

بهینه‌سازی سنتز سبز و مشخصه‌یابی نانوذره‌های مس اکسید با عصاره آبی برگ گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)

سحر صادق نیا^۱، ابراهیم ملاحاهی^{۲*}، علیرضا عینعلی^۳ و امید عزیزیان شرمه^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۲. استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۳. دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۴. دانشجوی دکترا گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت: مرداد ۹۹ بازنگری: بهمن ۹۹ پذیرش: اسفند ۹۹

چکیده

پژوهش حاضر نخستین گزارش از سنتز سبز نانوذره‌های مس اکسید با به‌کارگیری عصاره آبی برگ گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) و مس کلرید ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) است. به‌منظور به‌دست آوردن نانوذره‌ها با شکل و اندازه یکنواخت، عامل‌های مؤثر بر سنتز مانند pH واکنش، حجم و غلظت عصاره، غلظت نمک مس (II) و زمان واکنش بررسی و همه آن‌ها با روش طیف‌نورسنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis) بهینه شدند. میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) به ترتیب برای بررسی شکل و اندازه نانوذره‌ها و تشخیص گروه‌های عاملی درگیر در تهیه و تثبیت نانوذره‌های مس اکسید به‌کارگرفته شدند. نتیجه‌ها نشان داد که عصاره می‌تواند یون‌های مس (II) را به اتم‌های مس با اندازه نانومتری کاهش و رنگ محلول را به سبز تغییر دهد. نانوذره‌های به‌دست آمده همگی کروی بودند و میانگین اندازه آن‌ها ۱۰ تا ۲۰ نانومتر بود. همچنین، بهترین شرایط برای تهیه نانوذره‌های مس در pH برابر با ۸، ۹ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت ۵٪ و نمک مس با غلظت ۱۰ میلی‌مولار بود. این نانوذره‌ها در ۶ روز پس از تهیه بسیار پایدار بودند.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی، سنتز سبز، گل چای ترش، نانوذره‌های مس اکسید

مقدمه

پیش از میلاد مسیح، نخستین کسی بود که واژه اتم را که به معنی تقسیم‌نشدنی در زبان یونانی است برای توصیف ذره‌های سازنده مواد به کار برد [۱]. در سال ۱۹۵۹ ریچارد فاینمن مقاله‌ای را درباره قابلیت‌های فناوری نانو در آینده منتشر ساخت [۲ و ۳]. پس از او پژوهشگران نشان دادند در

از زمان یونان باستان، مردم و به‌ویژه پژوهشگران بر این باور بودند که مواد را می‌توان به اجزاء کوچک تقسیم کرد تا به ذراتی خرد ناشدنی رسید که بنیان مواد را تشکیل می‌دهند. دموکریتوس فیلسوف یونانی در حدود ۴۰۰ سال

به تهیه نانوذره‌های مس اکسید با گیاهان، تولید این نانو ذره‌ها از عصاره برگ گردو [۱۷]، عصاره آلوئه‌ورا [۱۸] و حنا [۱۹] گزارش شده است. گیاه دارویی چای ترش با نام علمی *Hibiscus sabdariffa* L. خانواده Malvaceae است. این گیاه بومی مناطق گرمسیر و نیم‌گرمسیر است. چای ترش بومی ایران نیست و کشت این گیاه در ایران تنها در استان سیستان و بلوچستان گزارش شده است. گیاه چای ترش حاوی فلاونوئید، آنتوسیانین و مقدار بالایی اسید مانند اگزالیک اسید، سوکسینیک اسید و اسیدهای آلی است [۲۰]. افزون بر آن، مقدار آسکوربیک اسید چای ترش در مقایسه با خانواده مرکبات بیشتر است. در آزمایش‌های انجام‌شده حضور آهن، فسفر، کلسیم، منگنز، آلومینیم، سدیم، پتاسیم، موسیلاژ، گوسپیتین، هیبیسیتین، پروتئین و مواد معدنی و غیره مشاهده شده است. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، این گیاه، حاوی ترکیب‌های پلی‌فنلی است و ویژگی‌های پاداکسیدانی بالایی دارد [۲۱ و ۲۲]. ترکیب‌های پلی‌فنلی، ترکیب‌های کاهنده هستند که افزون بر ویژگی کاهندگی، توانایی پایدارکردن نانوذره‌ها فلزی را دارند [۲۳]. تاکنون مطالعه‌های اندکی در باره تهیه نانوذره‌های فلزی با گیاه چای ترش گزارش شده است [۲۴].

مطالعه حاضر نخستین گزارش سنتز گیاهی نانوذره‌های مس اکسید با گیاه چای ترش رشد یافته در استان سیستان و بلوچستان است. افزون بر آن، عامل‌های موثر بر سنتز شامل pH محلول واکنش، حجم و غلظت عصاره، غلظت نمک مس (II) و زمان واکنش بررسی شده است.

بخش تجربی

مواد و تجهیزات

نمک مس ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)، سدیم هیدروکسید (NaOH) و هیدروکلریک اسید (HCl) از شرکت مرک با خلوص بالا تهیه شدند. میکروسکوپ الکترونی عبوری

صورت کاهش اندازه ذرات یک ماده تا مقیاس نانو، نسبت سطح به حجم ذره افزایش یافته و منجر به تغییرهای گسترده در ویژگی‌های ماده می‌شوند [۴]. برای مثال، این پدیده می‌تواند موجب تغییر ویژگی‌های الکترونی، نوری، دمایی و واکنش‌پذیری شیمیایی ترکیب‌ها شود [۵ و ۶]. به‌طور کلی روش‌های شیمیایی، فیزیکی و زیستی را می‌توان روش‌های متداول برای تولید نانوذره‌ها دانست [۷]. این سه روش خود زیر شاخه دو روش اصلی تولید نانوذره‌ها، یعنی روش بالا به پایین و پایین به بالا هستند [۸]. در سال‌های اخیر، روش‌های زیستی با به‌کارگیری قارچ‌ها [۹]، باکتری‌ها [۱۰] و عصاره گیاهان [۱۱] به‌دلیل سادگی، کم‌هزینه‌بودن، داشتن بازده بالا، غیرسمی و سازگاری با محیط‌زیست، توجه ویژه‌ای را نسبت به سایر روش‌ها به خود جلب کرده است [۱۲]. در این بین، گیاهان به‌دلیل فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد، گزینه‌ای مناسب برای تهیه سبز نانوذره‌ها به حساب می‌آیند [۱۳]. کامل‌بودن واکنش، کم‌بودن زمان واکنش، تولید نانوذره‌ها با شکل‌های متفاوت و یکنواخت‌بودن اندازه آن‌ها از دیگر مزایای استفاده از گیاهان برای تهیه نانوذره‌ها هستند [۱۴]. در میان انواع نانوذره‌ها و نانومواد، نانوذره‌های مس (II) اکسید از مهم‌ترین اکسیدهای فلزی واسطه هستند که ویژگی‌های بی‌همتایی دارند و در فناوری متفاوتی مرتبط به ابررساناها، حسگرهای گازی و ... به‌کارگرفته می‌شوند [۱۵]. با وجودی که مس یکی از مواد رایج در برنامه‌های متفاوت است، تهیه آن در اندازه‌های نانو به دلیل گرایش شدید به اکسایش و کاهش چالش برانگیز است. برخلاف طلا و نقره، مس بسیار حساس به اکسیژن است و د فاز اکسیدی آن از نظر ترمودینامیکی پایدارتر است. بنابراین، تشکیل یک لایه اکسید سطحی بر نانوذره‌های مس اجتناب‌ناپذیر است [۱۶]. پژوهش‌های بسیاری برای تهیه نانوذره‌های مس اکسید با استفاده از عصاره گیاهان را گزارش شده است. در مطالعه‌های مربوط

