

Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using Persian Clover Seed Extracts

Mehrdad Khatami^{1*}, Meysam Soltaninejad², Keyghobad Kaikavoosi³

¹*Bam University of Medical Sciences, Bam, Iran.*

²*Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.*

³*Faculty of Technology & Engineering, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Sistan & Balochestan, Iran.*

****Corresponding Author:***
Mehrdad Khatami, Bam University of Medical Sciences, Bam, Iran.

Email:
mehrdad7khatami@gmail.com

Received: 27 Jun, 2015

Accepted: 3 Aug, 2015

Abstract

Background and Objectives: Synthesis of gold nanoparticles is very valuable due to its numerous applications in detection of pathogens, cancer therapy and targeted drug delivery. In this study, the synthesis of gold nanoparticles using Persian clover seed extract as a natural source of both reducing and stabilizing agents, was investigated.

Methods: Change of the color of clover seed extract immediately after treatment with hydrogen gold tetrachloride showed the first visible sign of the synthesis of gold nanoparticles. The synthesized nanoparticles were characterized using UV visible spectrophotometry, X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and transmission electron imaging (TEM).

Results: The broad and strong peak of UV visible spectrophotometry at a wavelength of 534 nm indicated the formation of gold nanoparticles. X-ray diffraction pattern confirmed the formation of crystalline structure of gold nanoparticles. The results of Fourier transform infrared spectroscopy showed the involvement of aromatic, amine, and carboxyl groups exist in Persian clover seed extract in the synthesis of gold nanoparticles. Transmission electron image identified the formation of spherical nanoparticles with a size range of 1-30nm and with the most frequency in size of 20-25nm. Synthesized gold nanoparticles remained stable in vitro for up to 2 months with no sediment production or reduction in the frequency of gold nanoparticles.

Conclusion: With respect to the results of this study, biosynthesis of gold nanoparticles was very low-cost and without need of energy. The synthesized gold nanoparticles can be used in researches on detection of pathogens, cancer therapy, and targeted drug delivery.

Keywords: Biosynthesis; Metabolism; Gold nanoparticles; X-ray diffraction.

سنتز زیستی نانوذرات طلا با استفاده از تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی

مهرداد خاتمی^{۱*}، میثم سلطانی‌نژاد^۲، کیقباد کیکاووسی^۳

چکیده

^۱ دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۲ دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

^۳ دانشکده فنی و مهندسی، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیستان و بلوچستان، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

مهرداد خاتمی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

mehرداد7khatami@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۶

تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۲

زمینه و هدف: سنتز نانوذرات طلا به دلیل کاربردهای فراوان در شناسایی عوامل بیماری‌زا، درمان سرطان و دارورسانی هدفمند، بسیار ارزشمند است. در این مطالعه سنتز نانوذرات طلا با استفاده از تراوش‌های بذر گیاه زراعی شبدر به‌عنوان منبع طبیعی هر دو عامل کاهش‌دهنده و پایدارکننده بررسی شد.

روش بررسی: تغییر رنگ تراوش‌های بذر شبدر بلافاصله بعد از تیمار با هیدروژن تتراکلرید طلا، اولین علامت قابل مشاهده از سنتز نانوذرات طلا را نشان داد. نانوذرات تولیدشده با استفاده از UV visible اسپکتروفتومتری، پراش اشعه ایکس، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه و عکس‌برداری الکترونی عبوری، تعیین مشخصات شد.

یافته‌ها: پیک قوی و پهن UV visible اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۴ نانومتر، تشکیل نانوذرات طلا را نشان داد. الگوی پراش اشعه ایکس، تشکیل ساختار کریستالی نانوذرات طلا را تأیید کرد. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه، نشان‌دهنده درگیری گروه‌های آروماتیک، آمین و کربوکسیل موجود در تراوش‌های بذر شبدر ایرانی در سنتز نانوذرات طلا بود. عکس الکترونی عبوری، تشکیل نانوذرات کروی شکل را با دامنه اندازه ۳۰-۱ نانومتر و با بیشترین فراوانی در اندازه ۲۵-۲۰ نانومتر مشخص کرد. نانوذرات طلا سنتز شده تا ۲ ماه در شرایط آزمایشگاهی، بدون هیچ گونه تولید رسوب یا کاهش در فراوانی نانوذرات طلا، پایدار ماند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، سنتز زیستی نانوذرات طلا، بسیار کم‌هزینه و بدون نیاز به مصرف انرژی است. نانوذرات طلا سنتز شده دارای اندازه بسیار مناسبی بوده که برای استفاده در مطالعات مرتبط با شناسایی عوامل بیماری‌زا، درمان سرطان و دارورسانی هدفمند می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: سنتز زیستی؛ متابولیسم؛ نانوذرات طلا؛ پراش اشعه ایکس.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Khatami M, Soltaninejad M, Kaikavoosi K. Biosynthesis of gold nanoparticles using persian clover seed extracts. Qom Univ Med Sci J 2016;10(2):23-30.

