



سنتز سبز نانوذرات کیتوزان با استفاده از عصاره ی آبی اندام‌های هوایی گیاه تلخه (*Acroptilon repens* L.)

لیلی نباتی سوها: دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
محدثقی آل ابراهیم: استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (* نویسنده مسئول)
m_ebrahim@uma.ac.ir

عزیز حبیبی ینگجه: استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
سولماز فیض پور: دانشجوی دکتری، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

فناوری نانو، کیتوزان، بیوسنتز، عصاره ی آبی، علف هرز تلخه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۶

تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۱۱/۰۵

زمینه و هدف: علم و فناوری نانو تولید ماده در ابعاد نانومتری است که اخیراً مورد توجه بسیاری از محققان در زمینه‌های پزشکی، کشاورزی و صنعت قرار گرفته است. در میان روش‌های سنتز نانوذرات کیتوزان، سنتز سبز با استفاده از عصاره‌های گیاهی سودمندتر از دیگر روش‌ها است. هدف از انجام این پژوهش توسعه یک روش سبز با استفاده از عصاره‌ی اندام‌های هوایی گیاه تلخه جهت تهیه و تولید نانوذرات کیتوزان می‌باشد.

روش کار: در این پژوهش، نانوذرات کیتوزان در یک فرآیند به وسیله‌ی عصاره اندام‌های هوایی گیاه تلخه (*Acroptilon repens* L.) که دارای ترکیبات فنولی است سنتز می‌شوند. عصاره گیاه با روش ماسراسیون (خیساندن) به دست آمد. برای تهیه‌ی نانوذرات کیتوزان با عصاره‌ی تلخه از روش ژل شدن یونی استفاده شد.

یافته‌ها: نمونه‌های به دست آمده توسط آنالیزهای توزین حرارتی (TGA)، طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)، پراش اشعه‌ی ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در آنالیز طیف سنجی وجود پیک در محدوده‌ی حدود ۷۰۰ نانومتر، حاکی از سنتز زیستی این نانوذرات با عصاره گیاه تلخه می‌باشد. اندازه و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده به روش زیستی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد و مشخص گردید که شکل نانوذرات تولید شده تقریباً کروی با میانگین اندازه حدود ۳۳ تا ۷۶ نانومتر است. همچنین نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس، نانو کریستال‌های سنتز شده به وسیله عصاره‌ی گیاه تلخه را نشان داد. **نتیجه گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره گیاه تلخه به عنوان عامل کاهنده عمل کرده، همچنین به عنوان عامل کمپلکس کننده هم موجب سنتز نانوذرات کیتوزان و هم موجب پایداری آن‌ها می‌شوند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Nabati souha L, Alebrahim MT, Habibi Yangjeh A, Feizpoor S. Green Synthesis of Chitosan Nanoparticles by Extract of Aerial Organs of Russian Knapweed (*Acroptilon repens* L.). Razi J Med Sci. 2021;28(11):35-47.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

Green Synthesis of Chitosan Nanoparticles by Extract of Aerial Organs of Russian Knapweed (*Acroptilon repens* L.)

Leyli Nabati souha: PhD Student, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Mohammad Taghi Alebrahim: Professor, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (*Corresponding author) m_brahim@uma.ac.ir

Aziz Habibi Yangjeh: Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Solmaz Feizpoor: PhD Student, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

Background & Aims: Nanotechnology is one of the newest, most important and most efficient sciences in the world. It is an interdisciplinary technology that has caused significant changes and developments in the sciences by solving problems and shortcomings. Nanoscience and nanotechnology is the production of nanometer-sized material that has recently attracted the attention of many researchers in the fields of medicine, agriculture and industry. The great importance and application of this technology has attracted much attention. Nanoparticles are particles about 1 to 100 nm the properties of these materials depend on their nanometer size. Nano materials have unique properties including lightweight and small nanoparticles, High surface-to-mass ratio, using in small quantities, saving consumables, being multifunctional and safe for the environment. Chitosan is a linear amino polysaccharide that has been taken into consideration for its properties such as non-toxicity, antibacterial properties, adhesion properties, unique structure, multidimensional properties and high performance. Physical and chemical methods are mostly used to produce nanoparticles. Although these methods may be successful and well-known, they are generally expensive, time-consuming, and dangerous to the environment and humans. Therefore, alternative methods such as microorganisms, fungi, plants, plant extracts and plant biomass should be used instead, which have less environmental hazards. Among the methods of synthesis of chitosan nanoparticles, green synthesis using plant extracts is more beneficial than other methods. Many plant biomolecules such as polyphenols, flavonoids, amino acids, polysaccharides, alkaloids, alcohols, vitamins and proteins can play a role in the formation and stabilization of nanoparticles. The aim of this study was to develop a green method using the extract of the aerial parts of the Russian knapweed to prepare and produce chitosan nanoparticles.

Methods: In this study, chitosan nanoparticles were synthesized in a process by the extract of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) which containing phenolic compounds. In order to preparation the materials needed for the experiment, the aerial parts of the Russian knapweed in the pre-flowering stage were collected from a land in Ardabil with severe contamination. The collected plant was transferred to the weed laboratory and dried at 60 °C for 72 h in the oven. The dried samples were powdered by a grinding (mill) machine. The aqueous extract was prepared by maceration method. 100, 150 and 200 grams of Russian knapweed powder in to erlenmeyer flask spilled and then added a certain amount of twice distilled water until the final volume reaches of 1000 ml. Then they were placed on the shaker at 25 °C for 24 hours. The obtained extracts were smoothed using Whatman filter paper. At the final stage, the extracts were

Keywords

Nanotechnology,
Chitosan,
Biocentesis,
Aqueous extract,
Russian knapweed

Received: 07/09/2021

Published: 25/01/2022

centrifuged at 5000 rpm for 15 minutes and supernatant were extracted as pure extract and were kept at 4 °C for testing.

Chitosan nanoparticles were prepared using ionic gelation method. In the present study, commercial chitosan with medium molecular weight was used. At first, 3 g of chitosan was dissolved in 300 ml of distilled water and placed on a magnetic stirrer at 550 rpm to dissolve completely and evenly at room temperature (with one magnet). To adjust the pH =5, some acetic acid was added. Then a certain amount of Russian knapweed extract was added to it. In the next step, 0.5 g of sodium polyphosphate (TPP) in 50 ml of distilled water was completely dissolved and added drop by drop to the chitosan solution, that was stirring on a magnetic stirrer, and the stirring process continued for 60 minutes. This was repeated for all 3 concentrations of Russian knapweed extract separately. After the reaction time, the final solution was centrifuged for 5 min and after smoothing, the top solution of sediments deposited in the oven was dried for 24 h at 60 °C.

