



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار
كلية العلوم التطبيقية - هيت
قسم الفيزياء الحياتية

«استخلاص بعض مركبات الفلافونيدات من الفطريات واستخدامها في تحضير مركبات نانوية»

بحث مقدم الى

مجلس كلية العلوم التطبيقية - هيت - قسم الفيزياء الحياتية / جامعة الانبار

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في (الفيزياء الحياتية).

إعداد الطلبة:

حکم فؤاد عبد الرزاق

عباس سعد فاضل

سناء حازم عبد الرحمن

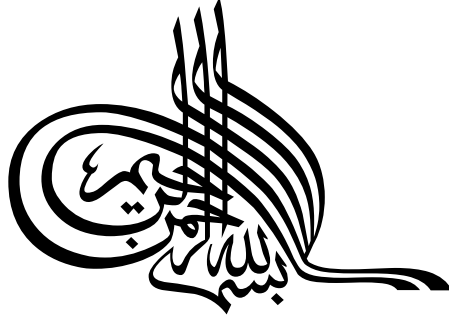
ميادة ماجد بدر

عائشة مصطفى فخري

إشراف:

د. بلال جاسر محمد

م. موفق ربيع عابيش



﴿ وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ
وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَىٰ عَالَمِ الْغَيْبِ
وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ ﴾

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْعِزَّةِ الْعَظِيمَةِ

(سورة التوبة: ١٠٥)

الإهداء

إلى صاحب الفردوس الأعلى وسراج الأمة المنير وشفيعها النذير
البشير المعلم الأول ... سيدنا محمد (صلى الله عليه وسلم) فخراً
واعترافاً.

إلى من كلهم الله بالهبة والوقار ... إلى من تحمل اسمائهم بكل
افتخار ... نرجوا من الله أن يمد في اعمارهم ليروا ثماراً قد حان
قطافها بعد طول انتظار... (أبائنا).

إلى من كان دعاؤها سر نجاحنا ... وحنانها بلسم جراحنا ... إلى
أغلى الغوالي وأحب الاحباب ... (أمهاتنا).

إلى ورود المحبة ... وينايع الوفاء ... إلى من رافقونا في
السراء والضراء (إخواننا وأخواتنا).

إلى الشموس التي أضاءت مسيرتنا.. فكانت ولا زالت رمزاً
للعطاء.. مشرفينا الافاضل (د. بلال جاسر محمد _ م. موفق
ربيع عايش).

نهدي إليهم حصاد جهدنا وثمره بحثنا، سائلين الله أن ينتفع
منه المسلمون.

شكر وتقدير

قال تعالى: ((وَمَنْ يَشْكُرْ فَإِنَّمَا يَشْكُرُ لِنَفْسِهِ)) (لقمان: ١٢)

وقال رسوله الكريم ﷺ ((من لم يشكر الناس، لم يشكر الله))

الحمد لله حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه، ملء السموات وملء الارض وملء ما بينهما، حمد الشاكرين الذاكرين على ما مَنَّ به علينا من توفيق وتيسير، والصلاة والسلام على نبينا محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.

ففي هذه المرحلة لم يبقَ لنا إلا أن نُرجي جزيل شكرنا وامتناننا وتوقيرنا إلى مشرفينا الاعزاء (د. بلال جاسر محمد _ م. موفق ربيع عايش) لما بذلوه من جهد ومتابعة وصبر وبحكمة علمية ومنهجية فكانوا لنا خير مربين وناصحين.

ولا يفوتنا أن نقدم شكرنا وتقديرنا للجنة المناقشة لتفضلهم بقبول مناقشة البحث، ولما سيمنحوننا من توجيهات و إرشادات مهمة نستفيد منها في إكمال بحثنا هذا.

كما ونتقدم بالشكر إلى كل من قدم لنا المساعدة والدعم، من أساتذتنا الموقرين ، وأهلينا، ورفاقنا، وأقربائنا، وإلى من مد يد عوننا لنا وأعاننا فلهم جزيل الشكر. كما ونشكر كليتنا الحبيبة ((كلية العلوم التطبيقية_ هيت)) وقسمنا ((قسم الفيزياء الحياتية)) تقديراً و عرفاناً.

﴿ رَبَّنَا تَقَبَّلْ مِنَّا إِنَّكَ أَنْتَ السَّمِيعُ الْعَلِيمُ ﴾ (البقرة: ١٢٧).

الخلاصة

الهدف من الدراسة هو تحضير جسيمات الفضة النانوية باستخدام quercetin المعزول من فطر (*Ganoderma applanatum*) كعامل مختزل ومثبت. تضمنت العمل انجاز التفاعل بين العامل المختزل وايونات الفضة بطريقتين اذ تم في الطريقة الاولى اضافة العامل المختزل الى المحلول المائي الايونات الفضة لإتمام عملية التحضير للجسيمات النانوية. فيما تضمنت الطريقة الثانية مزج ملح الايون ($AgNO_3$) مع العامل المختزل (quercetin) وبعد اتمام عملية المزج تم تحضير محلولاً مائياً من المزيج .