مقدمه

نانوذرات فلزی از جمله نانوذرات طلا و نقره به‌علت طیف وسیع کاربردهای آن در علوم مختلف پزشکی، کشاورزی، فیزیک و شیمی، مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار دارند. از کاربردهای مهم نانوذرات طلا می‌توان به کاربرد در علوم زیستی و پزشکی (۱، ۲)، دارورسانی، کاتالیزوری در شیمی (۳)، ایمنی‌سنجی (۴) و درمان سرطان (۱) اشاره کرد. روش‌های متفاوت فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای سنتز نانوذرات طلا و نقره وجود دارد. سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی به دلیل معایبی از جمله چندمرحله بودن فرآیند سنتز، وابسته بودن به دستگاه‌های پیشرفته، نیاز به صرف انرژی زیاد و تولید مواد آلوده‌کننده محیط زیست؛ با محدودیت روبرو است. بنابراین، روش‌های زیستی سنتز نانوذرات با استفاده مستقیم (۵) و غیرمستقیم (عصاره، تراوش) از موجودات زنده مانند باکتری‌ها (۶)، قارچ‌ها و گیاهان (۷، ۸) مطرح شده است. به دلیل احتمال وجود بیماری‌زایی در برخی عوامل میکروبی و سخت‌بودن مراحل کشت اکتینومیست، باکتری و قارچ، و نیاز به محیط کشت‌های پیچیده و گران‌قیمت، هم‌اکنون سنتز زیستی نانوذرات فلزی، به‌ویژه طلا و نقره با استفاده از گیاهان مختلفی که هرکدام حاوی ترکیبات متفاوتی است، مورد توجه واقع شده است (۹، ۱۰). تاکنون سنتز نانوذرات طلا با گیاهانی نظیر آلئوئه‌ورا (۱۱) و یونجه (۵) گزارش شده است. شبدر ایرانی، گیاهی زراعی است که در ایران بیشتر به‌عنوان علوفه دام مصرف می‌شود و غنی از پروتئین، آنزیم‌ها و حاوی ساپونین و ترکیبات فنلی (فنولیک اسید و فلاونوئید) می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان ترکیبات طبیعی گیاهی باعث کاهش یون طلا و تبدیل آنها به نانوذرات طلای پایدار شوند (۱۲، ۱۳). عصاره‌های گیاهی تهیه‌شده از برگ، ساقه، ریشه، گل و بذر گیاهان، به‌واسطه تفاوت در ترکیبات، اثرات متفاوتی بر میزان و مشخصات نانوذرات تولیدی دارند. در این مطالعه از تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی به‌عنوان روشی ساده، کم‌هزینه و بدون نیاز به استفاده از مواد مخرب محیط زیست و سریع برای سنتز زیستی نانوذرات طلا استفاده گردید، و سنتز نانوذرات طلا

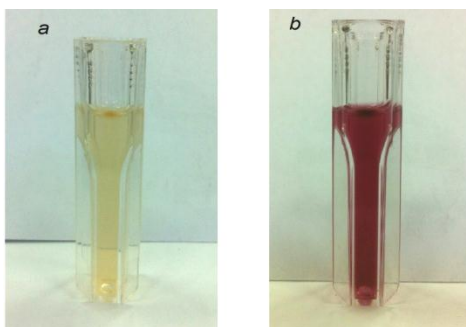
به روشی بیولوژیک در شرایط دما و فشار استاندارد (اتاق)، بدون استفاده از حلال‌های شیمیایی به‌عنوان کاهش‌دهنده و پایدارکننده بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه ابتدا هیدروژن تتراکلراید طلا (HAuCl_4) از شرکت مرک آلمان تهیه گردید و سپس بذر گیاه شبدر ایرانی در محوطه دانشگاه کرمان شناسایی، جمع‌آوری و در هر بار یوم گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان با شماره Kf1609، ذخیره و به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفت:

