

تهیه نانوذرات CuO با استفاده از عصاره برگ گیاهان گردو و خرما و بررسی خواص

ضد باکتریایی آن ها

اکبر رستمی ورتونی^{۱*}، حسین مستعان زاده^۱، علی اکبر مرشدی فر^۱، اصغر طاهری کفرانی^۲^۱ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران^۲ گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۱۲

تاریخ تصحیح: ۹۶/۰۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۵/۰۱

چکیده

در کار پژوهشی حاضر، نانوذرات CuO با استفاده از عصاره برگ گیاهان گردو و خرما و به عنوان عامل های کمپلکس کننده و پایدارکننده تهیه شدند. نانوذرات حاصل با استفاده از روش های طیفسنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR)، طیفسنجی پراش اشعه ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) کوبل شده با آنالیز تفکیک انرژی (EDS)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و آنالیز توزین حرارتی (TGA) مورد شناسایی و بررسی قرار گرفتند. واکنش ترکیبات فنلی موجود در محلول آبی عصاره ها با نمک $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ تشکیل نانوکمپلکس هایی نامحلول از یون Cu^{2+} می دهند که توسط عملیات حرارتی در دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد به نانوذرات CuO تبدیل می شوند. احتمال می رود یون های فلزی به برخی ترکیبات موجود در عصاره از طریق گروه های کربونیل و هیدروکسیل مجاور روی حلقه فنیل یا گروه های هیدروکسیل مجزا متصل شوند. نمودار آنالیز حرارتی نانوکمپلکس های مس نشان می دهد که این مواد در اثر حرارت به نانوذرات CuO تبدیل خواهند شد. تصاویر TEM، میانگین اندازه ذرات کروی در حدود ۲۰ نانومتر را برای نانوذرات حاصل از عصاره برگ گردو نشان می دهند. نانوکمپلکس های مس و نانوذرات CuO تهیه شده، فعالیت ضد باکتریایی خوبی در برابر باکتری های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند.

کلمات کلیدی: سنتز سبز، نانوذرات مس (II) اکسید، خواص ضد باکتری، عصاره گیاهی.

۱- مقدمه

نانوتکنولوژی فهم و به کارگیری خواص جدیدی از مواد و سیستم های در ابعاد حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است که اثرات فیزیکی جدیدی را متأثر از غلبه خواص کوانتومی بر خواص کلاسیک نشان می دهد. با گذر از میکروذرات به نانوذرات با تغییر برخی از خواص فیزیکی مانند افزایش نسبت مساحت سطح به حجم روبرو خواهیم شد [۱].

به عبارتی اتم های موجود در سطح، کسر بالایی از اتم های تشکیل دهنده یک ذره را تشکیل می دهند. همین که ذرات به اندازه کافی کوچک می شوند، شروع به رفتاری مبتنی بر مکانیک کوانتومی می کنند. در یک نوع تقسیم بندی، نانومواد از نظر شکل به نانوذرات، نانوسیم ها، نانولوله ها، نانو کپسول ها، نانولایه ها و نانوپوشش ها، آلیاژهای نانو ساختار، پلیمرهای نانو ساختار، مواد

متخلخل نانوساختار و نانوکامپوزیت‌ها تقسیم می‌شوند. در این میان نانوذرات خود نیز به چند دسته نانوذرات فلزی، نانوذرات عایق و نیمه هادی، نانوذرات ترکیبی نظیر ساختارهای هسته لایه و نانوذرات سرامیکی نظیر اکسیدهای فلزی تقسیم می‌شوند [۲ و ۳]. در چند سال اخیر نانوذرات اکسید فلزی همچون نانوذرات مس (II) اکسید (CuO NPs) به دلیل داشتن ویژگی‌های الکترونی، کاتالیستی و نوری مناسب کاربردهای فراوانی در حوزه‌هایی مثل کاتالیست، باتری، نیمه‌هادی‌ها، ابرخازن‌ها، سلول‌های خورشیدی، حسگرها، فعالیت ضد میکروبی و آشکارسازی نوری مورد توجه قرار گرفته‌اند [۴ و ۵]. برای تهیه نانوذرات CuO روش‌های متعددی مانند تجزیه حرارتی پیش‌ماده، روش سل-ژل، سونوشیمیایی، تابش میکروویو، روش الکتروشیمیایی، رسوبدهی و غیره وجود دارند [۶-۸]. روش‌های شیمیایی به‌طور معمول منجر به باقی‌ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی روی نانوذرات خواهند گردید. به‌همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از عصاره گیاهان به‌عنوان منابع پایدار و در دسترس، در تهیه نانوذرات زیست‌سازگار توجه بسیاری از پژوهشگران را به‌خود جلب کرده است [۹-۱۱]. از مزایای این روش می‌توان به غیر سمی بودن، زیست‌سازگاری، ارزانی، سادگی تهیه و نیز تولید نانوذرات با خلوص بالا اشاره کرد. ماهیت عصاره گیاهی، غلظت عصاره، غلظت نمک فلز، pH و دما از جمله عواملی هستند که بر روی سرعت تشکیل و کیفیت نانو ذرات تأثیر می‌گذارند. وجود موادی همچون فلاونوئیدها، آنتراکوئینون‌ها، ترکیبات پلی‌فنولی، تانن‌ها و غیره در عصاره‌های گیاهی می‌توانند نقش کاهندگی یون فلزی و نیز پایدارکنندگی نانوذرات را ایفا کنند. نصراله‌زاده و همکاران با استفاده از این روش کم هزینه، راحت و سبز، انواع نانوذرات فلزی یا اکسید فلزی مجزا یا قرار گرفته بر بسترهای مختلف مانند اکسیدهای آهن، روی و تیتانیوم، زئولیت، بنتونیت، گرافن، صدف و غیره را تهیه نموده و از آن‌ها به‌عنوان نانوکاتالیست در واکنش‌هایی از قبیل کاهش و حذف رنگ‌های آلاینده محیط زیست و همچنین سنتز ترکیبات آلی مختلف استفاده کردند [۱۲ و ۱۳]. امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل کم هزینه بودن و نداشتن مشکلات زیست محیطی و وجود ترکیباتی با گروه‌های عاملی مناسب به-عنوان عامل بازدارنده در خوردگی فلزات نیز بسیار مورد توجه هستند [۱۴].

