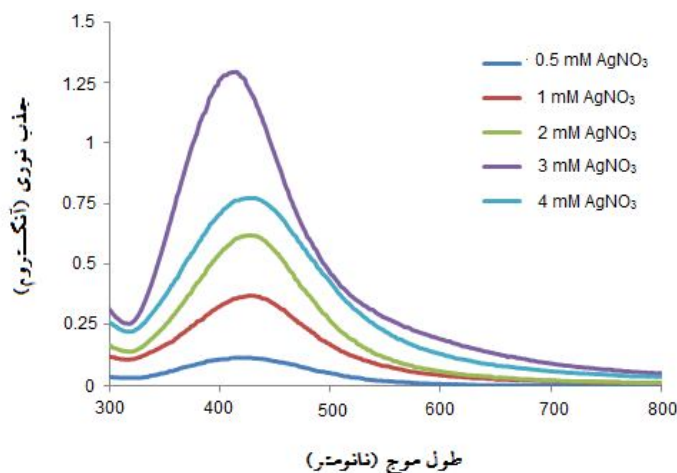
غلظت نمک نیترات نقره نیز در بدست آوردن نانوذراتی با ابعاد کوچکتر و شکل مطلوبتر، مؤثر است. به منظور مطالعه تأثیر غلظت نمک نقره نیترات بر روی سنتز نانوذرات، 5 سری محلول با غلظت‌های متفاوت (0/5، 1، 2، 3 و 4) میلی‌مولار از نمک نقره نیترات ساخته و از کلیه محلول‌ها بصورت جداگانه طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی گرفته شد (شکل 12).

نشده و ذرات با اندازه درشت تری بدست آید. با بی ثبات شدن نانوذرات، از جمعیت نانوذرات پایدار در محیط کم شده و جذب کاهش خواهد یافت. پژوهش‌ها حاکی از آن است که با افزایش در اندازه نانوذرات، میزان جذب کاهش یافته و متقابلاً با افزایش در توزیع ذرات، پهنای طیف‌ها افزایش می‌یابد [40,23]. از نمونه حاصل در این قسمت نیز تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری گرفته شد (شکل 11).

شکل 11 نشان می‌دهد که با اعمال دو شرط بهینه pH و بهینه میزان عصاره مصرفی، نانوذرات بدست آمده یکنواخت‌تر و اندازه آن‌ها کوچک‌تر شده است. اندازه



شکل 11 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده با بهینه نمودن پارامتر حجم عصاره (شرایط آزمایش: 3 میلی‌لیتر عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 1 میلی‌مولار، pH=9، T=25°C)



شکل 12 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات نقره سنتز شده در غلظت‌های متفاوت از نمک نقره نیترات (شرایط آزمایش: 3 میلی‌لیتر عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات با غلظت‌های متفاوت، pH=9، T=25°C)

6-3- تأثیر زمان

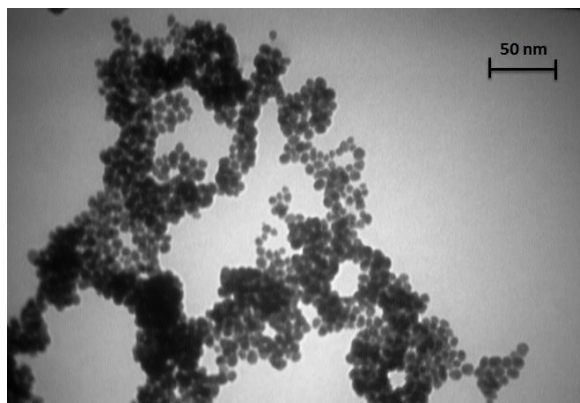
تأثیر زمان مجاورت محلول نقره نیترات با عصاره گیاه کُور با اعمال شرایط بهینه شده قبل، بر روند واکنش بررسی شد. بدین منظور، محلولی با اعمال تمامی شرایط بهینه شد، به فاصله هر ده دقیقه از زمان ساخته شدن نمونه و شروع واکنش، تا 60 دقیقه پس از شروع واکنش، آماده و از تمامی آن‌ها طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش- مرئی گرفته و زمان بهینه انتخاب شد (شکل 14).