۱- **تهیه تراوش بذر:** مقدار ۲۰ گرم بذر گیاه شبدر ایرانی برای حذف گرد و خاک سطحی، ۲ بار و هر بار یک دقیقه با آب شست‌وشو داده شد. در مرحله بعد، بذرها به مدت ۴ دقیقه با محلول هیپوکلرید سدیم ۱٪، ضدعفونی و سپس ۳ بار و هر بار به مدت ۲ دقیقه با آب ۲ بار تقطیرشده استریل شست‌وشو داده شدند. در نهایت، بذرها به مدت ۲ دقیقه با الکل ۷۰٪، ضدعفونی و سپس ۳ بار و هر بار ۲ دقیقه با آب دیونیزه استریل شست‌وشو شدند. به‌منظور تهیه تراوش‌های بذر، بذرها ضدعفونی‌شده داخل هود لامینار به ارلن حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه استریل اضافه گردید و به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و در تاریکی قرار گرفتند، سپس بذرها بیرون ریخته شدند و مایع رویی باقیمانده، به‌منظور حذف هرگونه ذره درشت با ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه ساترینفوژ شد که در نهایت، با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ فیلتر گردید و تا انجام مراحل بعدی در دمای ۴ درجه سانتیگراد در تاریکی نگهداری شد (۹). از عصاره حاصل برای سنتز نانوذرات طلا استفاده گردید.

۲- **سنتز نانوذرات طلا:** به‌منظور سنتز نانوذرات طلا، ۳۰ میلی‌لیتر از تراوش‌های بذر حاصل، با غلظت نهایی ۱ میلی‌مولار هیدروژن تتراکلراید تیمار شد. تغییر رنگ عصاره از زرد روشن به قرمز بعد از تیمار تراوش‌ها با هیدروژن تتراکلراید طلا، به‌عنوان اولین علامت نشانگر سنتز نانوذرات طلا ظاهر گردید (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱: تغییر رنگ تراوش‌های بذر شبدر ایرانی از زرد روشن (a) به قرمز (b)، بلافاصله بعد از تشکیل نانوذرات طلا.

۳- تعیین مشخصات نانوذرات

۳,۱- UV visible اسپکتروفوتومتری: به منظور مطالعه قابلیت ترکیب‌های طبیعی تراوش شده از بذر شبدر ایرانی در تبدیل یون طلا تولیدشده از محلول هیدروژن تتراکلرید طلا به نانوذرات طلا، نمونه با استفاده از دستگاه UV visible اسپکتروفوتومتری جذبی از نوع Scan Drop (محصول شرکت Analytic Jena ساخت آلمان) با توجه به طول موج جذبی نانوذرات طلا در دامنه ۵۵۰-۷۰۰ نانومتر (۱۷-۱۴) و در طول موج با دامنه ۴۰۰-۵۵۰ نانومتر بررسی شد.

۳,۲- پراش اشعه ایکس (X-ray diffraction): برای بررسی قابلیت تراوش‌های بذر شبدر ایرانی در تشکیل کریستال‌های طبیعی طلا، آنالیز پراش اشعه ایکس انجام گرفت. جهت تهیه نمونه پودری جهت انجام آنالیز، میزان ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون نانوذرات طلا سنتز شده با دور ۱۵۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی بیرون ریخته شد و دوباره با استفاده از آب دیونیزه به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این کار ۳ بار تکرار شد و رسوب نهایی در دمای ۶۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت خشک و از پودر حاصله برای آنالیز پراش اشعه ایکس با استفاده از دستگاه مدل X PERTPRO، PANalitical (ساخت هلند) و با تابش $\lambda=1/54$ در زاویه 2θ در درجه با دامنه ۸۵-۲۰ استفاده شد.

۳,۳- طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR): آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه برای تعیین مولکول‌ها و گروه‌های عاملی زیستی مسئول سنتز نانوذرات طلا انجام شد. برای آماده‌سازی نمونه پودری برای انجام آنالیز، ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تراوش‌های بذر شبدر فاقد نانوذرات و ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون تراوش‌های بذری حاوی نانوذرات طلا سنتز شده،

هرکدام جداگانه به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند و بعد از بیرون ریختن فاز رویی، نمونه‌ها در ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و سپس جهت آنالیز پودر حاصل، از دستگاه FTIR (مدل Tensor 27 ساخت آلمان) استفاده گردید.

