

مقاله تحقیقی

اصلاح سطح نانو ذرات نقره سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره برگ زیتون توسط اسید آمینه سیستئین

مهسا پورشعبان^۱، راحله صفائی جوان^{۲*}، الهام منیری^۳، همایون احمدپناهی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲. استادیار بیوفیزیک. گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی

۳. دانشیار شیمی فیزیک. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی

۴. استاد شیمی تجزیه. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی

مسئول مکاتبات: گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پست الکترونیک: safacijavan@gmail.com

محل انجام تحقیق: دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۲۲

چکیده

امروزه روش های سنتز زیستی نانوذرات به علت عدم استفاده از مواد سمی و زیست سازگاری ذرات تولیدی مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این تحقیق سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ گیاه زیتون (*Olea Europaea*) و اصلاح شیمیایی آن بوسیله اسیدآمینه سیستئین مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ زیتون به عنوان عامل کاهنده در مجاورت نیترات نقره سنتز شدند. تولید این نانوذرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری ماوراءبنفش مرئی بررسی گردید. اندازه و شکل نانوذرات تولید شده توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تعیین شد. سپس اصلاح شیمیایی نانو ذرات به منظور افزایش زیست سازگاری انجام شد. با استفاده از طیف سنج مادون قرمز (FT-IR) و تست آنالیز عنصری (CHN) اتصال اسیدآمینه سیستئین به سطح نانوذره بررسی گردید. مطالعات اسپکتروفتومتری ماوراءبنفش مرئی ماکزیمم پیک جذب در ۴۳۰ نانومتر را که مربوط به نانوذرات نقره می باشد، نشان داد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری ذراتی کروی با اندازه ی در حدود ۱۰ تا ۵۰ نانومتر را نشان داد. اتصال اسید آمینه سیستئین به سطح ذرات با استفاده از طیف سنج مادون قرمز تأیید شد. تست آنالیز عنصری نانوذرات اصلاح شده، وجود گروه های کربن و هیدروژن و نیتروژن موجود در اسید آمینه را تأیید کرد. نانوذره نقره به روش زیستی و بدون استفاده از هرگونه مواد شیمیایی مضر توسط عصاره برگ زیتون تولید شد و سطح این ذرات توسط اسید آمینه سیستئین به عنوان تثبیت کننده فعالیت زیستی مورد اصلاح قرار گرفت.

کلید واژه ها: نانوذرات نقره، سنتز سبز، سیستئین، اصلاح سطحی

مقدمه

فناوری نانو، واژه ای است کلی که به تمام فناوری های پیشرفته در عرصه کار با مقیاس نانو دارای ابعادی در حدود

مواد و روش ها

مواد استفاده شده در این تحقیق شامل برگ های گیاه زیتون می باشد که از ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار جمع-آوری شد. هم چنین نیترات نقره و اسید آمینه سیستئین ساخت شرکت مرک آلمان تهیه شد. در ساخت کلیه محلول ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شده است. تجهیزات استفاده شده در این پژوهش نیز شامل دستگاه اسپکتوفتومتر UV Visible مدل Cary 300، میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل Philip, EM 2008 Manufacture Specification، دستگاه طیف سنج مادون قرمز مدل thermo nicolet nexus 770 و دستگاه CHN Analyzer مدل EURO EA 3000 می باشد.

تهیه عصاره از برگ زیتون

برای تهیه عصاره در ابتدا برگ های گیاه کاملاً شستشو داده شد و در دمای محیط در یک مکان تاریک قرار داده شد تا به خوبی خشک شوند. در مرحله بعد از برگ های خشک و پودر شده ی گیاه، عصاره تهیه گردید. برای این کار یک گرم از پودر گیاه را در یک ارلن مایر ریخته و توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده و سپس محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد جوشانده شد. عصاره ی بدست آمده پس از خنک شدن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و فیلترهای ۰/۴۵ میکرومتری فیلتر گردید و برای استفاده های بعدی در یخچال در دمای 4 درجه سانتیگراد قرار گرفت.