Results: Basic techniques for investigation and determination of nanoparticle properties including: thermogravimetric analysis (TGA), Fourier transform infrared (FT-IR), X-ray diffraction (XRD) and Scanning Electron Microscope (SEM) tests. The samples obtained by these tests were analyzed. Infrared spectroscopy was used to investigate the vibrational frequencies of chemical compounds. Thermal weight measurement analysis method, which is based on weight changes during sample heating, was performed to investigate the difference in thermal stability of the samples in the temperature range of 0-700 °C. X-ray diffraction pattern of the samples was performed using Cu-Ka radiation. Surface morphology and particle distribution were also obtained using scanning electron microscopy with accelerator voltage k 15. In Spectrophotometric analysis, the presence of a peak in the range of 700 nm indicates the biological synthesis of these nanoparticles with extract of Russian knapweed. FTIR spectroscopy showed the biomolecules present in the extract and involved in the synthesis, which confirms the process of green synthesis of chitosan nanoparticles. In the FTIR spectrum obtained from chitosan nanoparticles with aqueous extract of Russian knapweed and pure extract of Russian knapweed, the presence of factor groups confirming the existence and presence of effective antioxidant compounds such as phenols and flavonoids in the plant extract is used. Based on this, the participation and involvement of phenolic compounds in the Russian knapweed in the synthesis of chitosan nanoparticles is quite clearly observed and understood. The size and morphology of biologically synthesized nanoparticles were determined by scanning electron microscopy, and it was found that the shape of the nanoparticles produced is approximately spherical with an average size of about 33 to 76 nanometers. One of the main reasons for the difference in the shape and size of the synthesized nanoparticles is the different concentrations of the plant extract used. The results of X-ray diffraction analysis also showed the nanocrystals synthesized by the extract of Russian knapweed.

Conclusion: According to the results, it can be said that the polyphenolic compounds in the Russian knapweed extract were acted reducing agents, and also as a complexing agent synthesize chitosan nanoparticles and make them sustainable. The process of ion reduction and synthesis of nanoparticles are done by primary and secondary metabolites such as antioxidants, flavonoids, flavonoids, isoflavones, anticyanidins, isothiocyanates, carotenoids and polyphenols present in the extract. According to the obtained results, plant extracts have a good compatibility with the environment, so that they can be used for rapid production of chitosan nanoparticles, which is a simple, green and efficient method for the synthesis of nanoparticles at room temperature. It is a reducing and inhibiting agent without the use of any chemicals.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Nabati souha L, Alebrahim MT, Habibi Yangjeh A, Feizpoor S. Green synthesis of Chitosan nanoparticles by extract of aerial organs of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.). Razi J Med Sci. 2021;28(11):35-47.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

فناوری نانو یکی از جدیدترین، مهم‌ترین و کارآمدترین علوم موجود در جهان یک فناوری بین رشته‌ای می‌باشد که با رفع مشکلات و کمبودها موجب دگرگونی و تحولات چشمگیری در علوم شده است (۲). مواد نانو دارای ویژگی‌های منحصر به فرد است که از این ویژگی‌ها می‌توان سبک و کوچک بودن نانو ذرات، نسبت سطح به جرم زیاد، سرعت انحلال و پراکندگی آن‌ها، استفاده در مقادیر کم، صرفه جویی در مواد مصرفی، چند کاربردی بودن و نداشتن خطر برای محیط زیست را نام برد (۳، ۴). نانو ذرات، ذراتی به ابعاد و اندازه ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خاصیت این مواد به اندازه نانومتری آن‌ها بستگی دارد (۵). تهیه‌ی نانو ذرات امکان واکنش با مولکول‌های آلی و غیر آلی را افزایش می‌دهد (۶). دامنه‌ی وسیعی از پلیمرهای سنتزی و طبیعی می‌توانند برای آماده سازی نانو ذرات مورد استفاده قرار بگیرند (۷-۹).

کیتوزان (Chitosan) یک آمینوپلی‌ساکارید خطی، آب دوست و طبیعی با واحدهای D-گلوکز آمین و N-استیل D-گلوکز آمین است که شباهت ساختاری زیادی به سلولز دارد (۱۰). این ماده مشتقی از کیتین است که در نتیجه‌ی حذف گروه استیل از کیتین به دست می‌آید (۱۱-۱۳). این ماده غیر سمی، زیست تخریب پذیر، دارای خواص آنتی باکتریایی، خواص چسبندگی، ساختمان بی نظیر، خصوصیات چند بعدی، عملکرد بالا و ویژگی‌های جالب توجه بوده که باعث شده است امروزه به طور وسیعی در پزشکی، صنعت و کشاورزی مورد توجه قرار بگیرد (۱۲-۱۵). این ماده از طریق گروه‌های آمین موجود در ساختار خود در واکنش‌های شیمیایی مختلف شرکت می‌کند (۱۶). برای تولید نانو ذرات بیشتر از روش‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود (۱۷). اگرچه این روش‌ها ممکن است تولید خالص موفق و شناخته شده‌ای داشته باشند، اما به طور کلی گران، زمانبر و برای محیط زیست و انسان خطرناک هستند (۱۷-۱۹). بنابراین باید به جای این روش‌ها از روش‌های جایگزین مانند میکروارگانیزم‌ها، قارچ‌ها، گیاهان، عصاره‌های گیاهی و بیوماس گیاهی استفاده شود که خطرات زیست محیطی کمتری نیز داشته باشد (۲۰، ۲۱). سنتز نانو ذرات با استفاده از مواد

بیولوژیکی و روش زیستی به خاطر ویژگی‌های جدید فیزیکی، شیمیایی و کاربردهای زیاد آن‌ها در علوم مختلف مورد علاقه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است (۲۱). بسیاری از بیومولکول‌های موجود در گیاهان مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، ترکیبات الکلی، ویتامین‌ها و پروتئین‌ها می‌توانند در کاهش زیستی، تشکیل و تثبیت نانو ذرات نقش داشته باشند (۲۲). در مطالعه‌ی نانو ذرات کیتوزان توسط عصاره‌ی آبی گیاه آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*) با موفقیت سنتز شدند (۲۳). همچنین در یک مطالعه‌ی دیگری نانو ذرات کیتوزان توسط عصاره‌ی برگ گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*) سنتز شدند که آنالیزهای صورت پذیرفته تأیید کننده‌ی سنتز سبز نانو ذرات کیتوزان بود (۲۴). امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی برای سنتز سبز نانو ذرات توسعه پیدا کرده است تا نانو ذراتی سازگار با محیط زیست و از آن قیمت تولید شود (۲۵). از جمله گیاهانی که می‌توان از آن برای سنتز نانو ذرات استفاده کرد گیاه تلخه می‌باشد (۲۶، ۲۵).

گیاه تلخه با نام علمی *Acroptilon repens* L. چندساله، علفی، از خانواده آستراسه و بومی آسیا از جمله ایران است. توان رقابتی بالای تلخه به دلیل داشتن ترکیبات آللوپاتیک و سازگاری اکولوژیکی زیاد، این گیاه را به عنوان علف هرز مهاجم در جهان معرفی کرده است (۲۷-۲۹). تلخه دارای ترکیبات شیمیایی فنولی همچون سزکوئین‌ترین، فلاونوئید، ۷-۸ بنزوفلاوین و کاتچین است (۲۹-۳۲). در مطالعات اخیر از علف هرز تلخه برای سنتز سبز نانو ذرات نقره استفاده شده است که گزارش حاصل از این تحقیق نشان دهنده‌ی موفقیت آمیز بودن سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از این گیاه بوده است (۳۳). هدف از این مطالعه استفاده از عصاره‌ی اندام‌های هوایی گیاه تلخه به منظور سنتز سبز نانو ذرات کیتوزان بود.

