

## مقاله پژوهشی

## سنتز نانوذرات زیر کونیوم اکسید به روش سبز با استفاده از عصاره بلوط و بررسی اثرات آنتی باکتری آن

سیده فاطمه موسوی و بیژن ممبینی گوداژدر\*

گروه شیمی، واحد امیدیه، دانشگاه آزاد اسلامی، امیدیه، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۹/۰۵/۲۹، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۹/۰۷/۳۰، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۹/۰۸/۱۵

### چکیده

در این مطالعه از محلول آبی عصاره میوه بلوط به عنوان عامل پایدار کننده و کاهنده برای تولید زیستی نانوذرات استفاده شد. تشکیل نانوذرات زیر کونیوم اکسید با پیک جذب در ۲۱۳ nm بوسیله طیف سنجی فرابنفش-مرئی و الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نشان داده شد. اندازه و مورفولوژی نانوذرات توسط میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM) تعیین شد. بر اساس آنالیز SEM ذرات دارای ساختار مکعبی با اندازه حدود ۲۰-۳۰ nm می باشند. آنالیز EDX که برای بررسی عناصر سازنده و خلوص محصول بکار می رود. در این نمونه عناصر Zr و O با ترکیب درصد به ترتیب ۸۰ به ۲۰ موجود می باشند و هیچ عنصر دیگری مانند کلسیم یا منیزیم مشاهده نمی شود. از طرفی آنالیز گرماوزنی، پایداری حرارتی نانوذرات را تا دمای ۷۵۰ °C نشان می دهد. آزمون ضدباکتری این نانوذره نشان داد که این مواد از رشد باکتری گرم منفی (اشرشای کولای) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس) جلوگیری می کنند. این نانوذرات هاله ای به ضخامت ۸-۱۰ mm در اطراف خود در محیط کشت ایجاد کردند. در این پژوهش بررسی اثر نانوذرات زیر کونیوم اکسید سنتز شده بر روی رشد باکتری ها، از روش مک فارلند (دیسک کاغذی) استفاده شد. عصاره بلوط به دلیل داشتن متابولیت های ثانویه، نقش عامل احیاء کننده و پایدار کننده را بازی می کند.

**واژه های کلیدی:** نانوذرات زیر کونیوم، عصاره بلوط، سنتز سبز، ضدباکتری.

### ۱- مقدمه

از آن، هزینه بسیار زیادی دارد. سرعت تولید پایین، هزینه بالا، و مصرف زیاد انرژی برای حفظ فشار و دمای بالای از معایب روش های فیزیکی است [۱]. روش های متداول شیمیایی شامل رشد نانوذرات در یک محیط مایع حاوی واکنش دهنده های مختلف همراه با عوامل کاهنده مانند

بطور کلی سنتز نانوذرات معمولاً به دو روش فیزیکی و شیمیایی انجام می شوند. سرعت تولید این روش های فیزیکی برای دستیابی به سنتز نانوذرات فلزی بسیار کم است و مهم تر

\* عهده دار مکاتبات: بیژن ممبینی گوداژدر

نشانی: خوزستان، امیدیه، دانشگاه آزاد واحد امیدیه

تلفن: ۰۶۱-۳۴۴۴۸۰۴۱، دورنگار: ۰۶۱-۳۴۴۴۸۰۴۱، پست الکترونیکی: bmombini@gmail.com

بسیاری از این گیاهان هنوز مورد آزمایش قرار نگرفته‌اند. برخی گیاهان توان بالایی برای تولید نانوذرات دارند. تاکنون تعداد بسیاری همچون کبالت، مس، نقره، طلا، پلاتین و  $\text{SiO}_2$  و ... با این روش تهیه شده‌اند. در مقایسه با میکروب‌ها که نیاز به تکنیک‌های پرهزینه برای کشت و نگهداری آن‌ها نیاز است، گیاهان به عنوان منبع پایدار و تجدیدپذیر برای تولید نانوذرات محسوب می‌شوند [۱۰].

اما با توجه به اینکه سنتز نانوذرات از اجزای گیاه وقت‌گیر و نسبتاً دارای هزینه بالایی است، همچنین احاطه آنزیم‌ها و تخریب بافت سلولوزی گیاه نیازمند زمان زیادی است، بر این اساس تولید نانوذرات فلزی توسط عصاره‌های گیاهی بطور گسترده به عنوان یک روش ساده و علمی، بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است [۱۱].

در حالی که قارچ‌ها و باکتری‌ها نیاز به یک زمان انکوباسیون نسبتاً طولانی‌تری در محیط‌های کشت برای کاهش یون‌های فلزی دارند، عصاره‌های گیاهی محلول در آب در مدت زمان بسیار کوتاهی این کار را انجام می‌دهند. بنابراین در مقام مقایسه، سلول‌های گیاهی گزینه‌های خیلی مناسب‌تری برای سنتز نانوذرات فلزی می‌باشند [۱۲].

به عنوان مثال سنتز نانوذرات نقره توسط عصاره برگ‌های ژرانیوم که در سال ۲۰۰۳ گزارش شده در مقایسه با سنتز آن‌ها با باکتری‌ها و قارچ‌ها در مطالعات قبلی به زمان نسبتاً کمتری نیاز دارد. زمان مورد نیاز برای کامل شدن واکنش با استفاده از باکتری‌ها و قارچ‌ها بین ۱۲۴-۲۴ طول می‌کشد که در مقایسه بیشتر از ۹۰٪ واکنش با استفاده از عصاره برگ‌های ژرانیوم ۹ h به طول می‌انجامد. علاوه بر این سنتز با استفاده از گیاهان نیازی به نگهداری کشت‌های سلولی ندارد و سنتز نانوذرات را می‌توان در مقیاس بالایی انجام داد [۱۳].

ساستری و همکاران پیشگامان سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی می‌باشند.

بطور کلی سه جز عمده برای سنتز نانوذرات فلزی توسط عصاره گیاهی مورد نیاز است: ۱- منبع فلزی مانند نمک نقره

سدیم بور هیدرید، پتاسیم بی‌تارتارات، متوکسی پلی‌اتیلن گلیکول و یا هیدرازین می‌باشند [۲].