سنتز نانو ذرات نقره

در مرحله سنتز ۸۰ میلی لیتر محلول یک مولار نیترات نقره تهیه شد و به ۲۰ میلی لیتر از عصاره برگ گیاه زیتون افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی بر روی شیکر قرار داده شد. به منظور جداسازی نانوذرات نقره، محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۴۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و به منظور حذف باقی مانده عصاره، نانوذرات ۲ بار با آب مقطر شستشو داده و سانتریفیوژ شد. رسوب به

۱ تا ۱۰۰ نانومتر گفته می شود. گسترش فناوری نانو در سطح جهانی و استفاده روز افزون از تولیدات حاصل از این فناوری، با توجه به کاربردهای فراوان نانومواد در کاهش عفونت میکروبی پوست و زخم های سوختگی، همچنین برای جلوگیری از تجمع باکتری ها بر سطح ابزار مختلف مثل پروتزها، همواره مورد توجه دانشمندان این علم قرار گرفته است (۱). نانو ذرات به طور کامل ویژگی های جدید مبتنی بر مشخصات مانند اندازه، پراکندگی، فاز و... را در مقایسه با اندازه های بزرگ همین ذرات از خود نشان می دهند. نانوذرات فلزی در چند سال اخیر به دلیل ویژگی های منحصر به فرد و کاربردهای بسیار زیاد در عرصه های مختلف از جمله کاتالیزورها، اپتوالکترونیک، نشانگرهای بیولوژیک و کاربردهای دارویی و پزشکی توجه طیف وسیعی از دانشمندان را به خود جلب کرده اند (۲،۳). بیشترین روش تولید نانوذرات نقره، روش های شیمیایی و فیزیکی هستند که این روش ها پرهزینه بوده و همچنین باعث جذب مواد سمی بر سطح نانوذرات می شوند. از معایب دیگر این روش ها می توان به تولید کم نانوذرات، اتلاف انرژی زیاد و جداسازی مشکل آن اشاره نمود. برای رفع این مشکل ها روش های بیولوژیکی جایگزین شده اند. متداول ترین سیستم های بیولوژیکی مورد استفاده شامل قارچ ها، باکتری ها و عصاره های گیاهی می باشند (۴). در تولید نانوذرات با روش های سبز نیازی به استفاده از دما و فشار بالا و همچنین ترکیبات شیمیایی سمی نیست. هم چنین استفاده از عصاره گیاهان در بیوسنتز نانوذرات نقره نسبت به سایر روش های زیستی بسیار ساده تر و مقرون به صرفه ترمی باشد (۵،۶). تاکنون با استفاده از عصاره های گیاهان متفاوتی از جمله *Coriandrum*، *Carob*، *Catharanthus roseous*، *sativum* نانوذرات نقره سنتز شده است (۶،۷). تغییرات در سطوح نانوذرات به منظور ایجاد ثبات در پراکندگی، بهبود عملکرد زیست پزشکی، افزایش زیست سازگاری، تعامل اختصاصی گیرنده - لیگاند و تغییرات منظم pH، همچنین به منظور اصلاح بار الکتریکی سطح این ذرات به کار گرفته می شود (۸). هدف در این پژوهش استفاده از برگ های خشک شده ی گیاه دارویی زیتون به عنوان عامل احیا کننده برای سنتز نانوذرات و اصلاح ساختار سطح این نانوذرات بوسیله اسید آمینه سیستئین می باشد.

و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه توسط سانتریفیوژ جداسازی شد و به منظور خشک شدن، به مدت یک شبانه روز در دمای محیط قرار داده شد.

بررسی و تأیید اتصال اسید آمینه سیستئین به نانوذرات نقره

- بررسی توسط طیف سنجی FT-IR: نمودار جذب سیستئین و نانوجاذب تولید شده با استفاده از FT-IR مورد بررسی قرار گرفت.
- آنالیز عنصری CHN: در این مرحله 0/1 گرم نمونه نانوجاذب آماده شد و برای اندازه گیری مقدار کربن و هیدروژن مورد آزمایش قرار گرفت. تست CHN انجام گردید.