تم فصل quercetin باستخدام تقنية HPLC عالية الدقة من مستخلص الفطر فيما استخدم UV-Vis و X-Ray لتوصيف جسيمات الفضة المحضرة. اظهرت النتائج ان استخدام طريقة المزج المسبق بين الملح الايوني والعامل المختزل تعطي انزياح ازرق لرنين البلازمون السطحي عند 422 نانوميتر وهذا يدل على ان الجسيمات المحضرة كان لها حجم اقل بالمقارنة من الطريقة الأولى التي أعطت رنين البلازمون السطحي عند 432 نانوميتر.

الفصل الاول
المقدمة واستعراض
المراجع

المراجع
المقدمة واستعراض

تحضير الدقائق النانوية المغلفة بالعامل المختزل ذي الفعالية الحيوية المهمة من اهم اهداف الباحثين سيما ان كانت الطريقة المستخدمة طريقة خضراء وفعالة. ولاهمية دقائق الفضة النانوية في مجالات تطبيقية واسعة لما لها من خصائص فريدة مثل الخصائص البصرية [1] الحرارية [2] والكهربائية [3] فقد لاقى اهتماماً كبيراً خصوصاً في المجالات الطبية شريطة ان تكون الطريقة امنة وبالحجم النانوي الأمثل لاداء الوظيفة.

ان مركبات الفلافونيدات من المركبات العضوية الفعالة بايولوجياً كمضادات للأكسدة بالدرجة الأساس ولها قابلية لاختزال الايونات لتكوين دقائق نانوية [4]، ولما كانت بعض أنواع الفطريات المنتشرة في المناطق الزراعية القريبة مصدراً لكثير من الفلافونيدات المهمة فسلجياً مثل quercetin فإن دراسة استخلاص الفلافونيدات منها له أهمية تطبيقية وجدوى اقتصادية. من المصادر الغنية بمركب quercetin هي الفطريات ، ومن الفطريات المتوفرة في محافظة الانبار بوفرة هو فطر *Ganoderma applanatum* ومن مميزات هذا الفطر هو سهولة عملية استخلاص الفلافونيدات منه [5].

يتم تحضير دقائق الفضة النانوية بطرق شتى فيزيائية، كيميائية، وبايولوجية [6] وبأحجام مختلفة ضمن المقياس النانوي الا انه لتحضيرها مغلفة بمركب فعال له ادواره الفسلجية يتطلب تحسين في الظروف للحصول على الخصائص الفعالة بالمواصفات المطلوبة وبطرق اقل ضرراً للعاملين والمستهلكين. كما تعتبر التراكيز الامنة من المواد النانوية والمركبات المستخلصة من العوامل المهمة التي تؤثر في الفعالية البايولوجية وتقليل التأثيرات غير المرغوب بها. فيتركز عمل الباحثين في تحضير المركبات النانوية بأفضل الظروف وتقليل المتداخلات

تفترض دراستنا ان تغيير طريقة المزج في عملية تحضير مركب نانوي من دقائق الفضة المغلفة بمركب quercetin بعد استخلائه من فطر *Ganoderma applanatum* بتغيير بعض العوامل التجريبية سيكون

بالمواصفات المطلوبة حجماً وفعاليةً وبأسلوب الطرق الخضراء. لذا فالهدف من الدراسة هو استخلاص مركب quercetin (متعدد الفينول الفعال بايولوجياً) من فطر *Ganoderma applanatum* واستخدامه كعامل مختزل لأيونات الفضة وتخليق دقائق نانوية منها حاملةً المركب الفعال على سطحها وبطريقتين تجريبيتين من ضمن الطرق الخضراء.

1- 2 استعراض المراجع

1-2-1 الفطريات

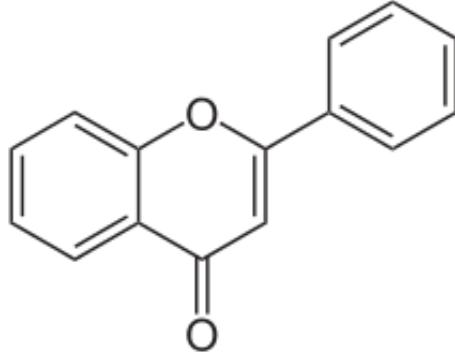
الفطريات كائنات حية متعددة الخلايا وتتكاثر بالأبواغ [7]. يعتبر فطر *Ganoderma applanatum* من الأنواع غير الصالحة للأكل [8] وهو من الفطريات الشائعة والمعمرة ومن الأنواع الأكثر شعبية في الطب بسبب أهميته البيولوجية [9]. ينمو هذا النوع من الفطر داخل خشب الأشجار الحية والميتة ويكون عرض الجسم المثمر من 3-30 سم والطول من 5-50 سم والسلك من 1-10 سم [8]. فطر الـ *Ganoderma* هو من جنس الفطريات متعددة الاسطح حيث ينمو هذا الفطر على الخشب ويضم حوالي 80 نوعاً العديد منها تنمو في المناطق الاستوائية [10]. هو فطر كبير داكن ذو مظهر خارجي لامع وملمس خشن فهو ذو اهمية اقتصادية كبيرة نظراً لأهميته البيولوجية اذ يعتبر فريداً من حيث قيمته الطبية [11]. ان الدرجة المثلى لنمو الفطر تكون بين 25~30 °م. يمثل الشكل (1) فطر الـ *Ganoderma* والذي استخدم في الطب التقليدي للوقاية وعلاج العديد من الأمراض بما فيها الصداع النصفي وارتفاع ضغط الدم والتهاب المفاصل والتهاب الشعب الهوائية والربو والسكري والتهاب الكبد [12]. اذ يعتبر فطر الـ *Ganoderma* من الفطريات الغنية بالمركبات الفينولية والفلافونيدات ومضادات الاكسدة [13]



