

بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره گیاه *Calendula officinalis* (گل همیشه بهار) و نقش آن در سنتز نانو ذرات اکسید روی

فرشته نعمت الهی^{a*}، فریده طاهری کنجینی^b، فریبا زمانی هرگلانی^c

^a استادیار گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^b دانش آموخته کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^c استادیار محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۱۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۹/۰۷

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1400.18.4.9.9>

چکیده

مقدمه: سنتز نانو ذرات اکسید روی به دلیل کاربردهای فراوان در صنعت بسته‌بندی، حفظ سلامت مواد غذایی و بعنوان مواد افزودنی مجاز در خوراکی‌ها و افزایش ماندگاری آن‌ها بسیار ارزشمند است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق سنتز سبز نانوذرات روی اکسید با استفاده از روی استات دی هیدرات و عصاره گل همیشه بهار به عنوان عامل احیا کننده و پایدارکننده انجام شد. خواص آنتی اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار از نظر مقدار فنول و فلاونوئید بررسی گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره آبی گل همیشه بهار برابر با ۳۰۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد. قدرت آنتی اکسیدانی این عصاره توسط سنجش مهار رادیکال آزاد ۲،۲ - دی فنیل - ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی گردید. نانوذرات حاصله با استفاده از روش‌های مختلف از قبیل طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)، پراش پرتو ایکس و تصاویر میکروسکوپی الکترون روبشی (SEM) مشخصه یابی شدند.

نتیجه‌گیری: اندازه نانوذرات توسط عصاره گل همیشه بهار ۸ الی ۲۲ نانومتر به دست آمد. قطر متوسط نانوذرات سنتز شده بدون استفاده از عصاره گیاه بعنوان پایدارکننده، بزرگ‌تر بوده و بیشتر از ۱۸ نانومتر گزارش گردید. همچنین کلوخگی و انباشتگی بیشتری نیز در میان این نانوذرات مشاهده شد. عصاره گل همیشه بهار پتانسیل خوبی جهت سنتز سبز نانوذرات از خود نشان داد.

واژه‌های کلیدی: اکسید روی، عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی، گل همیشه بهار، نانوذره

مقدمه

فناوری نانو یکی از زمینه‌های اساسی و نوظهور تحقیقات در علوم مدرن است که کاربردهای زیادی در علوم مختلف داشته و تأثیر زیادی بر حوزه‌های مختلف زندگی انسان می‌گذارد. نانوذرات، ذراتی ساده با ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که خواص منحصر به فردی مانند نسبت سطح به حجم فوق العاده و انرژی سطحی بالا را ارائه می‌دهند (Ali et al., 2016; Maham, 2017). در سال‌های اخیر سنتز نانو ذرات اکسید روی به دلیل کاربردهای فراوان در صنعت بسته‌بندی، حفظ سلامت مواد غذایی و بعنوان مواد افزودنی مجاز در مواد غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است (Vasilache et al., 2011). از میان اکسیدهای فلزی، نانوذرات اکسید روی به دلیل خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، فیلتر UV و خواص آنتی‌اکسیدانی، علاقه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است (Xu et al., 2013; Elumalai et al., 2015).

با افزودن ذرات نانو اکسید روی به پلیمرهای مورد استفاده در صنعت بسته‌بندی، می‌توان خصوصیات حرارتی، مکانیکی و میزان نفوذ آب و گاز از سطوح بسته‌بندی را به مقدار بهینه تغییر داد. (Galstyan et al., 2018) همچنین به دلیل خواص آنتی‌باکتریال این نانو ذرات، می‌توان طبق توصیه سازمان غذا و دارو در حد مجاز، در بسته‌بندی شیر استفاده نموده و طول عمر و سلامتی آن را بهبود بخشید (Anon, 2020).

روش‌های شیمیایی متنوعی برای سنتز نانوذرات اکسید روی (ZnO NPs) پیشنهاد شده است که از جمله می‌توان به واکنش روی با الکل، انتقال بخار، سنتز هیدروترمال، روش ته نشینی و غیره اشاره کرد (Ai et al., 2014; Pulit-Prociak et al., 2016; Patil and Taranath, 2016; Nohwal et al., 2019). اخیراً سنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان یا سنتز سبز نانوذرات به عنوان یک روش جدید مطرح شده که می‌تواند جایگزینی برای سنتز نانوذرات به روش‌های شیمیایی و فیزیکی باشد. این روش، مقرون به صرفه و دوستدار محیط زیست بوده و به راحتی و بدون استفاده از مواد شیمیایی سمی یا نیاز به انرژی، دما و فشارهای بالا انجام می‌شود (Bhainsa and D'souza, 2006). استفاده از این روش، با توجه به گوناگونی اقلیم و تنوع پوشش گیاهی در ایران، مقرون به صرفه نیز می‌باشد.