نتایج

مشاهده تغییر رنگ محلول

تغییر رنگ محلول عصاره پس از افزودن نیترات نقره از زرد به قهوه ای تیره مشاهده شد که این تغییر رنگ نشان دهنده تولید نانوذرات نقره بود (شکل ۱).

طیف سنجی UV-VIS

نتایج حاصل از سنجش چگالی نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در محدوده طول موج 300-700 نانومتر، حداکثر پیک جذبی در طول موج ۴۳۰ نانومتر را نشان داد که نتیجه ی وجود نانوذرات نقره است (شکل ۲).

میکروسکوپ الکترونی عبوری

برای این مرحله محلول کلونیدی از نانوذرات تهیه شد و توسط دستگاه TEM عکس برداری انجام شد. تصاویر نشان داد ذرات کروی با اندازه ای در محدوده ۱۰ تا ۵۰ نانومتر بود (شکل ۳).

دست آمده در دمای اتاق خشک گردید و در شیشه در بسته برای مراحل بعدی کار نگهداری شد (۹).

بررسی نانو ذرات تولید شده

بررسی توسط طیف سنجی UV-VIS

مشاهده و بررسی تغییر رنگ محلول از زرد کم رنگ به قهوه ای تیره تا سیاه نشان دهنده ی تولید نانو ذرات نقره بوده است. سپس جهت اطمینان از تولید این ذرات، از دستگاه اسپکتروفتومتر UV Visible در دمای محیط استفاده شد. میزان جذب نمونه در محدوده طول موج ۳۵۰ تا ۷۰۰ نانومتر اسکن گردید. محلول نمونه در آب مقطر رقیق شد و شاهد نیز آب مقطر بود.

بررسی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری

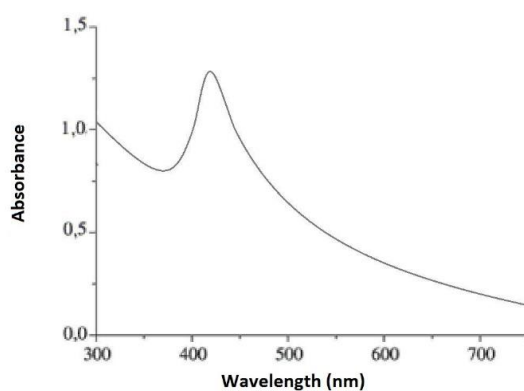
جهت تعیین اندازه و بررسی مورفولوژی سطح نانوذرات از TEM استفاده گردید. برای تهیه ی محلول کلونیدی نانوذرات نقره از اتانول خالص به عنوان حلال استفاده شد و سپس بر روی گرید های مخصوص دستگاه قطره گذاری گردید و پس از خشک شدن، گریدها برای عکس برداری در ستون میکروسکوپ الکترونی عبوری قرار داده شد و با استفاده از عدسی های چشمی دستگاه مورد بررسی قرار گرفت و عکس ها تهیه شد.

اصلاح ساختار سطحی

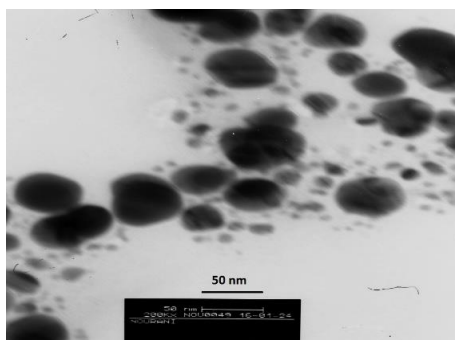
جهت اصلاح ساختار سطحی نانوذرات، اسید آمینه ی سیستئین به عنوان لیگاند مناسب انتخاب شد. این اسید آمینه از شرکت مرک آلمان تهیه و سپس محلول ۰/۵ درصد آن با استفاده از آب دوبار تقطیر تهیه گردید. ۲۰ سی سی محلول سیستئین با 0/01 گرم نانو ذره نقره ترکیب و به مدت ۲ ساعت در مکان تاریک و بر روی شیکر با سرعت ۹۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس نانوجاذب تولید شده، به مدت ۲۰ دقیقه



شکل ۱ - تغییر رنگ محلول واکنش قبل از تولید شدن نانوذرات نقره (الف) و پس از ۲۴ ساعت و تولید شدن نانوذرات نقره (ب).