شكل (1) فطر الـ *Ganoderma*

2-2-1 الفلافونيدات

تعتبر الفلافونيدات من أهم مجموعة المركبات العضوية فقد تم عزل وتحديد أكثر من 6400 مركب فلافونيدي من أنواع مختلفة من النباتات والفطريات. تعرف الفلافونيدات بانها عبارة عن صبغات متواجدة في النباتات وتنتشر في أجزائها النباتية المختلفة وخاصة الزهور إذ تنسب لها خاصية التلوين (فتكون سبباً لجذب الحشرات خصوصاً في عمليات التلقيح)، أما على مستوى الخلية فتتواجد بشكل إثيروزيدات ذائبة في الماء متمركزة في حويصله الخلية، وبشكل أجليكونات في الأنسجة السطحية للأوراق، أما عديدة الميثوكسيل فتتواجد في سيتوبلازم الخلية. تحتوي الفلافونيدات على 15 ذرة كربون او اكثر في هيكلها الأساسي [14] والشكل (2) يوضح التركيب العام للمركبات الفلافونيدية.



الشكل (2) التركيب البسيط للمركبات الفلافونيدية

تذوب الفلافونيدات في القواعد القوية لكونها مركبات فينولية وتمتاز بصفاتها الحامضية الضعيفة. تزداد قطبيتها كلما احتوت على عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة وتعتمد ذوبانيتها على قطبية المذيب إذ أنها تذوب في المذيبات القطبية مثل الميثانول (CH_3OH) والإيثانول (EtOH) وثنائي سيلفوكسيد الأستون (DMSO) والماء أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الأيزوفلافونات وكذلك الفلافونات التي تحمل عدداً من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الإيثر والكلوروفورم [15].

3-2-1 تقنيات النانو

يعرف النانو تكنولوجياً بأنه العلم الذي يتعامل مع الجسيمات التي يتراوح حجمها من 1-100 نانوميتر. إذا يتم تحضير الجسيمات النانوية بطرائق مختلفة منها الطرق الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية. لكل طريقة من هذه الطرق مميزاتا وعيوبها التي يمكن أن تظهر على المواد المحضرة أو التطبيق المستخدمة لاجله [16]. لاقت الجسيمات النانوية المصنعة بالطرائق البيولوجية اهتماماً كبيراً في التطبيقات الصحية كمعالجة أمراض القلب والسكري ونقل الدواء إلى النسيج الهدف. ركزت الكثير من الدراسات على استخدام الفلافونيدات كعوامل مختزلة لإنتاج الجسيمات النانوية بالطرية البيولوجية [17].

تم وضع الجسيمات النانوية الفضية في طليعة أبحاث الجسيمات النانوية في السنوات الأخيرة بسبب خصائصها الفريدة مثل الخصائص البصرية [1] الحرارية [2] والكهربائية [3]. تعطي الجسيمات النانوية الفضية أقوى

رنين للبلازمون السطحي في المنطقة المرئية من الطيف الكهرومغناطيسي [18]. تُستخدم جسيمات الفضة النانوية كحبر موصل في الطباعة الإلكترونية للدوائر المتكاملة [19] كما تُظهر نشاطاً قوياً ضد جميع أشكال الكائنات الحية الدقيقة (البكتيريا والفيروسات والطحالب والفطريات) بما في ذلك السلالات المقاومة للأدوية المتعددة. ومن بين جميع المعادن النبيلة تُستخدم الجسيمات النانوية الفضة على نطاق واسع كعوامل مضادة للميكروبات في مجموعة واسعة من المنتجات مثل تضميد الجروح [20] و أجهزة تنقية المياه [21] وغيرها.

4-2-1 الدراسات السابقة

تناولت العديد من الدراسات في العقود الأخيرة تحضير جسيمات الفضة النانوية بالطرق البيولوجية والتي تقوم على المستخلصات النباتية او الفطرية او الطحلبية. كما تم تقييم الفعالية البيولوجية لجسيمات الفضة المحضرة في اغلب تلك الدراسات.