نتایج نشان داد که جذب ناشی از رزونانس پلاسمون سطحی که نشان دهنده وجود نانوذرات نقره است به روشنی از زمان واکنش 10 دقیقه تا 60 دقیقه در طول موج ثابت افزایش جزئی می‌یابد که این نشان دهنده ی افزایش ناچیز میزان نانوذرات نقره سنتز شده در محلول است. این تغییر اندک در میزان جذب نمونه‌ها در زمان‌های متفاوت، نشان دهنده پایداری این نانوذرات با گذر زمان می‌باشد. در نتیجه بصورت میانگین، زمان 30 دقیقه، به عنوان زمان بهینه انتخاب شد.

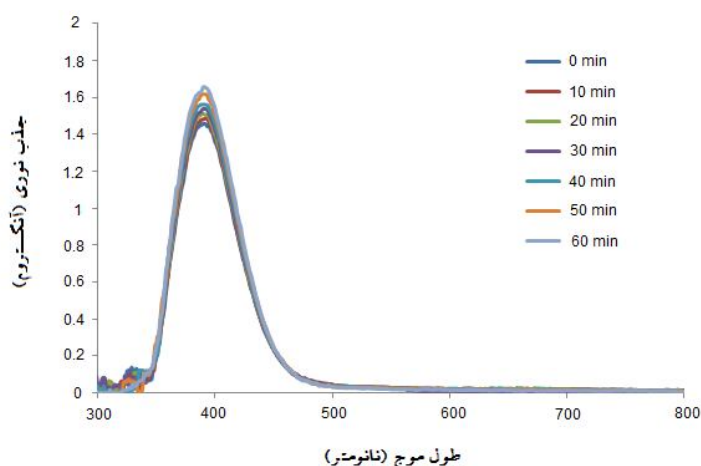
شکل 15 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره با اعمال کلیه پارامترهای مؤثر بر سنتز نانوذرات نقره، شامل مقدار 3 میلی‌لیتر از عصاره، 4 میلی‌لیتر از محلول نقره نیترات با غلظت 3 میلی‌مولار، $\text{pH} = 9$ و در زمان 30 دقیقه را نشان می‌دهد.

همان‌طور که شکل 12 نشان می‌دهد، با افزایش غلظت یون نقره از 0/5 تا 3 میلی‌مولار، افزایش چشمگیری در میزان جذب مشاهده شد. با افزایش میزان یون نقره در محیط، یون‌های نقره‌ی بیشتری کاهش پیدا کرده و در نتیجه نانوذرات بیشتری سنتز می‌شوند و متقابلاً جذب خوانده شده نیز افزایش پیدا خواهد کرد. گزارشات نشان می‌دهند که افزایش جذب در اثر افزایش غلظت یون فلزی بدین دلیل است یون‌ها بیشتر در معرض عمل کاهش قرار خواهند گرفت و نانوذرات بیشتری تولید خواهد شد [41]. اما در مورد غلظت 4 میلی‌مولار، نانوذرات سنتز شده به یکدیگر متصل می‌شوند و حاصل آن، ناپایداری برخی نانوذرات تولید شده و کاهش میزان نانوذرات پایدار در محیط و متقابلاً کاهش میزان جذب خوانده شده و افزایش تقریبی اندازه نانوذرات و جابجایی به سمت طول موج‌های بیشتر خواهد بود [23، 42]. بدین ترتیب، غلظت 3 میلی‌مولار از نمک نقره نیترات به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد. از نمونه سنتز شده با اعمال شرایط بهینه pH ، بهینه میزان عصاره مصرفی و بهینه غلظت نمک نقره نیترات، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری گرفته شد (شکل 13).

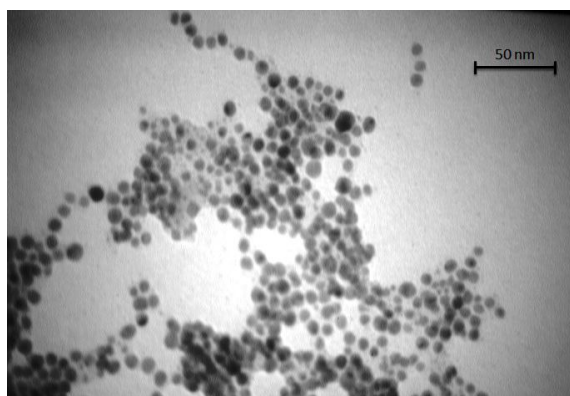
مشاهده شد که نانوذرات نقره با اندازه متوسط 12-15 نانومتر بدست آمده است. شکل نانوذرات حاصل کروی و اندازه آن‌ها کوچک تر از نانوذرات سنتز شده با اعمال دو فاکتور پیشین است.