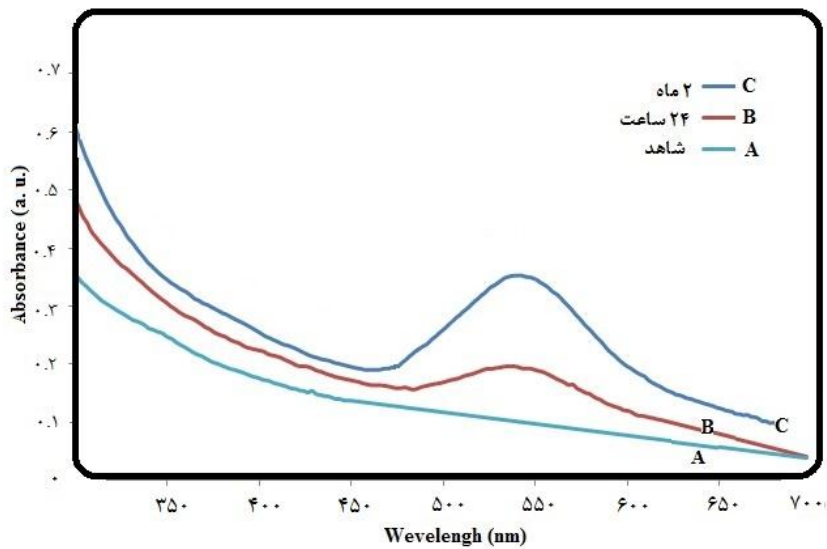
۳,۴- عکس‌برداری الکترونی (TEM): ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تراوش‌های بذری حاوی نانوذرات طلا سنتز شده، به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک شدند. سپس مقداری از آن روی گرید دارای فیلم کربنی ریخته شد و در مجاورت هوا در دمای اتاق و بدون استفاده از حرارت خشک گردید. عکس‌برداری الکترونی عبوری از گرید حاصل برای تعیین اندازه، شکل و نحوه توزیع نانوذرات طلا با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (مدل ZEISS، ساخت آلمان) انجام گرفت.

یافته‌ها

سنتز نانوذرات طلا با کاهش یون طلا از Au^{3+} به Au^0 با چشم غیر مسلح به روشنی قابل تشخیص بود. بدین صورت که در کمتر از یک ساعت بعد از تیمار تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی با هیدروژن تتراکلرید طلا، تغییر رنگ از زرد روشن به قرمز رخ داد، در صورتی که در تراوش‌های بذری شاهد فاقد تیمار با هیدروژن تتراکلرید، تغییر رنگی مشاهده نشد (شکل شماره ۱). طیف جذبی حاصله از UV visible اسپکتروفوتومتری تراوش‌های بذری حاوی نانوذرات طلا، پیک جذبی قوی و پهن را در طول موج ۵۳۴ نانومتر نشان داد، در حالی که تراوش‌های بذری گیاه شاهد فاقد هرگونه جذبی در طول موج فوق بود (شکل شماره ۲). بنابراین، سنتز نانوذرات طلا با استفاده از تراوش‌های بذری گیاه شبدر ایرانی تأیید گردید.

نانوذرات طلا سنتز شده تا ۲ ماه در شرایط دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و در تاریکی، بدون هیچ گونه تولید رسوب، پایدار باقی

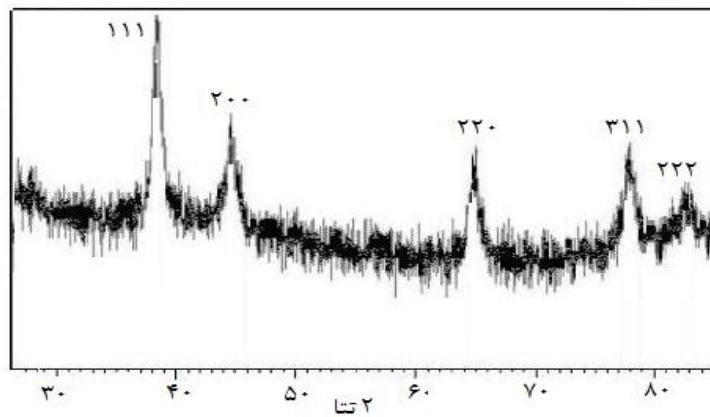
ماند (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: طیف اسپکتروفوتومتری نانوذرات طلا سنتز شده با تراوش‌های بذر شبدر ایرانی در زمانهای مختلف
A: زمان صفر B: ۲۴ ساعت و C: ۲ ماه بعد از تیمار با هیدروژن تتراکلرید طلا.

۲۲۰، ۳۱۱ و ۲۲۲ مرتبط بودند. الگو پراش اشعه ایکس نیز سنتز نانوذرات طلا را در ساختار مکعبی مراکز وجوه پُر (FCC) در نمونه نشان داده است (نمودار شماره ۲).