فعالیت ضد باکتریایی مربوط به ترکیباتی است که باکتری‌ها را می‌کشند یا رشد آن‌ها را کم می‌کنند، بدون این‌که بافت‌های اطراف را در معرض مسمومیت قرار دهند [۱۵ و ۱۶]. عوامل ضد باکتری در صنعت پارچه‌بافی و ضدعفونی کردن آب‌ها، داروها و بسته‌بندی مواد غذایی بسیار حائز اهمیت هستند. استفاده از ترکیبات آلی در نقش ماده ضد عفونی‌کننده منجر به مسمومیت انسان می‌شود، بنابراین به‌کارگیری ضدعفونی‌کننده‌های معدنی مثل نانوذرات فلزی و اکسید فلزی در حال افزایش است و مطالعات اخیر بر روی خصوصیات و کارکردهای مواد معدنی با ساختار نانو و سطوح با فعالیت آنتی‌باکتریایی مناسب متمرکز شده است [۱۷].

در این پژوهش نانوذرات CuO با پیروی از اصول شیمی سبز و بدون استفاده از هیچ گونه حلال و واکنشگرهای شیمیایی به-کمک عصاره برگ گیاهان گردو و خرما ل تهیه شده‌اند.

در پایان، فعالیت ضدباکتریایی نانوکمپلکس‌ها و نانوذرات مس(II) اکسید تهیه شده از عصاره‌ها در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی گردید.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و میکروارگانیزم‌ها

مواد مورد نیاز در این پژوهش از شرکت مرک و آلدریچ خریداری شدند. باکتری‌های مورد استفاده شامل استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus ATCC 25923) و اشریشیاکولای (Escherichia coli ATCC 25922) از بخش آزمایشگاه میکروب بیمارستان الزهرا (دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) و آزمایشگاه زیست‌فناوری دانشکده علوم و فناوری‌های نوین دانشگاه اصفهان تهیه شدند. محیط‌های مغذی و آگار مولر هینتون از شرکت سیگما-آلدریچ و فلوکا خریداری شدند.

۲-۲- وسایل و تجهیزات

طیف‌های مادون قرمز توسط دستگاه FT-IR ساخت پرکین-المر (Perkin Elmer) گرفته شده‌اند. به منظور بررسی ساختار بلورین نمونه‌های تهیه شده، از دستگاه XRD مدل PW 1373 ساخت شرکت Ital Structure استفاده شد. طول موج این دستگاه با تشعشع Cu K α ، ۱/۵۴ آنگستروم می‌باشد. مورفولوژی و توزیع نانوذرات توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) مدل MV2300 بررسی شدند. جهت اندازه‌گیری عناصر موجود در نانوذرات از دستگاه EDS مدل S3700N و برای تعیین شکل و اندازه نانوذرات از دستگاه TEM ساخت شرکت Philips مدل EM208 استفاده گردید. برای جدا کردن رسوب نانوذرات از محلول واکنش، از دستگاه سانتریفیوژ ساخت چین مدل Anke-TDL 80-2B استفاده شد. آنالیز حرارتی - وزنی (TG) توسط دستگاه ساخت شرکت پرکین-المر و مدل Diamond در جو نیتروژن انجام گردید.

۲-۳- تهیه عصاره برگ گیاهان

برگ درختان گردوی معمولی با نام علمی Juglans و خرما لوی ژاپنی با نام علمی Diospyros kaki که هر دو در رده دولپه-ای‌ها قرار دارند، از استان اصفهان - شهرستان کاشان جمع‌آوری شده بود، با آب مقطر شستشو و به مدت یک هفته در دمای اتاق خشک گردید. در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری، حدود ۲۰ گرم از برگ خشک شده گردو یا خرما ل همراه با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر طی مدت زمان ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ °C گرم شدند. سپس عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی صاف شده و در مرحله بعدی برای تهیه نانوذرات مس(II) اکسید مورد استفاده قرار گرفت [۱۰].

۲-۴- تهیه نانوذرات CuO توسط عصاره‌ها

در ابتدا ۱/۵ گرم نمک مس (II) کلرید دو آبه وزن شده و داخل یک بشر مناسب در ۲۰ میلی لیتر آب حل گردید. سپس محلول تهیه شده به آرامی به ۱۰۰ میلی لیتر از عصاره برگ گردو یا خرمالو اضافه گردیده و به وسیله مگنت در دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۵ دقیقه به هم زده شد. رسوب به دست آمده با فرایند سانتریفیوژ (۷۰۰۰ rpm) در مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و پس از شستشوی چندباره توسط آب مقطر به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۰°C قرار گرفت. در پایان، نانوذرات CuO حاصل با آب مقطر شستشو و در دمای اتاق خشک گردید.

۲-۵- روش تهیه محیط‌های کشت باکتری

روش محیط کشت آبگوشت مغذی برای تهیه محیط‌های کشت باکتری استفاده شده است. جهت تکثیر باکتری‌ها و فراهم‌آوری محلول استوک باکتری برای کشت‌های تازه از محیط کشت مایع مغذی یا نوترینت برات (Nutrient broth) استفاده گردید. به این منظور ۱/۳ گرم از پودر محیط پایه در داخل ارلن مناسب با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شده و بر روی هیتر استیرر ضمن حرارت دادن به طور کامل مخلوط گردید. سپس محیط تهیه شده درون لوله‌های آزمایش، توزیع شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو استریل گردید.

۲-۶- آماده‌سازی باکتری‌ها

باکتری‌های مورد نظر که در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند، پس از خارج کردن از حالت منجمد، در محیط کشت مایع NB استریل شده و در زیر هود لامینار کشت داده شدند [۱۵]. رشد باکتری‌های کشت داده شده، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. بعد از این مدت، باکتری‌های موجود در محیط مایع تا زمان کشت دادن روی محیط جامد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شایان ذکر است که این مدت زمان نباید زیاد طولانی باشد، زیرا کشت باکتری با افزایش زمان نگهداری، کهنه شده و قدرت رشد باکتریایی برای محیط جامد کاهش خواهد یافت.