نقاط ضعف آن‌ها شامل آلودگی حاصل از پیش‌ماده‌های شیمیایی، استفاده از حلال‌های سمی و تولید فرآورده‌های جانبی خطرناک می‌باشد. از بین این روش‌ها می‌توان به کاهش در محلول‌های شیمیایی و آبی [۳،۴]، سونوشیمی [۵]، الکتروشیمیایی [۶] و استفاده از ریزموج [۷] اشاره نمود.

با توجه به معایب روش‌های فیزیکی و شیمیایی، پژوهشگران در جستجوی روش‌های جدیدی هستند که محدودیت‌های ذکر شده را نداشته باشند. در این راستا روش‌های بیولوژی سنتز نانوذرات با استفاده از عصاره میوه‌ها، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها به عنوان روش‌های سبز و دوستدار محیط زیست گزارش شده‌اند. ملکول‌های زیستی به عنوان پایدار کننده و عوامل کنترل رشد کریستال عمل می‌کنند [۸].

ساخت و تجمع نانوذرات با استفاده از روش‌های شیمی سبز از سال ۱۹۹۰ مورد توجه واقع شد. استفاده از گیاهان سبز برای تهیه زیستی نانوذرات یک امکان هیجان‌انگیز و تا حد زیادی ناشناخته است. روش شیمی سبز یک روش جایگزین سنتز شیمیایی است که ارتباط بین علم مواد و بیوتکنولوژی در حوزه نانوبیوتکنولوژی می‌باشد. استفاده از ریزاندامگان، دیاتومه‌ها و یوکاریوت‌های نوری از جمله این سامانه‌ها هستند. ولی به دلیل هزینه‌های بالا برای تهیه و نگهداری آن‌ها کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. گیاهان و فرآورده‌های کشاورزی به عنوان منابع تجدیدپذیر و ارزان در جهت تهیه نانومواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند. در طی مراحل ساخت زیستی نانوذرات، اگر به صورت خارج سلولی و با استفاده از گیاهان و عصاره آن‌ها تولید شوند، سودمندتر خواهند بود و می‌توان ساخت آن‌ها را در یک روش کنترل شده بر اساس اندازه، میزان پراکنش و شکل برای مقاصد مختلف تنظیم کرد [۹]. گیاهان زیادی وجود دارند که قابلیت ساخت نانوذرات و استفاده در چنین صنعت ارزشمند و گران‌بهای را دارند، ولی هنوز ناشناخته باقی مانده‌اند.

بازتاب دهنده آتش سوزی نشان دهنده اهمیت این نانوذرات می باشد [۱۹-۲۵]. این ترکیبات در سه فاز کریستالی وجود دارند. در فشار جو، دارای فاز تک بعدی (تک سلولی) بوده که در دمای اتاق از لحاظ ترمودینامیکی پایدار است. در دمای ۱۱۰۰ تا ۲۳۷۰ °C دارای فاز تتراگونال (چهار گوشه) و در دمای بالاتر از ۲۳۷۰ °C در فاز مکعبی (شش گوشه) وجود دارد. به علت تشکیل فازهای تتراگونال و مکعبی در دمای بالا، تلاش‌های زیادی برای تشکیل این فازها در دمای اتاق انجام شده است. دو روش برای رسیدن به این هدف ارائه شده است. روش اول بر اساس حداقل انرژی ساختار نانو کریستالی در فازهای مکعبی و تتراگونال نسبت به فاز تک بعدی بنا شده است. بر اساس اثرات انرژی سطحی، اندازه بحرانی ذرات در فازهای تتراگونال حدود ۳۰ نانومتر تخمین زده شده است. در روش دوم با افزودن مقدار کمی از اکسیدهای فلزی مانند CaO، MgO و یا  $Y_2O_3$  شبکه زیرکونیوم در دمای اتاق پایدار می گردد.

در دهه‌های گذشته، روش‌های متعدد فیزیکی و شیمیایی مانند ریزموج، تجزیه گرمایی، هیدروترمال، و سل-ژل برای سنتز نانوذرات زیرکونیوم اکسید گزارش شده است [۸]. با توجه به معایب روش‌های فیزیکی و شیمیایی سنتز نانوذرات زیرکونیوم، به تدریج ملکول‌های زیستی به عنوان پایدارکننده و عوامل کنترل رشد کریستال بکار رفتند. در این راستا می توان به استفاده از عصاره لیمو، عصاره برگ اکالیفا اندیکا، و اسفاده از قارچ فوزاریوم جهت سنتز نانوذرات زیرکونیوم اشاره کرد [۲۶-۲۹].

در سال‌های اخیر نیز روش‌های متنوعی برای سنتز نانوذرات زیرکونیوم گزارش شده است. یکی از این روش‌ها، سنتز نانوذرات زیرکونیوم با استفاده از عصاره متانولی گیاه سوسن آتش با نام علمی *Glorisa superba* می باشد [۳۰]. از دیگر روش‌های گزارش شده سنتز نانوذرات زیرکونیوم اکسید، بازیابی حرارتی این نانوذرات با استفاده از کیتوسان یا فیلم هیبریدی پلی وینیل الکل-زیرکونیوم اکسید ( $ZrO_x$ -PVA) به روش سل-ژل می باشد [۳۱].

$(AgNO_3)$  و نمک طلا ( $AuCl_4$ ) و ۲- عامل کاهنده، ۳- عامل پایدارکننده یا پوشش دهنده نانوذرات به منظور کنترل اندازه نانوذرات و جلوگیری از تجمع آن‌ها.