(TEM) مدل Zeiss-EM10C برای بررسی شکل و اندازه ذره ها و دستگاه طیف نورسنج فرابنفش مرئی مدل HACH DR-5000 برای بررسی روند تهیه و بهینه سازی عامل های موثر به کار گرفته شدند. برای بررسی گروه های احتمالی دخیل در سنتز از طیف سنج فرورسرخ تبدیل فوریه (FTIR) مدل PerkinElmer استفاده شد.

آماده سازی عصاره

برگ گیاه چای ترش از باغ گیاه شناسی دانشگاه سیستان و بلوچستان در خرداد ماه سال ۱۳۹۶ جمع آوری، شسته و پودر شد. ۵ گرم از گیاه پودر شده به درون یک ارلن مایر که حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر بود، منتقل و ۳۰ دقیقه در 40°C گرمادهی و با همزن برقی هم زده شد. مخلوط به دست آمده پس از خنک شدن در دمای اتاق، با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شد. حذف کامل ذره های معلق در آن، با دستگاه گریزانه با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm در مدت ۳۰ دقیقه انجام شد [۲۵]. عصاره به دست آمده برای مصارف بعدی در یخچال و در دمای صفر تا 4°C نگهداری شد.

تهیه نانوذره های مس اکسید

ابتدا محلول استوک اولیه $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ با غلظت mM ۱۰ تهیه شد. سپس مقدار ۲ میلی لیتر از عصاره به ۴ میلی لیتر از محلول استوک مس (II) در دمای اتاق افزوده شد. مقدار pH این محلول ۲/۶۰ بود. پس از تغییر رنگ محلول به سبز، از محلول حاوی نانوذره های تهیه شده طیف فرابنفش-مرئی گرفته شد. سپس عامل های موثر بر تهیه نانوذره های مس اکسید شامل اثر pH محلول، غلظت و حجم عصاره، غلظت نمک مس (II) و زمان واکنش برای به دست آوردن نانوذره ها با ریخت یکنواخت تر و اندازه کوچکتر، با طیف نورسنجی فرابنفش-مرئی بررسی و بهینه شدند [۲۶].

بررسی اثر pH

برای بهینه سازی مقدار pH، پنج سری محلول شامل ۲ میلی لیتر عصاره و ۴ میلی لیتر محلول نمک مس (II) با

غلظت ۱۰ میلی مولار با pH های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ ساخته شد و طیف های فرابنفش-مرئی آن ها بررسی و pH بهینه انتخاب شد. برای تنظیم pH محلول از محلول های سدیم هیدروکسید و یا هیدروکلریک اسید با غلظت ۰/۱ مولار استفاده شد.

بهینه سازی غلظت عصاره

برای بهینه سازی مقدار غلظت عصاره ی گیاه، ۲ میلی لیتر از عصاره با غلظت های متفاوت ۱ تا ۶٪ وزنی-حجمی به ۴ میلی لیتر محلول نمک مس (II) با غلظت ۱۰ میلی مولار افزوده شد و pH واکنش برابر با pH بهینه، تنظیم شد. از هر یک از محلول ها، جداگانه طیف فرابنفش-مرئی گرفته و در پایان غلظت عصاره بهینه انتخاب شد.

بهینه سازی حجم عصاره

برای بهینه سازی حجم عصاره، مقادیر ۱ تا ۱۰ میلی لیتر از عصاره گیاه با غلظت بهینه شده به ۴ میلی لیتر نمک مس (II) با غلظت ۱۰ میلی مولار افزوده و pH واکنش برابر با pH بهینه، تنظیم شد. طیف فرابنفش-مرئی هر یک از محلول ها بررسی و در پایان حجم عصاره بهینه انتخاب شد.

بهینه سازی غلظت نمک مس (II)

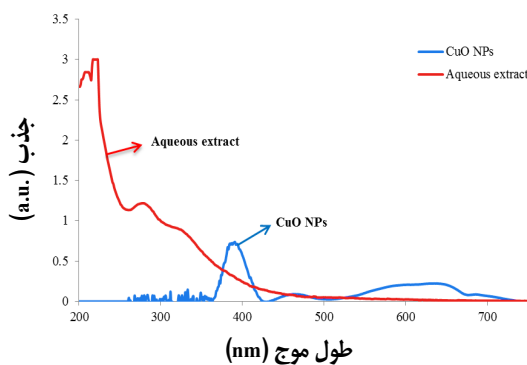
مقدار بهینه شده عصاره را به ۴ میلی لیتر از غلظت های متفاوت محلول نمک مس (II) (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میلی مولار) افزوده شد و pH واکنش به pH بهینه رسانده شد. با طیف های فرابنفش-مرئی محلول ها، غلظت بهینه نمک مس (II) به دست آمد.

بهینه سازی زمان و بررسی پایداری نانوذره های مس اکسید

برای بهینه سازی بهترین زمان لازم برای انجام واکنش و بررسی پایداری نانوذره های مس اکسید تولید شده، محلولی شامل مخلوط عصاره و نمک مس (II) با شرایط بهینه و در زمان های متفاوت (از لحظه صفر تا ۶ روز پس از سنتز) تهیه و از هر کدام به صورت جداگانه طیف فرابنفش-مرئی گرفته و اثر

زیستی نیز لازم است. استفاده از بستر گیاهی برای تهیه نانوذرها یک روش نو و برپایه اصول شیمی سبز و روشی ساده نسبت به روش‌های پیچیده‌تری چون الکتروشیمیایی، فتوشیمیایی و یا میدان فراصوت است. در تهیه زیستی نانوذرها فلزی بر پایه احیای زیستی، عصاره گیاه به‌عنوان احیاءکننده و پایدارکننده استفاده می‌شود. پژوهش‌های زیادی فعالیت پاداکسیدانی بالای برگ گیاه ترش را گزارش کرده‌اند [۲۱]. بنابراین، مطالعه پتانسیل عصاره برگ گیاه چای ترش می‌تواند راهکاری برای استفاده موثر از آن و روشی ارزان و زیست‌سازگار برای تولید نانوذرها باشد.