درس Vigneshwaran وجماعته (2007) إنتاج جسيمات الفضة النانوية باستخدام فطر *Aspergillus flavus* حيث اعطى المستخلص المائي لفطر *Aspergillus flavus* جسيمات الفضة النانوية بحجم 8.2 نانوميتر [22].

في عام 2012 قام Sharanabasava وجماعته بإنتاج الجسيمات الفضة النانوية من فطر *Penicillium* وبينت النتائج ان متوسط الحجم للجسيمات المحضرة يبلغ 20 نانوميتر. ذكرت الدراسة أن الإنزيم المناعي الموجود في المستخلص الفطري قد يكون مسؤولاً عن اختزال واستقرار جسيمات الفضة النانوية [23].

درس Lamabam (2015) تحضير جسيمات الفضة النانوية من بعض انواع الفطر من ضمنها *Aspergillus tamarisii PFL2* وبينت النتائج الحصول على اشكال كروية بمعدل حجم 3 نانوميتر للجسيمات المحضرة [24].

كما استخدم Vijay وجماعته (2009) فطر الـ *Aspergillus Clavatus* الانتاج جسيمات الفضة النانوية بأشكال كرويه يتراوح حجمها بين 10 الى 25 نانوميتر وكان للجسيمات المحضرة تاثير مضاد للميكروبات [25].

عام 2020 قام Danagoudar Ananda وجماعته بإنتاج جسيمات الفضة النانوية من فطر *endophytic* ووضحت القياسات ان شكل الجسيمات النانوية المحضرة كروية بمتوسط حجم من 2 الى 5 نانوميتر. تم استخدام الجسيمات المحضرة كمضاد للخلايا السرطانية. [26]

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل

1-2 المواد المستخدمة

شملت المواد المستخدمة في الدراسة على فطر من نوع *Ganoderma applanatum* والذي تم جمعه من

قرية الحسنية في قضاء هيت بتاريخ 1 نيسان 2021 ، بالإضافة الى المواد في جدول رقم (1)

جدول رقم (1) المواد الكيميائية المستخدمة في البحث مع توصيفاتها

ت	المواد	التركيب الكيميائي	الشركة المصنعة
1	الكلورفورم	CHCl ₃	HAYMANKIMIA
2	البيوتانول	CH ₄ H ₁₀ O	HAYMANKIMIA
3	نترات الفضة	AgNO ₃	SIGMA_ALDRICH
4	كيرسيتين	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	SIGMA_ALDRICH
5	ماء مقطر منزوع الايونات	H ₂ O	-----

2- الاجهزة المستعملة و الادوات

يبين جدول رقم (2) الاجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة مع منشأ التصنيع

جدول رقم (2) الاجهزة والادوات

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة ومنشؤها
1	ميزان الكتروني Electrical Balance	Sartorius AG (Germany)
2	جهاز ال HPLC (high performance liquid chromatography)	SYKAM Germany
3	جهاز ال UV-Vis	HORIBA شركة DUETTA
4	جهاز ال XRD	DAY PETRONIC
5	ورق الترشيح Filter paper	-----
6	الموجات فوق الصوتية Ultrasound	-----
7	قمع الفصل Separating funnel	-----
8	هاون Mortar	-----
9	علبة خزن	-----

1-2-2 طريقة استخلاص الـ quercetin

تم استخلاص مركب quercetin من فطر *Ganoderma* حسب طريقة Abdul-Hadi وجماعته [27] والمتضمنة وزن 30 غم من الفطر بعد غسله وتجفيفه في الظل ثم تم طحنه بالهاون (Mortar) . اضيف 100 مل من الكلورفروروم الى مطحون الفطر ثم وضع على جهاز الموجات فوق الصوتية لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة . وبعد ذلك تم ترشيح بواسطة ورق الترشيح (Filter paper) رقم (2). تم فصل الراشح باستخدام قمع الفصل (separated funnel) حيث اضيف 100 مل من البيوتانول الى الراشح في قمع الفصل . تم جمع الطبقة العضوية (البيوتانول) التي تحتوي على المركبات الفلافونيدية وخرنها في قنينة خزن معتمة عند درجة 0 °م. تم بعد ذلك عزل الـ quercetin الموجود في البيوتانول بواسطة جهاز الـ HPLC [28]

2-2-2 تصنيع جسيمات الفضة

تم تصنيع جسيمات الفضة النانوية باستخدام الـ quercetin كعامل مختزل بطريقتين :
تضمنت الطريقة الأولى تحضير محلول مائي من المستخلص بتركيز (1mM) . اضيف 10 مل من العامل المختزل الى 40 مل نترات الفضة (1mM) وحرك المزيج على محرك مغناطيسي لمدة 90 دقيقة عند درجة حرارة 80 °م.
بينما الطريقة الثانية تضمنت المزج المسبق للعامل المختزل مع ملح نترات الفضة باستخدام هاون خزفي لمدة 5 دقائق وبنسبة مزج $AgNO_3$ (0.00849gm) و quercetin (0.01511gm) التي عند اذابتها في 50 مل DDW يكون تركيز المزيج (1mM). بعدها تم تحضير 1 ملي مولاري من المزيج في 50 مل ماء منزوع الايونات ورج المزيج على محرك مغناطيسي لمدة 90 دقيقة عند 80 °م.