اغلب سنتز نانوذرات شامل کاهش یون‌های فلزی در حضور یک عامل کاهنده قوی مانند: سدیم بوروهیدرید، و یا سدیم هیدروکسید می باشد، و علاوه بر این از یک عامل ثبات به عنوان تثبیت کننده نانوذرات استفاده می شود. حلال‌های مورد استفاده به عنوان عامل کاهنده و تثبیت کننده معمولاً سمی هستند، که ممکن است اثرات مخربی بر روی محیط زیست وارد نمایند. بنابراین کاربرد نانوذرات تولید شده به این روش در زمینه‌های پزشکی و سلامت کاهش پیدا می کند. تمامی این نگرانی‌ها سبب شده است، تا از عصاره‌های گیاهی به عنوان عامل کاهنده و تثبیت کننده تولید نانوذرات استفاده شود [۱۴]. پژوهشگران معتقدند ترکیباتی همچون؛ اسیدهای آمینه، اسید سیتریک، ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، ترکیبات هتروسیکلیک [۱۵]، آنزیم‌ها، پلی ساکاریدها، تانن و ساپونین [۱۶] موجود در اندام‌ها و قسمت‌های مختلف گیاهان (برگ، دانه، میوه، ریشه و ...) سبب کاهش یون‌های فلزی در فرآیند سنتز نانوذرات می باشند [۱۷].

برای اولین بار عصاره گیاه شمعدانی (برگ، ریشه، ساقه) برای تولید خارج سلولی نانوذرات طلا استفاده شد. در ادامه سنتز نانوذرات مثلثی و کروی طلا با استفاده از عصاره لیمو گزارش شد [۱۸]. تاکنون پژوهش‌های بسیاری در این زمینه صورت گرفته و تا حد زیادی نگرانی دانشمندان در زمینه استفاده از مواد شیمیایی مخرب کاهش یافته است. با توجه به موارد ذکر شده و در راستای سنتز نانوذرات به روش زیستی، تصمیم گرفته شد برای نخستین بار نانوذرات زیرکونیوم اکسید با استفاده از محلول آبی عصاره بلوط سنتز گردد.

نانوذرات زیرکونیوم دارای ویژگی‌های بی نظیری مانند: پایداری شیمیایی، ایمنی بالا، خواص الکتریکی، نوری و گرمایی مطلوب می باشند. به همین دلیل سنتز آن‌ها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. از طرفی کاربرد این نانوذرات در حسگر اکسیژن، سلول سوختی، وسایل نوری و

به سنتز نانوذرات فلزی دیگر با استفاده از میوه بلوط، در این پژوهش نانوذرات زیرکونیوم با استفاده از عصاره بلوط تهیه و اثرات ضدباکتری آن‌ها بررسی شد. این روش دارای مزایای مانند ارزان و غیرسمی بودن مواد اولیه، امکان سنتز نانوذرات در مقیاس صنعتی، دمای پایین واکنش، و امکان نگهداری نانوذرات در دمای پایین می‌باشد.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- روش سنتز نانوذره زیرکونیوم اکسید ( $ZrO_2$ )

در ابتدا میوه بلوط از کوه‌های شمال خوزستان جمع‌آوری و با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به مدت یک هفته در دمای محیط قرار گرفته تا خشک شوند. پس از آن به تکه‌های کوچک تقسیم و با هاون به حالت پودر در آمدند. حدود ۲۰ g گرم از پودر برگ یا میوه را در یک بالن ۲۵۰ ریخته و پس از افزودن ۲۰ mL میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده به مدت ۳۰ min جوشانده شد.

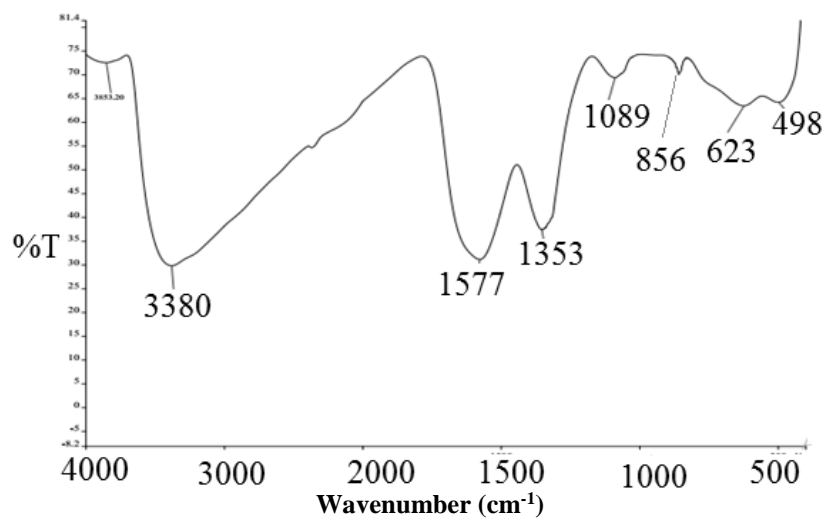
در ادامه با کاغذ صافی، عصاره استخراج شده جدا گردید. عصاره را در دمای  $4^{\circ}C$  نگهداری شد. به منظور تهیه نانوذرات زیرکونیوم اکسید با استفاده از عصاره برگ بلوط و میوه بلوط مقدار ۵۰ mL محلول آبی زیرکونیل کلراید ( $ZrOCl_2$ ) در یک بشر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و مقدار ۱۰ mL از عصاره برگ یا میوه بلوط به آن افزوده شد. محلول حاصل در دمای  $80^{\circ}C$  به مدت ۲ h بر روی هیتر توسط مگنت هم‌زده شد. سپس محلول از روی هیتر برداشته و به آن محلول سود ۱ مولار اضافه شد. با افزودن سود، pH محلول به ۱۲ رسانده شد. بشر حاوی محلول در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از چند روز رسوب تشکیل گردید. از محلول حاوی نانوذرات طیف UV-Vis گرفته شد. محلول باقی مانده در آون خلاء در دمای  $200^{\circ}C$  به مدت ۲۴ h تبخیر شد تا نانوذرات  $ZrO_2$  حاصل گردد [۲۸].

