

سنتز زیستی نانوذرات طلا با استفاده از عصاره اندامهای هوایی گیاه دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum L.*)

امین باقی‌زاده^{۱*}، نعیمه سالاری^۲، حسن کریمی مله^۳ و مهلا اسدی^۴

^۱ ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

^۲ ایران، جیرفت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه مهندسی کشاورزی

^۳ ایران، قوچان، دانشگاه صنعتی قوچان، آزمایشگاه نانوفناوری، گروه مهندسی شیمی

^۴ ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶



چکیده

روشهای فیزیکی و شیمیایی متعددی جهت تولید نانو ذرات فلزی در مقیاس تجاری، جهت دستیابی به اهداف زیستی و غیر زیستی مورد بررسی قرار گرفته است. امروزه یکی از کارآمدترین روشهای سنتز نانو ذرات، روش سنتز سبز یا بیوسنتز نانو ذرات توسط گیاهان می باشد. در این تحقیق، بیوسنتز نانو ذرات طلا با استفاده از عصاره زیست توده اندامهای هوایی زیره سبز انجام شد. بیشترین تبدیل یونهای طلا به نانو ذرات طلا در شرایط بهینه دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، pH = ۱۰ و مدت زمان ۲۰ دقیقه صورت گرفت. آنالیزهای اسپکتروفتومتری، میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراش اشعه ایکس به منظور بررسی تولید نانو ذرات انجام شد. آنالیز طیف سنجی و وجود پیک در ۵۵۰ نانومتر، حاکی از سنتز زیستی این نانو ذرات در عصاره زیست توده اندامهای هوایی زیره سبز می باشد. نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری، تولید نانو ذرات تقریباً کروی شکل با میانگین اندازه حدود ۲ تا ۱۰ نانومتر را تأیید کرد. همچنین نتایج آنالیز پراش اشعه ایکس، نانو کریستالهای سنتز شده به وسیله عصاره زیست توده اندامهای هوایی زیره را نشان داد. منحنی نایکویست الکتروود خمیر کربن ساده و خمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات طلا، تأییدی بر هدایت الکتریکی نانو ذرات طلا و وجود آنها در عصاره گیاهی است.

واژه های کلیدی: سنتز زیستی؛ نانو ذرات طلا؛ زیره سبز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۴۱۴۱۵۶، پست الکترونیکی: amin_4156@yahoo.com

مقدمه

دنیای نانو، دنیای اتمها و مولکولهاست. نانوفناوری، خلق، دست‌ورزی و استفاده از مواد نانو مقیاس (۱۰۰-۱ نانومتر) است و به عنوان یکی از توانمندترین دانشهای بشری با کنترل مواد در مقیاس مولکولی، گشایش اسرار طبیعت در تمام عرصه‌ها را نوید می‌دهد. یکی از محصولات مهم این فعالیت، ذرات فلزی در مقیاس نانومتری است که در اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر تولید می‌شوند (۲۷ و ۲۸). امروزه در سراسر جهان به سبب شیوع بیماریهای عفونی به دلیل باکتریهای بیماریزای مختلف و افزایش مقاومت به آنتی بیوتیکها، شرکتهای داروسازی و محققان در حال جستجوی عوامل ضدباکتریایی جدید هستند و نانو ذرات طلا به عنوان عوامل ضد باکتریایی، ضد

اسیدیته سه تولید شد و مشخص گردید با بالا رفتن اسیدیته، پایداری و یکنواختی نانوذرات تولیدی بیشتر می‌شود (۳۰). محمدی نژاد و همکاران نیز نانو ذرات نقره را با استفاده از گیاه زنده و عصاره بذر گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*) سنتز نمودند (۹). نتایج این محققین نشان داد که ماریتیغال به آسانی می‌تواند نانو ذرات نقره دایره‌ای شکل با قطر ۲۵-۱ نانومتر را به شکل مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست تولید نماید (۹). یعقوبی و کاوسی در سال ۱۳۹۶، سنتز زیستی نانوذرات نقره به وسیله عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی را گزارش کردند (۱۰). در این مطالعه از عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی به عنوان عامل کاهنده برای تولید زیستی نانو ذرات نقره استفاده شده است. نانو ذرات حاصله برای تعیین اندازه، خواص ساختاری، خواص اپتیکی، مورفولوژی و ریخت شناسی به ترتیب با دستگاه‌های پراش اشعه ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیلی و میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. تشکیل نانو ذرات زیستی نقره در محدوده ۴۰۰ الی ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر نشان داده شده است. اندازه و مورفولوژی این نانو ذرات توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری تعیین شده که شکل ذرات کروی و اندازه متوسط آنها در حدود ۷۰-۳۰ نانومتر است (۱۰). رضایی و همکاران در سال ۱۳۹۵ جهت ارزیابی اثرات سمیت سلولی نانوذرات طلا تولید شده توسط سلولهای باکتریایی، با مطالعات اسپکتروفوتومتری و XRD ابتدا تشکیل نانو ذرات طلا را تأیید نمودند و با تصاویر TEM نشان دادند که اندازه نانو ذرات طلای تولیدی در حدود ۱۰-۷۰ نانومتر بوده است (۴). در این تحقیق آزمون MTT نشان داد که نانوذرات طلا