شکل 13 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده با بهینه نمودن پارامتر غلظت نمک نقره نیترات (شرایط آزمایش: 3 میلی‌لیتر عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 3 میلی‌مولار، $\text{pH} = 9$ ، $T = 25^\circ\text{C}$)



شکل 14 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی نانوذرات نقره سنتز شده در زمان‌های متفاوت (شرایط آزمایش: 3 میلی‌لیتر عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات 3 میلی‌مولار، pH=9، $T=25^{\circ}\text{C}$)



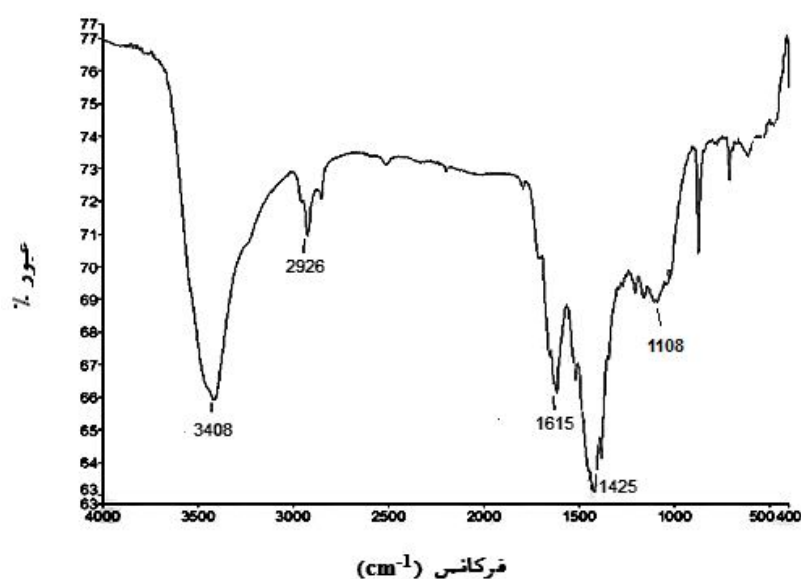
شکل 15 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده با بهینه نمودن پارامتر زمان واکنش (شرایط آزمایش: 3 میلی‌لیتر عصاره، 4 میلی‌لیتر نمک نقره نیترات با غلظت 3 میلی‌مولار، pH=9، زمان=30 دقیقه، $T=25^{\circ}\text{C}$)

پروتئینی و فلاونوئیدی موجود در عصاره نسبت داده می‌شود. این ترکیبات علاوه بر احیای یون نقره (I) و تبدیل آن به اتم‌های نقره در ابعاد نانومتریکی، اطراف نانوذرات نقره را فرا گرفته و موجب پایداری و مانع تجمع و بهم چسبیده شدن نانوذرات نقره سنتز شده می‌شوند [43].

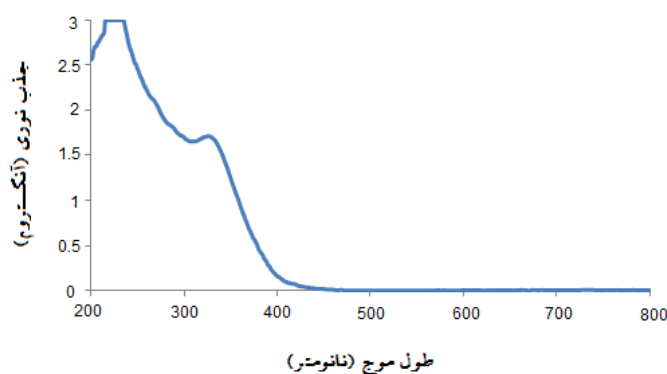
همچنین طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی حاصل از عصاره به صورت جداگانه گرفته شد (شکل 17). شکل 17 نشان می‌دهد که، در طول موج 415 نانومتر که مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره است، هیچ پیکی وجود ندارد که این خود دلیلی بر سنتز موفق نانوذرات نقره و عدم تداخل احتمالی عصاره در طیف حاصل از نانوذرات نقره می‌باشد.