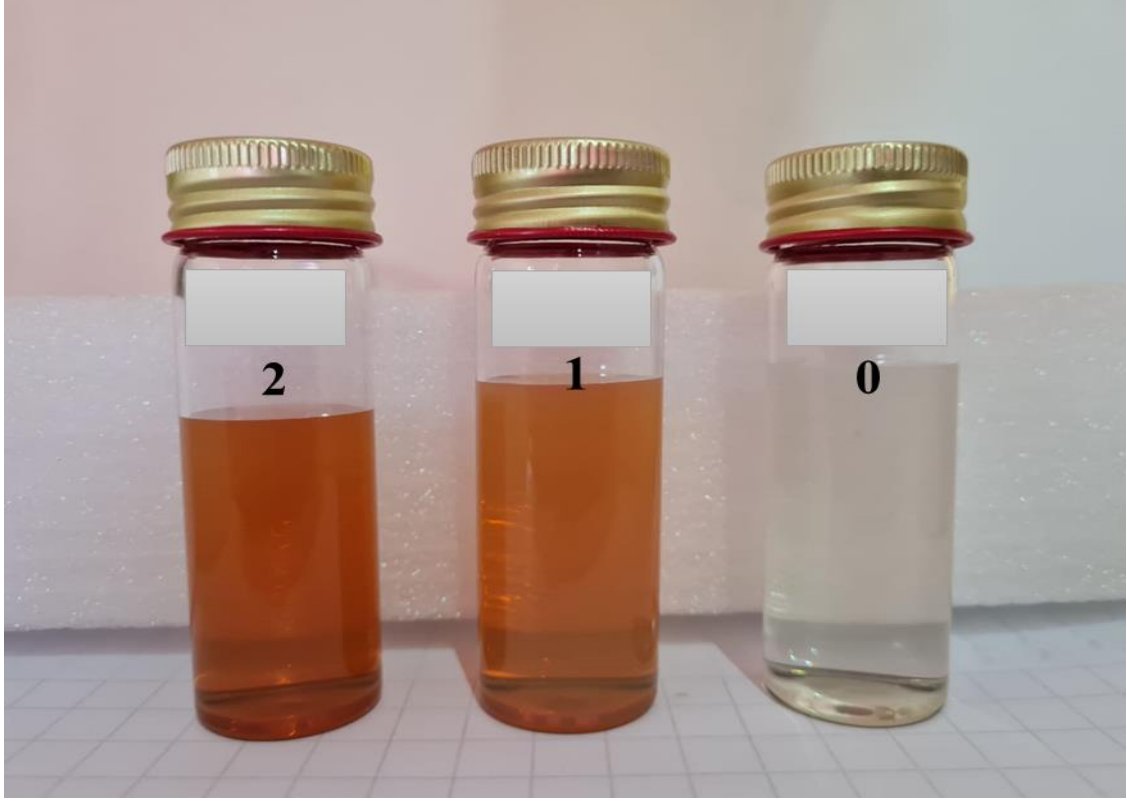
الفصل الثالث

النتائج و المناقشة

تم فصل وتشخيص عدد من المركبات الفينولية الفعالة بشكل مجاميع من فطر الـ *Ganoderma* إذ تم فصل عدد من المركبات الفعالة باستعمال أنظمة مذيبات مختلفة القطبية كما موضح في الجزء العملي. شخصت المركبات الفينولية المعزولة بجهاز الـ HPLC من نوع Shimadzo AHT -LC, 2010 بعد تنقيتها بمرشحات غشائية قطر 1.0 مايكروميتر وباستخدام الطول الموجي 320 نانوميتر، وسرعة جريان 1 مل/دقيقة وطور متحرك (Acetonitrile 85% + H₂O 15%) وباستخدام العمود C18 وبأبعاد 240×4 ملم، وفي درجة حرارة 30°م لتكون خمسة مركبات وهي الـ Quercetin بوقت استبقاء 5.97 دقيقة وتركيز 7.5 جزء في المليون والـ Rutin بوقت استبقاء 12.11 دقيقة وتركيز 5 جزء في المليون والـ epigene بزمان استبقاء من 1.70 دقيقة وتركيز 10 جزء في المليون والـ Keampherol عند الزمن احتجاز 2.90 و 7.74 دقيقة وتركيز 15 جزء في المليون والـ Gallic acid عند زمن استبقاء 13.53 دقيقة وتركيز 15 جزء في المليون حسب الدراسة [29]. تمت تنقية مركب الـ Quercetin بواسطة عزله كميًا باستخدام جهاز الـ HPLC ليتم الحصول عليه بصورة منفردة لاستخدامه كعامل مختزل لأيونات الفضة.