(Nematollahi, 2015). گیاهان و مشتقات آنها، میکروارگانسیم‌هایی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و مخمرها از جمله سیستم‌های بیولوژیکی مطرح برای سنتز سبز نانوذرات هستند (Santhoshkumar et al., 2017).

پژوهش‌های اخیر، سنتز نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره بذر سیاه‌دانه (Alaghemand et al., 2018)، عصاره گیاه بذر گواوا (Saha et al., 2018)، عصاره هویج وحشی (Luque et al., 2018)، عصاره گیاه مونزونیا بورکینا (Ngoepe et al., 2018)، عصاره برگ منگیفرا ایندیکا (Rajeshkumar et al., 2018)، اسپرژیلوس تروس (Fouda et al., 2018) و هالوموناس الونگاتا (Taran et al., 2018) را گزارش کرده‌اند. راندمان ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی به طور مستقیم با اندازه، شکل، نسبت سطح به حجم و تعداد مکان‌های خالی اکسیژن ارتباط دارد (Fu et al., 2015).

یکی از گیاهان مدنظر در این زمینه، گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis L.*) است که در دسته‌ی گیاهان زینتی قرار دارد و به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار گرفته است. ترپن‌ها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها از جمله ترکیبات شیمیایی موجود در این گیاه هستند. از خواص دارویی این گیاه می‌توان به فعالیت ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضد قارچی اشاره کرد.

در این تحقیق، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار با استفاده از دو روش متداول و قابل اعتماد مانند ABTS و DPPH بررسی و مقدار آنها اندازه‌گیری شده است. علاوه بر این، پتانسیل این گیاه برای سنتز نانوذرات اکسید روی مطالعه و خصوصیات نانوذرات سنتز شده توسط روش‌های مختلف توسط تکنیک‌های مختلف مانند FT-IR، EDX و XRD ارزیابی شده‌اند. افزون بر این، تصاویر SEM نانوذرات تهیه شده توسط عصاره این گل تهیه و با تصاویر به دست آمده از نانوذرات در غیاب عصاره مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

مواد

روی استات دو آبه، سدیم هیدروکسید، متانول، معرف فولین، کربنات سدیم آلومینیوم کلرید، آسکوربیک اسید از

موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. در این روش اسید گالیک به عنوان استاندارد و شاهد برای رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره آبی گل همیشه بهار برابر با ۳۰۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره بود. این مقدار با قرار دادن جذب نمونه در رابطه کالیبراسیون و محاسبه مقدار x به عنوان مجهول بدست آمد (شکل ۱).

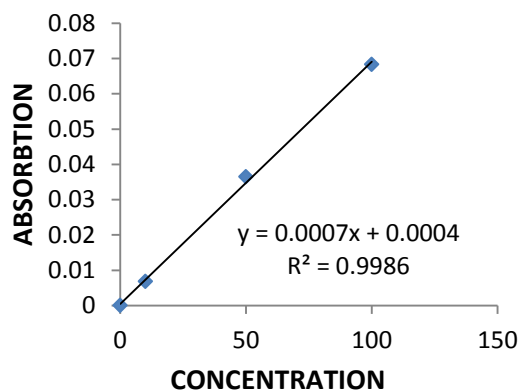


Figure 1. Calibration curve for galic acid

شکل ۱- منحنی کالیبراسیون گالیک اسید

لازم به ذکر است که رابطه مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و خواص آنتی اکسیدانی وجود دارد. با بررسی مقالات مرتبط می توان نتیجه گرفت که عصاره آبی گل همیشه بهار از خواص آنتی اکسیدانی فوق العاده ای برخوردار است.

- تعیین مقدار فلاونوئیدی

ابتدا به ۵ میلی لیتر از عصاره گل همیشه بهار، ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۲ درصد آلومینیوم کلرید اضافه شد. محلول حاصل به مدت نیم ساعت در تاریکی نگهداری و جذب آن توسط اسپکتروفوتومتر در ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. محتوای فلاونوئیدی کل (TFC) عصاره آبی گل همیشه بهار با استفاده از روش سنجش کالریتری آلومینیوم کلرید اندازه گیری شد. در این تحقیق از روتین به عنوان فلاونوئید مرجع استفاده شد. در نهایت نمودار جذب در برابر غلظت روتین رسم شد (شکل ۲).