روش کار

این تحقیق به منظور بررسی سنتز سبز نانو ذرات کیتوزان با عصاره آبی اندام‌های هوایی تلخه در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه‌های علف هرز و شیمی فیزیک دانشکده



شکل ۱- مراحل عصاره گیری از گیاه تلخه (*Acroptilon repense* L.)

تری پلی فسفات سدیم (TPP) توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ توزین و در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به طور کامل حل و به صورت قطره قطره به محلول کیتوزان که روی همزن مغناطیسی در حال هم زدن بود اضافه شد و عمل هم زدن به مدت ۶۰ دقیقه ادامه یافت. این کار برای هر ۳ غلظت عصاره تلخه به صورت جداگانه تکرار شد. محلول نهایی پس از پایان زمان واکنش به مدت ۵ دقیقه سانترفیوژ شده و پس از صاف کردن محلول رویی رسوبات ته نشین شده در دستگاه آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید.

تکنیک‌های اساسی به منظور بررسی و تعیین ویژگی‌های نانو ذرات شامل (Thermal Gravimetric Analysis (TGA), (Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), (X-ray Diffraction (XRD) و (Electron Microscope (SEM) است (۴۳-۴۱). برای بررسی فرکانس‌های ارتعاشی ترکیبات شیمیایی از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استفاده گردید. روش آنالیز وزن سنجی حرارتی (TGA) که تغییرات وزن ماده را به صورت تابعی از دما یا زمان در یک اتمسفر کنترل شده ثبت میکند، جهت بررسی تفاوت پایداری گرمایی نمونه‌ها در محدوده دمایی ۰-۷۰۰ درجه سانتی گراد انجام شد. الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نمونه‌ها با استفاده از تابش Cu-Ka صورت گرفت. همچنین مورفولوژی سطح و توزیع ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و با ولتاژ شتاب دهنده ۱۵ k به دست آمد.

یافته‌ها

تفسیر نتایج به دست آمده از آنالیز TGA

شکل ۳ رفتار حرارتی و کاهش وزن را در نمودار وزن

کشاورزی و منابع طبیعی و علوم پایه دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد.

تهیه عصاره‌ی آبی تلخه: به منظور تهیه و آماده‌سازی مواد مورد نیاز برای انجام آزمایش، اندام هوایی علف‌هرز تلخه در مرحله‌ی قبل از گلدهی از یک زمین با آلودگی شدید به تلخه در اردبیل جمع‌آوری گردید. گیاه جمع‌آوری شده به آزمایشگاه علف‌های هرز منتقل و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد. نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب پودر شد. برای تهیه عصاره‌ی آبی از روش ماسراسیون یا خیساندن (Macerate) استفاده شد (شکل ۱). مقدار ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم پودر تلخه را داخل ارلن‌های جداگانه ریخته و سپس مقدار مشخصی آب مقطر دو بار تقطیر شده به آن‌ها اضافه شد تا حجم نهایی به ۱۰۰۰ میلی لیتر برسد.

سپس به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. عصاره‌های به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف شدند. در مرحله آخر عصاره‌های صاف شده با دور ۵۰۰۰ rpm و به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شد و محلول بالای به عنوان عصاره خالص جدا شده و جهت انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۳۵، ۳۴).

سنتر نانوذرات کیتوزان با عصاره تلخه: نانو ذرات کیتوزان با استفاده از روش ژل شدن یونی (Ionic gelation) تهیه شد (۳۶-۴۰). در مطالعه حاضر از کیتوزان تجاری با وزن مولکولی متوسط استفاده گردید. ابتدا ۳ گرم کیتوزان را توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ توزین و در ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و جهت انحلال کامل و یکنواخت شدن، در دمای اتاق (با یک عدد مگنت) روی همزن مغناطیسی با دور rpm ۵۵۰ قرار داده شد. برای تنظیم pH=5 مقداری به آن استیک اسید اضافه و سپس مقدار مشخصی از عصاره تلخه به آن اضافه شد. در مرحله بعد مقدار ۰/۵ گرم



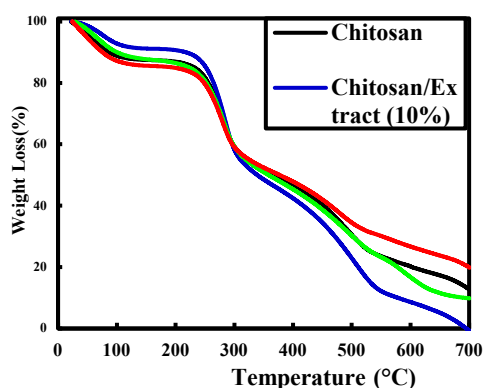
شکل ۲- مراحل سنتز نانوذرات کیتوزان با عصاره گیاه تلخه (*Acroptilon repense* L.)

کرده و در دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد وزنش به صفر می‌رسد. همچنین در مرحله آخر گرمادهی، نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره گیاه ۲۰٪ تلخه نسبت به نمونه‌های دیگر کاهش وزن کمتری داشته و نسبت به آن‌ها در برابر گرمادهی مقاومت از خود نشان داده است.

بررسی نتایج حاصل از آنالیزهای طیف FT-IR

طیف سنجی FT-IR بر اساس جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌ها صورت گرفت. طیف سنجی مادون قرمز ابزاری جهت مطالعه وضعیت پیوندها و ریز ساختار مواد در شیمی آلی است که برای بررسی باندهای هیدروژنی و دیگر واکنش‌ها و قابلیت آمیختن پلیمرها می‌باشد (۴۶). به منظور شناسایی گروه‌های عاملی که در ترکیب‌های شیمیایی عصاره گیاه تلخه و بر روی سطح نانوذرات کیتوزان وجود دارد و همچنین برای تایید تشکیل نانوذرات، طیف FT-IR مربوط به نمونه‌های عصاره گیاه تلخه، کیتوزان خالص و نانوذرات کیتوزان تهیه شده با

سنجی حرارتی نانوذرات تهیه شده به روش زیستی با عصاره تلخه و به صورت خالص نشان می‌دهد که حاکی از تفاوت در پایداری حرارتی نمونه‌ها می‌باشد. اولین کاهش وزن در کیتوزان خالص و کیتوزان سنتز شده به روش زیستی از شروع گرمادهی تا محدوده دمایی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود که تقریباً حدود ۱۰٪ می‌باشد. در این نمودارها افت وزنی که تا دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد مربوط به از دست دادن مولکول‌های آب جذب شده توسط ذرات می‌باشد (۴۴). دومین کاهش وزن در کیتوزان خالص و کیتوزان سنتز شده به روش زیستی مربوط به محدوده دمایی ۲۰۰ تا ۳۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که در این محدوده دمایی ۴۰٪ کاهش وزن مشاهده می‌شود. این کاهش وزن مربوط به تجزیه زنجیرهای پلیمری می‌باشد، که بیشترین کاهش وزن در این محدوده دمایی به دلیل کاهش باندهای هیدروژن بین N-استیل و گروه‌های آمین آزاد می‌باشد که دپلمریزه شده و واحدهای گلوکز آمین کیتوزان تجزیه می‌شوند (۴۵). همچنین کاهش وزن در این محدوده دمایی به دلیل تخریب مولکول‌های فعال گیاهی نیز می‌باشد. سومین کاهش وزن مربوط به محدوده دمایی ۳۱۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که علت آن را می‌توان به تخریب بیشتر ساختار پلیمر نسبت داد. با سنتز نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره گیاه تلخه پایداری گرمایی آن‌ها کاهش پیدا می‌کند. در مقایسه رفتار حرارتی نمونه‌ها با هم مشاهده می‌شود که نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره گیاه ۱۰٪ تلخه در ابتدا نسبت به نمونه‌های دیگر مقاومت بیشتری در برابر گرمادهی از خود نشان می‌دهد. اما با افزایش دما و از محدوده ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به بعد با سرعت بیشتری کاهش وزن پیدا