و ویروسی، ضد سرطانی و ضد فساد توسعه پیدا کرده‌اند (۲۳ و ۳۱). روشهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مختلفی برای توسعه و سنتز نانو ذرات فلزی به کار برده شده‌اند (۱۸ و ۱۶). در سالهای اخیر روش بیوسنتز با استفاده از عصاره گیاهان توجه بیشتری را نسبت به روشهای فیزیکی و شیمیایی به خود اختصاص داده است (۳۳ و ۵). امروزه سنتز سبز به عنوان روشی ساده، کم هزینه، غیر سمی، سازگار با محیط زیست و کارآمد شناخته شده است (۲۵ و ۱۴). گیاهان دارویی حاوی ترکیبات مؤثره مانند فلاونوئیدها، ترپنها، آلکالوئیدها و آنتی اکسیدانها می‌باشند که جزء عوامل اصلی کاهنده بوده و باعث تبدیل ذرات فلزی به نانو ذرات می‌شوند (۲۷). مشخص شده است در گیاهان *Macrotyloma*، *Justicia gendarussa* و *Syzygium aromaticum* و *uniflorum* ترکیبات مؤثره پلی‌فنول، فلاونوئید و گروههای عاملی در سنتز نانو ذرات طلا نقش کلیدی داشته‌اند (۱۳)، ۱۹ و ۲۶). سنتز نانو ذرات طلا و نقره با استفاده از عصاره گیاه آب قاشقی (*Centella asiatica*) (۱۵)، عصاره میوه گیاه انگور فرنگی (*Phyllanthus emblica*) (۱۲)، عصاره پوست دارچین (*Cinnamomum verum*) (۲۹)، ریشه گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) (۱۷) و عصاره برگ گیاه تاج خروس (*Amaranthus spinosus*) (۱۶) انجام شده است. بهارآرا و رمضان، سنتز نانو ذرات طلا با استفاده از گیاه کامل و عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، به شکل کروی و ستاره‌ای در اندازه ۱۰۰ نانومتر را گزارش نموده‌اند (۲). سنها و همکاران در سال ۲۰۱۱ سنتز نانوذرات طلا توسط زیره را مورد بررسی قرار دادند (۳۰). در این تحقیق، ذرات نانو در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و

میکرولیتر از محلول نیترات طلا ترکیب شد، تغییر رنگ محلول در دمای اتاق نشانه تولید نانوذرات طلا می باشد.

تعیین ویژگیهای نانو ذرات طلا

بررسی طیف جذبی نانو ذرات سنتز شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر: باتوجه به اینکه طلا دارای پیک حداکثر جذب در محدوده ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر می باشد، در این تحقیق برای بررسی بیوسنتز نانو ذرات طلا از دستگاه اسپکتروفتومتر (نانودراپ محصول شرکت آنالیتیک جنا کشور آلمان) در طول موج ۶۸۰-۳۵۰ نانومتر استفاده گردید. از آب دیونیزه نیز به عنوان کنترل منفی استفاده شد. نمودارهای طیف جذبی نمونه‌های مورد مطالعه، توسط نرم افزار اکسل رسم و در نهایت با استفاده از مخلوط محلول طلا و عصاره، اثر عواملی چون زمان، دما و pH مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری: ابتدا دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری با استفاده از نمک نیترات طلا کالیبره شد و سپس نمونه های تیمار شده ای که پیکهای مناسبی در طیف اسپکتروفتومتری داشتند برای استفاده در آنالیز میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفتند. برای این کار ۵ ppm از عصاره تیمار شده با آب دیونیزه به حجم ۵۰ میلی لیتر رسید. پس از اینکه فرآیند سنتز نانو ذرات طلا تکمیل شد، به منظور تغلیظ نانو ذرات بیوسنتز شده، محلول کلونیدی نانو ذرات با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی را دور ریخته و به منظور شستشو و پراکنده کردن نانو ذرات ته نشین شده، با اضافه کردن آب دیونیزه، عمل سانتریفیوژ ۳ بار تکرار گردید. پس از هر بار سانتریفیوژ فاز رویی جدا و به ماده ته