۲-۷- روش انجام آزمون ضد باکتریایی

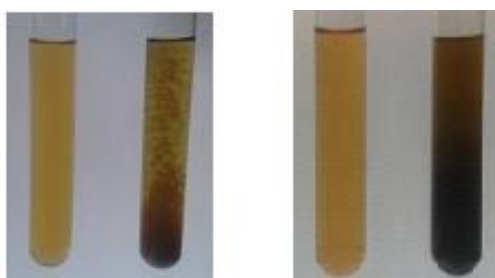
جهت قرار گرفتن نانوذرات یا آنتی‌بیوتیک در هنگام انجام تست ضد باکتریایی، ابتدا چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در محیط کشت جامد مولر هینتون آگار (Mueller hinton agar) حفر گردید [۱۵، ۱۸] و این محیط به همراه پنس و سوآپ در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. سپس این محیط‌های کشت در زیر هود تحت تابش نور فرابنفش به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و بعد از آن به یخچال منتقل شدند. پلیت‌های حاوی محیط کشت‌های جامد از یخچال خارج و به همراه نمونه‌های باکتریایی که در مرحله آماده‌سازی باکتری در محیط کشت مایع رشد داده شده بودند، به زیر هود انتقال یافتند. سپس در زیر هود و به کمک سوآپ، باکتری‌های سوئی گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)

و یا سویه‌ی گرم منفی اشریشیاکولای (ATCC 25922) از محیط مایع به روی محیط جامد به شکل چمنی کشت داده شدند. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه که باکتری‌ها بر روی محیط کشت تثبیت شدند، مخلوط آبی همگن کلوییدی نانوذرات (۱۰۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر بافر ۵۰ میلی‌مولار فسفات سالین با pH برابر ۷؛ یک میلی‌گرم نانوذره) داخل چاهک‌ها ریخته شد. پس از گذاشتن درب پلیت‌ها، محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در پایان، پلیت‌ها برای بررسی اثر ضد باکتریایی یا مشاهده هاله عدم رشد اطراف چاهک‌ها بررسی شدند. از بافر فسفات سالین ۵۰ mM به‌عنوان کنترل منفی و از آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با غلظت ۱۰۰ mg/mL به‌عنوان کنترل مثبت در این آزمون استفاده شد.

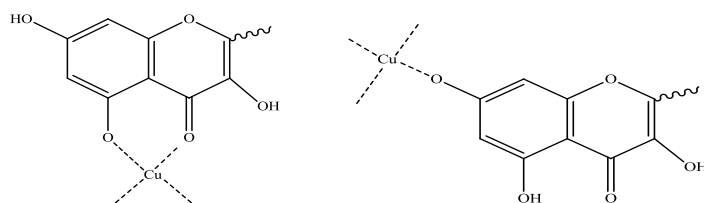
۳- نتایج و بحث

۳-۱- تهیه و شناسایی نانوذرات

روش به‌کار گرفته شده در این پژوهش برای تولید نانوذرات CuO که از دسته‌ی روش‌های شیمی سبز به‌شمار می‌رود، علاوه بر تهیه ذراتی با خواص فیزیکی و شیمیایی مطلوب، نیاز به صرف دما، فشار و انرژی بالایی نداشته و از به‌کارگیری مواد شیمیایی سمی نیز بی‌نیاز است. از مزیت‌های دیگر این روش، سادگی و یک مرحله‌ای بودن آن است. عصاره برگ گیاهان به‌عنوان حلال واکنش و عامل کمپلکس‌کننده و پایدارکننده‌ی نانوذرات به کار رفته است. افزودن عصاره به محلول مس(II) کلرید منجر به تغییر تدریجی رنگ محلول از آبی به قهوه‌ای تیره می‌شود (شکل ۱). وجود ترکیباتی همچون پلی‌فنول‌ها یا فلاونوئیدها در عصاره گیاه عامل تشکیل نانوکمپلکس‌هایی از یون مس(II) می‌باشند. به‌عنوان مثال، ترکیبات موجود در عصاره خرمالو برهمکنش‌های پیشنهاد شده در شکل ۲ را با یون‌های Cu^{2+} نشان می‌دهند. ترکیبات موجود در عصاره همچنان می‌توانند بر روی سطح نانوذرات جذب شده و مانع از رشد و به‌هم پیوستگی و در نتیجه افزایش پایداری آن‌ها شوند.



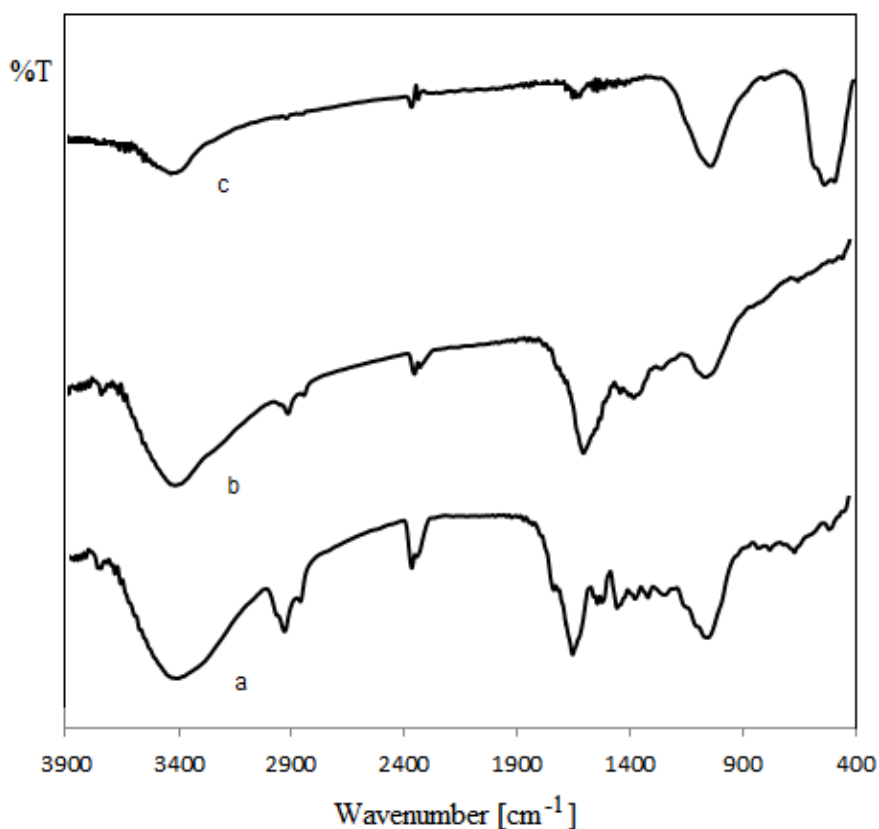
شکل ۱- تشکیل نانوکمپلکس‌های مس در حضور عصاره برگ‌های گردو (سمت راست) و خرمالو (سمت چپ)