شکل ۳- نمودارهای TGA مربوط به نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره گیاه تلخه به روش زیستی

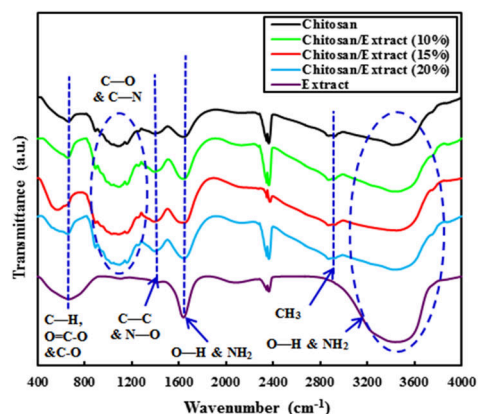
C-N در نانوذرات و عصاره می‌باشد (۵۲-۵۰). پیک‌های ناحیه‌ی 2929 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات نامتقارن گروه متیلن (CH_3)، و پیک محدوده‌ی cm^{-1} 1600 در عصاره و نانوذرات سنتز شده با عصاره مربوط به ارتعاشات خمشی NH_2 می‌باشد. پیک موجود در محدوده‌ی 700 cm^{-1} هم مربوط به گروه C-H در کیتوزان و عصاره‌ی گیاهی و هم مربوط به گروه‌های C-O=O و حلقه C-O کربوکسیل و الکلک عصاره گیاهی می‌باشد (۵۳، ۴۹).

بررسی خصوصیات سنتز نانوذرات کیتوزان با استفاده از الگوی XRD

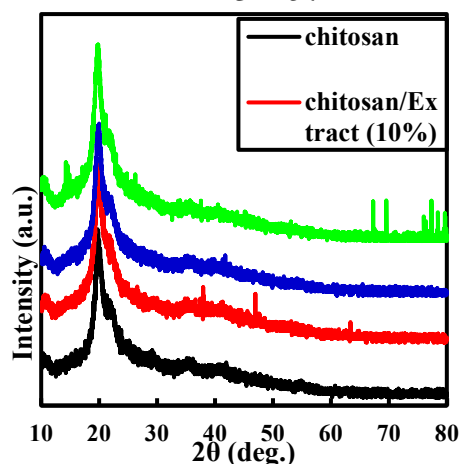
الگوی XRD مربوط به سنتز نانوذرات کیتوزان به روش زیستی با عصاره‌ی گیاه تلخه در شکل ۵ نشان داده شده است. قله‌های پهن و نواحی کریستالی قله‌های تیز را در نمودار می‌توان مشاهده کرد، که از نسبت شدت این قله‌ها می‌توان برای تعیین بلورینگی استفاده کرد (۵۴). طبق نتایج آنالیز XRD یک پیک مشخصه‌ی پهنی در $2\theta=20$ با صفحه‌ی (۱۱۰) وجود دارد که نشان دهنده ساختار کریستالی نانوذرات کیتوزان به دلیل وجود گروه‌های آمین و هیدروکسیل که در ساختار کیتوزان وجود دارند می‌باشد (۵۵). پیک‌های محدوده‌ی $2\theta=15$ ، $2\theta=39$ ، $2\theta=48$ ، $2\theta=63$ ، $2\theta=69$ ، $2\theta=70$ ، $2\theta=76$ و $2\theta=77$ کیتوزان سنتز شده به روش زیستی را نشان می‌دهد. ایجاد پیک‌های جدید بیانگر ساختار کریستالی نانوذرات سنتز شده به علت اثرات متقابل بین کیتوزان و TPP، و همچنین حضور مولکول‌های زیستی عصاره‌ی گیاهی در سنتز نانوذرات می‌باشد. در مقایسه با نانوذرات کیتوزان خالص، نانوذرات کیتوزان سنتز شده به روش زیستی پیک یا شکل خیلی متفاوتی نشان نمی‌دهند. این نشان می‌دهد که عصاره تأثیری روی ساختار بلوری و کریسالی نانوذرات ندارد. علاوه بر این، هیچ گونه پیک مربوط به ناخالصی مشاهده نشده است که بیانگر خلوص بالای ترکیبات تهیه شده است.

بررسی مورفولوژی نانوذرات تهیه شده با استفاده از تصاویر SEM

جهت به‌دست آوردن اطلاعات در مورد مورفولوژی، شکل و اندازه نانوذرات تهیه شده به روش زیستی، آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی بر روی نانوذرات انجام و

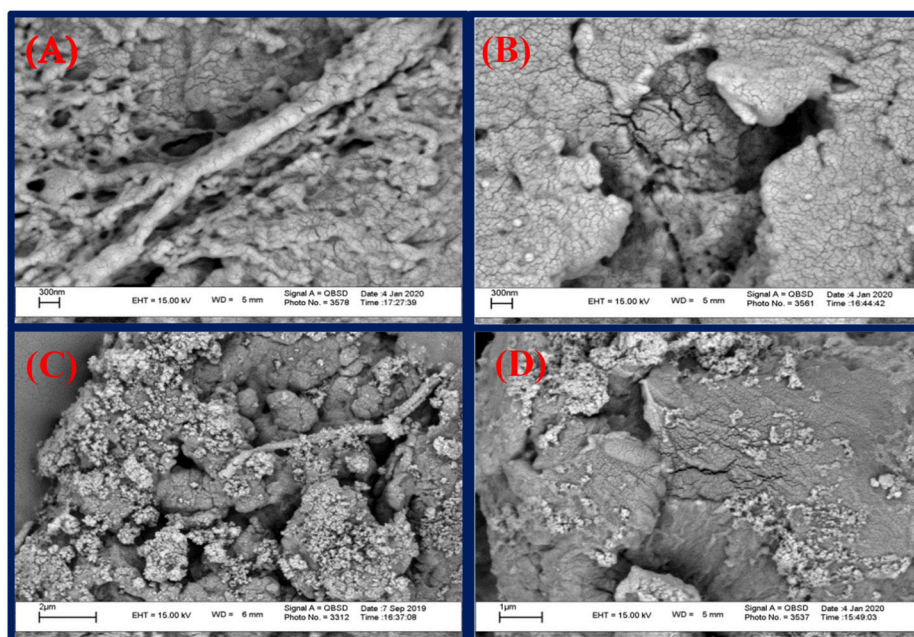


شکل ۴- نمودارهای FT-IR مربوط به نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره‌ی گیاه تلخه به روش زیستی



شکل ۵- نمودارهای XRD مربوط به نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره‌ی گیاه تلخه به روش زیستی

