

سنتز زیستی، بهینه‌سازی و مشخصه‌یابی نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ دانه

(Hyoscyamus niger) به روش تاگوچیمهلا اسدی^۱ و امین باقی‌زاده^{۲*}^۱ دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی^۲ دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۱

چکیده

در این پژوهش، هدف سنتز سبز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر گیاه بنگ دانه (*Hyoscyamus niger*) در شرایط بهینه‌سازی شده و مشخصه‌یابی نانوذرات تولید شده به منظور تایید و معرفی روش سنتز سبز نانوذرات است. عصاره بذر بنگ دانه به روش هیدروالکلی تهیه و محلول نمک طلای یک میلی‌مولار تحت شرایط نسبت‌های مختلف نمک طلا به عصاره گیاهی، pH، دما (°C) و زمان انکوباسیون به عصاره اضافه گردید. به منظور بهینه‌سازی شرایط از روش تاگوچی استفاده و جدول آرایه‌های متعامد L₈ با چهار فاکتور و سطوح متفاوت طراحی شد. جهت بررسی پیشرفت واکنش، طیف UV-vis آزمایشات ثبت گردید. اندازه نانوذرات طلا سنتز شده توسط DLS تعیین و به عنوان نتیجه جهت تعیین سطوح مناسب هر فاکتور استفاده شد. غلظت ۱۵۰:۴۵۰ میکرولیتر، pH برابر هشت، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و زمان یک ساعت، سطوح بهینه سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه تعیین شد. طیف XRD حضور نانوذرات طلا را اثبات و طیف FTIR عامل‌دار شدن نانوذرات توسط مولکول‌های آلی موجود در عصاره بذر بنگ دانه را تایید کرد. میزان بار الکتریکی ۱۹/۸- در سطح نانوذرات طلا طبق تجزیه زتا تعیین شد. نتایج میکروسکوپی یکنواختی و اندازه مناسب نانوذرات طلا را در محدوده ۱۰ نانومتر نشان داد. نتایج نهایی این پژوهش سنتز زیستی نانوذرات توسط عصاره گیاهان را روشی موثر، مفید، کم هزینه، زیست سازگار، پر بازده و قابل انجام در مدت زمان کوتاه‌تر بیان می‌دارد.

واژه‌های کلیدی: سنتز سبز، *Hyoscyamus niger*، روش تاگوچی، نانوذرات طلا، مشخصه‌یابی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: a.baghizadeh@kgut.ac.ir

مقدمه

دلیل ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بهبود یافته، در فناوری‌های پیشرفته نسبت به ذرات در ابعاد بزرگتر از نانو، پرکاربردتر هستند [۲۱]. ویژگی‌های خاصیت نوری-الکتریکی مربوط به شکل و اندازه، نسبت سطح به حجم زیاد، زیست‌سازگاری بسیار بالا و سمیت کم نانوذرات طلا، آنان را به ابزار نانو زیست فناوری مهمی، تبدیل کرده-استن [۲۰، ۲۲، ۲۸، ۴۵]. نانوذرات در حالت کلی به سه روش فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تولید می‌شوند [۱۴، ۳۲]. تولید زیستی یا سنتز سبز توسط نهاده‌های زیستی که یک روش

فناوری نانو، ساخت مواد، دستگاه‌ها و سیستم‌های کاربردی از طریق کنترل ماده در مقیاس نانومتری (یک تا ۱۰۰ نانومتر) و بهره‌برداری از پدیده‌های جدید و خواص فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی، مکانیکی، الکتریکی و غیره در آن مقیاس است [۱۷]. نانوزیست فناوری علم استفاده از نهاده‌های زیستی، مانند جلبک‌های اکتینومیست، باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، مخمرها و گیاهان، در تعدادی از فرآیندهای بیوشیمی و بیوفیزیک است که اولویت آن تولید، دستوری و استفاده از مواد در مقیاس نانو می‌باشد [۳۸]. نانوذرات به

می‌شود [۱۶، ۲۶، ۴۲]. از تکنیک‌های طیف‌سنجی و میکروسکوپی طیف‌سنج نور مرئی-فرابنفش (UV-visible spectroscopy) پراکندگی دینامیکی نور ((DLS(Dynamic Light Scattering))، میکروسکوپ نیروی اتمی ((AFM(Atomic Force Microscopy))، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM(Transmission Electron Microscopy))، میکروسکوپ الکترونی پیمایشی ((SEM(Scanning electron microscopy))، طیف‌سنج تفرق انرژی ((EDS(Energy dispersive spectroscopy))، پراش پرتو ایکس پودری (XRD(Powder X-ray diffraction))، طیف‌سنج مافوق قرمز تبدیل فوریه ((FTIR(Fourier transform infrared spectroscopy)) و طیف‌سنج رامان برای سنجش نانوذرات سنتز شده استفاده می‌گردد [۳۸]. طراحی آزمایش (DOE(Design of Experiments))، شامل برنامه‌ریزی، آزمایش، ثبت نتایج، تجزیه، تحلیل و تفسیر نتایج است (۲۰). آزمایشات، به صورت مجموعه‌ای از آزمون‌ها شامل ورودی‌های فرآیند (فاکتورها و سطوح آنان)، بررسی شده، ترکیب و نوع مناسب آنان بر اساس خروجی مورد نظر انتخاب و تغییرات پاسخ فرآیند، که در نتیجه تغییر در فاکتورها و سطوح ایجاد شده، شناسایی، ثبت و تجزیه و تحلیل می‌گردد [۹]. روش تاگوچی به هدف طراحی فرآیند مقاوم به شرایط محیطی و تغییرپذیری اجزاء آن و کاهش این تغییرات بر اساس هدف طراحی است که بر اساس مفهوم تابع زیان تعیین می‌شود. در این روش سه مرحله طراحی سیستم، طراحی پارامتر و طراحی تحمل‌پذیری، بررسی می‌شوند. در مرحله طراحی سیستم، مشخصه‌های سیستم بر اساس اصول علمی و مهندسی تعیین می‌شوند و هدف از مرحله طراحی پارامتر، تعیین مقادیر اسمی پارامترها، به هدف کاهش تغییرپذیری ناشی از متغیرهای اختلال است و سپس بهترین تحمل‌پذیری پارامترها، تعیین و پارامتر با حساسیت بیشتر مشخص می‌شود [۶]. در این روش، تجزیه و تحلیل در درجه اول بر نسبت سیگنال به اختلال ((SNR(Signal-to-noise ratio))

پایین به بالا است، پتانسیل قابل ملاحظه‌ای برای افزایش تولید نانوذرات، بدون استفاده از مواد شیمیایی گران، سمی و خطرناک که به طور معمول در فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شوند را دارد [۳۸]. میکروارگانیسم‌ها و گیاهان، توانایی جذب و تجمع یون‌های فلزات معدنی از محیط اطرافشان را دارند [۲۸]. گیاهان به عنوان کارخانه‌های زیستی پتانسیل بالقوه‌ای در کاهش یون‌های فلزی به عنوان روشی تمیز، غیر سمی، بدون نیاز به مراحل آماده‌سازی و نگهداری نسبت به میکروارگانیسم‌ها و سازگار با محیط زیست دارند که در زمینه تولید زیستی نانوذرات فلزی و سم‌زدایی بسیار حائز اهمیت هستند [۲۷، ۳۹]. مطالعات جامع به دنبال تقاضای قابل توجه برای نانوذرات سبز، نشان می‌دهد که استفاده از عصاره گیاهان نگرشی نوین و موثرترین راه برای تولید نانوذرات سازگار با محیط زیست است [۳۳، ۴۰]. عامل کاهش یون‌های فلزی، پوشش‌گذاری و پایداری نانوذرات سنتز شده توسط عصاره گیاهی، ترکیبات فعال آلكالوئیدی، اسید فنولیک، پلی فنول، پروتئین‌ها، تریپنوئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات قندی موجود در عصاره می‌باشد که اختلاف در نوع و غلظت این ترکیبات فعال گیاهی، اساس تغییر در میزان، اندازه و شکل نانوذرات سنتز شده است [۲۴]. فرآیند سنتز زیستی نانوذرات از ترکیب عصاره گیاهی با محلول نمک یون فلزی آغاز و کاهش یون‌های فلزی محلول به سرعت با تغییر رنگ ترکیب مشخص می‌شود. مرحله اول سنتز زیستی، تشکیل هسته به صورت تبدیل یون‌های فلزی از اکسیداسیون تک یا دوگانه به حالت صفر و پس از آن در مرحله دوم رشد هسته، ذرات ریزتر با یکدیگر ترکیب و نانوذرات پایدار با تغییر شکل و اندازه تشکیل می‌شوند (۱۵، ۱۶). سنتز نانوذرات با ساختار پایدارتر در مرحله نهایی سنتز زیستی، توسط ترکیبات موثره گیاهی تحت عوامل خصوصیات عصاره گیاهی (غلظت و نوع ترکیبات)، غلظت و نوع نمک فلزی، pH محلول، دمای واکنش و زمان انکوباسیون که به طور قابل توجهی بر کیفیت، اندازه و شکل نانوذرات سنتز شده تاثیر می‌گذارند، انجام