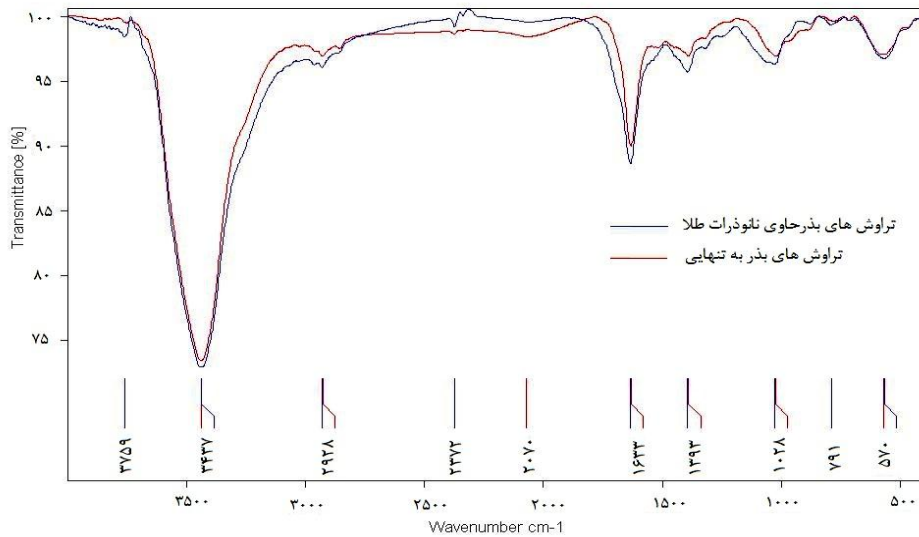
الگو طیف به دست آمده از پراش اشعه ایکس در زاویه ۲θ و در درجه با دامنه ۸۵-۲۰، پیک‌های قوی در درجه‌های ۳۸، ۴۴، ۶۴، ۷۷ و ۸۲ را نشان داد که به ترتیب با سطوح کریستالی ۱۱۱، ۲۰۰،



نمودار شماره ۲: الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات طلا سنتز شده با تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی.

مانند ترکیبات فنلی را نشان می‌دهد، ولی ممکن است گروه‌های آزاد آمیدی ($-NH_2$) و کربوکسیلی ($-COOH$) با اثر متقابل با سطح طلا، نانوذرات طلای پایدار تولید کنند. باندهای ضعیف در 2926 و 2928 cm^{-1} مربوط به گروه‌های نامتقارن C-H است. نتایج حاصل از مادون قرمز تبدیل فوریه، حضور گروه‌های آروماتیک اسید آمینه‌ها را به عنوان هر دو عامل کاهش‌دهنده و پایدارکننده نانوذرات طلا نشان می‌دهد (نمودار شماره ۳).

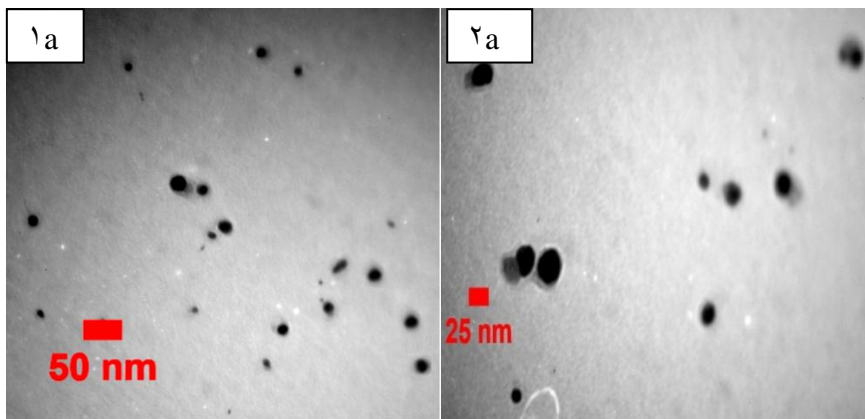
نمودار شماره ۳ طیف حاصل پیک قوی و پهنی را در 3437 cm^{-1} نشان می‌دهد. پیک موجود در محدوده 1633 و 1393 cm^{-1} به دلیل حضور گروه‌های کربوکسیلی C=O و C-O می‌باشد (۱۶، ۱۵). پیک قوی در 1631 cm^{-1} مربوط به گروه آمید-۱ (N-H) و پیک 1633 cm^{-1} مربوط به گروه آمید-۲ می‌باشد (۱۷). پیک آمید-۱ در تراوش‌های بذر نسبت به آمید-۲ در تراوش‌های بذر حاوی نانوذرات طلا تغییر می‌کند. هرچند در طیف حاصل از مادون قرمز تبدیل فوریه گروه‌های عاملی متفاوتی



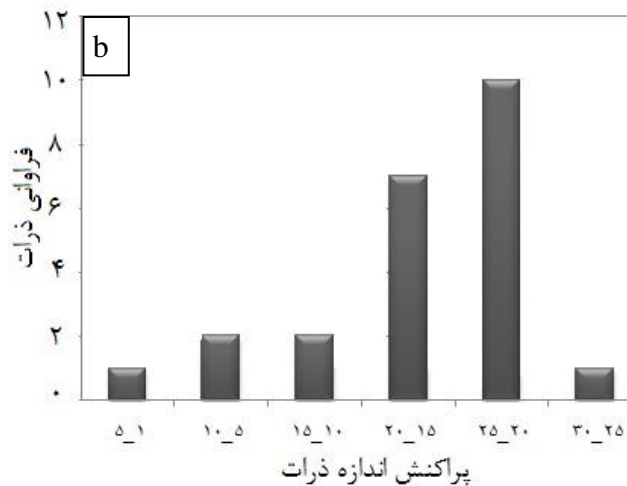
نمودار شماره ۳: طیف مادون قرمز تبدیل فوریه تراوش‌های بذر شبدر و تراوش‌های بذر شبدر حاوی نانوذرات طلا. فرکانس‌های ارتعاشی مختلف حاصل از طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه روی تراوش‌های بذر و تراوش‌های حاوی نانوذرات سنتز شده در محدوده $4000-400 \text{ cm}^{-1}$.