عصاره‌ی تلخه در شکل (۴) مورد مطالعه قرار گرفت. پیک جذبی پهنی که در محدوده‌ی 3200 cm^{-1} تا 3600 cm^{-1} وجود دارد یک پیک ترکیبی ناشی از ارتعاشات کششی گروه‌های NH_2 و O-H و همچنین ارتعاشات کششی مربوط به مولکول‌های آب جذب شده در کیتوزان، نانوذرات و عصاره می‌باشد (۴۸، ۴۷). پیک‌هایی که در نمودار در ناحیه‌ی 1400 cm^{-1} وجود دارد مربوط به ارتعاشات کششی کربونیل عصاره و گروه‌های C-C موجود در حلقه آروماتیک ترکیبات فنولی و عصاره و همچنین مربوط به ارتعاشات کششی نامتقارن N-O می‌باشد (۴۹). طبق نمودار پیک موجود در ناحیه‌ی 1600 cm^{-1} مربوط به گروه‌های O-H موجود در ترکیبات فنولی و عصاره و پیک جذبی پهنی که در ناحیه‌ی 1000 cm^{-1} تا 1200 cm^{-1} وجود دارد مربوط به گروه‌های آمیدی و ارتعاشات کششی C-O و



شکل ۶- تصویر میکروسکوپ SEM از نانوذرات کیتوزان. (A) کیتوزان خالص (B) نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره‌ی ۱۰٪ تلخه (C) نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره‌ی ۱۵٪ تلخه (D) نانوذرات کیتوزان تهیه شده با عصاره‌ی ۲۰٪ تلخه

به عنوان عامل کاهش دهنده و تثبیت کننده سنتز شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

نیاز حیاتی در زمینه نانوفناوری، توسعه فرآیندهای زیست سازگار با محیط زیست است که روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی جهت تولید نانو ذرات برای دستیابی به اهداف زیستی و غیر زیستی مورد بررسی قرار گرفته است. امروزه یکی از کارآمدترین روش‌های سنتز نانو ذرات، روش سنتز سبز یا بیوسنتز نانو ذرات توسط گیاهان می باشد (۵۷). تهیه و سنتز سبز نانو ذرات با تأیید اندازه و شکل درآزمایش‌های مختلفی ارائه شده و از اهمیت فراوانی برخوردار است (۵۸). فرآیند احیای یون‌ها و سنتز نانو ذرات، به وسیله متابولیت‌های اولیه و ثانویه‌ای مانند آنتی‌اکسیدان‌ها، فلاونوئیدها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، آنتی‌سیانیدین‌ها، ایزوتیوسانات‌ها، کاروتنوئیدها و پلی فنول‌ها که در عصاره گیاهی وجود دارند صورت می‌گیرد (۵۷). گیاهان زیادی وجود دارد که توانایی تولید و سنتز نانو ذرات و استفاده از آن‌ها در صناعت‌های ارزشمند و گران‌بها را دارند ولی هنوز ناشناخته باقی مانده‌اند (۵۹ T60). به نظر می‌رسد که عصاره‌های گیاهی دارای سازگاری

مورد بررسی و تجزیه تحلیل قرار گرفتند که نتایج مطلوبی مشاهده گردید (شکل ۶). همان طور که مشاهده می‌شود نانوذرات کیتوزان از گستره توزیع نسبتاً مناسبی برخوردارند، همچنین کروی شکل بوده و به صورت توده‌های زنجیر مانند هستند. با توجه به شکل‌های به دست آمده عصاره‌ی تلخه بر روی نانوذرات کیتوزان توزیع شده‌اند و همچنین نانوذرات سنتز شده به روش زیستی با استفاده از عصاره‌ی گیاه تلخه اندازه‌ی کوچکتری نسبت به نانوذرات کیتوزان خالص دارند، که این کاهش اندازه را می‌توان به حضور ترکیبات فعال آلی موجود در عصاره نسبت داد که در زمان سنتز به سطح نانوذرات متصل شده و مانع از افزایش اندازه ذرات و تجمع آن‌ها می‌شود (۵۶). بر اساس نتایج به دست آمده اندازه نانوذرات کیتوزان خالص حدود ۷۶ نانومتر تخمین زده شد. میانگین ابعاد نانوذرات سنتز شده با عصاره‌ی ۱۰ درصد تلخه ۶۵ نانومتر، ۱۵ درصد تلخه ۵۸ نانومتر و ۲۰ درصد تلخه ۳۳ نانومتر گزارش شد. بدین ترتیب می‌توان گفت قطر نانو ذرات کیتوزان به دست آمده در این مطالعه نسبت به سایر مطالعات انجام شده، مشابه و به طور نسبی از اندازه‌ی مطلوبی برخوردار است. بنابراین نانوذرات کیتوزان با موفقیت و با استفاده از عصاره‌ی گیاه تلخه

نانوذرات کیتوزان شود (۵۵، ۱۷).

در آزمایش حاضر نانوذرات سنتز شده به این روش توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی آنالیز گردید که با توجه به تصاویر به دست آمده نانوذرات حاصل دارای میانگین ابعاد ۳۳ تا ۷۶ نانومتر بودند. در مطالعه‌ای نانوذرات کیتوزان توسط عصاره‌ی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) سنتز شدند و ساختارشناسی و آنالیزهای صورت پذیرفته بر روی این نانو ذرات به وضوح نشان داد که نانو ذرات سنتز شده دارای ابعادی در محدوده ۳۰ نانومتر بوده‌اند که نسبت به نانوذرات کیتوزان خالص اندازه‌ی کوچکتری دارند. در آزمایش دیگری با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیان شد که در سنتز نانوذرات کیتوزان با عصاره‌ی آبی گیاه آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*) قطر نانوذرات تولید شده حدود ۶۰ تا ۱۰۰ نانومتر بود (۲۳). همچنین در یک مطالعه‌ی دیگر نانوذرات کیتوزان توسط عصاره برگ گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*) سنتز گردید. توسط تصویر به دست آمده اثبات شد که ذرات نانوذرات کیتوزان کروی بوده و قطری در حدود ۴۵ تا ۵۰ نانومتر دارند (۲۴).

یکی از دلایل اصلی تفاوت در شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گیاهی مورد استفاده می‌باشد (۵۷). تعیین غلظت بهینه برای هر گیاه و هر نانوذره‌ای می‌تواند در تولید و سنتز حداکثری و اقتصادی نانوذرات بسیار مفید و تأثیر گذار باشد. علاوه بر این، نوع ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی مختلف، بسته به نوع گیاه مورد استفاده در سنتز سبز نانوذرات متفاوت می‌باشد و آشکار است که این موضوع باعث تغییر در شکل، اندازه و میزان تولید و سنتز نانوذرات می‌گردد. وجود گروه‌های عاملی فنولی و حلقه آروماتیک پلی فنولی در عصاره‌ی گیاهی، تأیید کننده‌ی این امر است که نانو ذرات کیتوزان در پوششی از مواد مؤثره گیاه رسوب می‌کند (۶۱). بدین ترتیب می‌توان گفت قطر نانو ذرات کیتوزان به دست آمده در این مطالعه نسبت به سایر مطالعات انجام شده، مشابه و به طور نسبی از اندازه‌ی مطلوبی برخوردار است.