بذر گیاه بنگ‌دانه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و بذور توسط آب مقطر به منظور حذف آلودگی آبکشی و جهت ضدعفونی نمودن بذور، به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲٪ و ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ قرار گرفتند و پس از هر مرحله ضدعفونی، چند مرتبه توسط آب مقطر آبکشی شدند. سپس بذور در هوای آزاد خشک و از دستگاه آسیاب (Wagtech / ۳۳۰۳) برای تهیه پودر بذور استفاده گردید. عصاره بذر بنگ‌دانه، به دلیل وجود ترکیبات آلکالوئیدی، به روش هیدرو-الکلی تهیه شد [۱۹]. بدین صورت که، در هر مرحله از آزمایش، ۰/۲۵ گرم بذر پودر شده با ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه و ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ ترکیب و به مدت ۴۸ ساعت در یخچال قرار گرفت. سپس محلول حاصل، توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد و جهت تبخیر اتانول، از دستگاه روتاری (Laborita Heidolph/۴۰۰۳) تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی-گراد استفاده گردید. محلول نهایی سفید رنگ کدر دارای ترکیبات سنگین رسوب دهنده نانوذرات سنتز شده است که جهت حذف این ترکیبات، از روش تغییر pH استفاده و سپس در دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ گردید. محلول حاصل توسط دو لایه کاغذ واتمن شماره دو صاف گردید. سپس محلول رویی سفید شفاف به عنوان عصاره نهایی استفاده گردید.

بهینه‌سازی شرایط سنتز نانوذرات طلا به روش تاگوچی:

هدف از طراحی آزمایش تاگوچی، ایجاد بهترین حالت کاهش اثر عوامل اختلال و افزایش تاثیر عوامل تحت کنترل است. از روش طراحی آزمایش تاگوچی به هدف بهینه‌سازی نانوذرات طلا تولید شده با اندازه مناسب توسط عصاره بذر بنگ‌دانه استفاده گردید. انتخاب فاکتورها و سطوح بر اساس بررسی منابع و مطالعات پیشین صورت گرفت. تمامی حالات ممکن این آزمایش با وجود ۴ فاکتور و ۴ سطح متفاوت برای هر کدام، ۲۵۶ حالت است (رابطه (۱)) که در آن N تعداد سطوح، F تعداد فاکتورها و X تعداد کل آزمایشات است. فاکتورها شامل نسبت غلظت نمک طلا به

متمرکز شده است که نسبت به حداکثر رساندن اجرای عملکردی سیستم یا فرآیند، توسط غیر حساس کردن آن به اثرات اختلال به منظور اندازه‌گیری اعتبار آن توصیه می‌کند [۹]. پارامترهای قابل کنترل یا سیگنال، تاثیر مهمی در کاهش تغییرات محصول و افزایش کیفیت آن دارند. پارامترهای غیر قابل کنترل یا اختلال، ممکن است بر کیفیت محصول تاثیر داشته باشند اما توسط آزمایش‌گر انتخاب نمی‌شوند و جهت تغییر کیفیت محصول، قابل تغییر نمی‌باشند [۹]. گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger L.*) از مهم‌ترین و بزرگ‌ترین جنس‌های خانواده Solanaceae حاوی مواد آلکالوئیدی و غیر آلکالوئیدی فراوانی است و در آنالیز کروماتوگرافی گاز مایع عصاره آن، تقریباً ۳۴ نوع آلکالوئید، یافت شده است [۴۴، ۱۰]. بذر این گیاه، دارای غلظت بالایی آلکالوئید و حاوی هیوسيامین، آتروپین، مقدار کمی هیوسین و حاوی ترکیبات غیر آلکالوئیدی لیگنان، کومارینولیگنان-های سلومیسکوزین، لیگنان آمیدها، ساپونین و هیوسيامال می‌باشد (۲۵-۲۸). سنتز زیستی نانوذرات طلا و نقره در گیاهان مختلف از جمله توتون، توت، تاج ریزی، گوجه فرنگی، تنباکو بالدار، فلفل چیلی، فلفل دلمه‌ای و شیرین و زیره سیاه بررسی شده است. نتایج بررسی پژوهش‌های انجام شده در راستای سنتز زیستی نانوذرات فلزی در گیاهان خانواده Solanaceae نشان می‌دهد که بررسی سنتز زیستی نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه تا کنون انجام نشده است و در این پژوهش از روش آماری تاگوچی به منظور طراحی آزمایشات به هدف سنتز نانوذرات طلا در اندازه مناسب با اعمال فاکتورهای نسبت غلظت عصاره بذر و نمک طلا، pH، دما و زمان، استفاده شد.

مواد و روشها

تهیه مواد و آماده‌سازی محلول‌ها: نمک طلا اورئوریک اسید (HAuCl_4) محصول شرکت مرک آلمان تهیه و محلول ذخیره یک میلی مولار آن با توزین ۰/۰۴ گرم نمک طلا و ترکیب با آب دیونیزه، به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

N(اختلال) اثر پارامترهای اختلالی است. مقادیر بالای S/N همواره بهتر است و بیانگر این است که متغیر پاسخ بیشتر تحت اثر متغیرهای کنترل است تا اختلالی [۴۳]. ضریب S/N آزمایشات بر اساس فاکتور کوچکتر بهتر است، برای درصد تاثیر هر فاکتور در سنتز نانوذرات تعیین گردید. در این تحقیق با هدف سنتز نانوذرات طلا در اندازه کوچک، نسبت S/N مناسب از نوع کمتر بهتر است، تعیین گردید (رابطه (۳)).

$$S/N = \frac{-10 \log_{10}(Y_1^2 + Y_2^2 + \dots + Y_n^2)}{n} \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در آن Y متغیر پاسخ برای هر آزمایش و n تعداد تکرار هر آزمایش است. آزمایشی که بالاترین S/N را داشته باشد، بهترین حالت سطوح پارامترها را در بین ۸ آزمایش دارد [۴۱، ۹].

سنتز زیستی نانوذرات طلا: در این مطالعه ۸ آزمایش طراحی شده بر اساس آرایه‌های اورتوگونالی روش طراحی تاگوچی (جدول ۲) تهیه گردید. بدین منظور در هر آزمایش ابتدا نسبت در نظر گرفته شده از نمک طلا به عصاره (۱۰۰:۵۰۰، ۱۰۰:۴۰۰، ۱۵۰:۴۵۰ و ۲۰۰:۴۰۰ تهیه گردید و سپس pH هر نمونه بر اساس سطح هر شماره آزمایش (از بین سطوح ۸ و ۱۰) توسط HCl و NaOH ۱ مولار تنظیم گردید. جهت اعمال تیمار دمایی از حمام آب گرم (Memmert) استفاده گردید. نمونه‌ها در مدت زمان مشخص هر شماره آزمایش (سطوح ۱ و ۲۴ ساعت) در دمای تعیین شده (سطوح ۳۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. در هر آزمایش از عصاره تازه استفاده شد و پس از ترکیب نمک طلا در غلظت‌های معین و تنظیم pH، محلول نهایی در دمای تعیین شده قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان مورد نظر، محلول کلونیدی جهت بررسی رنگ، آنالیزهای جذب مرئی - فرابنفش و پراکندگی دینامیکی نور، مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره بذر، pH، دما و زمان می‌باشند (جدول ۱). تمامی حالات ممکن این آزمایش با وجود چهار فاکتور نسبت غلظت نمک طلا به عصاره بذر (۱۰۰:۴۰۰، ۱۰۰:۵۰۰، ۱۵۰:۴۵۰ و ۲۰۰:۴۰۰)، pH (هشت و ۱۰)، دمای (۳۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان انکوباسیون (یک و ۲۴ ساعت)، ۳۲ آزمایش (۲۵) است (رابطه (۱)) که در آن N تعداد سطوح، F تعداد فاکتورها و X تعداد کل آزمایشات است. فاکتورها شامل نسبت غلظت نمک طلا به عصاره بذر بر حسب میکرولیتر، pH، دما و زمان می‌باشند (جدول ۱). از آنجا که انجام آن‌ها زمان‌بر و هزینه‌بر است بسته به تعداد پارامترها و سطوح آن‌ها، جدول آرایه‌های متعامد روش تاگوچی پیشنهاد می‌شود تا تنها کسری از حالات مورد آزمایش قرار گیرد. انتخاب آرایه متعامد مناسب به درجه آزادی آزمایش بستگی دارد که بر اساس رابطه (۲) محاسبه می‌شود که در آن N تعداد سطوح هر فاکتور، df درجه آزادی کل آزمایش و (N-1) درجه آزادی هر فاکتور است. بنابراین درجه آزادی این آزمایش با توجه به نبود آزمایش‌های اثر متقابل، ۶ می‌باشد. برای انتخاب آرایه متعامد مناسب، درجه آزادی آرایه متعامد باید از درجه آزادی کل آزمایش بزرگ‌تر یا مساوی باشد. پس از جدول پیشنهادی تاگوچی، جدول آرایه متعامد L8 انتخاب گردید. این جدول نشان می‌دهد چه تعداد آزمایش بایست انجام شود و در هر آزمایش، هر پارامتر در چه سطحی از مقادیر انتخابی باشد (جدول ۲).