سنتز نانوذرات زیرکونیوم اکسید دارای سطح پایدار با تخلخل زیاد به روش هیدروترمال در دمای  $120^{\circ}C$  گزارش شده است [۳۲]. بلوط (Oak) و با نام علمی Quercus نام سرده‌ای از درختان و میوه آن‌ها می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱: میوه و برگ درخت بلوط.

درختان بلوط عمری طولانی دارند که گاه به دو هزار سال می‌رسد. گونه‌های بسیاری از آن در ایران بومی رشته کوه‌های البرز و زاگرس است. چوب بلوط با چگالی در حدود  $0.75 \text{ g/cm}^3$  از سختی و استحکام بالایی برخوردار است. همچنین به دلیل داشتن مقادیر تانن بالا در برابر حشرات و حملات قارچ‌ها مقاوم است [۳۳]. ترکیب شیمیایی میوه بلوط شامل: نشاسته، پروتئین، قندهای مختلف بویژه کوثرسیت، ماده روغنی و تانن می‌باشد. در برگ و پوست بلوط تانن ویژه‌ای به نام اسید کوثرسی تانیک محلول در آب، نوعی قند به نام کوثرسیت، یک ماده تلخ به نام کوثرسیتین، لعاب، یک ماده قرمز به نام قرمز بلوط یافت می‌شود. در ایران بلوط مهمترین و فراوان‌ترین گونه درختی موجود در غرب و جنوب غرب کشور، به ویژه در منطقه زاگرس محسوب می‌گردد. با توجه به فراوانی و ارزان بودن میوه بلوط و با توجه



شکل ۲: طیف FT-IR نانوذرات زیر کونیوم اکسید.

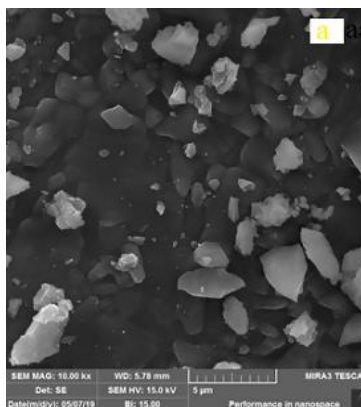
### ۳- نتایج و بحث

طیف سنجی مادون قرمز بر اساس جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی ملکول‌ها و یون‌های چند اتمی صورت می‌گیرد. این روش به عنوان روشی پر قدرت و توسعه یافته برای تعیین ساختار گونه‌های شیمیایی بکار می‌رود. همچنین این روش برای شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات آلی کاربرد دارد. در طیف FT-IR نمونه تهیه شده (شکل ۲)، پیک‌های پهن در نواحی  $498$  و  $623$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به کشش  $\text{Zr-O}$  می‌باشند که نشان دهنده ارتعاشات ساختار مکعبی  $\text{ZrO}_2$  می‌باشد. همچنین پیک در ناحیه  $856$   $\text{cm}^{-1}$  به کشش نامتقارن  $\text{Zr-O-Zr}$  برمی‌گردد. پیک در ناحیه  $1089$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات دارای پیوند فلزی است. پیک ناحیه  $1353$   $\text{cm}^{-1}$  به ارتعاشات خمشی  $\text{Zr-O-H}$  بر می‌گردد. نوار جذبی در محدوده  $1577$   $\text{cm}^{-1}$  ناشی از ارتعاشات خمشی مولکول‌های آب جذب شده بر سطح نانوذره می‌باشد (تقارن  $a_1$ ). همچنین نوار جذبی در  $3380$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی متقارن و نامتقارن پیوند  $\text{O-H}$  مولکول‌های آب است (تقارن  $a_1, b_2$ ).

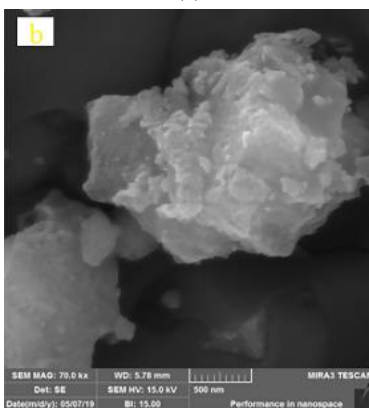
نمونه بدست آمده جهت آنالیزهای FT-IR، SEM، XRD و TGA و همچنین بررسی اثر ضدباکتری نگهداری شد.

### ۲-۲- خاصیت ضدباکتری نانوذرات زیر کونیوم اکسید سنتز شده با عصاره گیاه بلوط

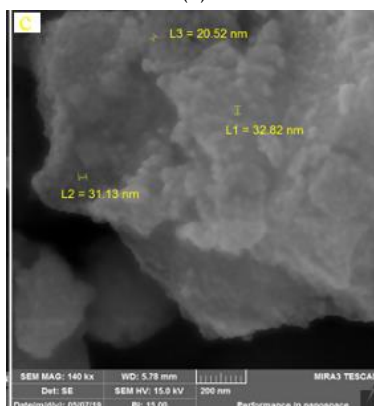
در پژوهش حاضر برای سنجش فعالیت ضدباکتری نانوذرات زیر کونیوم اکسید سنتز شده با عصاره گیاه بلوط از دو نوع باکتری گرم منفی اشرشیاکولی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، از روش مک‌فارلند (دیسک کاغذی) استفاده شد. محلول شاهد جهت کنترل، سرم فیزیولوژی و محلول‌های از نمونه با غلظت‌های مختلف ( $0.001$ ،  $0.004$ ،  $0.009$  و  $0.016$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) از نانوذرات سنتز شده بودند. آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار جهت اطمینان از پاسخ آزمون‌ها انجام شد و بعد از گذشت مدت زمان مورد آزمایش، قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها با خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین این اندازه‌گیری در دفعات برای محلول‌ها در غلظت‌های مختلف و همچنین محلول شاهد محاسبه و گزارش شد.