این پژوهش نخستین گزارش سنتز نانوذره‌های مس اکسید با عصاره برگ گیاه چای ترش است. تولید نانوذرها با این روش به‌صورت یک مرحله‌ای و ارزان است و در زمان بسیار کم، فرایند تکمیل می‌شود. شکل ۱ طیف فرابنفش-مرئی نانوذره‌های مس اکسید تهیه‌شده بدون اعمال شرایط بهینه را نشان می‌دهد.



شکل ۱ طیف‌های فرابنفش-مرئی عصاره آبی برگ گیاه چای ترش و نانوذره‌های مس اکسید زیستی تهیه‌شده با آن

با توجه به این شکل، در طول موج ۳۸۲ نانومتر که مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذره‌های مس اکسید است [۲۷]، طیف عصاره فاقد پیک است و وجود پیک در طول موج موردنظر، به‌دلیل وجود نانوذره‌های مس اکسید در

زمان بررسی شد. بهینه‌سازی‌های انجام‌شده در دمای اتاق صورت گرفت.

مشخصه‌یابی نانوذره‌های مس اکسید

توزیع شکل و اندازه نانوذره‌های مس اکسید تهیه‌شده با اعمال عامل‌های موثر، با دستگاه میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. برای آماده‌سازی نمونه، چندین قطره از محلول حاوی نانوذره‌های مس اکسید بر شبکه‌های دستگاه (از جنس مس پوشش داده شده با کربن) قرار داده و پس از تبخیر حلال آن در دمای آزمایشگاه، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری آن گرفته شد.

برای شناسایی کیفی کاهنده‌ها و پایدارکننده‌های اطراف نانوذره‌های مس اکسید، از طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه استفاده شد. بدین منظور ابتدا نمونه حاوی نانوذره‌های مس اکسید تهیه‌شده با اعمال همه عامل‌های موثر پس از خشک و پودرشدن، با پتاسیم برمید مخلوط و به شکل قرص پتاسیم برمید در آمد. سپس طیف آن به همراه عصاره آبی مورد استفاده در گستره ۴۰۰ تا 4000 cm^{-1} ثبت شد.

نتیجه‌ها و بحث

تهیه اولیه نانوذره‌های مس اکسید

نانوزیست‌فناوری، که تلفیقی از علوم فناوری زیستی و نانوفناوری است با هدف تولید مواد در مقیاس نانومتر از راه روش‌های زیستی سازگار با محیط‌زیست در حال توسعه و پیشرفت است. یکی از جنبه‌های مهم در نانوفناوری تهیه نانو مواد با ویژگی‌های بی‌همتا و ابعاد قابل کنترل است. در زیست‌سنتز نانوذره‌ها، اندامگان‌های زیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتنومیست‌ها، مخمرها، جلبک‌ها و گیاهان به‌عنوان عامل کاهنده یا عوامل محافظتی به‌کارگرفته می‌شوند. امروزه تهیه نانوذره‌های زیستی با توجه به کارایی آن‌ها در پزشکی و علوم زیستی رو به افزایش است. از سوی دیگر، به‌کارگیری روش‌های سازگار با محیط‌زیست برای تهیه غیرسمی نانومواد

که این رنگ دلیلی بر تهیه موفق این نانوذره‌ها است. مقدار pH محلول به دست آمده با دستگاه pH متر، ۲/۶۰ قرائت شد. برای بررسی اثر pH بر روند تهیه نانوذره‌ها، pH-های بالاتر و کمتر از مقدار اولیه مطالعه و از همه نمونه‌ها طیف فرابنفش-مرئی گرفته شد (شکل ۲-الف). نتیجه‌ها نشان می‌دهد که با افزایش تدریجی pH محلول تا ۸، جذب محلول به صورت چشمگیری افزایش یافته است که دلیلی بر افزایش مقدار نانوذره‌های مس اکسید سنتز شده است. در pH بالاتر (pH = ۱۰) افت محسوسی در مقدار جذب مشاهده می‌شود. در نتیجه، pH برابر با ۸ به عنوان pH بهینه و مناسب انتخاب شد. شکل‌های ۲-ب و ۲-ج روند مقدار جذب در pHهای متفاوت و تغییر رنگ نانوذره‌های مس اکسید به دست آمده را نشان می‌دهد. در بررسی‌های عامل‌های موثر بر تهیه نانوذره‌های نقره، pH یکی از مهم‌ترین عامل‌های موثر بر تهیه نانوذره‌ها است [۲۸]. پیش‌ازین، گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر pH بر چگونگی تشکیل نانوذره‌ها به ثبت رسیده است. گزارش‌ها حاکی از آن است که pH بر شکل نانوذره‌ها تأثیر چشمگیری نداشته و تنها اندازه آن‌ها را به میزان زیادی تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۹]. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که در pHهای خیلی بالاتر، یون‌های مس (II) آب‌کافت و در نتیجه گونه‌های پایدار هیدروکسیدهای یون مس تشکیل و از ورود این یون‌ها به واکنش کاهش زیستی ممانعت می‌شود [۳۰]. همچنین، در مواردی در pHهای بالاتر ذره‌های بزرگتر می‌توانند تولید شوند [۳۱].

