بهینه‌سازی سنتز زیستی نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه پسته *pistachio vera*

ساره نوذری[۱]، مریم دهجی‌پور حیدرآبادی[۲*]، محسن محمودنیا[۲]

[۱]کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

[۲]استادیاران گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

*نویسنده مسئول: m.dahaji@vru.ac.ir

چکیده

سنتز زیستی نانوذرات فلزی یکی از موضوعات نوین در تحقیقات علم نانوبیوتکنولوژی است که با استفاده از سیستم‌های زیستی مواد جدید در اندازه نانومتر (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) را برای کاربردهای زیست پزشکی و دارویی فراهم می‌کند. در این مطالعه، سنتز زیستی نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره‌ی برگ گیاه پسته انجام شد. تغییر رنگ تدریجی عصاره‌های گیاهی در مجاور سولفات مس، سنتز نانوذرات اکسید مس را نشان داد. به منظور دستیابی به نانوذرات اکسید مس با شکل و اندازه یکنواخت، پارامترهای موثر بر سنتز، نظیر نسبت عصاره، دما و زمان واکنش مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد بیشترین میزان سنتز نانوذرات در نسبت ۴ به ۱ عصاره به نمک و دماهای ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد در بازه‌ی زمانی ۲۴ و ۴ ساعت، صورت گرفت. براساس نتایج پژوهش حاضر استفاده از عصاره‌ی برگ پسته با توانایی احیای یون‌های مس می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب جهت سنتز ساده و سریع نانوذرات پیشنهاد گردد.

واژه‌های کلیدی: پسته، سنتز سبز، نانوذرات مس، برگ.

مقدمه

توسعه فناوری نانو، علاقه محققان را در جهت سنتز نانوذرات برای کاربرد زیستی آن‌ها سوق داده است. این فناوری در زمینه‌های متنوعی مانند داروسازی، الکترونیک، بهداشت، غذا و خوراک، علوم زیست پزشکی، انرژی، لوازم آرایشی، بهداشت محیط، مکانیک و صنایع فضایی کاربرد دارد (Korbekandi, 2012). سنتز سبز نانوذرات در مقایسه با روش‌های سنتی مانند روش‌های فیزیکی و شیمیایی، روشی ساده، کم هزینه، غیرسمی و سازگار با محیط زیست است. در سال‌های اخیر استفاده از عصاره گیاهان که شامل ترکیبات احیاکننده‌ای مانند آلکالوئیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای‌آمینه، ترکیبات فنلی و پلی‌ساکاریدها می‌باشند برای سنتز نانوذرات، به علت حذف فرایند پیچیده کشت سلولی و عدم استفاده از فشار، دما، انرژی بالا و مواد سمی و همچنین پایداری محصولات تولید شده، مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Saranyaadevi, *et al*., 2014). اولین سنتز زیستی نانوذرات مس با استفاده از عصاره گیاه مگنولیا با اندازه نانوذرات مس در محدوده ۳۷ تا۱۱۰ نانومتر انجام شد (Lee *et al*., 2013). پژوهش‌های بعدی در زمینه سنتز زیستی نانوذرات مس کروی با ابعاد ۵ تا ۴۰ نانومتر با استفاده از عصاره گل میخک صورت گرفت (Subhankari and Nayak 2013). هم‌چنین سنتز نانوسیم‌های مس با قطر ۱۰ نانومتر و طول ۵۰۰ نانومتر (Awwad and Albiss 2015) و سنتز نانوذرات آهن در محدوده ۵ تا ۱۲ نانومتر با استفاده از عصاره برگ پسته نیز توسط سالم و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است. هدف از انجام این پژوهش بررسی امکان‌سنجی و بهینه‌سازی شرایط سنتز زیستی نانوذرات مس با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه پسته بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، نمونه برداری از برگ درختان رقم احمدآقایی باغ پسته واقع در دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان انجام شد.

عصاره‌گیری نمونه‌های گیاهی: ۱۰ گرم برگ را بعد از پودر کردن به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه و بعد از گذشت ۵ دقیقه، عصاره به دست آمده در دمای اتاق سرد و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و برای استفاده در واکنش‌های بعدی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنتز زیستی نانوذرات مس: مخلوط عصاره برگ و محلول سولفات مس ۱ میلی‌مولار با نسبت‌های متفاوت آماده و جهت مخلوط شدن بهتر با استفاده از شیکر به‌طور پیوسته همزده شد. هنگام ترکیب عصاره گیاهی با محلول سولفات مس، محلول حاصل به رنگ زرد کمرنگ بوده ولی با گذشت زمان، رنگ محلول به تدریج به رنگ قهوه‌ای تیره تغییر یافت. مشاهده‌ی تغییر رنگ محلول، نشانه‌ی احیای یون‌های مس و سنتز نانوذرات مس می‌باشد. واکنش احیا یون مس با اندازه‌گیری اسپکتروم UV-VIS مشاهده شد. پس از سنتز نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Avanties Avaspec-20488 ساخت آمریکا میزان جذب نوری در طول موج‌های ۳۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و با توجه به داده‌های حاصل منحنی جذب با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