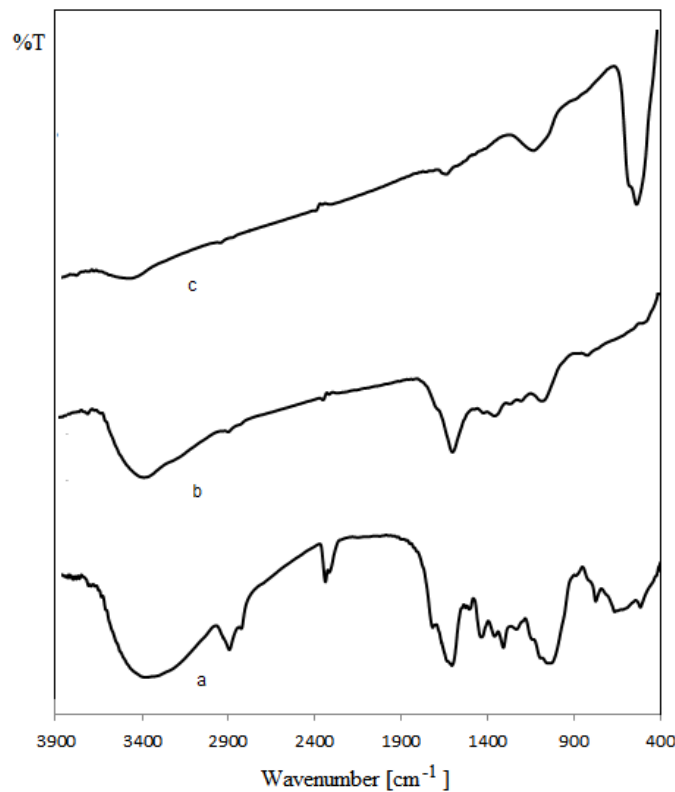
شکل ۲- طرح پیشنهادی از برهمکنش ترکیبات موجود در عصاره خرمالو با یونهای Cu^{2+}

پس از تشکیل نانوکمپلکسهای مس جامد، عملیات حرارتی تا دمای حدود 300°C درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت انجام می‌گیرد تا در نهایت نانوذرات CuO حاصل شوند. شناسایی نانوذرات تهیه شده و ارزیابی اندازه آنها نیز با تکنیکهای FT-IR، XRD، EDS، FESEM و TEM انجام گردید.

طیفهای FT-IR مربوط به عصاره برگ درختان گردو و خرمالو به ترتیب در شکل‌های ۳a و ۴a آمده است. همچنین طیف مربوط به نانوکمپلکسهای حاصل از برهمکنش عصاره‌ها با یونهای مس (نمودارهای ۳b و ۴b) و نانوذرات CuO تولید شده بعد از عملیات حرارتی (نمودارهای ۳c و ۴c) در این شکل‌ها نشان داده شده است.



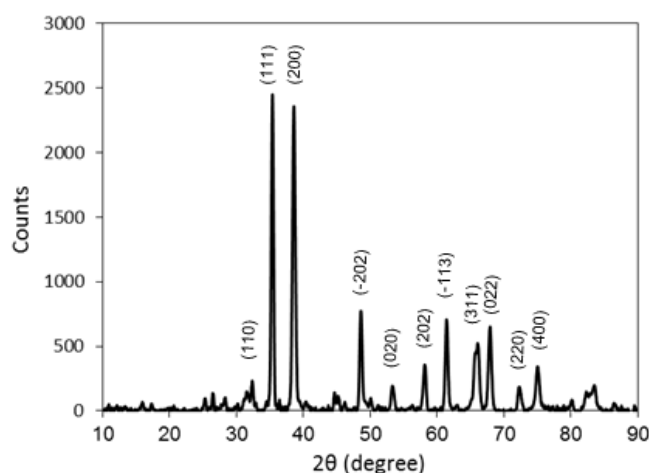
شکل ۳- طیف FTIR برگ گردو (a)، نانوکمپلکسهای مس (b) و نانوذرات CuO (c)



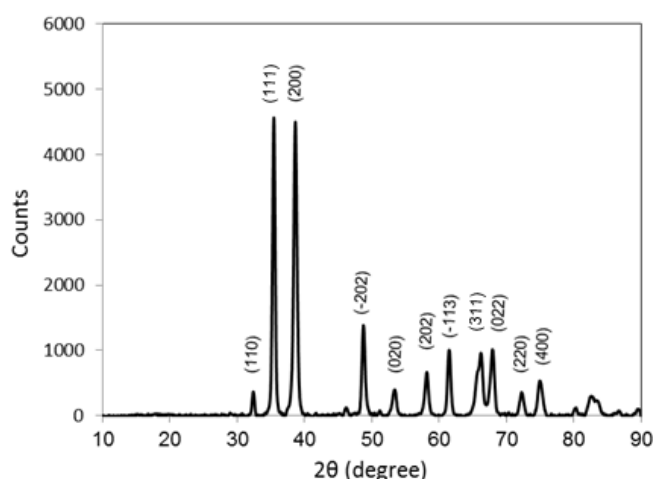
شکل ۴- طیف FTIR برگ خرمالو (a)، نانوکمپلکس‌های مس (b) و نانوذرات CuO (c)

ارتعاشات کششی گروه‌های OH، C=O، C=C حلقه آروماتیک و ارتعاشات کششی پیوند C-OH ترکیبات موجود در عصاره‌ها به ترتیب در نواحی حدود $3100-3500\text{ cm}^{-1}$ ، $1720-1730\text{ cm}^{-1}$ ، 1420 cm^{-1} ، 1300 cm^{-1} و 1100 cm^{-1} ظاهر می‌شوند [۱۹ و ۲۰]. طیف مربوط به FT-IR نانوذرات CuO، پیکی در محدوده $400-650\text{ cm}^{-1}$ نشان می‌دهند که مربوط به ارتعاشات کششی پیوند Cu-O است [۲۱].