در این پژوهش عصاره‌ی اندام هوایی گیاه تلخه به عنوان عامل احیا کننده در تولید نانو ذره نقش داشته و

خوبی با محیط زیست هستند، به طوریکه می‌توان از این روش برای تولید سریع نانوذرات کیتوزان استفاده کرد که این روش، روشی ساده، سبز و کارآمد برای سنتز نانو ذرات در دمای اتاق بدون استفاده از هیچ گونه ماده شیمیایی مضر، کاهش دهنده و عامل بازدارنده است (۵۱). با توجه به بی‌ثباتی و فراریت عصاره‌ها و در عین حال خواص مفید آن از جمله حشره‌کشی، آفت‌کشی، علف‌کشی، ویروس‌کشی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ... می‌توان با استفاده از یک پلیمر مناسب مانند کیتوزان برای کپسوله کردن آن استفاده کرد که در نتیجه موجب ثبات و پایداری عصاره می‌شود و از این فرمولاسیون می‌توان در جهت تهیه‌ی آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌های طبیعی و ایمن بدون اثرات زیست محیطی بهره‌مند شد (۱۷).

در آزمایش حاضر نانوذرات کیتوزان از طریق روش ژل شدن یونی (*Ionic gelation*) و با استفاده از اصول سنتز سبز و برخلاف روش‌های شیمیایی با استفاده از عصاره‌ی آبی زیست توده‌ی اندام‌های هوایی گیاه تلخه تولید و سنتز گردید. برای عصاره‌گیری از برگ خشک گیاه استفاده شد، زیرا طبق مطالعات انجام شده برگ خشک گیاهان ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به برگ‌های غیرخشک دارند (۲۴). گیاه تلخه دارای ترکیبات شیمیایی فنولی همچون سزکوئی ترپن، فلاونوئید، ۸-۷ بنزوفلاوین و کاتچین است (۳۰، ۲۹). ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره‌ی تلخه به عنوان عامل کاهنده یون عمل کرده، همچنین به عنوان عامل کمپلکس کننده هم موجب سنتز نانوذرات کیتوزان و هم موجب پایداری آن‌ها می‌شوند. در این پژوهش می‌توان گفت که علف‌هرز تلخه قابلیت سنتز نانو ذرات کیتوزان را دارا می‌باشد و با توجه به این که تاکنون استفاده از این گیاه به منظور کاهش زیستی نانوذرات کیتوزان گزارش نشده است، نتایج حاصل از این تحقیق کارکرد خوب این گیاه را برای اولین بار به وضوح نشان می‌دهد. سنتز موفقیت آمیز نانوذرات کیتوزان-تری پلی فسفات کمپلکس شده با مولکول‌های فعال گیاهی به روش ژل شدن یونی با استفاده از آنالیزهای FTIR، TGA، XRD و SEM مشخص شد. مطالعات قبلی در مورد نانوذرات کیتوزان نشان داد که عصاره‌های گیاهی می‌تواند موجب سنتز سبز

سایر روش‌های زیستی به دلیل بی‌خطر بودن و همچنین قابلیت بالای گیاهان است که بسیار قابل اعتمادتر و سالم‌تر از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها برای تولید نانوذرات است (۶۷). در آزمایشات مختلف گزارش شده است که سنتز نانوذرات کیتوزان می‌تواند در زمینه‌های مختلفی مانند پزشکی، داروسازی، صنعت و کشاورزی مورد استفاده قرار بگیرد (۶۷-۷۱). در پژوهش حاضر، تولید و سنتز نانو ذرات کیتوزان توسط عصاره‌ی زیست توده اندام‌های هوایی گیاه تلخه توسط آنالیزهای توزین حرارت، سنجش مغناطیسی نمونه ارتعاشی، طیف سنجی مادون قرمز، میکروسکوپ الکترونی روبشی و پراش اشعه ایکس به اثبات رسید و مشخص گردید که گیاه تلخه توانایی بیوسنتز نانوذرات کیتوزان را دارا می‌باشد.

سنتز نانوذرات به روش سبز بیشتر مورد توجه بوده و توسط بیشتر محققان مورد استفاده قرار گرفته است. بیوسنتز نانوذرات با استفاده از عصاره آبی موجود یک روش ساده، سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه است. در گیاه تلخه ترکیبات شیمیایی فنولی همچون فلاونوئیدها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، پلی فنول‌ها، سزکوئی‌ترین‌ها، بنزوفلاونین‌ها وجود دارد که موجب سنتز نانوذرات می‌شوند. طبق نتایج به دست آمده گیاه تلخه (*Acroptilon repens* L.) قابلیت سنتز نانوذرات کیتوزان را دارد و این نانوذرات با استفاده از این روش با موفقیت سنتز شدند. لذا می‌توان بیان کرد که این گیاه برای تولید نانوذرات کیتوزان مناسب بوده و همچنین می‌توان گفت که این نانوذرات تولیدی می‌تواند در حوزه‌ی پزشکی، دارویی، کشاورزی بسیار کارآمد و مفید باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد با عنوان "بررسی اثر عصاره آبی علف هرز تلخه (*Acroptilon repens* L.) به صورت خالص و فرموله شده با دو حامل به عنوان علف‌کش زیستی در کنترل تعدادی از علف‌های هرز گندم (*Triticum aestivum* L.)" و کد ۹۸۸۹-۵۱ می‌باشد.

در این برهمکنش، فلاونوئید موجود در عصاره‌ی گیاه عمل احیا را انجام داده که تشکیل آن با دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD) به تأیید رسید. وجود پیک‌های پهن موجود در الگوی XRD نشان دهنده‌ی سایز کم نانوذرات سنتز شده می‌باشد (۶۳، ۶۲). همچنین موقعیت‌ها و شدت نسبی پیک‌های XRD نانوذرات کیتوزان در این پژوهش با نمونه‌های استاندارد سنتز نانوذرات کیتوزان برابری می‌کند (۵۵). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که نانوذرات کیتوزان به دلیل داشتن مساحت سطحی بالا و دارا بودن گروه‌های عاملی آمین و کربوکسیل به طور موثری قادر به ترکیب شدن با عصاره‌ی گیاهی تلخه می‌باشد.

طیف سنجی FT-IR زیست مولکول‌های موجود در عصاره و درگیر در سنتز را نشان داد که تأیید کننده‌ی روند سنتز سبز نانوذرات کیتوزان می‌باشد. در طیف FT-IR حاصل از نانوذرات کیتوزان سنتز شده با عصاره‌ی گیاه تلخه و عصاره‌ی خالص گیاه تلخه وجود گروه‌های عاملی تأیید کننده‌ی وجود و حضور ترکیبات مؤثره آنتی اکسیدانی مانند فنل‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ی گیاه مورد استفاده می‌باشد. بر این اساس شرکت و دخالت ترکیبات فنولی گیاه تلخه در سنتز نانوذرات کیتوزان کاملاً به وضوح مشاهده و درک می‌شود. طبق طیف‌های FT-IR به دست آمده پیک جذبی پهنی که در محدوده‌ی 1600 cm^{-1} در عصاره و نانوذرات سنتز شده با عصاره وجود دارد مربوط به ارتعاشات خمشی NH_2 است که مشخصه‌ی پلی‌ساکاریدی کیتوزان و همچنین رخ دادن پدیده داستیلاسیون می‌باشد (۵۰، ۶۴، ۶۵). نتایج FT-IR حاصل از این آزمایش بیانگر آن بود که پیک‌هایی که در نمودار عصاره‌ی گیاه و کیتوزان خالص بود در نمودار نانو ذرات سنتز شده با عصاره گیاهی نیز حضور داشتند که این خود نشان دهنده‌ی کپسوله شدن موفقیت آمیز ترکیبات گیاهی داخل نانوذرات کیتوزان می‌باشد. بنابراین طبق طیف سنجی FT-IR می‌توان ادعا کرد که ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره به عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده و پوشش دهنده‌ی نانوذرات ایفای نقش می‌کنند، همچنین به عنوان عامل کمپلکس کننده موجب سنتز نانوذرات می‌شوند (۶۶، ۵۱).