طلا در اندازه‌ای با دامنه ۳۰-۱ نانومتر با بیشترین فراوانی در محدوده با دامنه ۲۵-۲۰ نانومتر می‌باشد (نمودار شماره ۴).

عکس‌برداری الکترونی عبوری، سنتز نانوذرات طلای کروی شکل را اثبات کرد (شکل A - B). نتایج، بیانگر سنتز نانوذرات



شکل ۲-A: عکس الکترونی عبوری نانوذرات طلا سنتز شده با تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی در مقیاس ۲۵ (۱a) و ۵۰ نانومتر (۲a).



نمودار شماره ۴: پراکنش اندازه نانوذرات طلای قابل مشاهده در عکس الکترونی عبوری (b).

بحث

نانویوتکنولوژی دارای حوزه مهمی از تحقیقات در مورد سنتر زیستی نانوذرات طلا می باشد. از مهم ترین کاربردهای نانوذرات طلا، پتانسیل بالای آن در درمان سرطان است (۱۵). سنتر زیستی نانوذرات طلا در واقع، قدمی برای سبز نگهداشتن محیط زیست است؛ زیرا توسعه و کشف راههای بیولوژیکی برای سنتر نانوذرات باعث جایگزینی روش زیستی به جای روش های شیمیایی رایجی می شود که برای سنتر نانوذرات نیاز به مصرف انرژی بالا، حلال های شیمیایی و تولید مواد آلوده کننده محیط زیست دارند. در مطالعه حاضر برای سنتر زیستی نانوذرات طلا، به هیچ گونه انرژی و حلال های شیمیایی نیاز نبود و تراوش های بذر گیاه شبدر ایرانی، توانایی بالایی در سنتر نانوذرات طلا از محلول ترا کلرید طلا را نشان دادند. بنابراین، این ترکیبات می توانند به عنوان یک منبع زیستی تولید نانوذرات طلا قابل حل در آب برای تولید در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار گیرند.

نتایج آنالیزها سنتر نانوذرات طلا را تأیید می کند. تغییر رنگ و طیف جذبی حاصله از UV visible اسپکتروفتومتری تراوش های بذری حاوی نانوذرات طلا، پیک جذبی قوی و پهن در ۵۳۴ نانومتر را نشان داد که بسیار مشابه با نتایج منتشر شده قبلی می باشد (۱۴، ۱۸). سلطانی نژاد و همکاران در مطالعه خود، پیک طیف جذبی حاصله از UV visible اسپکتروفتومتری را در ۵۵۰ نانومتری نشان دادند که مربوط به نانوذرات طلای مثلثی شکل با اندازه بین ۵۰-۲۰ نانومتری بود (۱۹). اختلاف بین نتایج این تحقیق (۵۳۴ نانومتر) و نتایج سلطانی نژاد و همکاران به علت تفاوت در اشکال و محدوده نانوذرات سنتر شده در دو تحقیق است و نشان دهنده، تأثیر شکل و اندازه ذرات سنتر شده بر حداکثر جذب در طیف مذکور می باشد. افزایش میزان جذب مشاهده شده در طیف جذبی حاصله از UV visible اسپکتروفتومتری در طول زمان به علت افزایش میزان تبدیل یون طلا به نانوذرات طلا بوده و نشان دهنده تبدیل یون های طلا به نانوذرات طلا در طول زمان مشخص است (۲۰). تغییر رنگ و پیک مشاهده شده در طول موج ۵۳۴ نانومتری در طیف اسپکتروفتومتری منسوب به رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)، ناشی از نوسانات جمعی الکترون های