شکل ۲ - طیف جذبی حاصل از دستگاه اسپکتروفوتومتری ماوراءبنفش مرئی در محدوده ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر که پیک جذبی مربوط به نانوذرات نقره تولید شده در ۴۳۰ نانومتر مشاهده می شود.



شکل ۳ - تصویر نانوذرات نقره حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری.

پیک مشاهده شده در 1581 cm^{-1} مربوط به NH، پیک مشاهده شده در 2548 cm^{-1} مربوط به SH، پیک مشاهده شده در 1484 cm^{-1} مربوط به CH_2 و پیک مشاهده شده در 3508 cm^{-1} مربوط به OH می باشد. پیک ها تایید کننده ساختار و گروه های عاملی این اسید آمینه هستند. بررسی طیف حاصل از نانوذرات اصلاح شده، ناپدید شدن پیک موجود

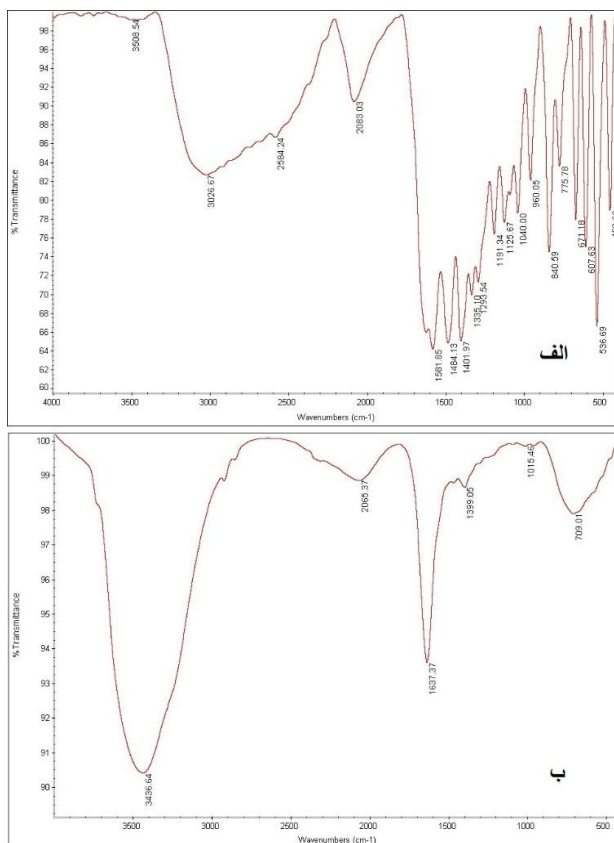
طیف سنجی مادون قرمز

با مقایسه طیف حاصل از اسید آمینه سیستئین با طیف نانوذرات اصلاح شده، این اتصال به سطح نانوذرات مورد تایید قرار گرفت (شکل ۴). در طیف حاصل از سیستئین پیک مشاهده شده در 1125 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی C-O، پیک مشاهده شده در 1335 cm^{-1} مربوط به گروه عاملی COO،

آنالیز عنصری

جهت انجام این تست ۰/۱ گرم نانوجاذب اصلاح شده استفاده شد و جرم کربن، نیتروژن و هیدروژن اندازه گیری گردید. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

در 2584 cm^{-1} در طیف اسید آمینه را نشان می دهد. پیک در 3436 cm^{-1} مربوط به گروه های OH و پیک در 1637 مربوط به ارتعاش کششی گروه های کربوکسیل می باشد.



شکل ۴ - نتایج حاصل از طیف سنجی مادون قرمز. طیف حاصل از اسید آمینه سیستئین به تنهایی (الف) و طیف حاصل از نانوذرات نقره اصلاح شده توسط این اسید آمینه (ب).