$$X = (N - 1)F + 1 \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$df = \sum_{i=1}^n (N_i - 1) \quad i=1,2,\dots,n \quad \text{رابطه (۲)}$$

پس از انجام ۸ آزمایش، اندازه نانوذرات سنتز شده به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد و جهت انجام محاسبات آماری از نرم افزار Minitab 18 استفاده گردید. در روش تاگوچی به دو روش آنالیز واریانس و یا نسبت S/N نتایج آزمایش‌ها بررسی می‌شوند. S(سیگنال) اثر پارامترهای قابل کنترل و

جدول ۱- فاکتورها و سطوح تعریف شده در سنتز زیستی نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

فاکتورها	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳	سطح ۴
غلظت (μl)	۱۰۰:۵۰۰	۱۰۰:۴۰۰	۱۵۰:۴۵۰	۲۰۰:۴۰۰
pH	۸	۱۰	-	-
دما (°C)	۳۰	۶۰	-	-
زمان (ساعت)	۱	۲۴	-	-

جدول ۲- آرایه‌های متعامد L8 سنتز زیستی نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

شماره آزمایش	غلظت (میکرولیتر)	pH	دما	زمان
۱	۱۰۰:۵۰۰	۸	۳۰	۱
۲	۱۰۰:۵۰۰	۱۰	۶۰	۲۴
۳	۱۰۰:۴۰۰	۸	۳۰	۲۴
۴	۱۰۰:۴۰۰	۱۰	۶۰	۱
۵	۱۵۰:۴۵۰	۸	۶۰	۱
۶	۱۵۰:۴۵۰	۱۰	۳۰	۲۴
۷	۲۰۰:۴۰۰	۸	۶۰	۲۴
۸	۲۰۰:۴۰۰	۱۰	۳۰	۱

مشخصه یابی نانوذرات طلای سنتز شده: پس از اعمال تیمارهای آزمایش جهت بررسی تشکیل نانوذرات طلا، طیف UV-vis ۸ نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی

طیف UV-vis ۸ نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی Carry ۵۰/Varian) ثبت گردید. بدین منظور حجم مشخصی از هر نمونه در طول موج ۴۰۰-۸۰۰ نانومتر بررسی گردید. حضور پیک در محدوده ۵۰۰-۵۵۰ نانومتر نشانه حضور و سنتز نانوذرات طلا می‌باشد. سپس نمونه‌ها جهت تعیین اندازه نانوذرات طلا سنتز شده به روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS Nano DS SN ۱۶۵) بررسی شدند. پس از آنالیز نتایج و تعیین سطوح بهینه هر فاکتور توسط روش تاگوچی، نمونه بهینه تهیه و در آنالیزهای FTIR (Bruker / TENSOR ۲۷) جهت تعیین ترکیبات موثر در کاهش یون‌های طلا، (X'pert) XRD جهت کریستال شناسی و تایید حضور نانوذرات طلا، (LEO۹۱۲-AB/LEO) TEM جهت تعیین اندازه نانوذرات و Zeta (Malvern)

نتایج

نتایج بهینه‌سازی شرایط سنتز نانوذرات طلای سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

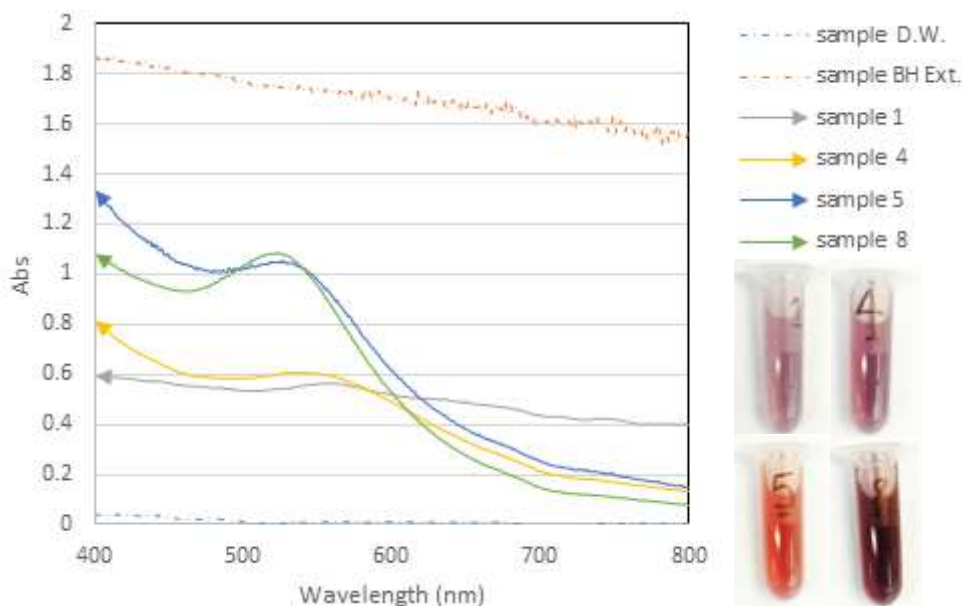
نتایج تغییر رنگ و طیف سنجی مرئی - فرابنفش: پس از تیمار هشت نمونه عصاره بذر بنگ‌دانه با کلرید طلا، تنظیم pH و قرار دادن نمونه‌ها در دمای معین به مدت زمان تعیین شده بر اساس جدول ۲، ویژگی‌های تغییر رنگ و پیک جذبی آنان بررسی شد. با توجه به شکل ۱، نمونه‌های تیمار شده پس از گذشت یک ساعت از رنگ سفید به رنگ صورتی، قرمز و بنفش کم رنگ تغییر رنگ می‌دهند و پس از گذشت ۲۴ ساعت این تغییر رنگ ثابت ماند که حاکی از سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه بود. شکل ۲، بررسی طیف جذبی نانوذرات طلای سنتز شده توسط عصاره

بیشتر نانوذرات است که در مقایسه با نمونه یک با دما و زمان یکسان، تاثیر pH و غلظت بر سنتز بهینه نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه، مشخص شد. با توجه به شکل ۳ طیف جذبی نانوذرات طلای سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه در زمان ۲۴ ساعت، هر چهار نمونه در طول موج ۵۰۰-۶۰۰ نانومتر، پیک داشتند که نشانه سنتز نانوذرات طلا می‌باشد. همچنین طیف نمونه هفت و سه بیشترین جذب و بالاترین پیک را دارند که بیانگر سنتز بیشتر نانوذرات طلا می‌باشد.

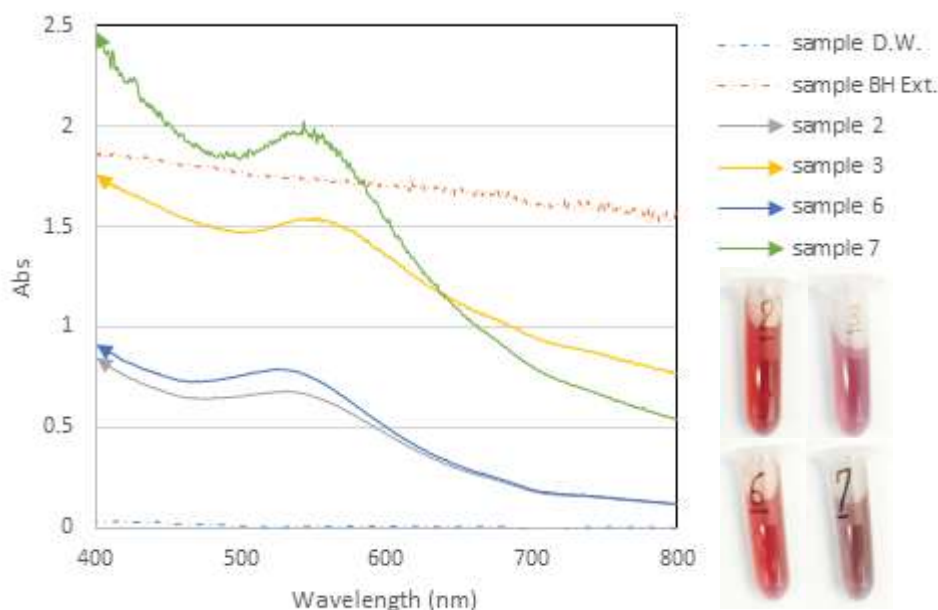
بذر بنگ‌دانه پس از گذشت یک ساعت از تیمار را نشان می‌دهد و با توجه به آن مشخص است که هر چهار نمونه در طول موج ۵۰۰-۶۰۰ نانومتر، حاوی پیک می‌باشند که سنتز نانوذرات طلا را در این چهار نمونه تایید می‌کند. اما در نمونه یک، با نسبت غلظت ۱۰۰:۵۰۰ میکرولیتر نمک طلا به عصاره بذر بنگ‌دانه، pH=۸، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمان یک ساعت کم‌ترین پیک جذبی را دارد که نشان دهنده سنتز کم نانوذرات طلا است و همچنین نمونه هشت، با نسبت غلظت ۲۰۰:۴۰۰ میکرولیتر نمک طلا به عصاره بذر بنگ‌دانه، pH=۱۰، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زمان یک ساعت، بیشترین پیک جذبی را دارد که نشان دهنده سنتز



شکل ۱- تغییر رنگ محلول کلونیدی عصاره بذر بنگ‌دانه



شکل ۲- بررسی سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه ۱ ساعت پس از تیمار نمونه های شاهد: آب دیونیزه (D.W.) و عصاره بذر بنگ‌دانه (BH Ext.)