به طور کلی مزیت تولید نانو ذرات به روش سبز، بر

References

1. Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann NB, Filser J, Miao AJ, et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*. 2008;17(5):372-386.
2. Chen H, Yada R. Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. *Trends Food Sci Technol*. 2011;22(11):p. 585-594.
3. Singh M, Manikandan S, Kumaraguru A. Nanoparticles: a new technology with wide applications. *Res J Nanosci. Nanotechnol*. 2011;1(1):1-11.
4. Ghadi A, Mahjoub S, Tabandeh F, Talebnia F. Synthesis and optimization of chitosan nanoparticles: Potential applications in nanomedicine and biomedical engineering. *Caspian J Intern Med*. 2014;5(3):156.
5. Pérez-de-Luque A, Rubiales D. Nanotechnology for parasitic plant control. *Pest Manag Sci*. 2009;65(5):540-545.
6. Zaboli K, Aliarabi H, Bahari AA, Abbas Alipour Kabireh R. Role of dietary nano-zinc oxide on growth performance and blood levels of mineral: A study on in Iranian Angora (Markhoz) goat kids. *J Pharma Health Sci*. 2013;2(1):19-26.
7. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003;55(3):329-347.
8. Mahapatro A, Singh DK. Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines. *J Nanobiotechnology*. 2011;9(1):55.
9. Jawahar N, Meyyanathan, S. Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review. *Int J Health Allied Sci*. 2012;1(4):217.
10. Winkler AJ, Alfonso Dominguez-Nuñez J, Aranaz I, Poza-Carrión C, Ramonell K, Somerville S, et al. Short-chain chitin oligomers: Promoters of plant growth. *Mar Drugs*. 2017;15(2):40.
11. Cheung RCF, Ng TB, Wong JH, Chan WY. Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications. *Mar Drugs*. 2015;13(8):5156-5186.
12. de Arruda INQ, Pereira VA, Stefani R. Application of chitosan matrix for delivery of rutin. *JICS*. 2017;14(3):561-566.
13. Alvarez JF, Hernández-López J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*. 2012;30(2):386-392.
14. Azadi A, Hamidi M, Rouini MR. Methotrexate-loaded chitosan nanogels as 'Trojan Horses' for drug delivery to brain: preparation and in vitro/in vivo characterization. *Int J Biol Macromol*. 2013;62:523-530.
15. Rampino A, Borgogna M, Blasi P, Bellich B, Cesaro A. Chitosan nanoparticles: preparation, size evolution and stability. *Int J Pharm*. 2013; 455(1-2):219-228.
16. Zhao LM, Shi IE, Zhang ZL, Chen JM, Shi D, Yang J, et al. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Braz J Chem Eng*. 2011;28(3):353-362.
17. Awwad AM, Salem NM, Abdeen AO. Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. *IJIC*. 2013;4(1): p. 29.
18. Karimi J, Mohsenzadeh S. Plant synthesis of silver nanoparticles by *Achillea wilhelmsii* Pharmaceutical plant. *Razi J Med Sci*. 2013;20(111):64-69 (Persian).
19. Hamed S, Shojaosadati SA, Mohammadi A. Evaluation of the catalytic, antibacterial and anti-biofilm activities of the *Convolvulus arvensis* extract functionalized silver nanoparticles. *J Photochem Photobiol*. 2017;167:36-44.
20. Pantidos N, Horsfall LE. Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *J Nanomed Nanotechnol*. 2014;5(5):1.
21. Song JY, Kim BS. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2009; 32(1):79.
22. Rasaei I, Ghannadnia M, Honari H. Antibacterial properties of biologically formed chitosan nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum basilicum*. *Nanomed J*. 2016;3(4):240-247.
23. Krimimoghdam Z. Synthesis of *Zataria Multiflora* extraction loaded chitosan/PEO nanofibers via electrospinning method for potential biomedical applications. *Galen Med J*. 2018;8(3):854-861.
24. Nagaonkar D, Gaikwad S, Rai M. Catharanthus roseus leaf extract-synthesized chitosan nanoparticles for controlled in vitro release of chloramphenicol and ketoconazole. *Colloid Polym Sci*. 2015;293(5):1465-1473.
25. Norouzi-Arasi H, et al. Chemical constituents and antimicrobial activities of the essential oil of *Acroptilon repens* (L.) DC. *Flavour Fragr J*. 2006;21(2):247-249.
26. Kanthal LK, Dey A, Satyavathi K, Bhojaraju P. GC-MS analysis of bio-active compounds in methanolic extract of *Lactuca runcinata* DC. *Pharmacognosy Res*. 2014;6(1):58.
27. Alebrahim MT. Study of dormancy-breaking and optimum temperature for germination of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.). *J Plant Prot*. 2011;24(4):391-397.
28. Alebrahim MT, Azadbakht A, Jafarzadeh gallo P. Study on the effect of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) (aqueous extract on seed germination and growth characteristics of purslane, common yellow mallow and wheat. *Iranian Journal*