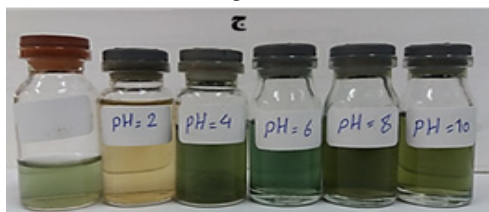
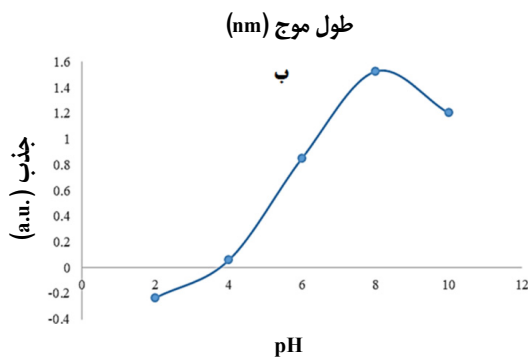
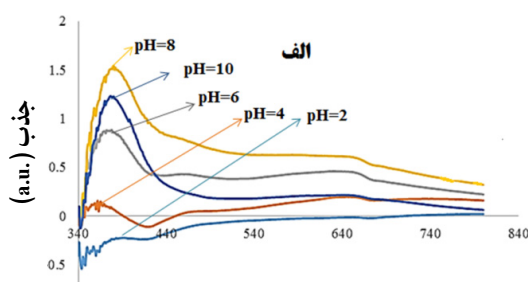
اثر غلظت و حجم عصاره

تأثیر غلظت عصاره بر سنتز نانوذره‌های مس اکسید در شکل ۳ به خوبی نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره، جذب مربوط به نانوذره‌ها افزایش قابل توجهی داشته که نشان‌دهنده افزایش در مقدار نانوذره‌های تهیه شده است. این افزایش تا غلظت ۵٪ وزنی-

محلول است و عصاره هیچ گونه تداخل و مزاحمتی در تشکیل نانوذره‌های مس اکسید ایجاد نکرده است.

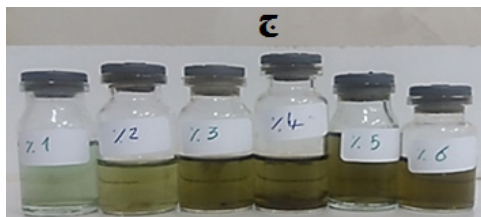
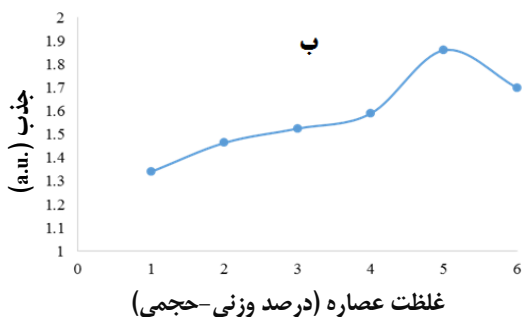
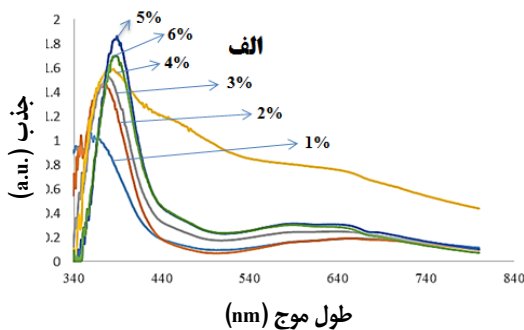
بهینه‌سازی عامل‌های موثر بر تهیه نانوذره‌های مس اکسید
تأثیر pH و واکنش

در بررسی تأثیر pH، پس از افزوده کردن ۲ میلی‌لیتر از عصاره به ۴ میلی‌لیتر از نمک مس (I) با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، مشاهده شد که رنگ محلول به رنگ سبز متمایل شده است (شکل ۲-ج).



شکل ۲ تأثیر pH و واکنش تهیه نانوذره‌های مس اکسید بر طیف‌های فرابنفش-مرئی (الف)، جذب (ب) و رنگ (ج) محلول‌های حاوی نانوذره‌های مس اکسید

افزایش در توزیع ذره‌ها، پهنای طیف‌ها افزایش می‌یابد [۳۳] و [۳۴].



شکل ۳ تاثیر غلظت عصاره در تهیه نانوذره‌ها اکسید مس بر طیف‌های فرابنفش-مرئی (الف)، جذب (ب) و رنگ (ج) محلول‌های حاوی این نانوذره‌ها

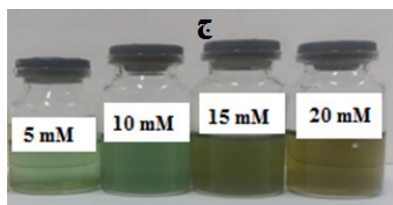
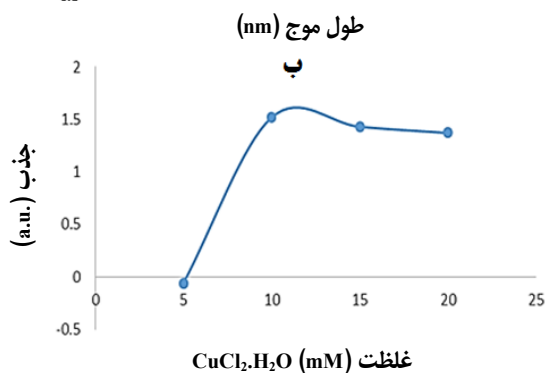
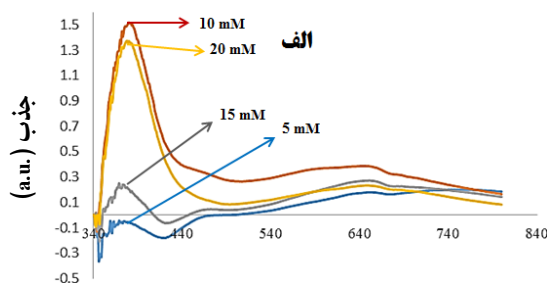
اثر غلظت نمک مس (II)

تأثیر غلظت یون فلزی بر روند تهیه نانوذره‌ها در شکل ۵ به‌خوبی نشان داده شده است. با توجه به این شکل، مشاهده می‌شود که با افزایش تدریجی غلظت یون مس (II) از ۵ به ۱۰ میلی‌مولار، جذب مربوط به محلول حاوی نانوذره‌های مس اکسید افزایش چشمگیری داشته است، ولی در غلظت‌های ۱۵ و

حجمی از عصاره ادامه دارد ولی در غلظت ۶٪ وزنی-حجمی از آن، افت زیادی در مقدار جذب مشاهده می‌شود. در نتیجه، غلظت ۵٪ وزنی-حجمی از عصاره به‌عنوان غلظت بهینه و مناسب عصاره، برای تهیه این نانوذره‌ها انتخاب شد.

در بررسی تأثیر مقدار حجم عصاره مصرفی بر روند سنتز نانوذره‌های مس اکسید، مشاهده شد که با افزایش حجم عصاره، جذب مربوط به نانوذره‌ها، افزایش قابل توجهی داشته است که نشان‌دهنده افزایش مقدار نانوذره‌های سنتز شده است (شکل ۴). این افزایش تا حجم ۹ میلی‌لیتر از عصاره ادامه دارد ولی در حجم ۱۰ میلی‌لیتر از آن، افت زیادی در مقدار جذب مشاهده می‌شود. در نتیجه مقدار ۹ میلی‌لیتر از عصاره به‌عنوان حجم بهینه و مناسب برای تهیه این نانوذره‌ها انتخاب شد.