شکل ۳- بررسی سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه ۲۴ ساعت پس از تیمار نمونه های شاهد: آب دیونیزه (D.W.) و عصاره بذر بنگ‌دانه (BH Ext.)

جدول ۳- اندازه تعیین شده نانوذرات طلا توسط DLS

شماره آزمایش	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
اندازه نانوذرات (nm)	۱۵	۱۳/۳	۷/۱	۷/۴	۳/۸	۶/۷	۶/۹	۷/۴

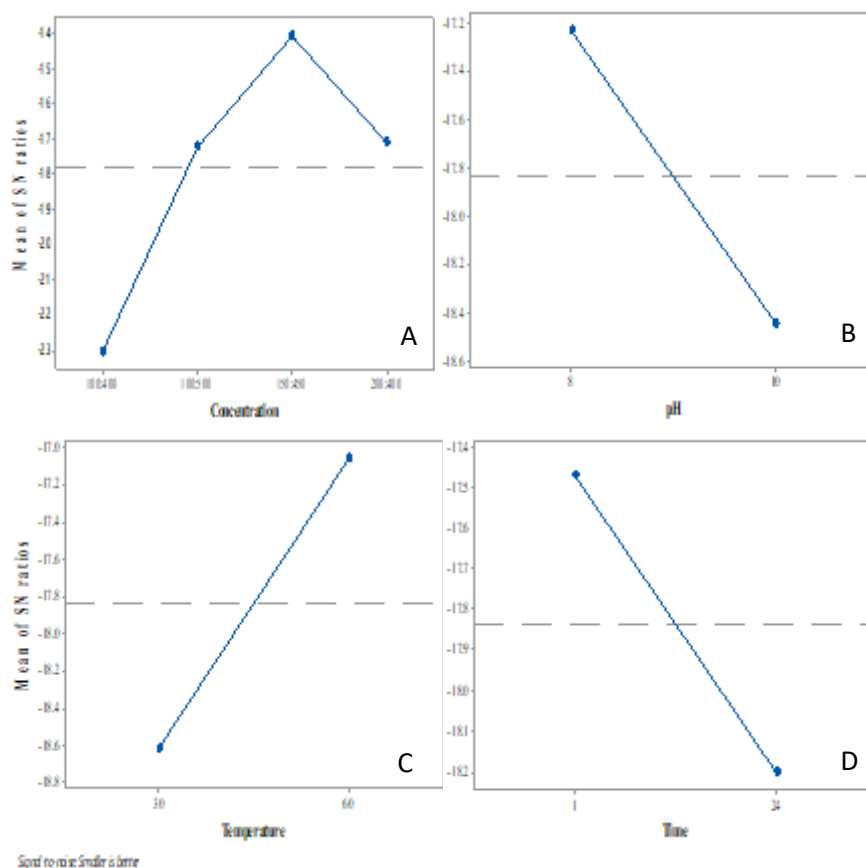
(۲)، به هدف سنتز نانوذرات طلا در اندازه کوچک تعیین گردید. در این روش با توجه به شکل (A)۴ بین چهار سطح مختلف نسبت غلظت نمک طلا به عصاره بذر ۱۰۰:۴۰۰ میکرولیتر، ۱۰۰:۵۰۰ میکرولیتر، ۱۵۰:۴۵۰ میکرولیتر و ۲۰۰:۴۰۰ میکرولیتر، بهترین سطح غلظت ۱۵۰:۴۵۰ میکرولیتر و در شکل (B)۴ از بین دو سطح pH برابر هشت و ۱۰، بهترین سطح pH=۸ تعیین شد. در شکل (C)۴ در دو دمای ۳۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای بهینه تعیین گردید. با توجه به شکل (D)۴ بین دو زمان یک و ۲۴ ساعت، یک ساعت به عنوان بهترین زمان، تعیین شد. جدول ۴ بیانگر ترتیب اثر فاکتورها در هدف سنتز نانوذرات طلا می‌باشد. بر اساس آن، فاکتورهای

نتایج تعیین اندازه نانوذرات طلای سنتز شده: نتایج طیف پراکندگی دینامیکی نور هشت نمونه تیمار شده عصاره بذر بنگ‌دانه، ثبت گردید و حاکی از آن است که اندازه نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر گیاه بنگ‌دانه در غلظت، pH، دما و زمان اعمال شده بر اساس جدول ۲، تقریباً متفاوت و در محدوده بین ۳/۸-۱۵ نانومتر بود و ۱۰۰٪ از ذرات سنتز شده در هشت نمونه در این محدوده اندازه وجود داشتند (جدول ۳).

نتایج تعیین سطوح بهینه به روش تاگوچی: پس از آنالیز داده‌های اندازه نانوذرات سنتز شده در ۸ نمونه بر اساس جدول ۳ توسط نرم افزار Minitab ۱۸، سطح بهینه هر یک از فاکتورهای غلظت، pH، دما و زمان (با توجه به جدول

نزدیک‌تر بوده و همچنین در شکل ۲، پیک جذب این نمونه مناسب و در نتیجه آنالیز DLS، اندازه نانوذرات تولید شده در این نمونه ۳/۸ نانومتر گزارش شده است.

غلظت، دما، pH و زمان به ترتیب در سنتز نانوذرات کوچک توسط عصاره بذر بنگ‌دانه بیشترین تاثیر را داشتند. پس از تعیین سطوح بهینه هر فاکتور، نمونه پنج به نتیجه نهایی



شکل ۴- تعیین سطوح بهینه سنتز نانوذرات طلا در اندازه مناسب توسط عصاره بذر بنگ‌دانه به روش تاگوچی (A) بررسی تاثیر غلظت در سنتز نانوذرات طلا (B) بررسی تاثیر pH در سنتز نانوذرات طلا (C) بررسی تاثیر دما در سنتز نانوذرات طلا (D) بررسی تاثیر زمان در سنتز نانوذرات طلا

شکل ۵، اثر متقابل فاکتورهای غلظت و pH در سنتز نانوذرات طلا در اندازه مناسب را نشان می‌دهد که بر اساس آن، سطح ۱۵۰:۴۵۰ نمک طلا به عصاره بذر نسبت به سایر سطوح غلظت، در هر دو pH مورد بررسی، به حد مطلوب نزدیک‌تر بود، اما $pH=8$ در سنتز نانوذرات طلا با اندازه کوچک تاثیر زیادی داشت. همچنین سطح غلظت ۱۰۰:۴۰۰، منجر به سنتز نانوذرات طلا در اندازه بزرگ شد. شکل ۶ نیز همین نتیجه را درباره سطوح غلظت در دو دمای ۳۰ و ۶۰

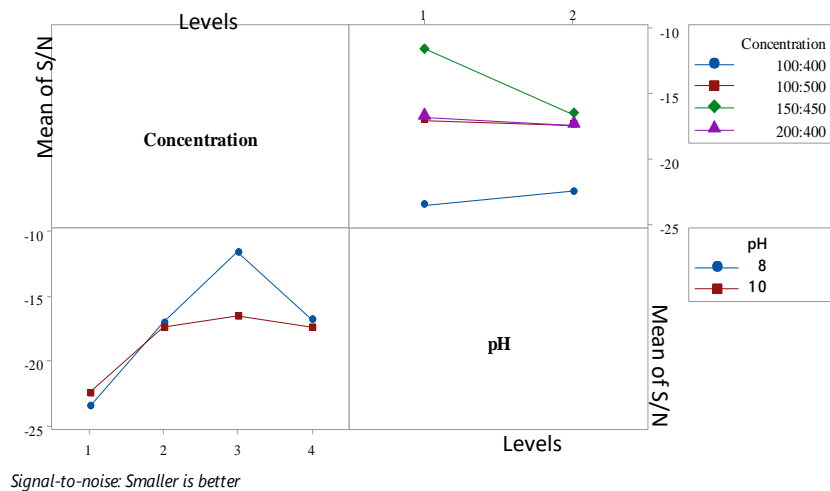
جدول ۴- متوسط مقادیر سیگنال به اختلال سطوح پارامترها

غلظت	سطوح
-۲۳/۰۰	۱
-۱۷/۲۰	۲
-۱۴/۰۶	۳
-۱۷/۰۸	۴
۸/۹۴	Delta*
۱	Rank

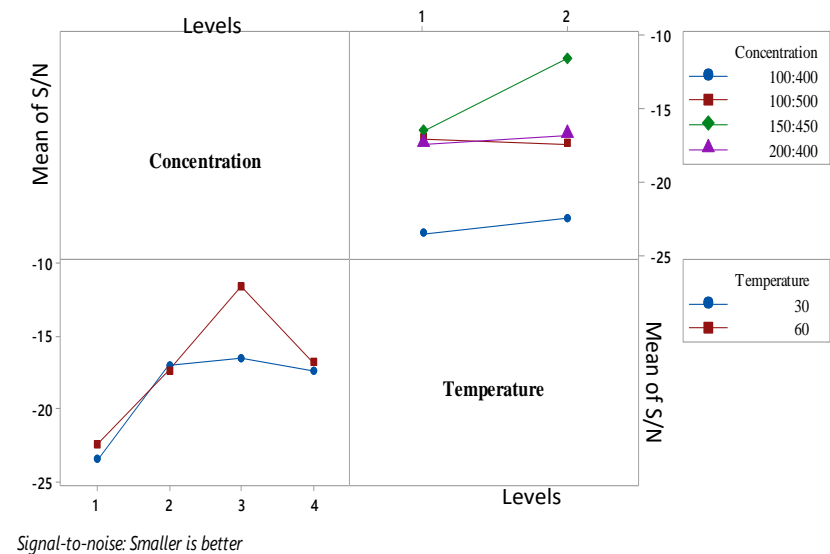
* بیانگر تفاوت بیشترین مقدار با کمترین مقدار است.