جدول ۱) نتایج تست آنالیز عنصری.

| نیتروژن | هیدروژن % | کربن % |
|---------|-----------|--------|
| ۰/۹۹ | ۰/۹۷ | ۸/۳۴ |

قرن بیستم به شدت مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. اساس سنتز نانوذرات در این روش احیای یون های نقره توسط عصاره گیاهی و در واقع خنثی شدن بار الکتریکی است (۷).

بحث

روش تولید زیستی نانوذرات یکی از راه های جدید، کم هزینه و کم خطر برای تولید نانوذرات می باشد که از دهه 90

متصل شد. اسید آمینه سیستئین به دلیل وجود گروه عاملی تیول در ساختار آن، توانایی اتصال به نانوذرات فلزی را بدون نیاز به حضور عوامل شیمیایی دارد و به علاوه به دلیل وجود گروه های هیدروکسیل و آمین سبب افزایش توان جذب نانوذره طراحی شده می گردد. هم چنین این اسید آمینه موجب افزایش زیست سازگاری نانوجاذب طراحی شده می گردد (۱۴).

مطالعه طیف حاصل از FTIR نانوذرات اصلاح شده و مقایسه آن با طیف حاصل از اسید آمینه سیستئین نشان می دهد که پیک مربوط به پیوند ارتعاشی گروه های تیول که در 2584 cm^{-1} مشاهده می شد در طیف حاصل از نانوذرات ناپدید شده است. این اتفاق دلیل محکم برای اثبات اتصال این اسید آمینه به نانوذرات نقره از طریق پیوند تیولی می باشد. هم چنین اتصال سیستئین به نانوذرات از طریق گروه های اسیدی سطح نانوذرات با گروه کربوکسیل سیستئین انجام می گردد که توسط پیک مشاهده شده در 1637 cm^{-1} که مربوط به ارتعاش کششی گروه کربوکسیل در اسید آمینه می باشد، تایید می گردد. این اتصال از نوع پیوند هیدروژنی می باشد. نتایج حاصل از پژوهش Mandal و همکاران در سال ۲۰۰۱ و Gondikas و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دهنده ی این مسئله بود که اسید آمینه هایی که در نزدیکی نانوذرات کلوییدی واقع شده اند بوسیله پیوند هیدروژنی بین سیستئین و نانوذرات منجر به تجمع این ذرات می شوند (۱۵،۱۶).

Vorgasse و همکاران در سال ۲۰۰۹، نانوذرات را بوسیله اسید آمینه سیستئین پوشش دادند و سپس بوسیله طیف سنجی مادون قرمز طیف جذبی اسید آمینه سیستئین و نانوجاذب سیستئین - نانونقره را بررسی کردند. در نتایج آنها طیف جذبی اسید آمینه در 1606 cm^{-1} و 1392 cm^{-1} باند مربوط به COO نشان داد و هم چنین پیک در 1525 cm^{-1} مربوط به گروه N-H. و در 2552 cm^{-1} مربوط به SH دیده شد.

برای تایید بیشتر اتصال نانوذرات به سیستئین تست آنالیز عنصری CHN انجام شد. نتایج حاکی از وجود کربن، هیدروژن و نیتروژن در نمونه بود، درحالی که نانوذرات نقره به تنهایی فاقد این عناصر هستند.

در این مطالعه این فرایند طی مدت ۲۴ ساعت و در دمای اتاق تکمیل گردید که نشان دهنده ی سرعت بالا و بی نیازی این روش به استفاده از دما و فشار بالا و همچنین ترکیبات شیمیایی جهت تشکیل نانوذرات نقره می باشد. پس از ترکیب عصاره گیاه با محلول آبی نیترات نقره، محلول حاصل پس از ۳ ساعت شروع به تغییر رنگ می کند که نشان دهنده تغییرات شیمیایی در محلول بوده و این تغییر رنگ پس از یک شبانه روز قابل توجه است. تغییر رنگ به عوامل زمان و غلظت اولیه عصاره و محلول آبی نیترات نقره بستگی دارد. تغییرات رنگی مشاهده شده حین واکنش عصاره با محلول نیترات نقره، که خود اولین گواه سنتز نانوذرات نقره می باشند با نتایج آزمایش Krishna raj و همکاران در سال ۲۰۱۰ و هم چنین Tessier و همکاران در سال ۲۰۰۰ مشابهت داشت (۱۰،۱۱).