شکل 15 نشان می‌دهد که اندازه ذرات نسبت به اعمال شرایط گذشته، کوچک‌تر و یکنواخت‌تر شده است، اما شکل آن‌ها همچنان کروی می‌باشد. متوسط اندازه نانوذرات سنتز شده با این روش و اعمال تمامی پارامترهای مؤثر بین 8-12 نانومتر بدست آمده است.

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز برای شناسایی ترکیبات پایدارکننده در اطراف نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت. شکل 16 باندهایی واضح را در ناحیه‌ی 3408، 2926، 1615، 1425 و 1108 cm^{-1} نشان می‌دهد که به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی -N-H، -C-H-آلیفاتیک، -C=C- متصل به حلقه‌های آروماتیک یا -C=O- گروه کربونیلی، -C-N- و -C-O- می‌باشد که به ترکیبات



شکل 16 طیف تبدیل فوریه مادون قرمز حاصل از پودر نانوذرات نقره با اعمال تمامی پارامترهای مؤثر بهینه شده



شکل 17 طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش-مرئی عصاره آبی میوه گیاه *Capparis spinosa*

4- نتیجه گیری

استفاده از ظرفیت بالای گیاهان، ما را به دست یافتن به نانوذراتی با پایداری خیلی بیشتر از روش‌های شیمیایی می‌رساند. مطالعه حاضر گزارشی از فیتوستز آسان، مقرون به صرفه و تک مرحله ای نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی میوه گیاه کُور را نشان داده است. میوه گیاه به عنوان یک عامل کاهنده و پایدار کننده در سنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفته است. ترکیبات موجود در عصاره شامل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و پروتئین‌ها، موجب کاهش یون‌های فلزی و در نهایت پایدار نمودن

نانوذرات سنتز شده می‌شوند. در نتیجه، مقدار این ترکیبات از جمله فنل‌ها و خاصیت احیاءکنندگی و آنتی‌اکسیدانی گیاه در سنتز نانوذرات مطلوب، مهم و ضروری می‌باشد. نتایج مربوط به بررسی قدرت احیاء کنندگی و میزان فنل موجود در میوه این گیاه نشان دادند که این گیاه از پتانسیل مناسبی در احیاء نمودن رادیکال‌های آزاد و یون‌های فلزی برخوردار است. در نتیجه، میوه گیاه حاضر، گزینه‌ی مناسبی برای کاهش یون‌های فلزی نقره و تبدیل آن‌ها به نانوذرات نقره و پایدار نمودن آن‌ها می‌باشد. یکی از محدودیت‌ها در اکثر

طلا و نقره در بسترهای گیاهی و کاربرد آنها». ماهنامه فناوری نانو. سال دوازدهم، شماره 1، پیاپی 186، صص 12-15.

[2] Govindaraju, K., Tamilselvan, S., Kiruthiga, V., Singaravelu, G. (2010) Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. *J Biopest.* 3(1), 394-399.

[3] رضائی، ف، کاظمی، ب، جبالی، ع، «سنتر بیولوژیک نانوذره نقره». مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی، دوره سوم، شماره نهم، صص 111-107.

[4] Da-Guang, Y. (2007) Formation of colloidal silver nanoparticles stabilized by Na^+ -poly(γ -glutamic acid)-silver nitrate complex via chemical reduction process. *Journal of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 59, 171-178.

[5] Ahmad, M.B., Shameli, K., Darroudi, M., Yunus W., Ibrahim N. A. (2009) Synthesis and characterization of silver/clay nanocomposites by chemical reduction method. *Journal of Applied Sciences.* 6, 1909-1914.

[6] Salkar, R.A., Jeevanandam, P., Aruna, S.T., Koltypin, Y., Gedanken, A. (1999) The sonochemical preparation of amorphous silver nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry.* 9: 1333-1335.

[7] Starowicz, M., Stypula, B., Banas, J. (2006) Electrochemical synthesis of Silver nanoparticles. *Journal of Electrochemistry Communications.* 8, 227-230.