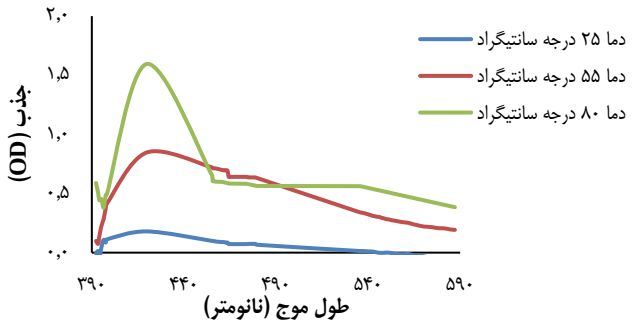
بهینه سازی سنتز نانوذرات مس: تولید نانوذرات مس از نظر تاثیر پارامترهای مختلف دما (۲۵، ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد)، نسبت‌های حجمی عصاره گیاهی به سولفات مس (نسبت‌های ۱ به ۱، ۱ به ۲، ۱ به ۳، ۱ به ۴ و ۱به ۵)، و فاصله‌های زمانی متوالی بر واکنش، مورد بررسی قرار گرفت. جذب نوری نانوذرات مس در دمای ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب با فاصله‌های زمانی ۶۰ و ۳۰ دقیقه رسم گردید.

نتایج و بحث

نتایج بررسی‌های تغییر رنگ محلول: تغییر رنگ عصاره بعد از افزودن محلول سولفات مس یک میلی‌مولار در نمونه گیاهی برگ نشان دهنده‌ی احیا یون‌های مس به نانوذرات آن است. با گذشت ۲۴ ساعت از شروع واکنش، رنگ مخلوط واکنش از روشن به تیره تغییر یافت (شکل۱). احیای یون‌های مس به دلیل تحریک لرزش پلاسمون سطحی در نانوذرات فلزی، رنگ تیره از خود نشان می‌دهند. اثبات سنتز نانوذرات با مشاهده تغییر رنگ روشی آسان و سریع است و محققانی که در این زمینه کار می‌کنند از این روش استفاده کرده‌اند (Chandran *et al*., 2006; Shankar *et al*., 2004). تغییر رنگ محلول نیز در نتایج بیوسنتز نانوذرات مس با استفاده از گیاه آرمود و مگنولیا نشان دهنده‌ی واکنش احیا بود (Caroling *et al*., 2015).

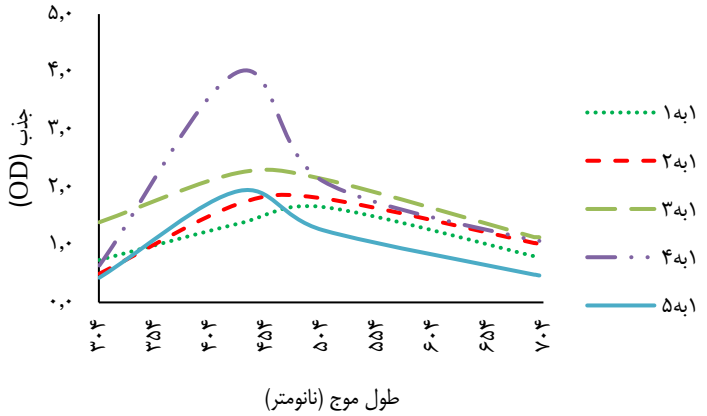
شکل۱: تغییر رنگ مخلوط محلول سولفات مس و عصاره برگ الف) محلول سولفات مس یک میلی مولار ب) عصاره برگ ج) مخلوط محلول سولفات مس و عصاره برگ در ابتدا د) مخلوط محلول سولفات مس و عصاره برگ بعد از گذشت ۲۴ ساعت.