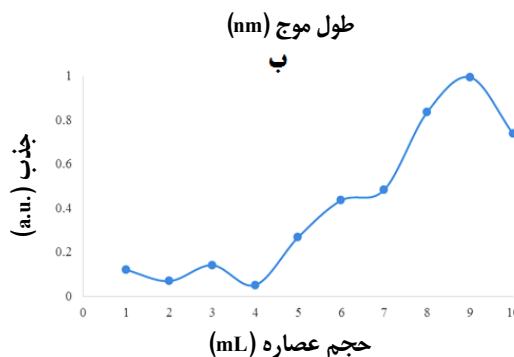
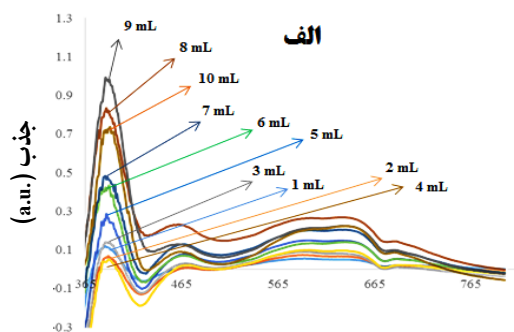
همان‌طوری که در پیش اشاره شد، در تهیه زیستی نانوذره‌ها توسط گیاهان، گیاه نقش کاهندگی یون‌های فلزی و همچنین تثبیت کردن این نانوذره‌ها (پایدار سازی) را ایفا می‌کند [۳۲]. گیاه چای ترش نیز دارای ترکیب‌های طبیعی فراوانی چون ترکیب‌های پاداکسیدانی، فنل‌ها، فلاونوئیدها و . . . است [۲۱]، که این ترکیب‌ها در احیای یون‌های فلزی و تبدیل آن‌ها به اتم‌های فلزی در مقیاس نانو و پایدار کردن نانوذره‌ها تهیه شده نقش مهمی دارند. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که، در غلظت‌های و حجم‌های کمتر از میزان بهینه عامل احیاء کننده و پایدار کننده، عمل احیاء کنندگی و پایدار سازی نانوذره‌ها به‌صورت کامل اتفاق نیافتاده و نانوذره‌ها به میزان کمتر و با اندازه درشت‌تری به دست می‌آید. همچنین، با افزودن مقدار بیشتر از بهینه، ذرات پایدارکننده بیشتر تجمع می‌کنند و با اندازه درشت‌تری به‌دست می‌آیند که موجب می‌شوند پایدارسازی به‌طور کامل انجام نشود با بی‌ثبات شدن نانوذره‌ها، از جمعیت نانوذره‌ها پایدار در محیط کم شده و جذب کاهش خواهد یافت. پژوهش‌ها حاکی از آن است که با افزایش در اندازه نانوذره‌ها، میزان جذب کاهش یافته و با



شکل ۵ تاثیر غلظت‌های متفاوت نمک مس در تهیه نانوذره‌های مس اکسید بر طیف‌های فرابنفش-مرئی (الف)، جذب (ب) و رنگ (ج) محلول‌های حاوی این نانوذره‌ها

پژوهش‌های بسیاری تأثیر غلظت یون فلزی بر تهیه نانوذره‌ها را اثبات کرده‌اند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد با افزایش غلظت یون فلز، جذب مشاهده شده نیز افزایش می‌یابد. در واقع با افزایش مقدار یون فلز، یون‌های بیشتری کاهش می‌یابد و در نتیجه نانوذره‌های بیشتری تولید خواهد شد [۳۵]. افزایش بیش از اندازه غلظت یون مس (II)، افزایش نامحسوس در مقدار جذب مربوط به نانوذره‌ها را به دنبال دارد که می‌تواند به دلیل چسبندگی نانوذره‌ها و تهیه نانوذره‌هایی با اندازه بزرگتر باشد [۳۶]. با توجه به دلایل ذکر

۲۰ میلی‌مولار، افزایش قابل توجهی در مقدار جذب مربوط به نانوذره‌ها دیده نمی‌شود و حتی به‌طور تقریبی افت اندکی در میزان جذب مشاهده می‌شود. در نتیجه، مقدار غلظت ۱۰ میلی‌مولار از نمک مس (II) به‌عنوان غلظت بهینه و مناسب انتخاب شد.



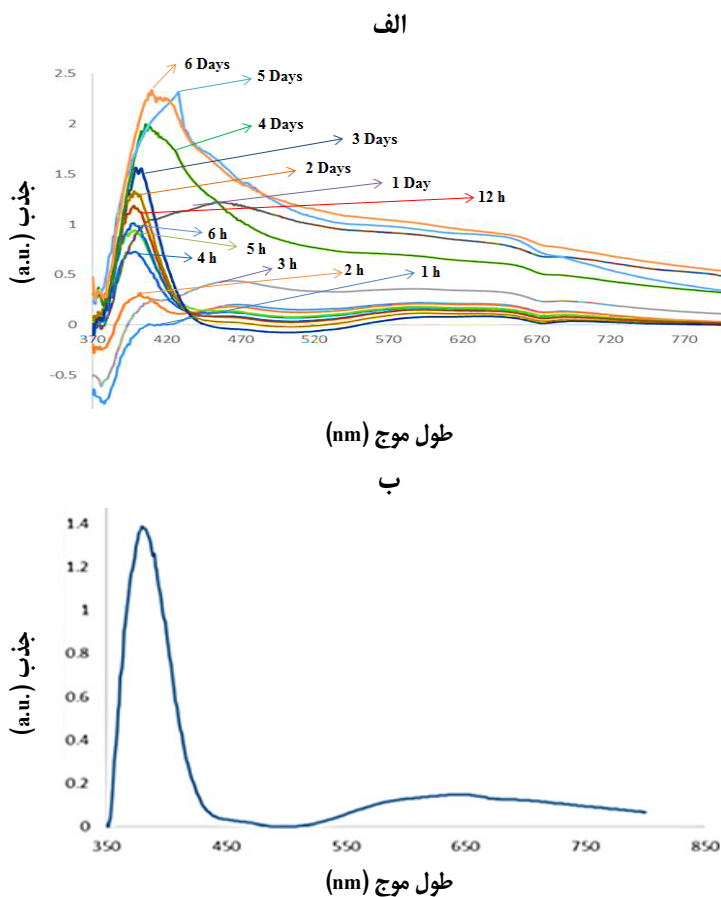
شکل ۶ تاثیر حجم عصاره در تهیه نانوذره‌های مس اکسید بر طیف‌های فرابنفش-مرئی (الف)، جذب (ب) و رنگ (ج) محلول‌های حاوی این نانوذره‌ها

تأثیر زمان مجاوربودن ۴ میلی‌لیتر از نمک مس با غلظت ۱۰ میلی‌مولار با ۹ میلی‌لیتر از عصاره گیاه با غلظت بهینه ۵٪ وزنی-حجمی در pH برابر با ۸ و در دمای ۲۵ C° بر روند واکنش، با طیف‌نورسنج فرابنفش-مرئی نشان داد که متناسب با افزایش زمان، برهم‌کنش میان واکنشگرها افزایش می‌یابد (شکل ۶-الف).