[8] Yin, H., Yamamoto, T., Wada, Y., Yanagida, Sh. (2004) Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. *Journal of Materials Chemistry and Physics.* 83, 66-70.

[9] Gaedea, T., Jorge, L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons. J. G., Troiani, H., Miguel, J. Y. (2003) Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Langmuir.* 19, 1357-61.

[10] Song, J., Yong Kim. (2009) Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Journal of Bioprocess and Biosystems Engineering.* 32, 79-84.

[11] Virender, K., Sharma, Y., Ria, A., Lin, Y. (2009) Silver nanoparticles: Green synthesis

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، 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 تأثیر پارامترهای مؤثر ذکر شده بررسی و بهینه شدند. شکل و اندازه تمامی نمونه‌های بدست آمده 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 میکروارگانیسم‌ها، 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 زیست محیطی تولید نانوذرات، این روش‌ها به عنوان دوستدار محیط زیست نیز مورد توجه می‌باشند.

5- سپاسگزاری

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند مراتب سپاس خود را از همکاران محترم آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مجتمع آموزش عالی سراوان و آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی فیتوشیمی دانشگاه سیستان و بلوچستان اعلام نمایند. همچنین از مهندس مجتبی حسین پور مسئول محترم آزمایشگاه نانوتکنولوژی دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی جهت تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

6- منابع

[1] عشیری، س، صفری، ج، «فروردین 92»، «تهیه نانوذرات

- Using Garlic Extract. Journal of Nanomaterials. 26, 1-12.
- [21] Iravani, S., Zolfaghari, B. (2013) Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Pinus eldarica* Bark Extract. BioMed Research International. 78; 1-5.
- [22] Chandran S. P, Chaudlhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. (2006) synthesis of Gold nanoparticles and Silver nanoparticles using *Aleovera* plant extract. Biothechnolprog, 22, 577-583.
- [23] محصلی، ط، پورسیدی، ش. (بهار و تابستان 1394) «ستز سبز و تعیین مشخصات نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی بذر گیاه کنجد». زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، دوره 6، شماره 1، صص. 1-6.
- [24] صادقی، ز، ولیزاده، ج، عزیزیان شرمه، الف. (تابستان 1394) «بررسی میزان فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی صمغ گیاه *Pistacia atlantica* از منطقه سراوان (استان سیستان و بلوچستان)». فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، شماره پیاپی 10، سال سوم، شماره 2، صص. 18-27.
- [25] Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian Shermeh, O., Akaberi, M. (2015) Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchistan, Iran. Avicenna J Phytomed. 5 (1), 1-9.
- [26] Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian Shermeh, O. (2014) Antioxidant activity and total phenolic contents of some date varieties from Saravan Region, Baluchestan, Iran, Journal of Medicinal Plants Research . 78-83.
- [27] سیاهپوش، الف، گل فخر آبادی، ف، جورکش، ف. (1390) «تعیین و مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و متانولی میوه خرما واریته دیری آبادان». مجله پژوهشی پژوهش در پزشکی، دوره 35، شماره 2، صص. 81-86.
- [28] Amiri, H. (2011) Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Salvia multicaulis* Vahl. J Med Plants. 8 (1), 111-7.
- [29] Rezzan, A., Ozan, E., Huseyin, S. (2013) Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. African and their antimicrobial activities. Journal of Advances in Colloid and Interface Science. 145, 83-96.
- [12] Bankar, A. B., Joshi, B., Kumar, A. R., Zinjarde, S. (2010) Banana peel Extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. Journal of Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 368, 58-63.
- [13] Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B. (2011) Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Polythia longifolia* Leaf Extract along with D-Sorbitol: Study of Antibacterial Activity. Journal of Nanotechnology. 2011, 152970-152974.
- [14] Ghahreman, A. (1999) Cormophytes of Iran (plant systematics). 2nd ed. Vol 2, Tehran Univ Press. PP 203-204.
- [15] Ahmadsoltani, A., Rozbeh, H., Kamali, M. (2010) Introduction of species *Capparis spinosa* L. Sabzineh. 50, 55-61.
- [16] راشدی، ه، امیری، الف، قارزی، الف. (1393) «بررسی فیتوشیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه مار استان خوزستان». مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین. سال هجدهم، شماره 6، پی در پی 77، صص. 11-17.
- [17] Zia-Ul-Haq, M., Cavar, S., Qayum, M. (2011) Compositional studies: antioxidant and antidiabetic activities of *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew. International J Molecular Sci. 12 (12), 8846-61.
- [18] Ramtek, C., Chakrabarti bijayasaranghi, T., pandey, R. A. (2013) synthesis of silver nanoparticles from the Aqueous extract of leaves of *Ocimum sanctum* for enhanced anantibacterial activity. Journal of Chemistry. 2013, 1-7.
- [19] کابلی فرشچی، ه، عزیزی، م، عرفانی، ح. (1391) «ساخت نانوذرات با استفاده از گیاه *Kelussia odoratissima* و اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف آن». سومین همایش بین المللی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، دانشگاه مشهد، صص. 330
- [20] VonWhite, G., Kerscher, P., Brown, R., D.Morella, J., McAllister, W., Dean, D., Kitchens, Ch. (2012) Green Synthesis of Robust, Biocompatible Silver Nanoparticles