با توجه به این که عصاره گل همیشه بهار سرشار از انواع فلاونوئیدها می باشد می توان از آن به عنوان منبع مناسبی

شرکت مرک^۱ خریداری شدند. مواد شیمیایی دیگر از جمله ۱ و ۱- دی فنیل پیکریل هیدرازیل، روتین و گالیک اسید از شرکت سیگما- آلد ریچ تهیه شدند. اتانول آزمایشگاهی با درجه خلوص ۹۹/۹٪ مربوط به شرکت تولیدی الکل و مواد غذایی بیدستان به عنوان حلال و آب دو بار تقطیر در تمامی مراحل آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

- عصاره گیری

تعدادی گل همیشه بهار خریداری و در دمای اتاق و به دور از نور خورشید خشک شد. استخراج عصاره گیاه با استفاده از آب انجام گرفت. مقدار ۱۰ گرم از گیاه را توزین و با ۲۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر در بالن مخلوط شد و به مدت یک ساعت در بن ماری تحت دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. مخلوط حاصل سپس از صافی کاغذی واتمن عبور داده شده و عصاره آبی به منظور بررسی های بعدی در یخچال نگهداری گردید.

- سنتز نانوذرات اکسید روی

به منظور سنتز نانوذرات اکسید روی ۲ میلی لیتر از محلول آبی عصاره به ۵۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۲ مولار استات روی دو آبه افزوده گردید تا محلولی یکنواخت بدست آید. سپس pH محلول به کمک محلول سود ۰/۲ مولار بر روی ۹ تنظیم گردید و به مدت دو ساعت بر روی همزن مغناطیسی به شدت هم زده شده. رسوب حاصله به کمک کاغذ صافی از محلول جدا گردید و پس از ۳ بار شستشو با آب دیونیزه و اتانول، در کوره ۵۰۰ درجه سانتی- گراد کلسینه گردید تا نانو ذرات اکسید روی حاصل گردد.

- تعیین مقدار فنل

۵ سی سی از عصاره در ۵۰ سی سی آب حل شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو با غلظت ۰/۲ نرمال به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره گیاهی اضافه شد (رنگ سبز تیره). در مرحله بعد، ۲ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد به مخلوط سبز رنگ اضافه شده و حجم مخلوط به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد (رنگ آبی تیره). مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگهداری و سپس مقدار جذب آن ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول

¹ Merck

^۲ Total flavonoid content

ابتدا درصد مهار یا بازدارندگی با استفاده از معادله زیر محاسبه شد. سپس نمودار غلظت در برابر درصد بازدارندگی رسم و معادله خط رگرسیون بدست آمد.

$$\% I = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})] \times 100$$

A_{control} و A_{sample} به ترتیب جذب یک محلول DPPH بدون نمونه و نمونه محتوی DPPH می‌باشند.

یافته‌ها

- بررسی طیف FT-IR نانوذرات روی اکسید به روش سنتز سبز

برای شناسایی مولکول‌های زیستی موجود در عصاره گل همیشه بهار که مسئول کاهش یون روی و تثبیت آن می‌باشند طیف FT-IR عصاره آبی این گل مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۴ طیف FT-IR عصاره همیشه بهار را نشان می‌دهد. پیک پهن و قوی در ناحیه 3373cm^{-1} متعلق به ارتعاش کششی گروه هیدروکسیل (OH) در آب و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است. این پیک به دلیل فراوانی ترکیبات فنولی در عصاره به صورت پهن مشاهده می‌شود. پیک موجود در ناحیه 2358 وجود گروه‌های آلکیل و CH را نشان می‌دهد و پیک مشاهده شده در 1629 مربوط به پیوند $C=O$ گروه آمیدی و پیوند $C=C$ حلقه‌های آروماتیک می‌باشد. این پیک در مقالات دیگر به کلروفیل‌های گیاه نسبت داده می‌شود. پیک‌های موجود در 1066 مربوط به اتصالات اتری می‌باشند. پیک متوسط مستقر در 1047cm^{-1} با مروری بر مقالات پیشین متناظر با مقادیر زیاد پیگمنت بتا کاروتن در عصاره گل همیشه بهار است.

طیف FT-IR نانوذرات روی اکسید تهیه شده با استفاده از عصاره گل همیشه بهار به عنوان عامل کاهنده و محافظت کننده در شکل ۵ نمایش داده شده است. پیک مشاهده شده در 3414cm^{-1} مربوط به گروه هیدروکسیلی آب و الکل و ترکیبات فنولی عصاره بوده که در اینجا شدت نوار به دلیل احیای یون روی کاهش یافته می‌باشد. پیک موجود در 2345cm^{-1} مربوط به گروه‌های آلکیل می‌باشد. نوار موجود در 1629cm^{-1} طیف عصاره پس از سنتز نانوذرات به 1520cm^{-1} جابه جا شده که به دلیل واکنش عصاره با روی استات است. پیک‌های مشاهده شده در

برای سنتز زیستی نانوذرات روی اکسید استفاده کرد.