شده غلظت ۱۰ میلی‌مولاری از یون مس (II) به‌عنوان غلظت مناسب انتخاب شد.

اثر زمان واکنش در تهیه نانوذرها

با ثابت نگه‌داشتن شرایط سنتز یستی نانوذره‌های مس اکسید در نقاط بهینه‌شده عامل‌های pH، حجم و غلظت عصاره و غلظت نمک مس، اثر زمان نیز بررسی شد. بررسی



شکل ۶ تأثیر زمان واکنش تهیه نانوذره‌های مس اکسید بر طیف‌های فرابنفش-مرئی (الف) و جذب (ب) محلول‌های حاوی این نانوذرها با اعمال دیگر شرایط بهینه‌شده

گذشت زمان تولید نانوذرها بیشتر خواهد بود. همچنین، عامل زمان، مهم‌ترین عامل برای اثبات پایداری نانوذره‌های تهیه شده است، به‌گونه‌ای که اگر با گذشت زمان، تغییر

زمان نیز همانند عامل‌های مورد بحث، تأثیر بسزایی در تهیه و پایداری نانوذرها دارد [۳۷]. به‌طوری‌که در واکنش‌های این چینی، اگر سنتز کامل انجام نشده باشد، با

این تصویر نشان می‌دهد که نانوذره‌های به‌دست آمده همگی به‌طور تقریبی کروی و میانگین اندازه آن‌ها ۱۰ تا ۲۰ نانومتر است.

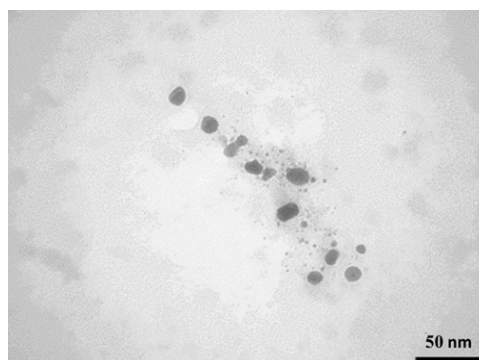
بررسی طیف‌های FTIR

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه برای شناسایی ترکیب‌های کاهنده و پایدارکننده در اطراف نانوذره‌ها به‌کارگرفته شد (شکل ۸). نوارهایی واضح را در ناحیه‌های 3384 ، 2923 ، 1644 ، 1440 و 1084 cm^{-1} برای عصاره و 3416 ، 1619 ، 1637 ، 1400 و 1096 cm^{-1} برای نانوذره‌های تهیه‌شده، نشان داده شده است. نوارهای 3384 و 3416 cm^{-1} به گروه آمینی (-NH) و هیدروکسیل (-OH) نسبت داده می‌شود که مربوط به ترکیب‌های فنلی و اسیدهای آمینه هستند. نوار 2923 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C-H گروه‌های متیل (-CH₃) و متیلن (-CH₂) ترکیب‌های آلیفاتیکی و کلروفیل موجود در عصاره است. پیک‌های 1619 ، 1637 ، 1644 و 1644 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های کششی گروه کربونیلی (C=O) و به ترکیب‌های آمیدی نسبت داده می‌شود. پیک‌های موجود در ناحیه‌های 1084 و 1096 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های کششی C-O ترکیب‌های پلی‌ساکاریدی است. وجود نواری در ناحیه 620 cm^{-1} مربوط به پیوند هیدروژنی موجود در سلولز و همی‌سلولز موجود در عصاره است که این ترکیب‌های ذکر شده در تهیه و پایدارسازی نانوذره‌ها نقش دارند [۲۵]. به‌طور کلی این ترکیب‌ها افزون بر کاهش یون‌های مس، اطراف نانوذره‌های مربوط را فراگرفته و عامل پایداری این ذره‌ها شده و از تجمع و کلوخه‌شدن آن‌ها جلوگیری می‌کند.

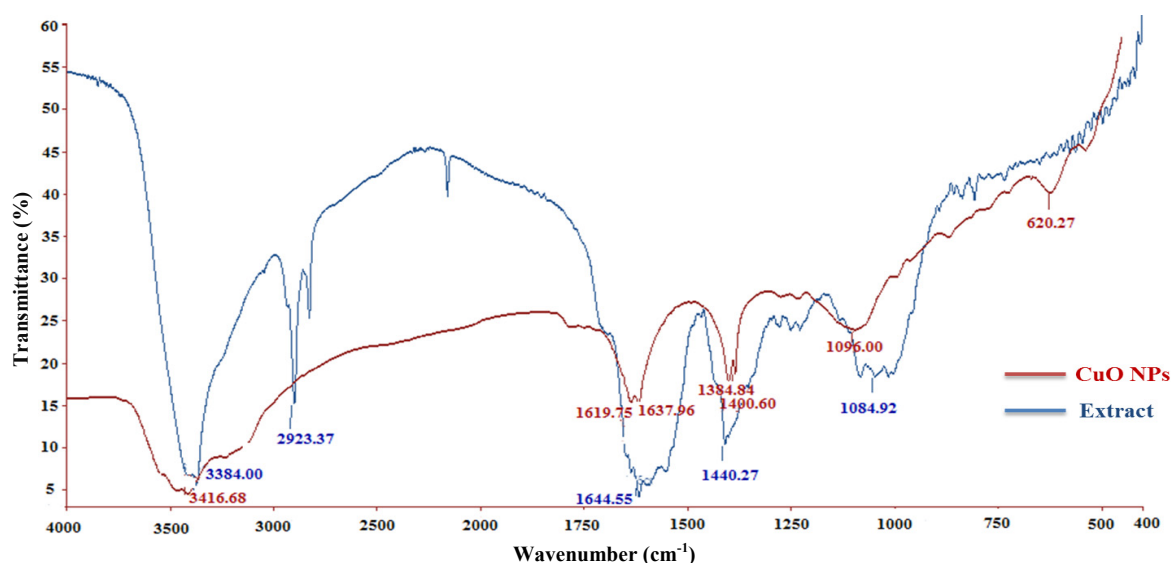
قابل توجهی در مقدار جذب نانوذره‌های مس اکسید مشاهده نشود، می‌توان این‌گونه استنباط کرد که نانوذره‌های به‌دست آمده با گذر زمان به‌طور کامل پایدار هستند. نانوذره‌های به‌دست آمده تا ۶ روز پس از تهیه به‌تقریب پایدار بودند. شکل ۶-ب طیف فرابنفش-مرئی محلول حاوی نانوذره‌های مس اکسید با اعمال همه شرایط بهینه‌شده را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، طیف تیز و متقارن است و این می‌تواند دلیل تولید نانوذره‌های پایدار با اندازه کوچک و ریخت یکنواخت باشد.

بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

توزیع شکل و اندازه نانوذره‌های مس اکسید تهیه‌شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری مطالعه شد. شکل ۷ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذره‌های مس اکسید تهیه‌شده در شرایط بهینه را نشان می‌دهد.



شکل ۷ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذره‌های مس اکسید



شکل ۸ طیف فروسرخ تبدیل فوریه نانوذره‌های مس اکسید و عصاره برگ گیاه چای ترش

می‌رساند. مطالعه حاضر نخستین گزارش از سنتز گیاهی آسان، ارزان و تک‌مرحله‌ای نانوذره‌های مس اکسید دوست‌دار محیط‌زیست با عصاره آبی برگ گیاه چای ترش را نشان داده است. برگ گیاه به‌عنوان یک عامل کاهنده و پایدار کننده در تهیه نانوذره‌های مس اکسید به‌کارگرفته شده است. یکی از محدودیت‌ها در اکثر روش‌های تهیه نانوذره‌ها، پراکنش زیاد نانوذره‌ها است. این محدودیت بزرگ را می‌توان با روش‌های متفاوت مانند، تغییر pH، حجم و غلظت عصاره گیاهی، غلظت محلول نمکی و زمان، رفع کرد و دامنه تغییر اندازه نانوذره‌ها را کاهش داد و به یک شرایط بهینه و مناسب دست پیدا کرد. در این مطالعه نیز تأثیر عامل‌های موثر ذکر شده بررسی و بهینه شدند. شکل و اندازه نمونه به‌دست آمده با شرایط اعمال‌شده مورد مطالعه قرار گرفت. به‌طورکلی، با توجه به نتیجه‌ها این پژوهش و سایر گزارش‌ها مبنی بر تولید نانوذره‌ها با مواد زیستی مانند ریزاندامگان، بیوماس گیاهی و حتی عصاره‌های گیاهی، می‌توان روش‌های زیستی و سبز را به‌عنوان روش‌های مکمل برای روش‌های فیزیکی و شیمیایی تولید این نانوذره‌ها قلمداد کرد. افزون‌براین، با در نظر گرفتن

بر پایه سایر پژوهش‌های انجام شده در زمینه تهیه گیاهی نانوذره‌ها، گیاه می‌تواند نقش عامل کاهنده و پایدارکننده را ایفا کند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که مولکول‌هایی مانند قنل‌ها، فلاونوئیدها و پروتئین‌ها در گیاهان این نقش را بازی می‌کنند [۳۸]. پیش از این نیز تأثیر وجود این مولکول زیستی بر تهیه نانوذره‌ها گزارش شده است [۳۹]. نقش سایر مولکول‌های زیستی مانند گلوکز و مالتوز در تثبیت نانوذره‌ها نیز گزارش شده است [۴۰]. فلاونوئیدها نیز همین نقش را دارند و برخی از پژوهش‌ها وجود این گروه از ترکیب‌های ثانویه را دلیل سنتز نانوذره‌های فلزی دانسته‌اند [۴۰]. همان‌طوری که بیان شد، گیاه چای ترش نیز دارای ترکیب‌های طبیعی فراوانی چون پاداکسیدان‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها و غیره است که طیف فروسرخ تبدیل فوریه عصاره آبی این گیاه در این پژوهش این ادعا را ثابت می‌کند.

نتیجه‌گیری

استفاده از ظرفیت بالای گیاهان، ما را به‌دست یافتن به نانوذره‌هایی با پایداری خیلی بیشتر از روش‌های شیمیایی

سیاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان لازم می‌دانند که مراتب سپاس خود را از حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه سیستان و بلوچستان برای ارایه این مقاله اعلام کنند.

جنبه‌های ایمنی و زیست‌محیطی تولید نانوذره‌ها، این روش‌ها به‌عنوان روش‌های دوستدار محیط‌زیست نیز مورد توجه هستند.