(a)



(b)

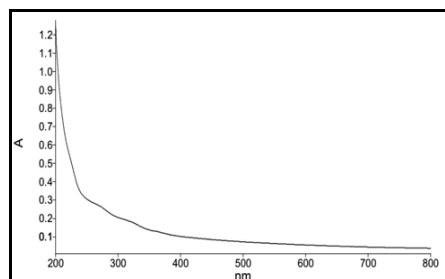


(c)

شکل ۴: تصاویر SEM نانوذرات زیرکونیوم با بزرگنمایی (a) ۲ μm، (b) ۵۰۰ nm و (c) ۲۰۰ nm.

ساختار تقریباً یکنواخت و مکعبی شکل می‌باشند. نانوذرات زیرکونیوم اکسید توسط میکروسکوپ الکترونی در ولتاژ ۱۵ kV مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس تصویر SEM، ذرات دارای ساختار مکعبی با اندازه حدود ۲۰-۳۲ nm می‌باشند. تصاویر SEM با بزرگنمایی‌های بزرگنمایی ۲ μm (۴a)، ۵۰۰ nm (۴b) و ۲۰۰ nm (۴c) مشاهده می‌گردد.

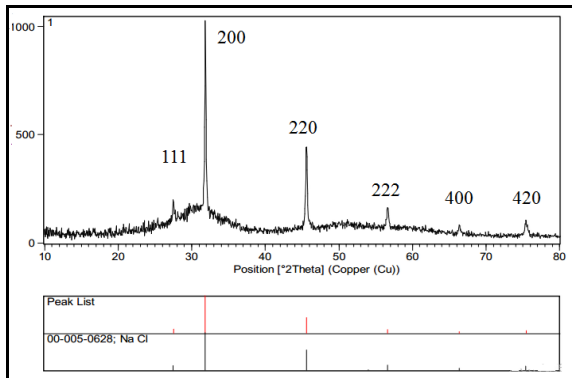
اساس طیف‌بینی جذبی فرابنفش-مرئی (UV-Vis) اندازه‌گیری میزان جذب یک پرتوی نوری، در محدوده طیفی ناحیه مرئی از طول موج (۳۸۰-۷۷۰ nm) و فرابنفش (۲۰۰-۳۸۰ nm) با عبور از درون یک نمونه یا بعد از انعکاس از سطح یک نمونه است. طیف جذبی اتم‌ها اغلب شامل خطوط بسیار تیزی است که در نتیجه انتقال الکترون بین دو تراز الکترونی مجزا بدست می‌آید. ترازهای انرژی در انتقالات ارتعاشی-چرخشی بسیار نزدیک هم بوده، اختلاف انرژی میان آن‌ها به مراتب کمتر از اختلاف انرژی ترازهای الکترونی است. بنابراین هر انتقال الکترونی شامل تعداد بسیاری از خطوط بوده که با فواصل بسیار جزئی از یکدیگر قرار می‌گیرند که به علت فواصل اندک این خطوط، طیف سنج قادر به تفکیک بین این خطوط نیست و در نتیجه دستگاه مجموعه‌ای از آن‌ها را به صورت یک طرح کلی ارائه می‌دهد. به همین علت طیف فرابنفش یک مولکول شامل یک نوار جذب بوده که مرکز آن نزدیک طول موج انتقال اصلی است. شکل ۳ طیف جذبی فرابنفش نانوذرات زیرکونیوم اکسید سنتز شده با عصاره گیاه بلوط را نشان می‌دهد. پیک تیز در ۲۱۳ نانومتر به انرژی شکاف بر می‌گردد. این پیک جابجایی کمی به سمت طول موج آبی در مقایسه با درشت مولکول آن نشان می‌دهد [۳۴-۳۸]. در نانوذرات نیمه هادی با کاهش اندازه ذرات، جابجایی به سمت طول موج آبی مشاهده می‌گردد. همچنین یک پیک ضعیف در ۲۸۳ nm نانومتر نیز مشاهده می‌شود.



شکل ۳: طیف UV-Vis نانوذرات زیرکونیوم اکسید.

آنالیز SEM برای تعیین ریخت‌شناسی و ساختار نانوذرات به گرفته می‌شود. بر اساس آنالیز SEM، نانوذرات دارای

نانومتر است. همچنین در مقایسه با الگوی مرجع مقادیر  $d$  جابه‌جایی کمی به سمت بالا یا پایین نشان می‌دهند. این جابه‌جایی به پیچش در ساختار بر می‌گردد. الگوی XRD فاز کلسیم و منیزیم را نشان نمی‌دهد.



شکل ۵: طیف XRD نانوذرات زیر کونیوم سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه بلوط.

طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDS یا EDX) یک روش تحلیلی است که برای تجزیه و تحلیل ساختاری یا خصوصیات شیمیایی یک نمونه بکار می‌رود. این روش بر بررسی برهمکنش بین یک منبع برانگیختگی پرتو ایکس و یک نمونه متکی است.

اعداد و انرژی پرتوهای ایکس ساطع شده از یک نمونه را می‌توان به کمک یک طیف‌سنج پراش انرژی اندازه‌گیری کرد. از آنجا که انرژی پرتوهای ایکس بیانگر اختلاف انرژی بین دو لایه و همچنین ساختار اتمی عنصری است که از آن ساطع شده‌اند، امکان اندازه‌گیری ترکیب عناصر نمونه را می‌دهد. محور عمودی تعداد شمارش پرتو ایکس (CPS) را نشان می‌دهد در حالی که محور افقی انرژی را بر keV بیان می‌کند.

بر اساس طیف EDX که در شکل ۶ آمده است حضور عناصر Zr و O تایید می‌گردد. بر این اساس همان گونه که مشاهده می‌گردد در این نمونه عناصر Zr و O با ترکیب درصد به ترتیب ۸۰ به ۲۰ موجود می‌باشند و هیچ عنصر دیگری مانند کلسیم یا منیزیم مشاهده نمی‌شود (شکل ۶).