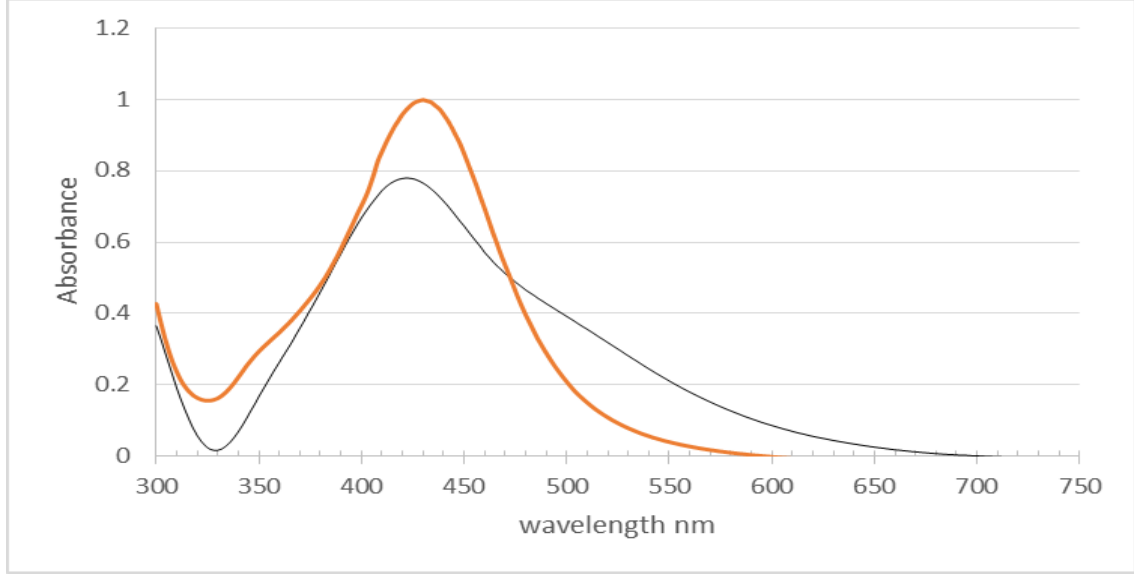
لوحظ في هذه الدراسة أن الجسيمات النانوية المتشكلة استمرت معلقة في المحلول المائي حيث شكلت تشتتًا متجانسًا للغاية على عكس محلول الـ quercetin (1 mM) الذي يترسب في الماء بعد فترة قصيرة. كما لوحظ بشكل مرئي تكوين جسيمات الفضة النانوية المغلفة بالـ quercetin عن طريق تغيير لون المحاليل بعد إضافة الـ quercetin بطريقتين مختلفتين حيث تضمنت الطريقة الأولى إضافة 10 مل من كيرسيتين الحر إلى محلول

نترات الفضة مباشرةً. تغير لون محلول نتيجة لتشكل الجسيمات النانوية الفضية من عديم اللون الى اللون البرتقالي الباهت ثم إلى اللون البني الشاحب (الشكل 3).



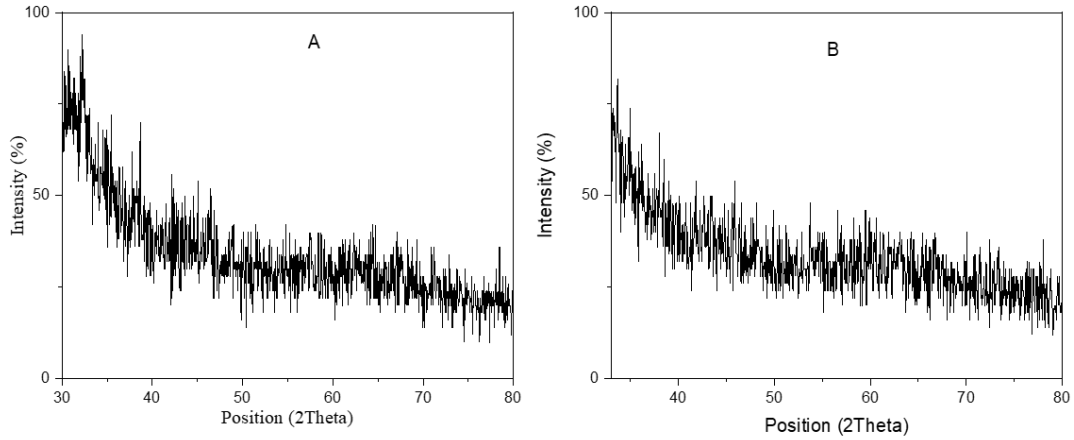
الشكل (3) يعرض المستخلص المائي (0) وجسيمات الفضة النانوية المحضرة بالطريقة الأولى (1) وجسيمات الفضة النانوية المحضرة بالطريقة الثانية (2)

يرجع التغير في اللون إلى رنين البلازمون السطحي والذي يؤكد تكوين جسيمات الفضة النانوية. تميزت الجسيمات النانوية بالدرجة الأولى بالتحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية. عند استخدام هذه الطريقة لوحظت ذروة الامتصاص للجسيمات المحضرة عند 432 نانومتر (الشكل 4).