سنتر شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه تحت غلظت و pH و غلظت و دما می‌باشند نیز نتایج شکل های ۵ و ۶ را تایید می‌کنند. سطح غلظت ۱۵۰:۴۵۰، pH=۸، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در سنتر نانوذرات طلا در اندازه کوچک موثر بودند. محورهای عمودی شکل ۵ و ۶ بیانگر میانگین سیگنال به اختلال است و محورهای افقی مربوط به سطح هر فاکتور تعیین شده در شکل است.

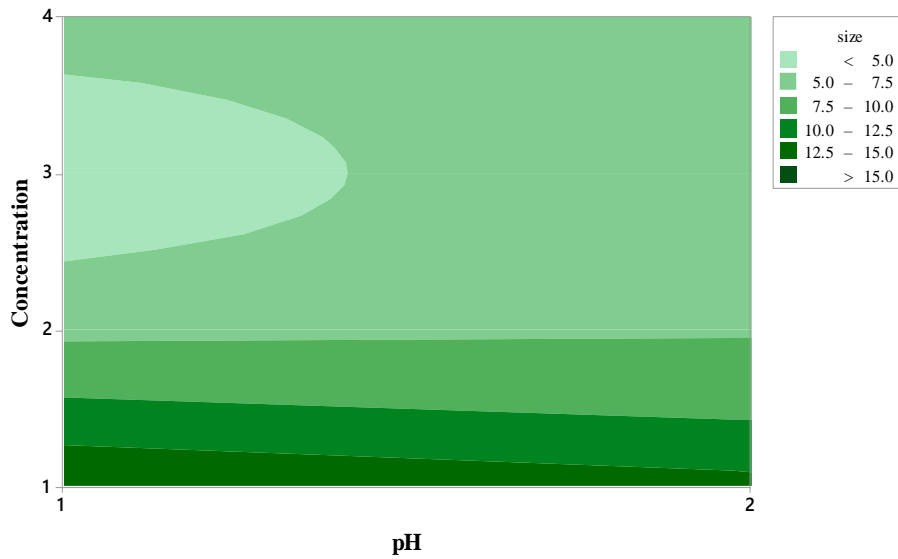
درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. بر اساس آن، در غلظت ۱۵۰:۴۵۰ میکرولیتر در هر دو دما نسبت به سایر سطوح غلظت، نانوذرات کوچک‌تری سنتر شد. اما دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، به هدف تحقیق نزدیک‌تر بود. سطح غلظت ۱۰۰:۴۰۰ میکرولیتر، در دمای ۳۰ و ۶۰ کمترین تاثیر را داشت و نانوذرات با اندازه بزرگ سنتر گردید. شکل های ۷ و ۸ که به ترتیب بیانگر نمودار خطوط تراز نانوذرات طلای



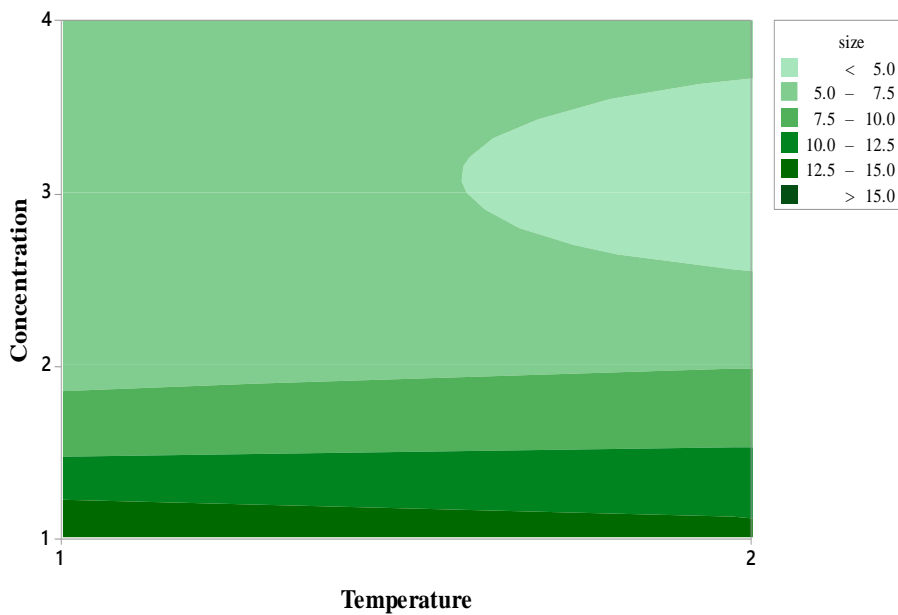
شکل ۵- بررسی اثر متقابل غلظت و pH در سنتر نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه: (هر چه میانگین سیگنال بر نویز به عدد مثبت نزدیک باشد به هدف آزمایش نزدیکتر و آن سطح بهینه می‌باشد).



شکل ۶- بررسی اثر متقابل غلظت و دما در سنتر نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه: (هر چه میانگین سیگنال بر نویز به عدد مثبت نزدیک باشد به هدف آزمایش نزدیکتر و آن سطح بهینه می‌باشد).



شکل ۷- نمودار خط تراز نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه بر اساس غلظت و pH که بیانگر سنتز نانوذرات در محدوده کوچکتر از ۵ نانومتر (سبز کم رنگ) تا بزرگتر از ۱۵ نانومتر (سبز پررنگ) تحت تیمار با سطوح متفاوت می‌باشد.



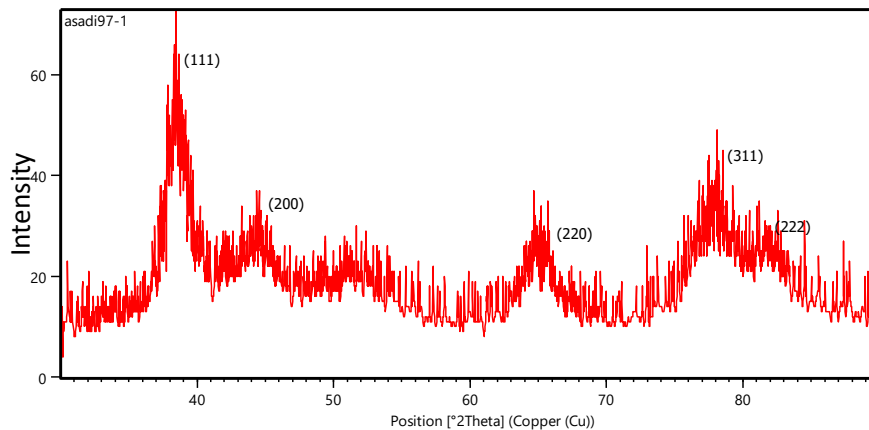
شکل ۸- نمودار خط تراز نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه بر اساس غلظت و دما که بیانگر سنتز نانوذرات در محدوده کوچکتر از ۵ نانومتر (سبز کم رنگ) تا بزرگتر از ۱۵ نانومتر (سبز پررنگ) تحت تیمار با سطوح متفاوت می‌باشد.

تعیین شده و سانتریفیوژ نمودن محلول کلونیدی در دور ۲۰۰۰۰ rpm، خالص‌سازی و خشک شدن نانوذرات سنتز شده، ثبت شد. با توجه به شکل ۹، پنج پیک با اندیس‌های ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰، ۳۱۱ و ۲۲۲، در موقعیت‌های حدود

نتایج پراش اشعه ایکس: برای بررسی صحت حضور و سنتز نانوذرات و تعیین ساختار آن‌ها، تکنیک پراش پرتو ایکس از شناخته شده‌ترین روش‌ها است. طیف XRD پس از تیمار عصاره بذر بنگ‌دانه در سطوح بهینه فاکتورهای

لذا با توجه به این طیف، سنتز نانو ذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه تایید گردید [۳۲].