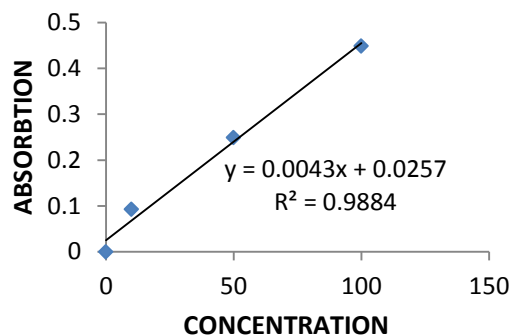


Figure 2. calibration curve for rutin
شکل ۲- منحنی کالیبراسیون روتین

- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH

توانایی مهار رادیکال آزاد دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل به طور معمول برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی مواد طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد، زیرا روشی آسان و دقیق است. رادیکال آزاد DPPH در دمای اتاق پایدار بوده و محلولی به رنگ بنفش در الکل ایجاد می‌کند. این ترکیب در حضور آنتی اکسیدان کاهش یافته و دارای جذب ماکزیمم در طول موج 517 نانومتر می‌باشد. بر اثر واکنش DPPH با آنتی اکسیدان یا ترکیبات دهنده هیدروژن، کاهش در جذب آن به صورت تغییر رنگ از بنفش به زرد قابل مشاهده است. در این تحقیق فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار با استفاده از رادیکال آزاد DPPH بررسی شد. فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره با آسکوربیک اسید به عنوان مرجع مقایسه گردید. شکل ۳ توانایی مهار DPPH توسط عصاره گل همیشه بهار و آسکوربیک اسید را نشان می‌دهد.

۱۳۰

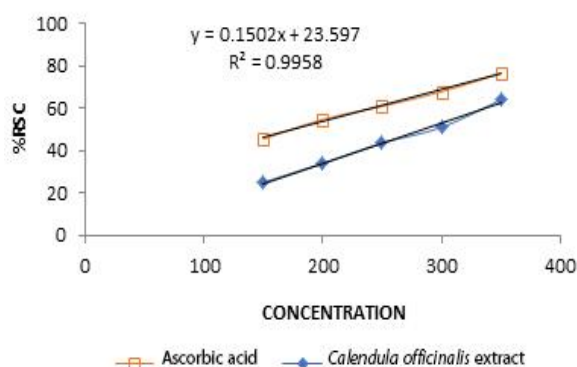


Figure 3. Radical scavenging capacity% of DPPH
شکل ۳- درصد مهار رادیکال DPPH

اکسید وجود دارد. این انباشتگی احتمالاً به دلیل انرژی سطحی بالای نانوذرات ZnO و همچنین متراکم شدن در فضای باریک میان نانوذرات می‌باشد.

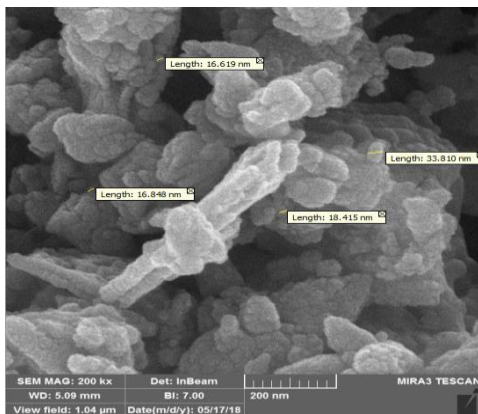


Figure 6. FE-SEM image of biosynthesized ZnO nanoparticles

شکل ۶- تصاویر FE-SEM نانوذرات روی اکسید سنتز زیستی

– بررسی میکروسکوپ الکترونی نانوذرات روی اکسید سنتز شده بدون استفاده از عصاره همیشه‌بهار شکل ۷ تصاویر FE-SEM مربوط به نانوذرات سنتز شده بدون استفاده از عصاره گیاهی را نشان می‌دهد. واضح است که نانوذرات تهیه شده با این روش دارای ابعاد بزرگ-تری در محدوده ۲۰ تا ۷۰ نانومتر هستند. قطر متوسط نانوذرات بدون استفاده از روش سنتز زیستی بزرگ‌تر بوده و بیشتر از ۱۸ نانومتر می‌باشد. همچنین کلوخگی و انباشتگی بیشتری نیز در میان این نانوذرات مشاهده می‌شود.