(الشكل 4) يمثل ذرة الامتصاص للذرات المحضرة

عند تطبيق الطريقة الثانية والمتضمنة المزج المسبق للعامل المختزل (quercetin) مع ايونات الفضة حصل انزياح ازرق للرنين البلازمون السطحي حيث كانت ذروه الامتصاص عند 422 نانوميتر حيث أن رنين البلازمون السطحي للجسيمات النانوية يتأثر بالحجم والشكل والتفاعلات بين الجسيمات وكثافة الإلكترون الحرة والوسط المحيط [30]. هذا يدل على ان جسيمات الفضة النانوية المغلفة بالـ كيرستين المحضرة بهذه الطريقة كان لها حجم اقل حسب ما أكدته الدراسات السابقة [31] وربما يعود السبب في ذلك الى ان بعض الانتقالات الالكترونية التي تحدث بين العامل المختزل وايونات الفضة بتأثير الطحن نتيجة للمساحة السطحية الأكبر لا تحدث في الطريقة الأولى.



الشكل (5) تأثير حيود الاشعة السينية لنماذج جسيمات الفضة النانوية المحضرة بالطريقة التقليدية (A) والطريقة المحورة (B)

الطريقة	2θ	$\cos \theta$	FWHM	B	D nm
الطريقة التقليدية A	38.20	0.9449	0.4974	0.0087	17.6
الطريقة المحورة B	38.26	0.9448	0.9752	0.0170	9.0

يعرض الشكل (5) تأثير حيود الاشعة السينية لجسيمات الفضة المحضرة. دلت نتائج القياس الحصول على مركبات الفضة النانوية البلورية حيث اعطى النموذج المحضر بالطريقة التقليدية قمة عند قيمة 2θ تساوي 38.2° بارتفاع عند المنتصف يساوي 0.4974 درجة فيما أعطيت الطريقة المحورة القمة عند قيمة 2θ تساوي 38.26° وبارتفاع عند المنتصف يساوي 0.9752 درجة. عند تطبيق معادلة ديبي- شيرر تبين ان متوسط الحجم الحبيبي للجسيمات المحضرة بالطريقة التقليدية هو 17.6 نانومتر فيما عرضت الطريقة المحورة متوسط حجم لجسيمات الفضة يساوي 9 نانومتر وهذا يتوافق مع قياس الـ UV-Vis.

الاستنتاجات :

استخدام طريقة المزج المسبق لايونات الفضة بالحالة الصلبة مع العامل المختزل والمثبت (مركب quercetin) المفصول من فطر *Ganoderma applanatum* مع رج المحلول في درجة حرارة 80 درجة سيليزية هي الطريقة المثلى للحصول على دقائق فضة بحجم نانوي بمواصفات جيدة.

الدراسات المستقبلية:

1. دراسة توصيفات مجهرية للدقائق النانوية المحضرة بطريقة المزج المستبق لاكتمال التوصيفات
2. دراسة تأثيرات الدقائق النانوية الغلفة بال- quercetin البايولوجية في المختبر وفي حيوانات مختبرية

نوصى بالاستفادة من تحويل الطريقة

اي استخدام الطريقة الثانية التي تضمنت المزج المسبق للعامل المختزل مع ملح نترات الفضة اذ تعطي جسيمات نانوية بمواصفات جيدة

- 1-B. J. Wiley, Y. Chen, J. M. McLellan, Y. Xiong, Z. Y. Li, D. Ginger and Y. Xia, Nano Lett., 2007, 7, 1032–1036.
- 2-K. S. Moon, H. Dong, R. Maric, S. Pothukuchi, A. Hunt, Y. Li and C. P. Wong, J. Electron. Mater., 2005, 34, 168–175
- 3-D. Chen, X. Qiao, X. Qiu and J. Chen, J. Mater. Sci., 2009, 44, 1076–1081.
- 4 -Basavaraja, S., Balaji, S. D., Lagashetty, A., Rajasab, A. H., & Venkataraman, A. (2008). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium semitectum*. Materials Research Bulletin, 43(5), 1164-1170.
- 5-Huh, S., Lee, S., Choi, S. J., Wu, Z., Cho, J. H., Kim, L., ... & Kang, H. (2019). Quercetin synergistically inhibit EBV-associated gastric carcinoma with *Ganoderma lucidum* extracts. Molecules, 24(21), 3834.
- 6-Dastan, D. (2017). Effect of preparation methods on the properties of titania nanoparticles: solvothermal versus sol–gel. Applied Physics A, 123(11), 1-13.
- 7-Webster, J., & Weber, R. (2007). Introduction to fungi. Cambridge university press
- 8-Meuninck, Jim (2017). Foraging Mushrooms Oregon: Finding, Identifying, and Preparing Edible Wild Mushrooms. Falcon Guides. p. 46. ISBN 978-1-

4930-2669-3-

9-R. R. M. Paterson, —Ganoderma—a therapeutic fungal biofactory, *Phytochemistry*, vol. 67, no. 18, pp. 1985–2001, 2006.