سنتز نانوذرات در دماهای متفاوت: احیای یون‌های مس به نانوذرات مس تأییدی بر رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات مس است. ماکزیمم پیک جذبی آن در محدوده‌ی طول موج ۴۰۰ تا ۴۳۰ نانومتر برای نانوذرات مس رخ داد. با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل ۲ جذب نوری نانوذرات مس، در نمونه‌های گیاهی در سه دمای ۲۵، ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. افزایش دما افزایش سنتز نانوذرات را موجب شد. دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد بیش‌ترین جذب و بعد از آن به ترتیب دمای ۵۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داشت. تحقیقات نشان داده است کـه بـا افزایش دمای واکنش، میزان جذب مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نیز افزایش یافته است. افزایش دما موجب کاهش در زمان کامل شدن واکنش سنتز نانوذرات مـی‌شود.



شکل ۲: جذب نوری نانوذرات مس بیوسنتز شده با استفاده از عصاره برگ در سه دمای ۲۵، ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد.

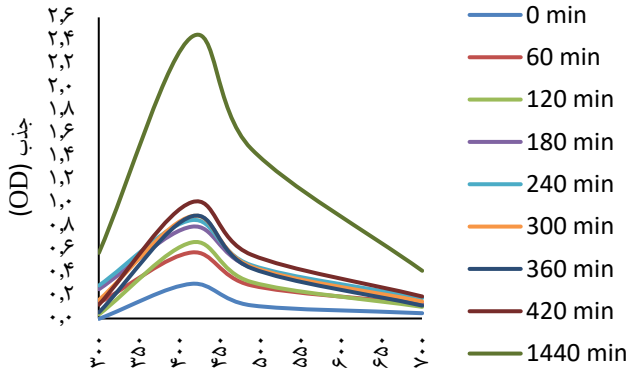
سنتز نانوذرات مس با نسبت‌های متفاوت: چنانچه در شکل ۳ نشان داده شده است با افزایش میزان عصاره تا نسبت ۱:۴ میزان سنتز نانوذرات افزایش یافت بنابراین نسبت ۱:۴ به عنوان حجم بهینه عصاره برگ پسته جهت سنتز نانوذرات انتخاب شد.



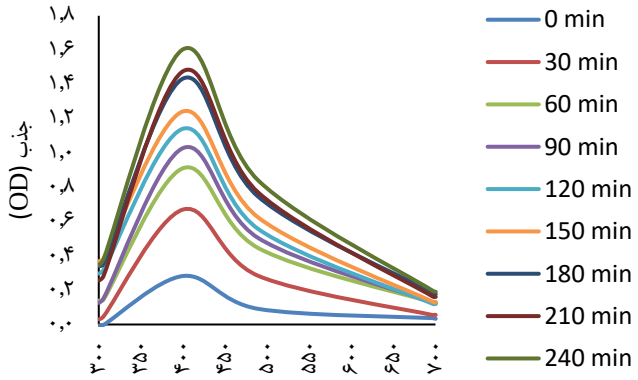
شکل ۳: جذب نوری نانوذرات مس بیوسنتز شده با استفاده از برگ با نسبت‌های مختلف ترکیب عصاره برگ به محلول سولفات مس.

گزارش‌ها حاکی از آن است که با افزایش میزان عصاره، مقدار ترکیبات احیاکننده و پایدار کننده نظیر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ترپنوئیدی در محلول افزایش یافته و میزان یون بیشتری را در معرض احیا قرار می دهند و جذب مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات افزایش می‌یابد. سنتز نانوذرات در غلظت‌های کمتر از میزان بهینه عصاره باعث می‌شود عمل پایدارسازی نانوذرات به‌طور کامل انجام نگیرد در نتیجه ذرات درشت‌تر شکل گیرد. همچنین افزایش غلظت‌های بیشتر از میزان بهینه عصاره، سبب تجمع ذرات پایدارکننده به دور خود شده و در نتیجه با کامل نشدن پایداری، ذرات درشت‌تری حاصل می‌شود. افت در شدت پیک نشان‌دهنده افزایش اندازه ذرات و افزایش پهنای آن نشان دهنده افزایش توزیع اندازه ذرات است (Foroghirad and Khatibzadeh, 2015).

میزان سنتزنانوذرات مس در زمان‌های متوالی: نمودار جذب نوری نانوذرات مس با نسبت ۱:۴عصاره به نمک در دمای ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد با فاصله های زمانی ۶۰ و ۳۰ دقیقه رسم گردید (شکل ۴).



شکل ۴: جذب نوری نانوذرات مس بیوسنتز شده با استفاده از عصاره برگ در زمان‌های متوالی در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد.



شکل ۵: جذب نوری نانوذرات مس بیوسنتز شده با استفاده از عصاره برگ در زمان‌های متوالی در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد.