الگوی پراش اشعه X نانوذره سنتز شده با استفاده از عصاره بلوط در شکل ۵ آمده است. از طیف XRD برای بررسی ساختار و اندازه‌گیری تقریبی اندازه ذرات استفاده می‌شود. از این الگو آشکار است که محصول دارای ساختار سه بعدی و تا حدودی مکعبی است. دارای پیک‌های در زوایای مختلف ۲۸، ۳۴، ۴۸، ۵۷، ۶۷، و ۷۷ با اندیس‌های میلر ۱۱۱ و ۲۰۰، ۲۲۰، ۲۲۲، ۴۰۰ و ۴۲۰ که تایید کننده حضور فاز مکعبی می‌باشد (JCPDS N 05-0628, JCPDS card No. 27-0997). فاز مکعبی دارای ثابت‌های شبکه  $a=b=c$  بوده و مقادیر آن‌ها یکسان و برابر ۵/۱۱۴۴ گزارش شده است. در دمای بالاتر از ۱۲۰ همزمان دو فاز مکعبی و چهاروجهی ظاهر خواهد شد. جدول ۱ داده‌های مربوط به XRD را نشان می‌دهد. پهن‌شدگی پیک XRD نشان دهنده ساختار کریستالی بسیار خوب می‌باشد. برای اندازه‌گیری و محاسبه اندازه نانوذرات از رابطه دبی-شرر (رابطه ۱) استفاده می‌شود.

$$D = k\lambda/\beta\cos\theta \quad (1)$$

جدول ۱: زاویه پراش، اندیس‌های میلر و فاصله بین صفحات نانو ساختار.

فاصله بین صفحات بلوری (d-values)	صفحات بلوری hkl	زاویه پراش
۲/۹۵	۱۱۱	۲۸
۲/۵۷	۲۰۰	۳۴
۱/۹۲	۲۲۰	۴۸
۱/۶۵	۲۲۲	۵۷
۱/۳۶	۴۰۰	۶۷
۱/۲۴	۴۲۰	۷۷

در رابطه فوق  $k$  ثابت شرر است که مساوی ۰/۹ در نظر گرفته می‌شود،  $\lambda$  طول موج پرتو ایکس مساوی ۱/۵۴ آنگستروم،  $\beta$  پهنای پیک در نصف ارتفاع حداکثر بر حسب رادیان،  $D$  میانگین قطر نانوذرات بر حسب نانومتر و  $\theta$  زاویه بین پرتو تابش و صفحه ذره (زاویه پراش) است. بر اساس معادله دبی-شرر، میانگین اندازه ذرات نمونه  $ZrO_2$  در حدود ۲۰

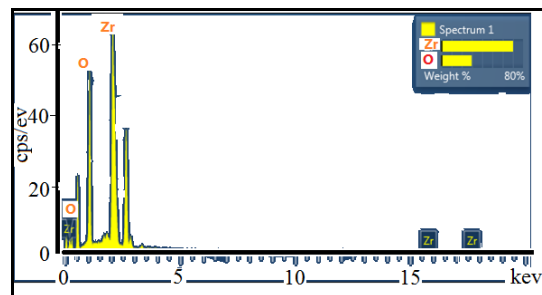
روش تهیه نانوذرات زیرکونیوم با استفاده از عصاره بلوط با روش های مشابه بررسی و نتایج در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲: مقایسه میانگین اندازه ذرات فلزی سنتز شده در روش های پیشنهادی با روش های مشابه.

نام گیاه	فلز	اندازه نانوذرات (nm)	منبع
<i>Crataegus douglasi</i>	نقره	۲۸-۳۰	۳۵
<i>Allium jesdianum</i>	روی	۳۰	۳۶
<i>Rosa canina</i>	مس	۴۰-۸۰	۳۷
<i>Nelumbo nucifera</i>	نقره	۲۵-۸۰	۳۸
Oak	زیرکونیوم	۲۰	روش حاضر

همان طوری که ملاحظه می گردد در این روش میانگین اندازه ذرات بدست آمده از معادله دبای-شرر کوچکتر از روش های مشابه برای سنتز دیگر نانوذرات فلزی است که نشان دهنده برتری نسبی این مطالعه نسبت به مطالعات گذشته است. همچنین سنتز زیستی نانوذرات زیرکونیوم با استفاده از عصاره بلوط تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. از این جهت می توان نوآوری این پژوهش را مورد توجه قرار داد. در این مبحث اثرات ضدباکتری نانوذرات زیرکونیوم اکسید سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه بلوط در برابر باکتری های اشرشیا کولی (E.Coli) و استافیلوکوکوس اورئوس (Staph.) بررسی گردید که نتایج بدست آمده در ادامه مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرد.

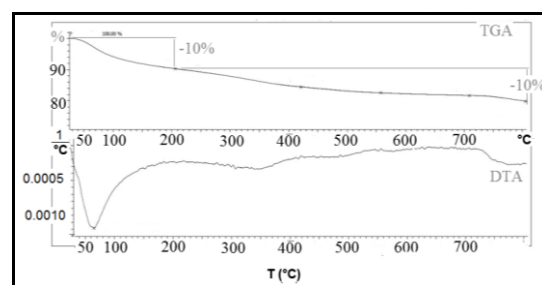
با ظهور و افزایش مقاومت میکروبی به آنتی بیوتیک ها محققان سعی کرده اند ضد میکروب های قوی و عاری از مقاومت و گرانی قیمت تولید نمایند. مدتی است که از نمک های فلزی در دندانپزشکی، تولید چسب زخم و ... استفاده می شود، زیرا یون های فلزی و یا حتی ترکیب های وابسته به آن ها برای میکروارگانیسم ها سمی بوده و باعث از بین رفتن میکروارگانیسم ها می شود. با ورود فناوری نانو در زمینه علم پزشکی محققان تلاش می کنند تا بتوانند با تولید نانوذرات، ضدباکتری هایی را تولید نمایند که علاوه بر رفع



شکل ۶: طیف EDX نانوذرات زیرکونیوم اکسید.