برای بررسی طیف جذبی محلول ها، پس از ۲۴ ساعت از شروع واکنش، نمونه ها با دستگاه اسپکتروفتومترتری مورد بررسی قرار گرفتند. با بررسی پیک بدست آمده و مقایسه آن با تحقیقات پیشین صورت گرفته، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره برگ زیتون توسط این روش مورد تأیید قرار گرفت. طیف بدست آمده در طول موج 430 nm نانومتر دارای جذب بیشینه بود که با نتایج حاصل از پژوهش Ponaralselvan و همکاران در سال ۲۰۱۱ و Ahmad و همکاران در سال ۲۰۱۲ مشابهت داشت (۱۲،۱۳).

در ادامه جهت بررسی شکل و اندازه نانوذرات تولیدی از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. این تصاویر ذراتی کاملاً کروی با اندازه ی حدود ۱۰ تا ۵۰ نانومتر را نشان داد که با نتایج حاصل از پژوهش های انجام شده مطابقت دارد. Awwad و همکاران در سال ۲۰۱۲ توسط عصاره گیاه Carob ، Sathyvathi و همکاران در سال ۲۰۱۰ توسط عصاره *Coriandrum sativum* و همکاران در سال ۲۰۱۱ توسط عصاره *Catharanthus roseous* و Ahmad و همکاران در سال ۲۰۱۲ توسط عصاره گیاه *Ananas comosus* موفق به تولید نانو ذراتی با اندازه های به ترتیب ۵-۴۰، ۷۵-۸۰، ۳۵-۵۵ و ۳۵-۵۰ نانومتر شدند (۶،۷،۱۲،۱۳). در مرحله ی بعد برای اصلاح سطحی نانو ذرات، اسید آمینه سیستئین به عنوان لیگاند اصلاحی به نانوذرات نقره

پزشکی می شود. در واقع در این پژوهش از اسید آمینه سیستئین به عنوان تثبیت کننده فعالیت زیستی نانوذرات نقره استفاده شده است (۱۹).

با توجه به مطالعات فوق می توان نتیجه گرفت گیاه زیتون به علت کشت بومی و خواص بالای دارویی می تواند به عنوان گزینه ای مناسب در تولید نانوذرات به روش زیستی مطرح باشد. هم چنین اصلاح ساختار سطحی نانوذرات نقره توسط اسید آمینه سیستئین انجام پذیر می باشد و این ذرات را گزینه های مناسب تری جهت استفاده در صنایع مرتبط با سلامت انسان مانند بهداشت و درمان می گرداند.

تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد بوده است. نویسندگان از کلیه پرسنل آزمایشگاه بیوتکنولوژی در ساختمان آزمایشگاهی رازی دانشگاه علوم تحقیقات تشکر ویژه دارند.

در این پژوهش نانوذره نقره با روش زیستی دوست دار طبیعت و بدون استفاده از هرگونه مواد شیمیایی مضر تولید شد. استفاده از پتانسیل عظیم طبیعت می تواند در تولید نانوذرات نقره بدون آسیب به محیط زیست کمک نماید. در ضمن، نانوذرات نقره تولید شده به روش زیستی در مقایسه با روش شیمیایی پایداری بیشتری دارند و گیاهان دارویی بسیار قابل اعتماد تر از باکتری، قارچ و مخمر برای تولید نانوذرات است (۱۶). دامنه نانوذرات تولید شده به روش زیستی در این پژوهش در حدود زیر ۵۰ نانومتر است، مواد در این محدوده دارای خواص شیمیایی و فیزیکی خاص بوده و کاربرد فراوان در زمینه های دارویی و پزشکی دارد (۱۷). مطالعات نشان داده نانو ذراتی با اندازه ی ۱۴ نانومتر دارای خواص ضدباکتریایی هستند که این نانوذرات تولید شده بالاترین فعالیت ضد میکروبی را بر علیه باکتری های انسانی از خود نشان می دهند (۱۸). عمر مفید نانوذره بدون عامل محافظت کننده سطحی موجب محدودیت استفاده از آن در حوزه