آنالیز XRD نانوذرات CuO تهیه‌شده در حضور عصاره برگ گردو در شکل ۵ نشان داده شده است. پیک‌های نمایان‌شده در زوایای 2θ برابر $32/4^\circ$ ، $35/4^\circ$ ، $38/6^\circ$ ، $48/6^\circ$ ، $53/3^\circ$ ، $58/2^\circ$ ، $61/4^\circ$ ، $66/2^\circ$ ، $68/0^\circ$ ، $72/3^\circ$ و $75/0^\circ$ تشکیل نانوذرات CuO را بعد از عملیات حرارتی نانوکمپلکس‌های حاصل در حضور عصاره گیاهی تأیید می‌کند. پیک‌های مورد نظر به ترتیب به صفحات مرکزوجه پر (۱۱۰)، (۱۱۱)، (۲۰۰)، (-۲۰۲)، (۰۲۰)، (۲۰۲)، (-۱۱۳)، (۳۱۱)، (۰۲۲)، (۲۲۰) و (۴۰۰) بلورهای CuO مربوط می‌شود [۲۲ و ۲۳]. شکل ۶ نمودار XRD نانوذرات CuO تهیه‌شده در حضور عصاره برگ خرمالو را نشان می‌دهد. پیک‌های مربوطه در 2θ برابر $32/4^\circ$ ، $35/7^\circ$ ، $38/7^\circ$ ، $48/8^\circ$ ، $53/4^\circ$ ، $58/2^\circ$ ، $61/5^\circ$ ، $66/2^\circ$ ، $67/9^\circ$ ، $72/3^\circ$ و $75/0^\circ$ ظاهر می‌شوند.

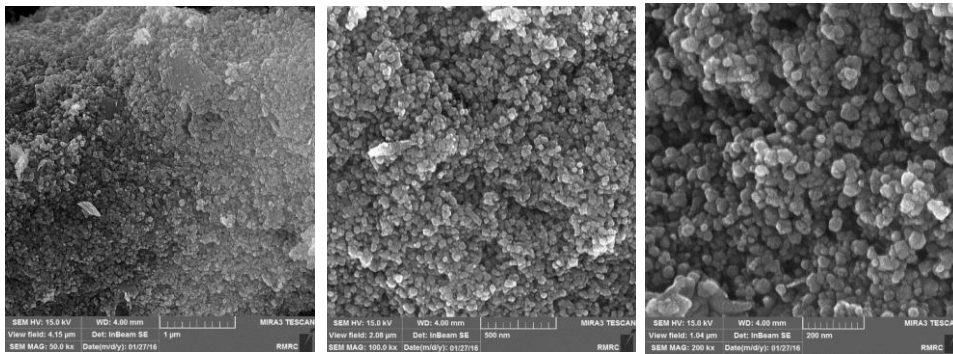


شکل ۵- آنالیز XRD نانوذرات CuO حاصل از عصاره برگ گردو

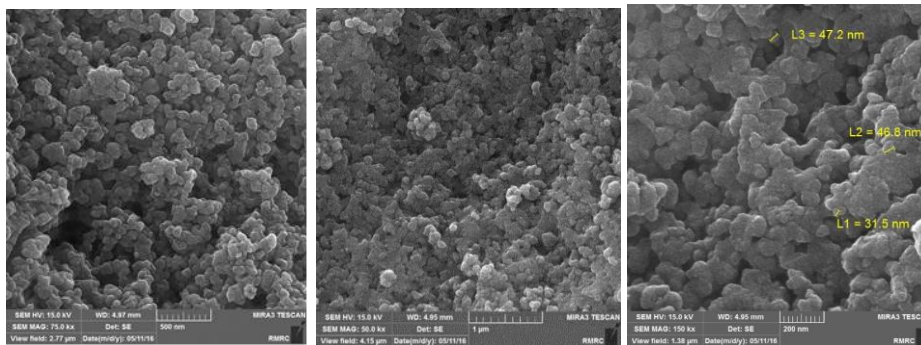


شکل ۶- آنالیز XRD نانوذرات CuO حاصل از عصاره برگ خرمالو

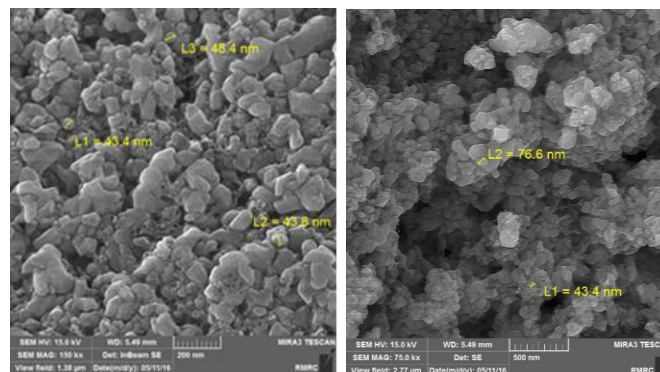
جهت به دست آوردن اطلاعات در مورد مورفولوژی، شکل و اندازه ذرات، آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی بر روی نانوذرات انجام گرفت. البته اندازه ذرات در تصاویر SEM خیلی دقیق نیستند و به طور معمول بزرگتر از اندازه واقعی آنها به دست می آیند. در این تکنیک تنها ذرات و مورفولوژی سطح بررسی شده و ذرات نانو در سطح SEM، به دلیل کوچکی بیش از حد به صورت توده دیده می شوند. شکل ۷ تصاویر FESEM را برای نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ گردو در دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد نشان می دهد. تصاویر FESEM برای نانوکمپلکس های تشکیل شده در حضور عصاره برگ خرمالو قبل و بعد از عملیات حرارتی در ۳۰۰ درجه سانتی گراد به ترتیب در شکل های ۸ و ۹ آمده است. همان طور که از تصاویر مشخص است، اندازه ذرات برای پیش ماده های حاصل از عصاره، قبل (نانوکمپلکس های مس) و بعد از عملیات حرارتی (نانوذرات CuO) در حد زیر ۱۰۰ نانومتر هستند.