۳۸/۶۰۲ درجه، ۴۴/۵۳۴ درجه، ۶۴/۸۹۲ درجه، ۷۸/۲۹۶ درجه و ۸۲/۱۰۸ درجه وجود داشتند و از آنجا که این پیک‌ها در این موقعیت‌ها با پیک‌های استاندارد طلا همخوانی دارد،



شکل ۹- الگوی XRD نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

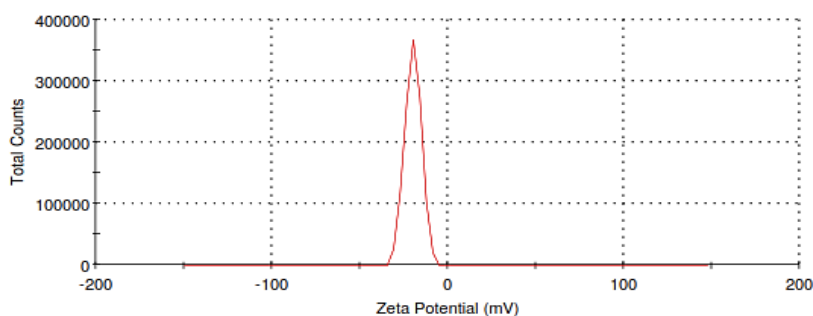
N بود. در شکل ۱۰ طیف مربوط به نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه، باند ضعیف ۳۶۹۱/۶۹ نشانه وجود آتین و آمید و باندهای قوی و نازک ۲۹۲۸/۶۸ و ۲۸۵۷/۵۸ نشانه وجود O-H، C-H، N-H و CHO گروه پلی- فنولی و فنلی، آلکین‌ها و آلدهیدها بود. پیک نازک و قوی ۱۷۴۲/۰۲ مربوط به C=O ترکیبات سبتریک اسید، آمیدها بود. پیک ۱۱۶۹/۰۷ مربوط به C-O کربوکسیل می‌باشد. وجود پیک‌های ضعیف دیگر نیز نشانه وجود گروه‌های عاملی مختلف مانند آلکن‌های آروماتیک C=C و C-H و ترکیبات حلال در آب مانند فلاونوئیدها، ترپن‌ها و پروتئین-های متصل به نانوذرات طلا بود. اما پیک‌های قوی مربوط به نانوذرات سنتز شده، بیان‌کننده حضور ترکیبات فنلی و پلی فنولی، استر و کتون و الکل و کربوکسیل است که نشانه اتصال این گروه‌های عاملی به نانوذرات طلا بود و در نتیجه گروه‌های عاملی مربوط به پروتئین‌ها، آمینواسیدها، فلاونوئیدها و ترپن‌ها و حلقه‌های آروماتیکی موجود در عصاره بذر بنگ‌دانه موجب کاهش یون‌های طلا و تشکیل

نتایج آنالیز طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه: به منظور بررسی حضور و اتصال بیومولکول‌ها به نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه و تایید نقش آن‌ها در کاهش یون طلا، تشکیل و پایداری نانوذرات طلا، از طیف FTIR پودر محلول کلوتیدی نانوذرات طلا سنتز شده استفاده گردید. همچنین به منظور تایید نقش بیومولکول‌های موجود در عصاره بذر بنگ‌دانه در سنتز نانوذرات طلا، طیف FTIR نمونه خشک شده عصاره بذر بنگ‌دانه نیز ثبت گردید. با توجه به شکل ۱۰ طیف FTIR عصاره بذر بنگ‌دانه، حضور باندهایی قوی و با شدت جذب بالا در طول موج cm^{-1} ۳۳۳۹/۱۰ و cm^{-1} ۲۹۲۶/۸۵ نشانه حضور O-H و N-H گروه پلی فنولی، فنلی بود. باندهای ۱۶۶۰/۰۳ و ۱۶۰۴/۵۵ نشانه وجود ترکیبات C=O و C=C آمیدی و آلکن و باندهای ۱۴۱۴/۸۰، ۱۲۶۸/۴۱ و ۱۰۵۰/۶۷ به ترتیب بیانگر حضور حلقه‌های آروماتیک C-C، گروه عاملی C-O کربوکسیلیک، C-N آمین‌های چربی‌دار و سولفونات‌ها بود. همچنین باندهای با طول موج ۸۳۶/۵۳، ۶۱۰/۳۵، ۵۳۹/۳۱ و ۴۵۵/۷۹ بیانگر حضور حلقه آروماتیک و ترکیبات حاوی C-O و C-

عصاره بذر بنگ‌دانه، ۱۹/۸- میلی‌ولت اندازه‌گیری شد که بیانگر نیروی دافعه میان نانوذرات طلا و عدم تجمع و کلوخه شدن آنان است که باعث پایداری نسبی نانوذرات طلای سنتز شده، گردید [۱۳].

نانوذرات طلا و همچنین باعث پایداری آنان نیز شد [۳۷،۳۴،۲۳،۱۲۸].

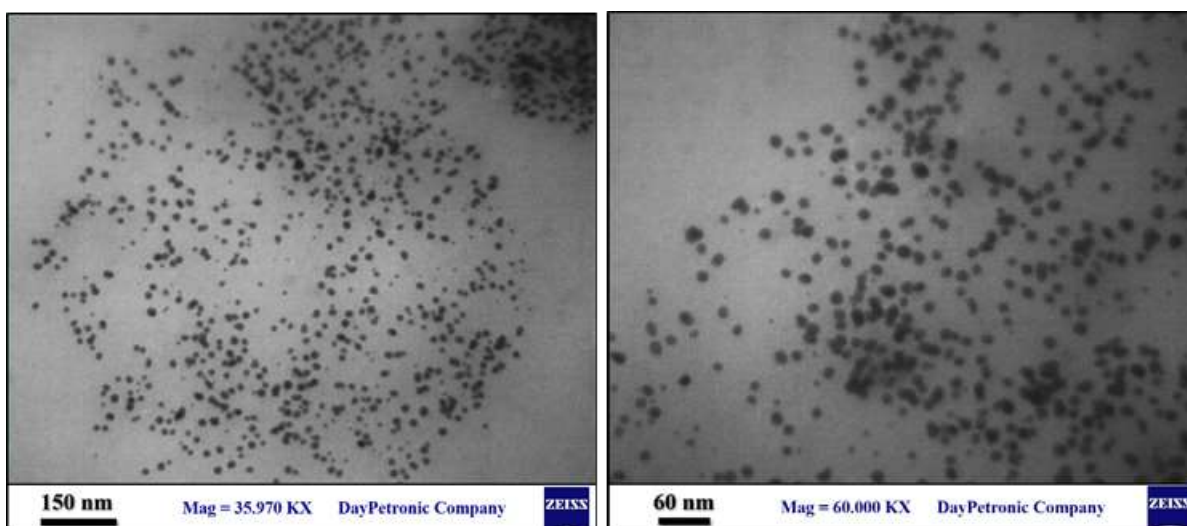
نتایج آنالیز پتانسیل زتا: با توجه به شکل ۱۱ میزان بار الکتریکی موجود در سطح نانوذرات طلا سنتز شده توسط



شکل ۱۱- نمودار حاصل از پتانسیل زتا موجود در سطح نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

اندازه نانوذرات طلای سنتز شده در محدوده یک تا ۱۰ نانومتر تعیین شد. در این شکل نانوذرات طلای کروی شکل، از پراکندگی مناسبی برخوردار بودند. این عکس تاییدی بر نتایج FTIR و ZP می‌باشد.

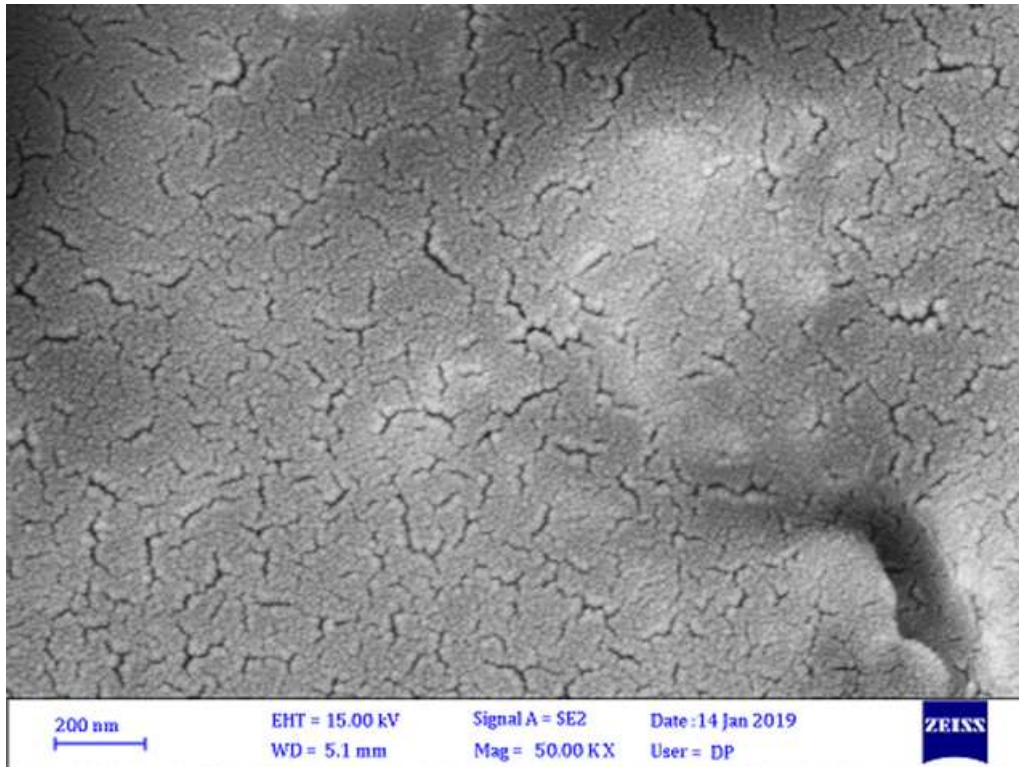
نتایج عکس برداری میکروسکوپ الکترونی عبوری: عکس TEM نانوذرات طلای سنتز شده در شرایط بهینه توسط عصاره بذر بنگ‌دانه در شکل ۱۲ تصویر و بر اساس آن،