10-Rajput, N. (2015). Methods of preparation of nanoparticles-a review.

International Journal of Advances in Engineering & Technology, 7(6), 1806.

11-Hossain, M. S., Barua, A., Tanim, M. A. H., Hasan, M. S., Islam, M. J.,

Hossain, M. R., ... & Hossen, S. M. (2021). Ganoderma applanatum mushroom

provides new insights into the management of diabetes mellitus,

hyperlipidemia, and hepatic degeneration: A comprehensive analysis. *Food*

Science & Nutrition.

12-Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvić, M. M., Todorović, N.,

Jakovljević, D., & Van Griensven, L. J. (2012). Antioxidative activities and

chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used

mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*

and *Trametes versicolor*. *Journal of food composition and analysis*, 26(1-2),

144-153.

13-Li, Z. P., Wu, P., & Wu, S. Q. (2010). Study on antioxidant activity of

Ganoderma applanatum intracellular polysaccharides. *Science and Technology*

of Food Industry, 6, 108-110.

14-QU, N. N., & YANG, S. S. (2007). Extraction and Determination of Chemical Constituents of Flavonoides in *Tribulus terrestris* L.[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 3.

15-Plaza, M., Pozzo, T., Liu, J., Gulshan Ara, K. Z., Turner, C., & Nordberg Karlsson, E. (2014). Substituent effects on in vitro antioxidizing properties, stability, and solubility in flavonoids. Journal of agricultural and food chemistry, 62(15), 3321-3333.

16-Schmid, G. (Ed.). (2011). Nanoparticles: from theory to application. John Wiley & Sons.

17-Rajput, N. (2015). Methods of preparation of nanoparticles-a review. International Journal of Advances in Engineering & Technology, 7(6), 1806.

18 -M. Chen, Y. G. Feng, X. Wang, T. C. Li, J. Y. Zhang and D. J. Qian, Langmuir, 2007, 23, 5296–5304.

19-O. V. Salata, J. Nanobiotechnol., 2004, 2, 1–6

20-J. Tian, K. K. Y. Wong, C. M. Ho, C. N. Lok, W. Y. Yu, C. M. Che, J. F. Chiu and P. K. H. Tam, ChemMedChem, 2007, 2, 129–136.

21 -V. K. Sharma, R. A. Yngard and Y. Lin, Adv. Colloid Interface Sci., 2009, 145, 83–96

- 22-Vigneshwaran, N., Ashtaputre, N. M., Varadarajan, P. V., Nachane, R. P., Paralikar, K. M., & Balasubramanya, R. H. (2007). Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. *Materials letters*, 61(6), 1413-1418.
- 23-Ganachari, S. V., Bhat, R., Deshpande, R., & Venkataraman, A. (2012). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using fungi *Penicillium diversum* and their antimicrobial activity studies. *BioNanoScience*, 2(4), 316-321
- 24-Devi, L. S., & Joshi, S. R. (2015). Ultrastructures of silver nanoparticles biosynthesized using endophytic fungi. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 3(1), 29-37.
- 25-Kalaiselvan, V., & Rajasekaran, A. (2009). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Aspergillus niger* and evaluation of its wound healing activity in experimental rat model. *Int. J. Pharm. Tech. Res*, 4, 1523-1529
- 26-Danagoudar, A., Pratap, G. K., Shantaram, M., Ghosh, K., Kanade, S. R., & Joshi, C. G. (2020). Characterization, cytotoxic and antioxidant potential of silver nanoparticles biosynthesised using endophytic fungus (*Penicillium citrinum* CGJ-C1). *Materials Today Communications*, 25, 101385.

- 27-Abdul-Hadi, S. Y., Owaid, M. N., Rabeea, M. A., Aziz, A. A., & Jameel, M. S. (2020). Rapid mycosynthesis and characterization of phenols-capped crystal gold nanoparticles from *Ganoderma applanatum*, Ganodermataceae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101683.
- 28-Kazakevich, Y. V., & Lobrutto, R. (2007). *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons.
- 29-Kalíková, K., Riesová, M., & Tesařová, E. (2012). Recent chiral selectors for separation in HPLC and CE. *Open Chemistry*, 10(3), 450-471.
- 30-Ghosh, S. K., & Pal, T. (2007). Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications. *Chemical reviews*, 107(11), 4797-4862.
- 31-Desai, R., Mankad, V., Gupta, S. K., & Jha, P. K. (2012). Size distribution of silver nanoparticles: UV-visible spectroscopic assessment. *Nanoscience and Nanotechnology letters*, 4(1), 30-34