منابع مورد استفاده

- Martinez-Gutierrez, F., Olive, P. L., Banuelos, A., Orrantia, E., Nino, N., Sanchez, E. M., Av-Gay, Y., 2010. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6(5): 681-688.
- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., Schatz, G. C., 2002. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape and dielectric environment. *J Phys Chem* 107: 668-677.
- Boisselier, E., Astruc, D., 2009. Gold nanoparticles in nanomedicine: Preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. *Chem Soc Rev* 38: 1759-1782.
- Prabhu, S., Poulouse, E. K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters* 2(1): 1-10.
- Shankar, S. S., Rai, A., Ankamwar, B., Singh, A., Ahmad, A., Sastry, M., 2004. Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nature Materials* 3(7): 482-488.
- Sathyavathi, R., Krishna, M. B., Rao, S. V., Saritha, R., Rao, D. N., 2010. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract and their application in nonlinear optics. *Advanced Science Letters* 3(2): 138-143.
- Awwad, A. M., Salem, N. M., Abdeen, A. O., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. *International Journal of Industrial Chemistry* 4(1): 1-6.
- Chung, Y. C., Chen, I. H., Chen, C. J., 2008. The surface modification of silver nanoparticles by phosphoryl disulfides for improved biocompatibility and intracellular uptake. *Biomaterials* 29(12): 1807-1816.
- Dwivedi, A. D., Gopal, K., 2010. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 369(1): 27-33.
- Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P. T., Mohan, N., 2010. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 76(1): 50-56.
- Tessier, P. M., Velev, O. D., Kalambur, A. T., Rabolt, J. F., Lenhoff, A. M., Kaler, E. W., 2000. Assembly of gold nanostructured films templated by colloidal crystals and use in surface-enhanced

- Raman spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society* 122(39): 9554-9555.
12. Ponarulselvam, S., Panneerselvam, C., Murugan, K., Aarthi, N., Kalimuthu, K., Thangamani, S., 2012. Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their anti plasmodial activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(7): 574-580.
 13. Ahmad, N., Sharma, S., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Ananas comosus*. *Green and Sustainable Chemistry* 2: 141-147.
 14. Mansoob Khan M., Kalathil Sh., Lee J. Hwan Cho H., 2012. Synthesis of cysteine capped silver nanoparticles by electrochemically active biofilm and their antibacterial activities. *Bull Korean Chem* 33(8): 2592-2596.
 15. Mandal, S., Phadtare, S., Sastry, M., 2005. Interfacing biology with nanoparticles. *Current Applied Physics* 5(2): 118-127.
 16. Gondikas, A. P., Morris, A., Reinsch, B. C., Marinakos, S. M., Lowry, G. V., Hsu-Kim, H., 2012. Cysteine-induced modifications of zero-valent silver nanomaterials: implications for particle surface chemistry, aggregation, dissolution, and silver speciation. *Environmental Science & Technology* 46(13): 7037-7045.
 17. Karimi, J., Mohsenzadeh, S., 2013. Plant synthesis of silver nanoparticles by *Achillea wilhelmsii* Pharmaceutical plant. *Razi Journal of Medical Sciences* 20(111): 64-69.
 18. Pudlauskaitė, J., Prosyčevs, I., Jankauskaitė, V., Kleveckas, T., 2012. Photoresist modification by silver colloid solution: the role of silver nanoparticles content. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* 61(3): 212-219.
 19. Varghese, M. V., Dhupal, R. S., Patil, S. S., Paradkar, A. R., Khanna, P. K., 2009. Synthesis and in-vitro antimycobacterial studies of cysteine capped silver nano-particles. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-organic, and Nano-metal Chemistry* 39(9): 554-558.