بر اساس شکل‌های ۴ و ۵ با افزایش مدت زمان، میزان اوج جذب افزایش یافته و بعد از گذشت مدت زمان مشخصی به حداکثر می‌رسد. هم‌چنین این میزان در دماهای مختلف برگ پسته با هم اختلاف داشت که در نمودارهای جداگانه ترسیم گردید. در این پژوهش با افزایش دما تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد، کاهش محسوسی در میزان جذب مشاهده شد که دلیل این پدیده این است که با افزایش بیش از حد دما، بخشی از ترکیبات موجود در عصاره برگ که نقش احیاءکنندگی و پایدارکنندگی نانوذرات را داشته‌اند تجزیه شده و از بین رفته‌اند. زمان تاثیر زیادی بر میزان سنتز نانوذرات دارد به گونه‌ای که یکی از عوامل اثبات میزان پایداری نانوذرات فاکتور زمان می‌باشد. زمان کم می‌تواند امکان تبدیل تمام یون‌های فلزی و تبدیل آن‌ها را به نانوذرات مخدوش نماید و زمان زیاد نیز تأثیر بسزایی در این فرآیند ندارد. در دسترس بودن تعداد بیشتری از هسته‌های فلزی در یک زمان معین باعث کاهش اندازه نانوذرات می‌شود؛ زیرا هسته‌های فلزی کوچک‌تر همزمان رشد می‌کنند و یون‌های فلزی را مصرف می‌کنند (Caroling *et al.*, 2015). با توجه به نتایج به دست آمده زمان‌های ۲۴ و ۴ ساعت به ترتیب در دمای ۵۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد جهت سنتز بیش‌ترین میزان نانوذرات مس پیشنهاد می‌شود.

منابع

Awwad, A.M., Albiss, B. 2015. Biosynthesis of colloidal copper hydroxide nanowires using pistachio leaf extract. Advanced Materials Letters, 6: 51-54.

Caroling, G., Priyadharshini, M.N., Vinodhini, E., Ranjitham, A.M., Shanthi, P. 2015. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous guava extract-characterization and study of antibacterial effects. International Journal of Pharmacy and Biological Science, 5(2): 25-43.

Chandran, S.P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., Sastry, M. 2006. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract. Biotechnology Progress, 22: 577-583.

Foroghirad, S., Khatibzadeh, M. 2015. Green synthesis of silver nanoparticles used in conductive inks using sonochemical method. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 1(34): 1-9.

Korbekandi, H., Asghari, G., Chitsazi, M.R., Bahri Najafi, R., Badii, A. Iravani, S. 2016. Green biosynthesis of silver nanoparticles using Althaea officinalis radix hydroalcoholic extract. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 44(1): 209-215.

Lee, H.J., Song, J.Y., Kim, B.S. 2013. Biological synthesis of copper nanoparticles using Magnolia kobus leaf extract and their antibacterial activity. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 88(11): 1971-1977.

Salem, N.M., Ahmad, A.L., Awwad, A.M. 2013. New route for synthesis magnetite nanoparticles from ferrous ions and Pistachio leaf extract. Nanoscience and Nanotechnology, 3: 48-51.

Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. Journal of Colloid and Interface Science, 275: 496-502.

Saranyaadevi, K., Subha, V., Ravindran, R. E., Renganathan, S. 2014. Synthesis and characterization of copper nanoparticle using Capparis zeylanica leaf extract. International journal of chemtech research, 6(10): 4533-4454.

Subhankari, I., Nayak, P. 2013. Synthesis of copper nanoparticles using Syzygium aromaticum (Cloves) aqueous extract by using green chemistry. World Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2(1): 14-17.

Optimization of biosynthesis of copper oxide nanoparticles using aqueous extract of pistachio leaf

Sare Nozari, Maryam Dahajipour *, Mohsen Mahmoodnia
Department of Genetics and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
*Corresponding Author: m.dahaji@vru.ac.ir

Abstract

Biological synthesis of metallic nanoparticles is a novel area of bio nanotechnology researches that it develops new Nano-sized materials (1-100 nm) for biomedical and pharmaceutical applications by biological systems. In this study, biosynthesis of copper oxide nanoparticles was performed using pistachio leaf extract). Gradual discoloration of plant extracts adjacent to copper sulfate showed the synthesis of copper oxide nanoparticles. In order to obtain copper oxide nanoparticles with uniform shape and size, parameters affecting synthesis such as extract concentration, temperature and reaction time were studied. The results showed that the highest rate of nanoparticle synthesis was in the ratio of 4: 1 extract to salt and temperatures of 55 and 80 °C in 24 and 4 hours. Based on the results of this study, the use of pistachio leaf extract with the ability to reduce copper ions can be suggested as a suitable method for simple and rapid synthesis of nanoparticles.

***Keywords*:** CuO nanoparticles, Green synthesis, Leaf, *Pistacia vera.*