- of Seed Sciences and Research. 2018;5(4):13-24 (Persian).
29. Quintana N, Weir TL, Du J, Broeckling CD, Rieder JP, Stermitzet FR, et al. Phytotoxic polyacetylenes from roots of Russian knapweed (*Acroptilon repens* (L.) DC.). *Phytochemistry*. 2008;69(14):2572-2578.
30. Alford É, Perry LG, Qin B, Vivanco JM, Paschke MW. A putative allelopathic agent of Russian knapweed occurs in invaded soils. *Soil Biol Biochem*. 2007;39(7):1812-1815.
31. Fitter A. Making allelopathy respectable. *Science*. 2003;301(5638):1337-1338.
32. Stermitz FR, et al. RETRACTED: 7, 8-Benzoflavone: a phytotoxin from root exudates of invasive Russian knapweed. 2003, Elsevier.
33. Behdad R, Mirzaie A, Zare KS. Green synthesis of silver nanoparticle using *Acroptilon repens* extract and evaluation of its anti-efflux activity against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *JMW*. 2017;10(3):210-221. (Persian).
34. Yarnia M, Farajzadeh Memari Tabrizi E, Ahmadzadeh V, Nobari N. Allelopathic Effects of Field Binweed (*Convolvulus arvensis* L.) Extract and Residuals on Wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Agric Sci*. 2010. 2:153-167 (Persian).
35. M Alebrahim MT, Azadbakht A, Jafarzadeh gallo P. The feasibility of the application of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) extract as a biological herbicide for controlling some weeds in wheat and potato crop. *Res Agric*. 2017;9(2):40-57 (Persian).
36. Bulmer C, Margaritis A, Xenocostas A. Production and characterization of novel chitosan nanoparticles for controlled release of rHu-Erythropoietin. *Biochem Eng J*. 2012;68:61-69.
37. Du WL, et al. Preparation, characterization and adsorption properties of chitosan nanoparticles for eosin Y as a model anionic dye. *J Hazard Mater*. 2008;153(1-2):152-156.
38. Grenha A. Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. *J Drug Target*. 2012;20(4):291-300.
39. Nagpal K, Singh SK, Mishra DN. Chitosan nanoparticles: a promising system in novel drug delivery. *Chem Pharm Bull*. 2010;58(11):1423-1430.
40. Shahbaz M, Hamidi M, Mohammadi-Samani S. Preparation, optimization, and in-vitro/in-vivo/ex-vivo characterization of chitosan-heparin nanoparticles: drug-induced gelation. *J Pharm Pharmacol*. 2013; 65(8): p. 1118-1133.
41. Arias J, et al, Development of carbonyl iron/ethylcellulose core/shell nanoparticles for biomedical applications. *Int J Pharm*. 2007;339(1-2): p. 237-245.
42. Arias JL, Reddy LH., Couvreur P. Magneto-responsive squalenoyl gemcitabine composite nanoparticles for cancer active targeting. *Langmuir*. 2008;24(14): p. 7512-7519.
43. de Mello Donegá C, Liljeroth P, Vanmaekelbergh D. Physicochemical evaluation of the hot-injection method, a synthesis route for monodisperse nanocrystals. *Small*. 2005;1(12): p. 1152-1162.
44. Morovati A, Panahi HA, Yazdani F. Grafting of allylimidazole and n-vinylcaprolactam as a thermosensitive polymer onto magnetic nanoparticles for the extraction and determination of celecoxib in biological samples. *Int J Pharm*. 2016;513(1-2): p. 62-67.
45. Uppal S, et al. Chitosan nanoparticles as a biocompatible and efficient nanowagon for benzyl isothiocyanate. *Int J Biol Macromo*. 2018;115: p. 18-28.
46. Zhang M, et al. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials*. 2002;23(13): p. 2641-2648.
47. Siripatrawan U, Harte BR. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocoll*. 2010;24(8): p. 770-775.
48. Venkatachalam P, Thiyagarajan M, Sahi SV. Fabrication of Bioactive Molecules Loaded Chitosan Nanoparticles Using *Gymnema sylvestre* Leaf Extracts and Its Antidiabetic Potential in Experimental Rat Model. *J Bionanoscience*. 2015;9(5): p. 363-372.
49. Shankar SS, Ahmad A, Sastry M. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol Prog*. 2003;19(6): p. 1627-1631.
50. Huang J, et al. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*. 2007;18(10): p. 105104.
51. Kumar Das A, Marwal A, Verma R. Bio-reductive synthesis and characterization of plant protein coated magnetite nanoparticles. in *Nano Hybrids*. *Trans Tech Publ*. 2014;7: p. 69-86.
52. Tavosi F, et al. Green Synthesis of Iron Nano Particles Using *Mentha longifolia* L. Extract. *J Med Plants*. 2018. 2(66): p. 135-144. (Persian).
53. Choudhary MK, Kataria J, Sharma S. A biomimetic synthesis of stable gold nanoparticles derived from aqueous extract of *Foeniculum vulgare* seeds and evaluation of their catalytic activity. *Appl Nanosci*. 2017;7(7):439-447.
54. Ballner D, Herzele S, Keckes J, Edler M, Griesser T, Saake B, et al. Lignocellulose nanofiber-reinforced polystyrene produced from composite microspheres obtained in suspension polymerization shows superior mechanical performance. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(21):13520-13525
55. Jahed E, Almasi H, Alizadeh khaledabad M. Producing and optimizing the properties of chitosan-organic nanofiber biodegradable nanocomposite based containing *O. vulgare* subsp. *gracile* and C.

- copticum essential oils and its application on the oxidative stability of Canola oil. *IFSTR*. 2018;14(5):907-927 (Persian).
56. Gawande MB, Rathi AK, Nogueira ID, Varma RS, Branco PS. Magnetite-supported sulfonic acid: a retrievable nanocatalyst for the Ritter reaction and multicomponent reactions. *Green Chem*. 2013;15(7):1895-1899.
57. Salari N, Karimi Maleh H, Asadi M. Biosynthesis of gold nanoparticles by extract of aerial organs of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *J Cell Mol Res*. 2019;32(3):280-291 (Persian).
58. Aromal S, Vidhu V, Philip D. Green synthesis of well-dispersed gold nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2012;85(1): p. 99-104.
59. Ahmad N, Bhatnagar S, Saxena R, Iqbal D, Ghosh AK, Dutta R. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles: Kinetics, in vitro and in vivo study. *Mater Sci Eng C*. 2017;78:553-564.
60. MubarakAli D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2011;85(2):360-365.
61. Jain K. Nanotechnology-based drug delivery for cancer. *Carbohydr Polym*. 2005;4(4):407-416.
62. El-Sigeny SM, Abou Taleb MF. Synthesis, characterization, and application of dendrimer modified magnetite nanoparticles as antimicrobial agent. *Life Sci J*. 2015;12(6):161-170.
63. Li GY, Jiang YR, Huang KL, Ding P, Yao LL. Kinetics of adsorption of *Saccharomyces cerevisiae* mandelated dehydrogenase on magnetic Fe₃O₄-chitosan nanoparticles. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2008; 320(1-3):11-18.
64. Mohanasrinivasan V, Mishra M, Paliwal JS, Singh SKr, Selvarajan E, Suganthi V, et al. Studies on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. *3 Biotech*. 2014;4(2):167-175.
65. Zhang H, Tehrany EA, Kahn CJF, Ponçot M, Linder M, Cleymand F. Effects of nanoliposomes based on soya, rapeseed and fish lecithins on chitosan thin films designed for tissue engineering. *Carbohydr Polym*. 2012;88(2):618-627.
66. Devatha C, Thalla AK, Katte SY. Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water. *J Clean Prod*. 2016;139:1425-1435.
67. Andeani JK, Kazemi H, Safavi A. Biosynthesis of gold nanoparticles using dried flowers extract of *Achillea wilhelmsii* plant. *Dig J Nanomater Bios*. 2011;6:1011-1017.
68. Cota-Arriola O, Cortez-Rocha MO, Burgos-Hernández A, Ezquerro-Brauer JM, Plascencia-Jatomea M. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. *J Sci Food Agric*. 2013;93(7):1525-1536.
69. Grenha A, Seijo B, Remunán-López C. Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery. *Eur J Pharm Sci*. 2005;25(4-5):427-437.
70. Schleuter D, Gunther A, Passch S, Ehrlich H, Kljajic Z, Hanke T, et al. Chitin-based renewable materials from marine sponges for uranium adsorption. *Carbohydr Polym*. 2013;92(1):712-718.
71. Wang T, Zhu XK, Xue XT, Wu DY. Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings. *Carbohydr Polym*. 2012;88(1):75-83.