استفاده از روش تجزیه گرماوزنی (TGA) می توان تغییرات جرم ماده را به عنوان تابعی از دما یا زمان ثبت نمود. در روش آنالیز وزن سنجی حرارتی یا آنالیز TGA به صورت پیوسته کاهش یا افت وزن در اثر تجزیه یا از دست دادن آب و همین طور افزایش وزن به دلیل جذب یا اکسید شدن اندازه گیری می شود. با توجه به طولانی بودن زمان اندازه گیری TGA، پایداری و خواص ضد ارتعاش نمونه ها باید در نظر گرفته شود.

برای بررسی پایداری حرارتی نانوذره سنتز شده، مقدار ۱-۳ میلی گرم از نمونه در دما ۷۵۰-۰ درجه سانتی گراد تحت اتمسفر نیتروژن با گسترده ۱۰ درجه در هر ثانیه حرارت داده شد. کاهش وزن تا دمای ۲۰۰ °C به تبخیر رطوبت سطحی جذب شده بر می گردد (۱۰٪) و کاهش وزن در حدود ۱۰ درصد تا دمای ۷۵۰ °C به تبخیر آب درون کریستال و درون شبکه زیرکونیوم مربوط می گردد. در نمودار DTA نیز پیک گرماده در حدود ۵۰ °C به تغییر فاز در ساختار کریستالی نانوذره بر می گردد. آنالیز TGA نمونه نانوذرات زیرکونیوم اکسید سنتز شده با عصاره گیاه بلوط در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۷: آنالیز TGA نانوذرات زیرکونیوم اکسید.



میزان بازدارندگی و تشکیل هاله کم است. در غلظت‌های پایین، به دلیل کم بودن تعداد ذرات، میزان برهمکنش ذرات با غشای سلولی باکتری کم و در نتیجه قدرت بازدارندگی نانوذرات پایین است. در غلظت‌های بسیار بالا از نانوذرات تمایل به تراکم و توده‌ای شدن افزایش می‌یابد و در نتیجه میزان نانوذرات و برهمکنش آن‌ها با غشای سلولی در این حالت نیز کاهش می‌یابد. که حاصل این امر کاهش قدرت بازدارندگی و عدم وجود هاله است. به همین دلیل همواره غلظتی متعادل از نانوذره جهت مقابله با رشد باکتری‌ها مطلوب است.

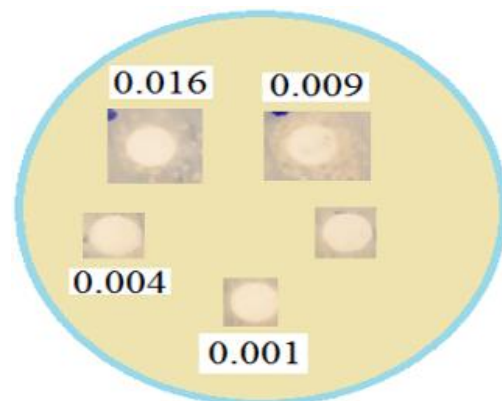
به طوری که نانوذرات زیر کونیوم اثرات ضدباکتری کمی از خود نشان داده‌اند و این ذرات نمی‌توانند به عنوان عوامل ضدباکتریایی در برابر سویه‌های بیماری‌زا موجودات مورد استفاده قرار گیرند.

#### ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، نانوذرات زیر کونیوم اکسید بطور موفقیت آمیزی با استفاده از محلول آبی عصاره میوه بلوط سنتز شد. بر اساس نتایج SEM، ذرات دارای ساختار مکعبی با اندازه حدود ۱۰۰-۲۰ nm می‌باشند. با استفاده از EDX حضور عناصر Zr و O با ترکیب درصد ۸۰ به ۲۰ در نمونه تایید شد. همچنین هیچ گونه ناخالصی مشاهده نگردید. حضور نانوذرات زیر کونیوم اکسید با پیک تیز در ۲۱۳ nm بوسیله طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی نیز تایید شد. از طرفی آنالیز گرم‌ماوژنی، پایداری حرارتی نانوذرات را تا دمای ۷۵۰ °C نشان می‌دهد. آزمون ضدباکتری این نانوذره نشان داد که این مواد از رشد باکتری گرم منفی (اشرشای کولای) و گرم مثبت (استافیلوکوکوس) جلوگیری می‌کنند. این نانوذرات هاله‌ای به ضخامت ۸-۱۰ mm در اطراف خود در محیط کشت ایجاد کردند. این روش نسبت به روش‌های گزارش شده دارای مزایایی مانند: دوستدار محیط زیست بودن، عدم استفاده از حلال‌های آلی سمی و فرار، روش کار آسان، استفاده از مواد اولیه ارزان می‌باشد.

مشکلات ضدباکتری‌های شیمیایی قبلی، دارای اثرات بهتری بر روی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شوند.

در پژوهش حاضر برای سنجش فعالیت ضدباکتری نانوذرات زیر کونیوم اکسید سنتز شده با عصاره گیاه بلوط از دو نوع باکتری گرم منفی اشرشایکولی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، از روش مک‌فارلند (دیسک کاغذی) استفاده شد. محلول شاهد جهت کنترل، سرم فیزیولوژی و محلول‌های نمونه، غلظت‌های مختلف (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۹ و ۰/۰۱۶) از نانوذرات سنتز شده بود. آزمایشات به صورت سه بار تکرار انجام شد و بعد از گذشت مدت زمان مورد آزمایش، قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها با خط کش اندازه‌گیری و میانگین این اندازه‌گیری در دفعات برای محلول‌ها در غلظت‌های مختلف و همچنین محلول شاهد محاسبه و گزارش شد. تصاویر مربوط به تست ضدباکتری در شکل ۸ مشاهده می‌گردد.



شکل ۸: تست ضدباکتری نانوذرات زیر کونیوم اکسید سنتز شده بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس.