شکل ۷- تصاویر FESEM نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ گردو

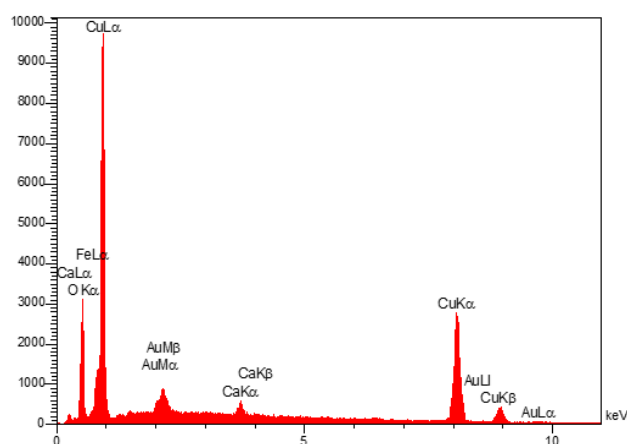


شکل ۸- تصاویر FESEM نانوکمپلکس‌های مس تهیه شده توسط عصاره برگ خرما

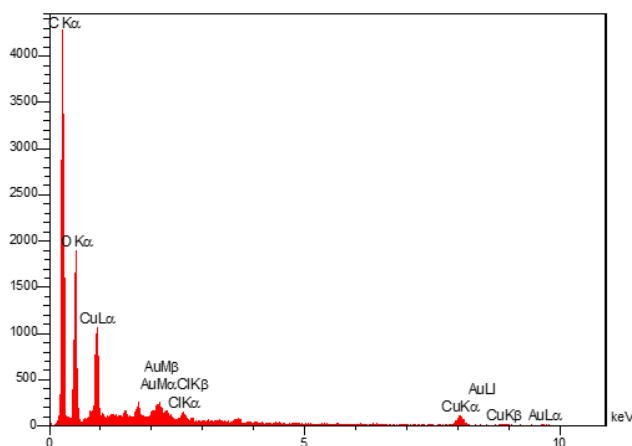


شکل ۹- تصاویر FESEM نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ خرما

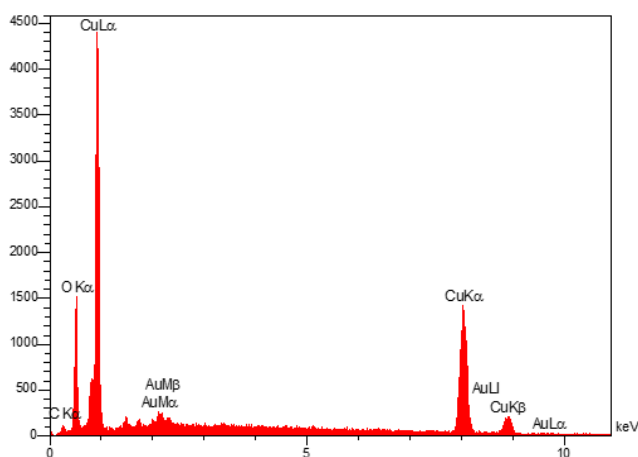
اسپکترومتر پراکنده انرژی (EDS) جهت مشخص کردن نوع عناصر موجود در نانوکمپلکس‌ها قبل و بعد از عملیات حرارتی انجام شده است. نمودار EDS برای نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ گردو در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد در شکل ۱۰ آمده است. درصد عناصر مس و اکسیژن در این نمودار به ترتیب ۷۰/۶ و ۱۹/۲ می‌باشد. نمودارهای EDS برای نانوکمپلکس‌های مس و نانوذرات CuO حاصل از واکنش عصاره برگ خرما و یون‌های مس به ترتیب در شکل‌های ۱۱ و ۱۲ آمده است. حضور اتم‌های کربن و مس شاهدهی بر تشکیل نانوکمپلکس‌ها بین ترکیبات عصاره و یون‌های مس است که بعد از عملیات حرارتی به نانوذرات CuO تبدیل می‌شوند.



شکل ۱۰- نمودار EDS نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ گردو



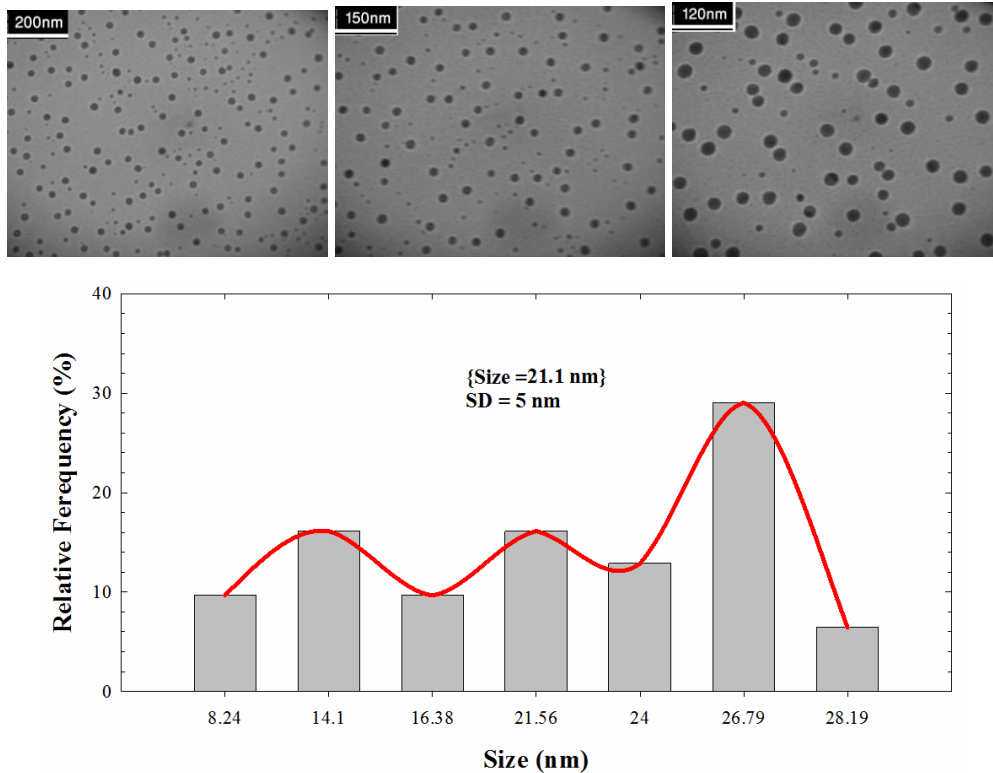
شکل ۱۱- نمودار EDS نانوکمپلکس های مس حاصل از واکنش ترکیبات عصاره برگ خرمالو با یون های مس