شکل ۱۲- عکس TEM نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

نتایج عکس برداری میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی: شکل ۱۳، عکس FESEM حاصل از نانوذرات طلائی سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه، کروی بودن نانوذرات را تایید نمود. همچنین با توجه به آن، نانوذرات از

توزیع یکنواخت و اندازه یکسانی برخوردار بودند. تجمع نیافتن نانوذرات طلا به دلیل بار الکتریکی سطحی گزارش شده توسط آنالیز پتانسیل زتا است. دلیل بافت مشاهده شده در تصویر FESEM، ترکیبات عصاره بذر بنگ‌دانه بود که در نتایج طیف XRD نیز به صورت پیک‌های ریز مشاهده شد.



شکل ۱۳ - عکس FESEM نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه

بحث

محلول نهایی پس از گذشت ۱۰ ثانیه از رنگ سفید شفاف به بنفش تیره تغییر رنگ داد و با گذشت ۲۴ ساعت ثابت ماند. این تغییر رنگ در اکثر مطالعات سنتز زیستی نانوذرات طلا بیانگر رزونانس پلاسمون سطحی طلا است [۲۹، ۱، ۴۶]. در این مطالعه چهار سطح حجم نمک طلا به عصاره بذر، بررسی و غلظت بهینه ۱۵۰:۴۵۰ تعیین شد. کاهش غلظت عصاره و نمک طلا در سنتز نانوذرات منجر به اندازه بزرگ

و ناپایدار با طیف UV-vis به شکل پهن می‌شود اما با افزایش غلظت عصاره و نمک طلا این طیف تیزتر و اندازه نانوذرات کوچک‌تر می‌شود [۲۹]. اما غلظت نمک طلا در اندازه بیشینه موجب رسوب ذرات و ناپایداری محلول می‌شود [۳۱]. یوان و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که با افزایش pH، زمان احیاء یون طلا کاهش می‌یابد اما محلول ناپایدار بوده و پس از گذشت یک ساعت رسوب می‌دهد [۴۶]. بررسی شکل ۵ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت و افزایش نسبی pH تا میزان ۱۰، اندازه نانوذرات کاهش می‌یابد. دمای بهینه واکنش

بیشتر از ۲۵ میلی‌ولت و کمتر از ۲۵- میلی‌ولت، تقریباً از پایداری مطلوبی، برخوردار هستند. نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره برگ عناب (*Ziziphus zizyphus*) و عصاره بذر گل مغربی (*Oenothera biennis*)، به ترتیب میزان پتانسیل زتا برابر ۴۰/۴- و ۳۴/۸- میلی‌ولت را داشتند که محلول کلئیدی حاصل هر دو، پایداری مناسب یا توزیع یکنواخت و بدون تجمع و رسوب پس از شش ماه را نشان داد [۲۹،۷]. میزان پتانسیل زتا نانوذرات سنتز شده توسط عصاره بذر بنگ‌دانه برابر ۱۹/۸- اندازه‌گیری شد و نانوذرات حاصل از عصاره بذر بنگ‌دانه، از پایداری نسبی برخوردار هستند. نتایج عکس‌برداری FESEM نانوذرات سنتز شده تحت شرایط بهینه توسط عصاره بذر بنگ‌دانه، کروی بودن و عدم تجمع آنان را تایید کرد. در سنتز زیستی نانوذرات طلا، گیاهان به سه دسته تولید کننده نانوذرات در اندازه ۱۵۰-۱۰۰ نانومتر به شکل کروی، نانوذرات طلا در اندازه ۱۰۰-۵۰ نانومتر مثلثی شکل، نانوذرات طلا در اندازه کم‌تر از ۵۰ نانومتر که در داروسازی کاربرد دارند، دسته بندی می‌شوند. توسط عصاره بذر بنگ‌دانه، نانوذراتی در محدوده اندازه کم‌تر از ۵۰ نانومتر سنتز شد که در اندازه مطلوب هدف این پژوهش است و همچنین در داروسازی کاربرد دارند [۱]. در پژوهش ژانگ و همکاران نانوذرات طلا توسط کلروپلاست سنتز و در نتایج سم‌شناسی این پژوهش غیر سمی بودن نانوذرات طلا سنتز زیستی شده تایید گردید [۴۷]. علاوه بر این، از نانوذرات برای تجزیه رنگهای سمی، متیلن بلو و قرمز کنگو نیز استفاده می‌شود. به طور کلی، مطالعه انجام شده استفاده از نانوذرات سنتز شده سبز را در زمینه های زیست پزشکی و تحلیلی پیشنهاد می‌کند [۱۸].

۶۰ درجه سانتی‌گراد تعیین و عکس TEM نانوذرات طلا سنتز شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، نانوذرات طلا کروی با توزیع مناسب نشان داد. نتایج نشان داد که افزایش دما در کاهش زمان سنتز زیستی تاثیر بسزایی دارد اما افزایش بیش از اندازه آن موجب ناپایداری محلول و رسوب ذرات با اندازه بزرگ می‌شود. در مطالعه‌ای، نانوذرات طلا سنتز شده توسط عصاره گیاهی، در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، اندازه شش تا ۳۵ نانومتر و توزیع مناسب دارند و با افزایش دما تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد، زمان سنتز از متوسط یک ساعت به ۱۰ دقیقه کاهش یافت اما ذرات به سرعت ته نشین شدند [۴۶]. زمان بهینه سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره بذر بنگ‌دانه یک ساعت تعیین شد. زمان بهینه سنتز نانوذرات طلا توسط عصاره زرشک و زعفران در پژوهش ابوترابی و همکاران (۲۰۱۶) ۲۴ ساعت تعیین شد و بیان داشتند که این مدت زمان برای احیاء، تشکیل هسته و تشکیل نانوذرات طلا در اندازه و شکل مطلوب، نیاز است [۱]. طیف XRD نمونه بهینه نشان دهنده نانوذرات طلا با ساختار کریستالی مکعب مرکز وجهی می‌باشد [۴]. پیک‌های ریز موجود در طیف XRD نمونه بنگ‌دانه، نتیجه تشکیل کریستال مواد زیستی عصاره در سطح نانوذرات طلا است [۲۹]. نتایج FTIR نمونه بهینه تاثیر ترکیبات آروماتیک حلقوی، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و آمینواسیدها در کاهش و پوشش گذاری نانوذرات طلا سنتز شده تایید نمود. ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره برگ بادنجان تاجریری (*Solannum nigrum*) مسئول کاهش یون طلا و گروه کربوکسیل پروتئین‌ها به عنوان جاذب سطحی است که از طریق پایداری الکترواستاتیکی به نانوذرات متصل می‌شود [۳۰]. نانوذرات طلا با میزان پتانسیل زتا در محدوده

منابع

1. Abootorabi Z, Poorgholami M, Hanafi-Bojd MY, Hoshyar R. 2016, Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Barberry and Saffron Extracts, Modern Care Journal, 13(4).
2. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS . 2013, Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts, ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 1(6):591-602.