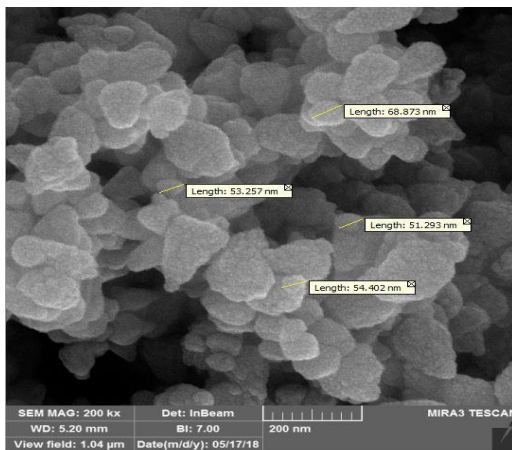


Figure 7. FE-SEM image of ZnO nanoparticles without *Calendula officinalis*

شکل ۷- تصویر FE-SEM نانوذرات روی اکسید بدون عصاره همیشه‌بهار

محدوده $600-400 \text{ cm}^{-1}$ نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات ZnO می‌باشند.

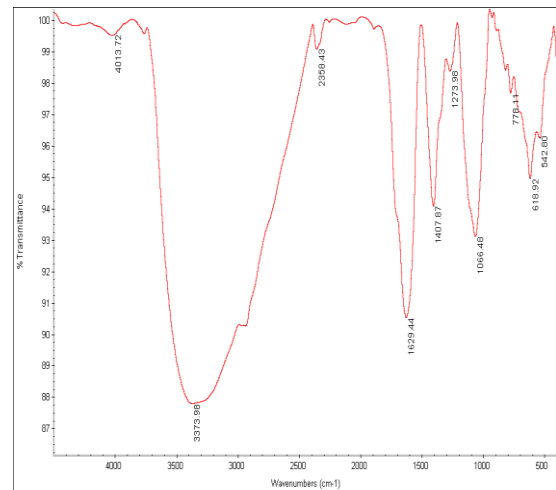


Figure 4. FT-IR spectra of *Calendula officinalis* شکل ۴- طیف مادون قرمز عصاره گل همیشه‌بهار

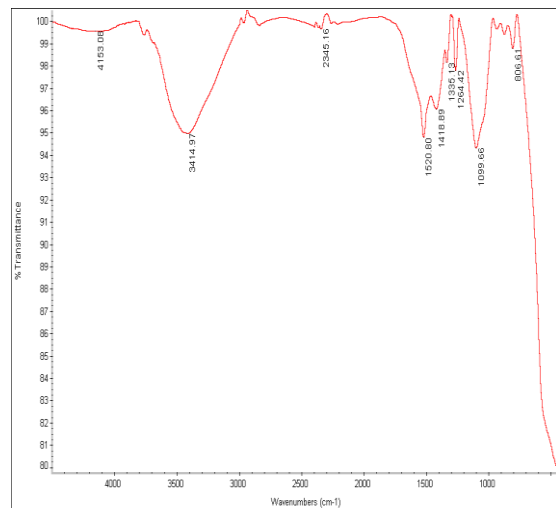


Figure 5. FT-IR spectra of green fabricated ZnO nanoparticles by *Calendula officinalis*

شکل ۵- طیف FT-IR نانوذرات روی اکسید به روش سنتز سبز توسط گیاه همیشه‌بهار

– بررسی میکروسکوپ الکترونی نانوذرات روی اکسید با استفاده از عصاره همیشه‌بهار شکل ۶ نشان‌دهنده‌ی تصاویر FE-SEM نانوذرات روی اکسید بدست‌آمده با استفاده از عصاره گل همیشه‌بهار می‌باشد. نانوذرات بیوسنتزی روی اکسید تقریباً کروی بوده و اندازه آنها بین ۸ الی ۲۰ نانومتر است. از طرفی محدوده قطر نانوذرات بین ۱۱ تا ۲۴ نانومتر می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود اندکی کلوخگی در میان نانوذرات روی

۵۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره خشک و طیف XRD آنها مورد بررسی قرار گرفت. الگوهای حاصل نشان می‌دهند که نانوذرات هگزاگونال روی اکسید خالص شکل گرفته‌اند. افزایش دما تأثیر بسزایی بر افزایش خلوص و تبلور بالای این نانوذرات داشته است. پیک‌های پراش در 2θ برابر با $29^\circ/31^\circ$ ، $33^\circ/36^\circ$ ، $36^\circ/47^\circ$ ، $56^\circ/36^\circ$ ، $62^\circ/68^\circ$ و $87^\circ/65^\circ$ به ترتیب متناظر با صفحات (۱۰۰)، (۲۰۰)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳)، (۲۰۰) و (۱۱۲) هستند. تمامی این الگوهای پراش به درستی به ساختار شش‌وجهی و ترتیب روی اکسید مربوط می‌شوند. وجود صفحات (۱۰۰)، (۲۰۰) و (۱۰۱) در الگوی XRD بیانگر تشکیل نانوذرات ZnO با خلوص بالا می‌باشد. علاوه بر این، شدت بالای پیک‌های مربوطه دلالت بر بلورینگی بالای محصولات حاصل دارد.