شکل ۱۲- نمودار EDS نانوذرات CuO تهیه شده توسط عصاره برگ خرمالو

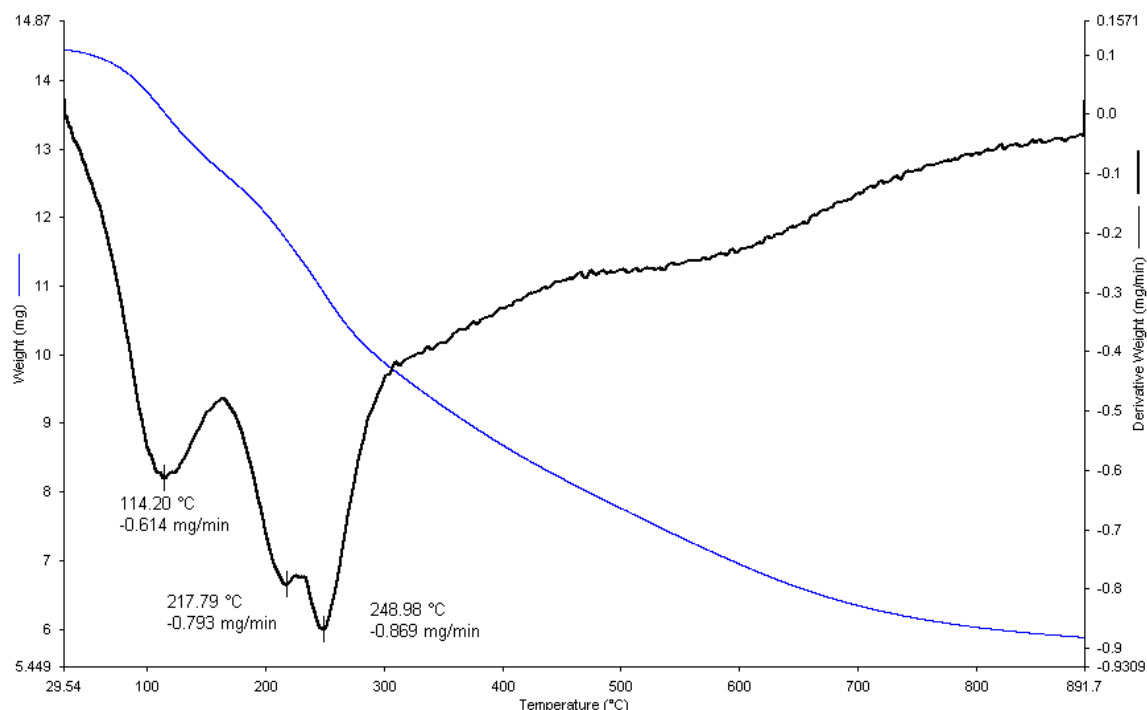
تعیین اندازه و شکل نانوذرات یکی از مواردی است که در مطالعه آن‌ها نقش اساسی ایفا می‌کند. چرا که خواص مواد نانوساختار تا حد زیادی به شکل، اندازه و آرایش مواد نانوساختار بستگی دارد. از آن‌جا که ذرات در گستره نانومتری تمایل زیادی به کلوخه شدن و به هم چسبیدن دارند، لذا موضوع پایداری ذرات و اینکه ذرات تا چه زمانی در ابعاد نانو باقی می‌مانند، اهمیت

بسزایی دارد. شکل ۱۳ تصاویر TEM نانوذرات CuO حاصل از عصاره برگ گردو و همچنین نمودار توزیع اندازه ذرات کروی شکل در اندازه‌های مختلف زیر ۱۰۰ نانومتر را با میانگین حدود ۲۰ نانومتر نشان می‌دهد.



شکل ۱۳- تصاویر TEM و نمودار توزیع اندازه نانوذرات CuO تهیه‌شده توسط عصاره برگ گردو

آنالیز توزین حرارتی نانوکمپلکس‌های حاصل از عصاره برگ گردو در شکل ۱۴ آمده است. همان‌طور که از نمودار مشخص است، کاهش در وزن نمونه مورد نظر در دمای حدود ۱۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌تواند به حذف آب مربوط باشد. همچنین کاهش وزن‌هایی که در دماهای بالای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شوند، دلیلی بر حذف مواد آلی عصاره کمپلکس داده با یون‌های مس و تبدیل نانوکمپلکس‌ها به نانوذرات CuO می‌باشد. به عبارت دیگر، کاهش قابل قبول در وزن در نمودار می‌تواند دلیل تبدیل پیش‌ماده به نانوذرات مس (II) اکسید در دماهای بالای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد باشد.



شکل ۱۴- نمودار TGA مربوط به نانوکمپلکس‌های حاصل از عصاره برگ گردو

۲-۳- بررسی فعالیت ضد میکروبی

اثرات ضد باکتریایی در حضور آنتی بیوتیک، نانوکمپلکس‌های مس و نیز نانوذرات CuO تهیه‌شده در حضور عصاره مورد بررسی قرار گرفتند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، نانوکمپلکس‌های مس و نانوذرات CuO تهیه‌شده در حضور عصاره برگ‌های گردو و خرمالو در برابر باکتری‌های اشیریشیاکولای و استافیلوکوکوس اورئوس فعالیت ضد میکروبی خوبی از خود نشان می‌دهند که قابل مقایسه با فعالیت ضد میکروبی آنتی بیوتیک است.

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی جهت مشخص کردن چگونگی اثر نانوذرات روی باکتری‌ها صورت گرفته است [۲۴]. احتمال می‌رود اختلاف بین بار مثبت نانوذرات و بار منفی میکروارگانیسم منجر به اتصال نانوذره به باکتری شود که اکسیدشدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها و مرگ آن‌ها را به همراه خواهد داشت [۲۵]. نانوذرات چسبیدن سلول باکتری و تشکیل فیلم زیستی (Biofilm) را به تأخیر می‌اندازند که باعث می‌شود تثبیت و تکثیر برخی باکتری‌ها به‌خوبی صورت نگیرد [۱۵]. همچنین نانوذرات از به‌وجود آمدن عامل‌های دفاعی میکروب‌ها در برابر سامانه ایمنی سلول میزبان جلوگیری می‌کنند. برخی بر این باورند که یون‌های آزادشده از سطح نانوذرات می‌توانند با گروه‌های تیول پروتئین‌های غشای سلول‌های باکتریایی که عمل انتقال مواد معدنی از دیواره را به‌عهده دارند واکنش دهند. این برهمکنش باعث نفوذناپذیری غشای باکتری و در نهایت مرگ سلول می‌شود. البته ممکن است منافذ نانومتری دیواره باکتری توسط نانوذرات بسته شوند و به‌دلیل اختلال در انتقال مواد معدنی، باکتری‌ها از بین بروند.