مراجع

- [1] Dubeya, S.H.P.; Lahtinen, M.; Sillanpaa, M.; *Process Biochem.* 45(7), 1065–71, 2010.
- [2] Dwivedi, A.G.; Gopoi, K.; *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 369(1-3), 27-33, 2010.
- [3] Mock, J.J.; Barbic, M.; Smith, D.R.; Schultz, D.A.; Schultz, S.; *J. Chem. Phys.* 116(15), 6755-59, 2002.
- [4] Gardea-Torresdey, J.L.; Gomez, E.; Peralta-Videa, J.R.; Parsons, J.G.; Troiani, H.; Troiani, M.; *Langmuir.* 19(4), 1357-1361, 2003.
- [5] Mahendra, R.; Alka, Y.; Aniket, G.; *Biotechnol. Adv.* 27(1), 76-83, 2009.
- [6] Govindaraju, K.; Tamilselvan, S.; Kiruthiga, V.; Singaravelu, G.; *J. Biopestic.* 3(1), 394–399, 2010.
- [7] Nanda, A.; Saravanam, M.; Hil, M.P.; *Nanomedicine* 5, 452-456, 2009.
- [8] Zhanjiang, Z.; Jinpei, L.; *Rare Metal Materials and Engineering* 41(10), 1700-1705, 2012.
- [9] Gajbhiye, M.; Kesharwani, J.; Ingle, A.; Gade, A.; Rai, M.; *Nanomed NBM.* 5, 382-6, 2009.
- [10] Shahverdi, A.R.; Minaeian, S.; Shahverdi, H.R.; Jamalifar, H.; Nohi, A.A.; *Proc Biochem.* 42, 919-23, 2007.
- [11] Shankar, S.S.; Rai, A.; Ahmad, A.; Sastry, M.; *J Colloid Interface Sci.* 275, 496-502, 2002.
- [12] Jianrong, C.; Yuqing, M.; Nongyue, H.; Xiaohua, W.; Sijiao, L.; *Biotech. Advances* 22, 505-518, 2004.
- [13] Ahmad, N.; Sharma, S.; Alam, M.K.; Singh, V.N.; Shamsi, S.F.; Mehta, B.R.; Anjum, F.; *Colloids Surf. B.* 81, 81-86, 2010.
- [14] Wang, Y.; He, X.; Wang, K.; Zhang, X.; Tan, W.; *Colloids and surfaces B, Colloids Surf.* 73, 75-79, 2009.
- [15] Toghroli, H.; Saravani, H.; *Nanoscale* 5(1), 23-32, 2018.
- [16] Salavati-Niasari, M.; Davar, F.; *Mater. Lett.* 63, 441–443, 2009.
- [17] Asemani, M.; Anarjan, N.; *Green Process Synth.* 8, 557-567, 2019.
- [18] Vijay Kumar, P.P.N.; Shameem, U.; Kollu, P.; Kalyani, R.L.; Pammi, S.V.N.; *BioNanoSci.* 5, 135-139, 2015.
- [19] Shi, L-B.; Tang, P.F.; Zhang, W.; Zhao, Y.P.; Zhang, L.CH.; Zhang, H.; *Trop J Pharm Res.* 16(1), 185-192, 2017.
- [20] Mehrzadeh, M.; Valizadeh, J.; Ghasemi, A.; *J. Med. Plants.* 16(64), 107-122, 2017.
- [21] Olusola, O.A.; Olusola, A.O.; Bada, S.O.; Obi, F.O.; *Am. J. Biochem.* 2(2), 1-6, 2012.
- [22] Yurdiansyah, A.; Suhartanti, D.; *IC-GWBT (Conferences)*, 23-24, 2012.
- [23] Nune, S.K.; Chanda, N.; Shukla, R.; Katti, K.; Kulkarni, R.R.; Thilakavathi, S.; Mekapothula, S.; Kannan, R.; Katti, K.V.; *J. Mater. Chem.* 19, 2912 – 2920, 2009.
- [24] Thovhogi, N.; Diallo, A.; Gurib-Fakim, A.; Maaza, M.; *Journal of Alloys and Compounds* 647, 392-396, 2015.
- [25] Azizian Shermeh, O.; Einali, A.; Ghasemi, A.; *Adv Powder Technol.* 28, 3164-3171, 2017.
- [26] Azizian Shermeh, O.; Valizadeh, M.; Taherizadeh, M.; Beigomi, M.; *Appl Nanosci.* 10, 2907-2920, 2020.
- [27] Thamer, N.A.; Muftin, N.Q.; Al-Rubae, S.H.N.; *Asian J. Chem.* 30(7), 1559-1563, 2018.

- [28] Waghmar, S.S.; Deshmukh, A.M.; Sadowski, Z.; Afr. J. Microbiol. Res. 8 (2), 138-146, 2014
- [29] Armendariz, V.; Herrera, I.; Peralta-Videa, J.R.; Jose-Yacaman, M.; Troiani, H.; Santiago, P.P.; J Nanopart Res. 6(4), 377-85, 2014.
- [30] Supraja, S.; Mohammed Ali, S.; Chakravarthy, N.; Jayaprakash Priya, A.; Sagadevan, E.; Kasinathan, M.K.; Sindhu, S.; Arumugam, P.; Int J Chem Tech Research. 5 (1), 271-77, 2013.
- [31] Shenya, D.S.; Mathewa, J.; Philip, D.; Spectrochim Acta A. 79(1), 254-62, 2011.
- [32] Philip, D.; Physica E. 42(5), 1417-24, 2010.
- [33] Azizian-Shermeh, O.; Taherizadeh, M.; Valizadeh, M.; Valizadeh, J.; Qasemi, A.; Naroei, B.; Qom Univ Med Sci J. 11(5), 38-52, 2017.
- [34] Azizian-Shermeh, O.; Valizadeh, J.; Noroozifar, M.; Qasemi, A.; Valizadeh, M.; Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 1(4), 1-18, 2016.
- [35] Azizian-Shermeh, O.; Valizadeh, J.; Noroozifar, M.; Qasemi, A.; Journal of Ilam University of Medical Sciences, 24(5), 92-108, 2016.
- [36] Azizian-Shermeh, O.; Taherizadeh, M.; Valizadeh, M.; Qasemi, A.; Beigomi, M.; Kamali Deljoo, M.; Journal of Food Technology and Nutrition, 16(1), 31-48, 2019.
- [37] Azizian-Shermeh, O.; Jalali-Nezhad, A.A.; Taherizadeh, M.; Qasemi, A.; J Inorg Organomet Polym, 31, 279-291, 2021.
- [38] Etemadi, M.; Mohebbi-Kalhari, D.; Azizian-Shermeh, O.; Qasemi, A.; J Fasa Univ Med Sci. 9 (3), 1632-1645, 2017.
- [39] Marambio-Jones, C.; Hoek, E.M.V.; J Nanopart Res. 12(5), 1531-51, 2010.
- [40] Chaloupka, K., Malam, Y.; Seifalian, A.M.; Trends Biotechnol. 28, 580-588, 2010.

Optimization and characterization of plant-mediated green synthesis of copper oxide nanoparticles using leaf aqueous extract of *Hibiscus Sabdariffa* L.

Sahar Sadeqnia¹, Ebrahim Mollashahi^{2,*}, Alireza Einali³ and Omid Azizian-Shermeh⁴

1. M.Sc. student in Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.
2. Assistant Prof. in Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.
3. Associate Prof. in Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.
4. PhD student in Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.

Abstract: Physical and chemical methods for synthesis of nanoparticles are not cost-efficient. Present study is the first report to phytosynthesis of Copper Oxide nanoparticles using leaf aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* L. In this research, 2 ml of extract was added to 4 ml of $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ with concentration 10 mM. In order to obtain nanoparticles with uniform shape and size, the parameters affecting synthesis, such as: pH of reaction, volume and concentration of extract, concentration of copper salt, and time of reaction were studied and all of them were optimized by UV-Vis spectrophotometry technique. Transmission Electron Microscopy (TEM) and Fourier Transformation Infra-Red (FTIR) spectroscopy were used for investigating the shape and size of nanoparticles and detection of the functional groups involved in the synthesis and stabilization copper oxide nanoparticles, respectively. Results showed that the extract of *Hibiscus sabdariffa* L. can reduce the Cu^{2+} ions to Cu^0 atoms with nano metric size and the color of solution changed to green. The TEM image of CuO NPs showed that the average size was between 10-20 nm and all of them had spherical shape. Also, the best condition for the synthesis of copper oxide nanoparticles was at pH= 8, 9 ml of extract with concentration of 5 %, and $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ with concentration of 10 mM. These nanoparticles were very stable up to 6 days after synthesis.

Keywords: Cupper oxide nanoparticles, Green synthesis, *Hibiscus sabdariffa* L., Optimization