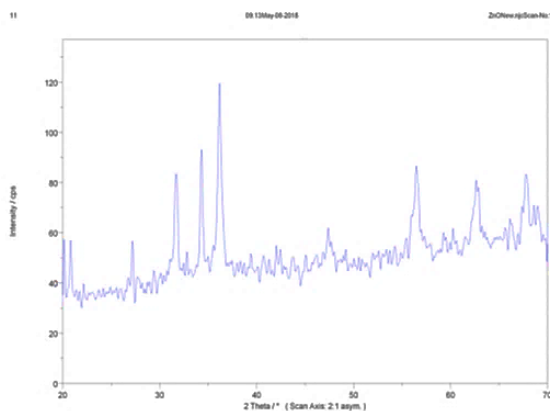


Figure 9. XRD pattern of biosynthetic nanoparticles on oxide
شکل ۹- الگوی پراش نانوذرات بیوسنتزی روی اکسید

بحث

استفاده از عصاره های گیاهی جهت سنتز و پایداری نانوذرات فلزی بدلیل افزایش خواص بیولوژیکی و همچنین رهیافت شیمی سبز، مورد توجه خاصی در بین محققان قرار گرفته است. در این مطالعه مشخص گردید که عصاره گیاه همیشه بهار با دارا بودن میزان فلاونوئید کل معادل ۹۷/۵۱ میلی‌گرم روتین در گرم عصاره و فنول کلی معادل ۳۰۳ میلی‌گرم گالیگ اسید در گرم عصاره، می‌تواند بعنوان یک احیاء کننده و پایدار کننده مناسب برای تهیه نانوذرات اکسید روی مورد استفاده قرار بگیرد که در عمل توانایی سنتز نانوذرات کروی اکسید روی در ابعاد ۲۲-۸ نانومتر را

بررسی EDX نانوذرات

در این تحقیق، طیف EDX نانوذرات اکسیدروی سنتز شده با استفاده از عصاره همیشه بهار سه پیک در محدوده ۱۰-۰ kV را نشان می‌دهد. بر طبق طیف ارائه شده در شکل ۸ اجزای سازنده محصولات فقط روی و اکسیژن هستند و در نتیجه نانوذرات عاری از هرگونه ناخالصی می‌باشند. بعلاوه، پیک‌های ماکزیمم موجود در طیف EDX متعلق به روی موجود در نانوذرات روی اکسید هستند؛ بنابراین می‌توان گفت که فازهای روی اکسید خالصی با استفاده از روش سنتز زیستی پیشنهادی بدست آمده‌اند.

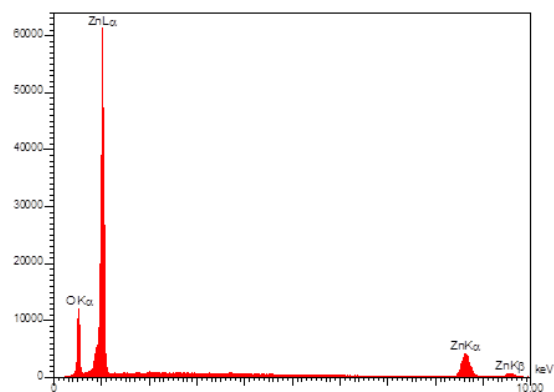


Figure 8. EDX pattern of ZnO nanoparticles
شکل ۸- نمودار EDX نانوذرات روی اکسید سنتز سبز

نمودار EDX نیز نشان می‌دهد که نانوذرات عاری از هرگونه ناخالصی بوده و فقط از عناصر روی و اکسیژن با درصدهای اتمی و وزنی مختلف تشکیل شده‌اند. این موضوع نشان‌دهنده خلوص بالای نانوذرات روی اکسید می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱- درصد وزنی و اتمی عناصر سازنده نانوذرات روی اکسید

Table 1. Weight and atomic percentage of zinc oxide nanoparticles

Elements	Atomic percentage (%A)	Weight percentage (%w)
Zn	23.23	55.28
O	76.77	44.72

بررسی نتایج پراش پرتو ایکس

الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نانوذرات بیوسنتزی روی اکسید در شکل ۹ نمایش داده شده‌اند. دمای خشک کردن اثر بسزایی بر خلوص و تشکیل فازهای مورد نظر نشان می‌دهد. در این تحقیق نانوذرات تحت دمای

تست XRD تأییدی بر تشکیل نانوذرات اکسید روی است.

منابع

Ai, T., Wang, F., Feng, X. & Ruan, M. (2014). Microstructural and mechanical properties of dual Ti₃AlC₂-Ti₂AlC reinforced TiAl composites fabricated by reaction hot pressing. *Ceramics International*, 40, 9947-9953.

Alaghemand, A., Khaghani, S., Bihamta, M. R., Gomarian, M. & Ghorbanpour, M. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Nigella sativa* L. extract: the effect on the height and number of branches. *Journal of Nanostructures*, 8, 82-88.