- [37] Armendariz, V., Herrera, I., Peralta-Videa, J. R., Jose-Yacamán, M. (2004) Size Controlled Gold Nanoparticle Formation by Avena Sativa Biomass: Use of Plants in Nanobiotechnology. *Journal of Nanoparticle Research*. 6, 377.
- [38] Mironov, I. V., Makotchenko, E. V. (2009). The Hydrolysis of $AuCl_4^-$ and the Stability of Aquachlorohydroxocomplexes of Gold (III) in Aqueous Solution. *J Solution Chem*. 38, 725.
- [39] Dwivedi, A. D., Gopal, K. (2010) Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract, *Colloids and Surfaces A*. 369, 1–3, 27–33.
- [40] فروغیراد، س.، خطیبزاده، م. (1394) «تهیه سبز نانوذره‌های نقره مورد استفاده در جوهرهای رسانا به روش سونوشیمیایی»، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، 34 (1)، صص. 9-1.
- [41] Dwivedi A. D., Gopal K. (2010) Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract, *Colloids and Surfaces A*, 369(3): 27–33.
- [42] Mock J. J., Barbic M., Smith D. R., Schultz D. A., Schultz S. (2002) Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles, *The Journal of Chemical Physics*, 116: 6755-6759.
- [43] Kathiravan V., Ravi S., Ashokkumar S., Velmurugan S., Elumalai K., Khatiwada Ch. P. (2015) Green synthesis of silver nanoparticles using *Croton sparsiflorus* morong leaf extract and their antibacterial and antifungal activities, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139: 200-205.
- J Biotechnology. 12 (47), 6643-9.
- [30] Abderrahmane, S., Daoud, H., Hani, B. (2011) Radical, metal-chelating and antibacterial activities of methanolic extract of *Capparis spinosa* buds. *Advances in Environmental Biology*. 5 (2), 287-291.
- [31] Lekhmici, A., Abderrahmane, B., Djamila, A. (2012) Studies of antioxidants and xanthine oxidase inhibitory potentials of root and aerial parts of medicinal plant *Capparis spinosa* L. *The American J the Med Sci*. 2 (1), 25-32.
- [32] Nikoobakht, B., Wang, J., El-Sayed, M. A. (2002) Surface-enhanced Raman scattering of molecules adsorbed on gold nanorods: offsurface plasmon resonance condition. *Chemical Physics Letters*. 366, 1-2, 17–23.
- [33] Rajasekharreddy, P., Rani, P. U., Sreedhar, B. (2010) Qualitative assessment of silver and gold nanoparticle synthesis in various plants: a photobiological approach. *Journal of Nanoparticle Research*. 12, 5, 1711–1721.
- [34] Dubey, S. P., Lahtinen, M., Sillanp, M. (2010) Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry*. 45, 7, 1065–1071.
- [35] Waghmar S. S., Deshmukh A. M., Sadowski Z. Biosynthesis, optimization, purification and characterization of gold nanoparticles, *African journal of microbiology research*, 8 (2), 138-146, 2014.
- [36] Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K., J, Gamez, G., Dokken, K., Tehuacanero, S., Jose-Yacamán, M. (1999) Gold Nanoparticles Obtained by Bio-Precipitation from Gold(III) Solutions. *Journal of Nanoparticle Research*. 1 (3), 397-404.