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد (cm) در مورد فعالیت ضد باکتریایی یک میلی گرم از نانوکمپلکس های مس و نانوذرات CuO (۱۰۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر بافر)

	CuO نانوذرات	نانوکمپلکس های	CuO نانوذرات	نانوکمپلکس های	Ct ⁺	Ct ⁻
نوع باکتری	حاصل از عصاره برگ گردو	حاصل از عصاره برگ گردو	حاصل از عصاره برگ خرمالو	حاصل از عصاره برگ خرمالو	(آنتی بیوتیک استریتومايسين (۱۰۰ mg/mL)	(بافر فسفات سالین ۵۰ mM)
E.coli	1/5 ± ۰/۲	۲/۹ ± ۰/۳	۰/۷ ± ۰/۱	1/۷ ± ۰/۲	۳/۲ ± ۰/۱	.
S.aureus	1/5 ± ۰/۱	1/۷ ± ۰/۲	۰/5 ± ۰/۱	۲ ± ۰/۳	۲/5 ± ۰/۲	.

۴- نتیجه گیری

در این کار پژوهشی، نانوذرات CuO با استفاده از عصاره برگ گردو و خرمالو تهیه شده و با روش های مختلف دستگامی شناسایی و بررسی شدند. روش غیر شیمیایی یا روش سبز به کار گرفته شده برتری هایی هم چون آسان، سریع و به صرفه بودن فرایند انجام واکنش و نیز سازگاری با محیط زیست را دارد. در این روش، محلول آبی عصاره به عنوان حلال واکنش و ترکیبات فنولی موجود به عنوان عامل کمپلکس کننده و پایدارکننده ی نانوذرات به کار رفته اند. نانوکمپلکس های نامحلول مس پس از عملیات حرارتی در دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد به نانوذرات CuO تبدیل خواهند شد. نانوکمپلکس های مس و نانوذرات CuO حاصل، فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر باکتری های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان می دهند. پژوهش های بیشتر در این زمینه، جهت ضد میکروبی کردن لباس ها و ضد عفونی کردن انواع سطح ها با نانوذرات معدنی بسیار سودمند خواهد بود.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان از حمایت های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه قم صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایند.

۶- مراجع

- [1] K.J. Klabunde, R. Richards, Nanoscale materials in chemistry. Wiley Online Library. (2001).
- [2] P.C. Poole Jr, F.J. Owens, Introduction to nanotechnology. John Wiley & Sons, (2003).
- [3] U. Banin, Y. Ben-Shahar, K. Vinokurov, *Chem. Mater.* **26** (2014) 97.
- [4] G. Zhu, H. Xu, Y. Xiao, Y. Liu, A. Yuan, X. Shen, *ACS Appl. Mater. Inter.* **4** (2012) 744.
- [5] R. Sahay, J. Sundaramurthy, P.S. Kumar, V. Thavasi, S.G. Mhaisalkar, S. Ramakrishna, *J. Solid State Chem.* **186** (2012) 261.
- [6] M. Salavati-Niasari, F. Davar, *Mater. Lett.* **63** (2009) 441.
- [7] مشهدی آقایی، متین؛ محمدعلی تهرانی، رامین، گروه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، مجله شیمی کاربردی (اندیشه علوم)، شماره ۳۵ (۱۳۹۴) ص ۳۳.
- [8] H. Wang, J.-Z. Xu, J.-J. Zhu, H.-Y. Chen, *J. Cryst. Growth* **244** (2002) 88.

- [۹] کریمی، محمدجواد؛ مهدیان، صفرعلی؛ بابایی‌زاد، ولی‌الله، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مجله شیمی کاربردی (اندیشه علوم)، شماره ۴۰ (۱۳۹۵) ص ۱۶۱.
- [10] A. Rostami-Vartooni, M. Alizadeh, M. Bagherzadeh, *Beilstein J. Nanotechnol.* **6** (2015) 2300.
- [11] A.A. Haleemkhan, B.V. Vardhini, *International Journal of Modern Chemistry and Applied Science* **2** (2015) 195.
- [12] M. Nasrollahzadeh, S.M. Sajadi, A. Rostami-Vartooni, M. Alizadeh, M. Bagherzadeh, *J. Colloid. Interf. Sci.* **466** (2016) 360.
- [13] M. Nasrollahzadeh, M. Atarod, B. Jaleh, M. Gandomi, *Ceram. Int.* **42** (2016) 8587.
- [14] P. Mourya, S. Banerjee, M.M. Singh, *Corrosion Science* **85** (2014) 352.
- [15] D. Shokri, M.R. Khorasgani, M. Mohkam, S.M. Fatemi, Y. Ghasemi, A. Taheri-Kafrani, *Probiotics & Antimicro. Prot.* (2017), doi:10.1007/s12602-017-9267-9.
- [۱۶] ر. قادری، م. حسن‌پور، ع. سعادت‌پور، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، شماره ۴ (۱۳۸۳) ص ۴۰.
- [17] H.R. Naika, K. Lingaraju, K. Manjunath, D. Kumar, G. Nagaraju, D. Suresh, H. Nagabhushana, *Journal of Taibah University for Science* **9** (2015) 7.
- [۱۸] م. علم‌هولو، س. ناظری، گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، شماره ۴ (۱۳۹۳) ص ۲۷۷.
- [19] M. Nasrollahzadeh, S.M. Sajadi, A. Rostami-Vartooni, S.M. Hussin, *J. Colloid. Interf. Sci.* **466** (2016) 113.
- [20] A. Rostami-Vartooni, M. Nasrollahzadeh, M. Salavati-Niasari, M. Atarod, *Journal of Alloys and Compounds* **689** (2016) 15.
- [21] S.K. Shinde, D.P. Dubal, G.S. Godake, P. Gomez-Romero, S. Kim, V.J. Fulari, *RSC Adv.* **5** (2015) 30478.
- [22] H. Raja Naika, K. Lingaraju, K. Manjunath, D. Kumar, G. Nagaraju, D. Suresh, H. Nagabhushana, *Journal of Taibah University for Science* **9** (2015) 7.
- [23] Y. Haldorai, J.-J. Shim, *Mater. Lett.* **116** (2014) 5.
- [24] R. Rawashdeh, Y. Haik, *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology* **3** (2009) 12.
- [۲۵] ت. معادی، ر. قهرمان‌زاده، م. یوسفی، ف. محمدی، گروه مهندسی شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، مجله شیمی و مهندسی شیمی، شماره ۴ (۱۳۹۳) ص ۱.