آزاد القا به وسیله تعامل با میدان الکترومغناطیسی است که برای هر نوع ذرات در هر اندازه، ذرات اختصاصی و مختص خود آن نانوذرات می باشد (۲۱). نتایج حاصل از مادون قرمز تبدیل فوری، تأثیر احتمالی اسید آمینه ها را به عنوان هر دو عامل کاهش دهنده و پایدارکننده نانوذرات طلا نشان داد. پیش از این نیز Bankar و همکاران تأثیر پروتئین ها را بر سنتر نانوذرات گزارش کردند (۱۶). همچنین در تحقیقی که اخیراً منتشر شده است نانوذرات طلا با استفاده از پروتئین خالص شده، سنتر شد که تأییدکننده تأثیر پروتئین ها و اسید آمینه های موجود در عصاره گیاهی در سنتر می باشد (۲۲). اگرچه نقش پروتئین ها در فرآیند سنتر نانوذرات به اثبات رسیده است، اما مکانیزم عمل آن هنوز مشخص نشده و حتی گزارشهایی مبنی بر تأثیر سایر ترکیبات زیستی موجود عصاره در سنتر نانوذرات موجود است، به طوری که Filippo و همکاران در مطالعه خود تأثیر کربوهیدرات ها مانند گلوکز، مالتوز (۲۳)، Speth و Varma نیز اثر فلاونوئیدها در سنتر نانوذرات را گزارش کردند (۲۴). نتایج پراش اشعه ایکس به دست آمده در این تحقیقات کاملاً مشابه نتایج منتشر شده قبلی است (۶، ۷). عکس برداری الکترونی عبوری، سنتر نانوذرات طلای کروی شکل را در اندازه ای با دامنه بین ۳۰-۱ نانومتر با بیشترین فراوانی در اندازه ای با دامنه ۲۵-۲۰ نانومتر نشان می دهد، به طور کلی نانوذرات طلای سنتر شده، اندازه ای زیر ۲۵ نانومتر دارند. Narayanan و Sakthivel، سنتر نانوذرات را در محدوده اندازه بین تقریباً ۶۰-۶ نانومتر گزارش کردند (۲۵). Shi و همکاران نیز با استفاده از گیاه *Pycnoporus sanguineus* نانوذرات طلا را با اندازه ای در محدوده ۶۰-۳۰ نانومتری سنتر کردند (۲۶). سلطانی نژاد و همکاران نیز با استفاده از روش زیستی، سنتر نانوذرات طلا را در محدوده اندازه بین ۱۰۰-۱۰ نانومتری گزارش کردند (۱۹). همچنین اسلام و همکاران با استفاده گال درخت پسته، سنتر نانوذرات طلا را در محدوده اندازه بین ۲۰۰-۲۰ نانومتری گزارش کردند (۲۷)، که بسیار دامنه وسیعی را شامل می شود، اما نانوذرات سنتر شده در این تحقیقات، دامنه اندازه محدودتر و همگن تری را نشان می دهد که می تواند باعث افزایش کارایی در فعالیتهای پزشکی و آزمایشگاهی گردد. سوسپانسیون نانوذرات طلا سنتر شده تا ۲ ماه در شرایط اتاق،

بدون هیچ‌گونه رسوبات، پایدار باقی ماندند.

تشکر و قدردانی

نتیجه‌گیری

بدین وسیله از ستاد نانو ایران برای حمایت از پژوهشگران حوزه نانوفناوری، تشکر و قدردانی می‌نماییم. از جناب آقای سید پرویز رایگان که با حمایت‌های معنوی زمینه‌ساز به انجام رساندن این تحقیقات شدند کمال تشکر را داریم. از مرحوم آقای مهندس افضل‌پور و همسر ایشان بانو صبا که با بنیان‌گذاری دانشگاه‌های علوم پزشکی کرمان و باهنر کرمان بستر مناسب را برای انجام فعالیت‌های علمی برای ما و آیندگان مهیا ساختند قدردانی می‌نماییم.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان از تراوش‌های بذر گیاه شبدر ایرانی به‌عنوان روشی ساده، کم‌هزینه و بدون نیاز به استفاده از مواد مخرب محیط زیست و سریع برای سنتز زیستی نانوذرات طلا استفاده کرد. در این مطالعه سنتز نانوذرات طلا به روشی بیولوژیک در شرایط دما و فشار استاندارد (اتاق)، بدون استفاده از حلال‌های شیمیایی به‌عنوان کاهش‌دهنده و پایدارکننده انجام شد و نانوذرات طلا کروی شکل با اندازه تقریباً همگن با بیشترین فراوانی، در محدوده اندازه ۲۵-۲۰ نانومتری تولید شدند.