Amdagni, P. & Rana, J. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. *Journal of King Saud University*, 30, 168-175.

Anon. (2020). <https://www.fda.gov/medical-devices/medical-device-databases/code-federal-regulations-title-21-food-and-drugs>

Bhainsa, K. C. & Dsouza, S. (2006). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47, 160-164.

Dobrucka, R. & Dugaszewska, J. (2016). Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 4, 517-523.

Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V. & Ashokkumar, S. (2015). Bio-fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of curry leaf (*Murraya koenigii*) and its antimicrobial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 34, 365-372.

Fouda, A., Saad, E., Salem, S. S. & Shaheen, T. I. (2018). In-Vitro cytotoxicity, antibacterial, and UV protection properties of the biosynthesized Zinc oxide nanoparticles for medical textile applications. *Microbial Pathogenesis*, 125, 252-261

Fu, F., Li, L., Liu, L., Cai, J., Zhang, Y., Zhou, J. & Zhang, L. (2015). Construction of cellulose based ZnO nanocomposite films with antibacterial properties through one-step coagulation. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7, 2597-2606.

از خود نشان داد. مطالعات پیشین در خصوص سنتز نانوذرات نانو اکسید روی، مشخص کردند که عصاره گیاه آگتوسما نانو ذراتی با ابعاد ۱۵/۸ نانومتر (Thema *et al.*, 2015) و عصاره گل شبدر قرمز ذراتی با ابعاد ۶۰-۷۰ نانومتر سنتز می نمایند (Dobrucka *et al.*, 2016). همچنین طبق نتایج به دست آمده از تحقیقات (Jamdagni *et al.*, 2018) عصاره‌ی گل یاسمن شب، قادر به تولید نانوذراتی با ابعاد ۱۲-۱۳ نانومتر بوده و عصاره گیاه فلوس نانوذرات اکسید روی با ابعاد ۵-۱۵ نانومتر (Suresh *et al.*, 2015) را سنتز می کند. نانو ذرات حاصل از تحقیق پیش رودر محدوده ۲۲-۸ نانومتر تخمین زده شده است که نسبت به نانوذرات حاصل از عصاره گیاه گل شبدر قرمز ابعاد کوچکتری داشته و می‌توان این کاهش اندازه ذرات را به افزایش میزان فلاونوئیدها و بالا بودن خاصیت احیاکنندگی عصاره گیاه گل همیشه بهار دانست. نانوذرات حاصل از عصاره گیاه آگتوسما، گل یاسمن شب و فلوس از نظر اندازه، تقریباً با نانوذرات حاصل از عصاره گیاه همیشه بهار، یکسان می باشد.

نتیجه گیری

بررسی خواص آنتی اکسیدانی گل همیشه بهار نشان می‌دهد که این گیاه سرشار از ترکیبات فنولی است که این مورد از طریق بررسی طیف FT-IR عصاره نیز تأیید می‌شود. همچنین، در این تحقیق مقدار فنول کل در عصاره همیشه بهار ۳۰۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره بدست آمد. نتایج حاصل از بررسی محتوای فلاونوئیدی عصاره همیشه بهار نشان می‌دهد که این عصاره غنی از فلاونوئیدهای مختلف است. مقدار درصد مهار رادیکال آزاد DPPH برابر با ۶۳ درصد است که دلالت بر خواص آنتی اکسیدانی مناسب عصاره گل همیشه بهار دارد. در این کار از خواص آنتی اکسیدانی این عصاره برای سنتز نانوذرات کروی شکل روی اکسید بهره گرفته شده است. عصاره گل همیشه بهار به عنوان یک عامل حفاظت کننده برای جلوگیری از کلوخه شدن و انباشتگی نانوذرات سنتز شده استفاده شده است. تصاویر FE-SEM نشان از کاهش اندازه ذرات و حذف کلوخه شدن نسبت به سنتز شیمیایی آن دارد. نمودار EDX نانوذرات نیز درصد خلوص بالای سنتز نانوذرات را نشان می‌دهد. اطلاعات به دست آمده در

Luque, P., Nava, O., Soto-robles, C., Vilchis-nestor, A., Garrafa-galvez, H. & Castro-beltran, A. (2018). Effects of *Daucus carota* extract used in green synthesis of zinc oxide nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 17638-17643.

Nematollahi, F. (2015). Silver nanoparticles green synthesis using aqueous extract of *Salvia limbata* C. A. Mey. *International Journal of Bioscience*, 6, 30-35

Ngoepe, N., Bitu, Z., Mathipa, M., Mketu, N., Ntsendwana, B. & Hintsho-mbita, N. (2018). Biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using *Monsonia burkeana* for use in photocatalytic, antibacterial and anticancer applications. *Ceramics International*, 44, 16999-17006.