3. Alizadeh A, Moshiri M, Alizadeh J, Balali-Mood M, Alizadeh A, Moshiri M, Alizadeh J, Balali-Mood M. 2014, Black henbane and its toxicity - a descriptive review, *Avicenna journal of phytomedicine*, 4(5): 297–311.
4. Aljabali AAA, Akkam Y, al Zoubi MS, Al-Batayneh KM, Al-Trad B, Alrob OA. 2018, Synthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Ziziphus zizyphus* and their antimicrobial activity, *Nanomaterials*, 8(3).
5. Antony J. 2003, Design of Experiments for Engineers and Scientists, Design of Experiments for Engineers and Scientists, 1–152.
6. Antony J, Kaye M, Frangou AA. 1998, strategic methodology to the use of advanced statistical quality improvement techniques, *TQM Magazine*, 10(3):169–176.
7. Asadi M, Baghizadeh A, 2020, Optimization and characterization of biosynthesized gold nanoparticles by *Oenothera biennis* seed extract using taguchi method, *J. Med. Plants* 2020; 19 (75) :102-117
8. Ashokkumar R, Ramaswamy M. 2014, Phytochemical screening by FTIR spectroscopic analysis of leaf extracts of selected Indian Medicinal plants, *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(1):395–406.
9. Atashgar K. 2018, Introduction to: Design of Experiment and Taguchi method (DOE), Malek Ashtar University of Technology. undefined-433.
10. Bazaoui A, Bellimam MA, Lançar IT, Soulaymani A. 2012, Gas-liquid chromatography-mass spectrometry investigation of tropane alkaloids in *Hyoscyamus albus* L. from Morocco, *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 67(9–10):461–5.
11. Begum S, Saxena B, Goyal M, Ranjan R, Joshi VB, Rao C V, Begum S, Saxena B, Goyal M, Ranjan R, Joshi VB, Rao C V. 2010, Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan, *Fitoterapia*, 81(3):178–84.
12. Castro L, Blázquez ML, Muñoz JA, González F, García-Balboa C, Ballester A. 2011, Biosynthesis of gold nanowires using sugar beet pulp, *Process Biochemistry*, 46(5):1076–82.
13. Clogston JD, Patri AK. 2011, Zeta Potential Measurement, *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) [Internet], 697:63–70.
14. Dhand C, Dwivedi N, Loh XJ, Jie Ying AN, Verma NK, Beuerman RW. 2015, Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: A comprehensive overview, *RSC Advances*, 5(127):105003–37.
15. Dominique JE, Gérard C. 2006, Myostatin regulation of muscle development: Molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects, *Experimental Cell Research*, 312(13):2401–14.
16. Dwivedi AD, Gopal K. 2010, Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 369(1–3):27–33.
17. Esch PM, Moor C, Schmid B, Albertini S, Hassler S, Donzé G. 2010, Nanotechnology Roadmap Technology Area 10, NASA, 13(3–4):41–56.
18. Guliani A, Kumari A, Acharya A. 2021, Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous leaf extract of *Populus alba*: characterization, antibacterial and dye degradation activity, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18(1), DOI: 10.1007/s13762-020-03065-5
19. Hojjati M, Taji F, Rafieian M. 2012, The effect of hydro-alcoholic extract of *Hyoscyamus niger* seeds on learning and short-term memory in Balb/c Mice, *Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 19(3):258–66.
20. Hu M, Chen J, Li ZY, Au L, Hartland G v., Li X. 2006, Gold nanostructures: Engineering their plasmonic properties for biomedical applications, *Chemical Society Reviews*, 35(11):1084–94.
21. Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, Dufresne A, Danquah MK. 2018, Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9(1):1050–74.
22. Khlebtsov N, Dykmana L. 2011, Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: A review of in vitro and in vivo studies, *Chemical Society Reviews*, 40(3):1647–71.
23. Leaf A, Schum VK. 2012, Functional groups prediction and elemental analysis of ethyl , *Advances in bioresearch*, 3:62–5.

24. Li X, Xu H, Chen ZS, Chen G. 2011, Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications, Journal of Nanomaterials, Article ID 270974 | <https://doi.org/10.1155/2011/270974>.
25. Malik P, Shankar R, Malik V, Sharma N, Mukherjee TK. 2014, Green Chemistry Based Benign Routes for Nanoparticle Synthesis, Journal of Nanoparticles, Article ID 302429 | <https://doi.org/10.1155/2014/302429>.
26. Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. 2013, Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts, Biotechnology Advances Elsevier, 346–356.
27. Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK. 2008, Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications, Journal of Nanoparticle Research, 10(3):507–17.
28. Murphy CJ, Gole AM, Stone JW, Sisco PN, Alkilany AM, Goldsmith EC. 2008, Gold nanoparticles in biology: Beyond toxicity to cellular imaging, Accounts of Chemical Research, 41(12):1721–30.
29. Muthuvel A, Adavallan K, Balamurugan K, Krishnakumar N. 2014, Biosynthesis of gold nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties, Biomedicine and Preventive Nutrition, 4(2):325–32.
30. Muthuvel A, Adavallan K, Balamurugan K, Krishnakumar N. 2014, Biosynthesis of gold nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and screening their free radical scavenging and antibacterial properties, Biomedicine & Preventive Nutrition, 4(2):325–32.
31. Pandey S, Oza G, Kesarkar R, Gupta A, Vishwanathan M, Shah R. 2012, Taguchi Optimization Method for Tuning Aspect Ratios for Synthesis of Gold Nano Rods, Scholars Research Library Archives of Applied Science Research, 4(2):965–70.
32. Patra JK, Baek KH. 2014, Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques, Journal of Nanomaterials. Article ID 417305 | <https://doi.org/10.1155/2014/417305>.
33. Rauwel P, Rauwel E. 2017, Emerging Trends in Nanoparticle Synthesis Using Plant Extracts for Biomedical Applications, Global Journal of Nanomedicine, 1(3).
34. razmi arash, nikkhah maryam, Bagheri A, Malekzadeh Shafaroudi S, Shams bakhsh M. 2017, Green synthesis of spherical gold nano particle by Water cress, Modares Journal of Biotechnology, 8(1):60–70.
35. Sajeli Begum A. 2010, Bioactive non-alkaloidal secondary metabolites of *Hyoscyamus niger* Linn. Seeds: A review, Research Journal of Seed Science, 3(4):210–7.
36. Senzel A. 1970, Joint Committee on powder diffraction standards, Analytical Chemistry, 42(11):81A-81A.
37. Shabestarian H, Homayouni-Tabrizi M, Soltani M, Namvar F, Azizi S, Mohamad R. 2016, Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Sumac* Aqueous Extract and Their Antioxidant Activity, Materials Research, 20(1):264–70.
38. Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy SK, Poinern GEJ. 2015, Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities, Materials, 8(11):7278–308.
39. Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. 2004, Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using *Neem* (*Azadirachta indica*) leaf broth, Journal of Colloid and Interface Science, 275(2):496–502.
40. Singh M, Kumar M, Kalaivani R, Manikandan S, Kumaraguru AK. 2013, Metallic silver nanoparticle: A therapeutic agent in combination with antifungal drug against human fungal pathogen, Bioprocess and Biosystems Engineering, 36(4):407–15.
41. Taguchi G. 1978, Off-Line and On-Line Quality Control Systems. Proceedings of the International Conference on Quality Control, Tokyo.
42. Verma A, Tyagi S, Verma A, Singh J, Joshi P. 2017, Optimization of Different Reaction Conditions for the Bio-Inspired Synthesis of Silver Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Solanum nigrum* Leaves, Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology, 06(02). DOI: 10.4172/2324-8777.1000214.
43. Yao AWL, Chi SC. Analysis and design of a Taguchi-Grey based electricity demand predictor for energy management systems, Energy Conversion and Management, 45(7–8):1205–17.
44. Yasin J. 1985, Flora of Pakistan, Pakistan Agricultural Research Council, undefined-168.
45. Yeh YC, Creran B, Rotello VM. 2012, Gold nanoparticles: Preparation, properties, and applications in bionanotechnology, Nanoscale, 4(6):1871–80.
46. Yuan CG, Huo C, Yu S, Gui B. 2017, Biosynthesis of gold nanoparticles using

Capsicum annum var. grossum pulp extract and its catalytic activity, *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 85:19–26.

47. Zhang YX, Zheng J, Gao G, Kong YF, Zhi X, Wang K. 2011, Biosynthesis of gold nanoparticles using chloroplasts, *International journal of nanomedicine*, 6:2899–906.

Biosynthesis, optimization and characterization of gold nanoparticles by *Hyoscyamus niger* seed extract using Taguchi method

Asadi M.¹ and Baghizadeh A.²

¹ Dept. of Biotechnology, Graduate University of Advanced Technology

² Dept. of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology

Abstract

In this study, the aim of green synthesis of gold nanoparticles by seed extract of *Hyoscyamus niger* under optimized conditions and to characterize the produced nanoparticles in order to confirm and introduce the method of green synthesis of nanoparticles. Black henbane (BH) seed extract was prepared by hydroalcoholic method and 1 mM gold salt solution was added to the extract under conditions of different ratios of gold salt to plant extracts, pH, temperature (°C) and incubation time. In order to optimize the conditions, Taguchi method were used and the L8 orthogonal array table with four different factors and levels was designed. Experiments were recorded to evaluate the progress of the UV-vis spectrum reaction. The size of gold nanoparticles synthesized by DLS was determined and used as a result to determine the appropriate levels of each factor. Concentration of 150: 450 μ l, pH=8, temperature of 60 ° C and one-hour, were determined optimal levels of synthesis gold nanoparticle by BH seed extract. The XRD spectrum confirmed the presence of gold nanoparticles and the FTIR spectrum confirmed the functionalization of the nanoparticles by organic molecules present in the seeds of BH. The amount of electric charge was 19.8 at the surface of gold nanoparticles according to zeta analysis. Microscopic results showed uniformity and suitable size of gold nanoparticles in the range of 10 nm. The final results of this research indicate the biosynthesis of nanoparticles by plant extracts as an effective, useful, low cost, biocompatible, high efficiency and feasible method in a shorter period of time.

Key words: Green Synthesis, *Hyoscyamus niger*, Taguchi method, Gold nanoparticles, Characterization