References:

- Jain S, Hirst DG, JO'Sullivan M. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol* 2012;85(1010):101-13.
- Khatami M, Pourseyedi S. Phoenix dactylifera (Date Palm) pit aqueous extract mediated novel route for synthesis high stable silver nanoparticles with high antifungal and antibacterial activity. *IET Nanobiotechnol* 2015;9(4):184-90.
- Lewis LN. Chemical catalysis by colloids and clusters. *Chem Rev* 1993;93(8):2693-730.
- Lee KB, Kim EY, Mirkin CA, Wolinsky SM. The use of nanoarrays for highly sensitive and selective detection of human immune deficiency virus Type 1 in plasma. *Nano Lett* 2004;4(10):1869-72.
- Gardea-Torresdey JL, Parsons JG, Gomez E, Peralta-Videa J, Troiani HE, Santiago P. Formation and growth of au nanoparticles inside live Alfalfa plants. *Nano Lett* 2002;2(4):397-401.
- Soltani Nejad M, Khatami M, Shahidi Bonjar GH. Streptomyces somaliensis mediated green synthesis of silver nanoparticles. *Nanomedicine J* 2015;2(3):217-22.
- Khatami M, Soltani Nejad M, Pourseyedi S. biogenic synthesis of silver nanoparticles using mustard and its characterization. *Int J Nanosci Nanotech* 2015;11(4):281-8.
- Khatami M, Soltani Nejad M, Khatami M, Keikvosi K. Antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized using weed seed exudates against of Bacillus cereus and Acinetobacter baumannii. *J Microbi World* 2015;8(122):18-25.
- Khatami M, Pourseyedi S, Khatami M, Hamidi H, Zaeifi M, Soltani L. Synthesis of silver nanoparticles using seed exudates of Sinapis arvensis as a novel bioresource, and evaluation of their antifungal activity. *Bioresour Bioproc* 2015;2(19):1-7.
- Pulit J, Banach M. Environment friendly method for obtaining gold nanoparticles based on plant extract. *Digest J Nanomater Biostruct* 2013;8(3):1295-300.
- Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract. *Biotechnol Prog* 2006;22(2):577-83.
- Oleszek W, Stochmal A, Janda B. Concentration of isoflavones and other phenolics in the aerial parts of Trifolium species. *J Agric Food Chem* 2007;55(20):8095-100.

13. Simonet AM, Stochmal A, Oleszek W, Macias FA. Saponins and polar compounds from *Trifolium resupinatum*. *Phytochemistry* 1999;51(8):1065-67.
14. Francis G, Thombre R, Parekh F, Leksminarayan P. Bioinspired synthesis of gold nanoparticles Using *Ficus benghalensis* (Indian Banyan) Leaf Extract. *Chem Sci Trans* 2014;3(1):470-74.
15. Lokina S, Narayanan V. Antimicrobial and anticancer activity of gold nanoparticles synthesized from grapes fruit extract. *Chem Sci Trans* 2013;2(S1):105-10.
16. Bankar A, Joshi B, Kumar AR, Zinjarde S. Banana peel extract mediated novel route for synthesis of silver nanoparticles. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2010;368(1-3):58-63.
17. Li Z, Hulderman T, Salmen R, Chapman R, Leonard SS, Young SH, et al. Cardiovascular effects of pulmonary exposure to single-wall carbon nanotubes. *Environ Health Perspect* 2007;115(3):377-82.
18. Ahmad A, Senapathi S, Khan MI, Kumar R, Sastry M. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. *Langmuir* 2003;19(8):3550-53.
19. Soltani Nejad M, Khatami M, Shahidi Bonjar GH. Extracellular synthesis gold nanotriangles using biomass of *Streptomyces microflavus*. *IET Nanobiotechnol* 2016;10(1):33-8.
20. Krishnaraj C, Jagan EG, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan PT, Mohan N. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010;76(1):50-6.
21. Bose D, Chatterjee S. Antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles using *Vasaka* (*Justicia adhatoda* L). *Indian J Microbiol* 2015;55(2):163-7.
22. Khana SA, Ahmad A. Enzyme mediated synthesis of water-dispersible, naturally protein capped, monodispersed gold nanoparticles; their characterization and mechanistic aspects. *RSC Adv* 2014;4:7729-34.
23. Filippo E, Serra A, Buccolieri A, Manno D. Green synthesis of silver nanoparticles with sucrose and maltose: Morphological and structural characterization. *J Non Cryst Solids* 2010;356(6-8):344-50.
24. Nadagouda MN, Speth TF, Varma RS. Microwave-assisted green synthesis of silver nanostructures. *Acc Chem Res* 2011;44(7):469-78.
25. Narayanan KB, Sakthivel N. Coriander leaves mediated biosynthesis of gold nanoparticles. *Mater Lett* 2008;62(30):4588-90.
26. Shi C, Zhu N, Cao Y, Wu P. Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by the intracellular protein extract of *Pycnoporus sanguineus* and its catalysis in degradation of 4-nitroaniline. *Nanoscale Res Lett* 2015;10:147.
27. Islam UN, Jalil K, Shahida M, Muhammad N, Rauf A. *Pistacia integerrima* gall extract mediated green synthesis of gold nanoparticles and their biological activities. *Arabian J Chem* 2015.