نتایج حاصل از بررسی روند تشکیل هاله عدم رشد در مقابل هر دو باکتری گرم منفی و گرم مثبت نشان می‌دهد که نانوذرات زیر کونیوم اکسید در مقابل این باکتری‌ها مقاومت زیادی از خود نشان ندادند. فقط در غلظت ۰/۰۰۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر از محلول نانوذرات، مقداری ویژگی‌های مقاومتی به صورت پراکنده دیده شد. هاله‌ای به قطر ۸-۱۰ میلی‌متر تشکیل شد. اما در غلظت‌های پایین و بسیار بالا از نانوذرات

- [19] A. Hirvonen, R. Nowak, Y. Yamamoto, T. Sekino, K. Niihara, *Journal of the European Ceramic Society*, **26**, 2006, 1497.
- [20] J.C. Ray, D.W. Park, W.S. Ahn, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **12**, 2006, 142.
- [21] J.L. Gole, S.M. Prokes, J.D. Stout, O.J. Glembocki, R. Yang, *Advanced Materials*, **18**, 2006, 664.
- [22] G. Dutta, K.P. Hembram, G.M. Rao, U.V. Waghmare, *Applied Physics Letters*, **89**, 2006, 202904.
- [23] J.C. Garcia, L.M.R. Scolfaro, A.T. Lino, V.N. Freire, G.A. Farias, C.C. Silva, H.W. Leite Alves, S.C.P. Rodrigues, E.F. Da Silva, *Journal of Applied Physics*, **100**, 2006, 104103.
- [24] S. Park, J.M. Vohs, R.J. Gorte, *Nature*, **404**, 2000, 265.
- [25] E.C. Subbarao, H.S. Maiti, *Advances in Ceramics*, **24**, 1988, 731.
- [26] V. Bansal, D. Rautaray, A. Ahmad, M. Sastry, *Journal of Materials Chemistry*, **14**, 2004, 3303.
- [27] P. Nimare, A.A. Koser, *Research Journal of Engineering and Technology*, **3**, 2016, 1910.
- [28] S. Shanthi, S. Sri, N. Tharani, *Journal of Engineering and Applied Sciences*, **3**, 2016, 23.
- [29] A. Majedi, A. Abbasi, F. Davar, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **77**, 2016, 542.
- [30] R. Vennila, P. Kamaraj, M. Arthanareeswarid, M. Sridharan, G. Sudha, S. Devikala, J. Arockiaselvi, B. Sivakumar, A. Hasina Banu, K. Rajeshwari, *Materials Today*, **5**, 2018, 8691.
- [31] A. Bumajdad, A.A. Nazeer, F. Al Sagheer, S. Nahar, M.I. Zaki, *Scientific Reports*, **8**, 2018, 3695.
- [32] R. Sigwadi, M. Dhlamini, T. Mokrani, F. Nemavhola, *International Journal of Mechanical and Materials Engineering*, **14**, 2019, 5.
- [33] U. Buyuksari, N. As, T. Dundar, O. Korkmaz, *Maderas. Ciencia y tecnologia*, **19**, 2017, 481.
- [34] X. Xu, X. Wang, *Nanocrystals Nano Research*, **2**, 2009, 891.
- [35] M. Ghaffari-Moghaddam, R. Hadi-Dabanlouand, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **20**, 2014, 739.
- [36] N. Karimi, M. Behbahani, A. Dini, G. Razmjou, *Razi Journal of Medical Sciences*, **25**, 2018, 1.
- [۳۷] ابراهیم رسول پور، وارطان سیمونز، "فیتوستنژ نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره گیاه *Rosa cannina*"، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تبریز، ۱۳۹۳.
- [38] K.M. Kumar, M. Sinha, B.K. Mandal, A.R. Ghosh, K.S. Kumar, P.S. Reddy, *Spectrochimica Acta Part A*, **91**, 2012, 228.

## سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد امیدیه به خاطر حمایت از این پژوهش صمیمانه قدردانی می شود.

## مراجع

- [1] B.A. Kumar, K.H. Reddy, B. Madhav, K. Ramesh, Y.V. Nageswar, *Tetrahedron Letters*, **53**, 2012, 4595.
- [۲] فاطمه رمضان، بهرام کاظمی، علی جبالی، "سنتر بیولوژیک نانوذره نقره"، مجله تازه های بیولوژی سلولی-ملکولی، شماره ۹، ۱۳۹۱، ۱۱۱-۱۰۷.
- [3] Y. Da-Guang, *Journal of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **59**, 2007, 171.
- [4] M.B. Ahmad, K. Shamel, M. Darroudi, W. Yunus, N.A. Ibrahim, *Journal of Applied Sciences*, **6**, 2009, 1909.
- [5] R.A. Salkar, P. Jeevanandam, S.T. Aruna, Y. Kolytyn, A. Gedanken, *Journal of Materials Chemistry*, **9**, 1999, 1333.
- [6] M. Starowicz, B. Stypula, J. Banas, *Journal of Electrochemistry Communications*, **8**, 2006, 227.
- [7] H. Yamamoto, T. Wada, Y. Yanagida, *Journal of Materials Chemistry and Physics*, **83**, 2004, 66.
- [۸] نوید بلدی، غلامرضا زارعی، وحیده ضیغمیان، "بیوستنژ نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه بومادران گل زرد"، نشریه نانومواد، شماره ۳۷، ۱۳۹۸، ۹-۱.
- [9] K.B. Narayanan, N. Sakthivel, *Advances in Colloid and Interface Science*, **169**, 2011, 59.
- [10] N. Terry, A. Zayed, "Phytoremediation of selenium" 1988
- [11] A.T. Marshall, *International Journal of Phytoremediation*, **9**, 2007, 197.
- [12] S.P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, M. Sastry, *Biochemistry Progress*, **22**, 2006, 577.
- [13] A.K. Jha, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **73**, 2009, 219.
- [14] Y. Shao, *Chemical Communications*, **9**, 2004, 1104.
- [15] X. Huang, *Green Chemistry*, **13**, 2011, 950.
- [16] M. Rai, *Critical Reviews in Biotechnology*, **28**, 2008, 277.
- [17] O.V. Kharissova, *Trends in Biotechnology*, **31**, 2013, 240.
- [18] A.N. Bugrov, O.V. Almjasheva, *Nanosystem: Physics, Chemistry, Mathematics*, **4**, 2013, 810.