Nohwal, B., Chaudhary, R., Kumar, P. & Pundir, C. (2019). Fabrication and application of an amperometric lysine biosensor based on covalently immobilized lysine oxidase nanoparticles onto Au electrode. *International Journal of Biological Macromolecules*, 18, 56-59

Patil, B. N. & Taranath, T. C. (2016). *Limonia acidissima* L. leaf mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles: a potent tool against *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Mycobacteriology*, 5, 197-204.

Pulit-prociak, J., Chwastowski, J., Kucharski, A. & Banach, M. (2016). Functionalization of textiles with silver and zinc oxide nanoparticles. *Applied Surface Science*, 385, 543-553.

Rajeshkumar, S., Kumar, S. V., Ramaiah, A., Agarwal, H., Lakshmi, T. & Roopan, S. M. (2018). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Mangifera indica* leaves and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties in lung cancer (A549) cells. *Enzyme and Microbial Technology*, 117, 91-95.

Saha, R., Subramani, K., Raju, S. A. M., Rangaraj, S. & Venkatachalam, R. (2018). *Psidium guajava* leaf extract-mediated synthesis of ZnO nanoparticles under different processing parameters for hydrophobic and antibacterial finishing over cotton fabrics. *Progress in Organic Coatings*, 124, 80-91.

Santhoshkumar, J., Kumar, S. V. & Rajeshkumar, S. (2017). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies*, 3, 459-465.

Suresh, D., Nethravathi, P. & Rajanaika, H. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide nanoparticles using *Cassia fistula* plant extract and their photodegradative, antioxidant. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 446-454.

Taran, M., Rad, M. & Alavi, M. (2018). Biosynthesis of TiO₂ and ZnO nanoparticles by *Halomonas elongata* IBRC-M 10214 in different conditions of medium, 8, 81-83

Thema, F., Manikandan, E., Dhlamini, M. & Maazal, M. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles via *Agathosma betulina* extract. *Materials Letters*, 54-63.

Vardan Galstyan, V., Bhandari, M. P., Sberveglieri, V., Sberveglieri, G. & Comini, E. (2018). Metal Oxide Nanostructures in Food Applications: Quality Control and Packaging. *Chemosensors*, 6, 1-16; doi:10.3390/chemosensors6020016

Vasilache, V., Popa, C., Filote, C., Cretu, M. A. & Benta, M. (2011). Nanoparticles application for improving the food safety and food processing. 7th International Conference on Materials Science and Engineering. 12, 1(31), 77-81

Xu, X., Chen, D., Yi, Z., Jiang, M., Wang, L., Zhou, Z., Fan, X., Wang, Y. & Hui, D. (2013). Antimicrobial mechanism based on H₂O₂ generation at oxygen vacancies in ZnO crystals. *Langmuir*, 29, 5573-5580

Determination of the Antioxidant Activity of *Calendula officinalis* Extract and its Role in Synthesis of ZnO Nanoparticles

F. Nematollahi^{a*}, F. Taheri Konjini^b, F. Zamani Hargalani^c

^a Assistant Professor of the Department of Chemistry, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b M.Sc. of the Department of Chemistry, Faculty of Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Assistant Professor of Environment, Faculty of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 27 November 2020

Accepted: 14 February 2021

Abstract

13

Introduction: The synthesis of zinc oxide nanoparticles is valuable due to its applications in the packaging and food industries as permitted additives to increase the shelf life.

Materials and Methods: In this research, the synthesis of green nanoparticles of zinc oxide were performed by zinc acetate dihydrate. *Calendula officinalis* extract was used as reducing and stabilizing agent. The prepared ZnO NPs were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM), Energy dispersive X-ray (EDX) and X-ray diffraction (XRD) analysis.

Results: The size of nanoparticles prepared by *Calendula officinalis* extract was obtained at 8 to 22nm In addition, the antioxidant properties of prepared nanoparticles were analyzed in the terms of total phenolic and flavonoid content. The antioxidant activity of zinc oxide nanoparticles was evaluated using 2,2- diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) method. Gallic acid was used as standard to draw the calibration curve. The amount of total phenolic compounds in aqueous extract of the plant was 303 mg of gallic acid per gram.

Conclusion: *Calendula officinalis* extract showed high antioxidant activity and great potential for green synthesis of nanoparticles. The average diameter of nanoparticles synthesized without plant extract as a stabilizer, was larger than the green synthesized one (more than 18 nm). There was also less agglomeration in nanoparticles synthesized by *Calendula officinalis* extract.

Keywords: Antioxidant Activity, *Calendula officinalis*, Plant Extract, Zinc Oxide Nanoparticles.

* Corresponding Author: fnematollahi@yahoo.com