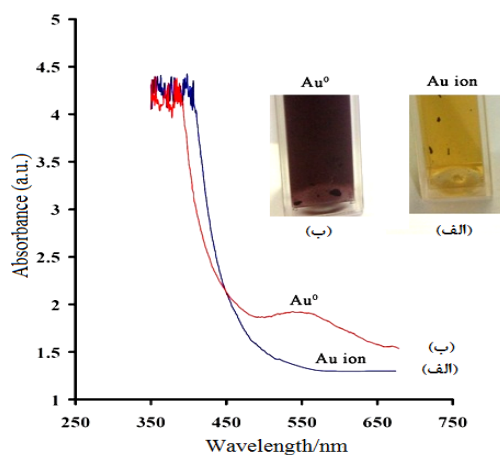
دارای اثر سمیت پایینی بوده و این اثر به دز مصرفی آنها وابسته است (۴). زیره سبز با نام علمی *Cuminum* *cyminum* L. از خانواده *Apiacea*، گیاهی یکساله، معطر، بدون کرک (به جزء میوه)، ساقه علفی به ارتفاع ۶۰ سانتیمتر با انشعابات دو تایی و گاهی سه تایی می باشد. ساقه گیاه شیار دار بوده و دارای بافت کلانشیم محیطی است. ریشه آن دراز و باریک به رنگ سفید، ساقه آن راست و برگهایش به شکل نوار باریک و گل آذین از نوع چتر مرکب می باشد (۷). این گیاه به علت خصوصیات منحصر به فرد، از جمله مواد مؤثره آن و همچنین دارا بودن خواص دارویی مورد توجه قرار گرفته است. گیاه زیره سبز به علت دارا بودن مواد معطر و ترکیبات ثانویه زیاد، توانمندی بیشتری برای تولید نانو ذرات طلا دارد. در این پژوهش بیوسنتز نانو ذرات طلا به وسیله عصاره حاصل از اندامهای هوایی گیاه زیره سبز مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روشها

تهیه عصاره: جهت عصاره گیری از روش خیساندن در حرارت استفاده شد. ۱۰ گرم از اندامهای هوایی گیاه زیره سبز پس از توزین، چندین مرتبه توسط آب دیونیزه و به منظور حذف آلودگیهای سطحی شستشو داده شد. سپس به ۵۰ میلی لیتر آب در حال جوشیدن اضافه و پس از گذشت ۳۰ دقیقه عصاره به دست آمده از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. در تمام مراحل آزمایش از عصاره تازه استفاده گردید.

بیوسنتز نانو ذرات: ابتدا ۰/۰۳۴ گرم نمک نیترات طلا توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل گردید و محلول پایه ۰/۰۰۱ مولار به دست آمد. به منظور سنتز نانو ذرات طلا با عصاره، میزان ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۱۰۰

نشان دهنده تولید سوسپانسیون کلوئیدی نانوذرات طلا بود. جهت اثبات وجود نانو ذرات طلا در نمونه‌ها، طیف UV- visible آنها تهیه شد. با توجه به اینکه نانو ذرات طلا بین ۵۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر جذب نور دارند، نمودار ب در شکل شماره ۱ در مقایسه با نمودار الف همان شکل نشان می‌دهد باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در ۵۵۰ نانومتر برای نانو ذرات طلا رخ داده است. بنابراین وجود پیک در این محدوده گامی در جهت ثابت کردن سنتز نانو ذرات طلا می‌باشد. جا به جا شدن پیکها و تغییر در شدت آنها و ایجاد تغییرات در رنگهای مشاهده شده عواملی هستند که به اندازه نانو ذرات وابسته‌اند، به بیان دیگر ویژگیهای نوری نانو ذرات طلا، به شدت وابسته به قطر نانو ذرات است (۳۲). همچنین ثابت شده است عوامل محیطی از قبیل زمان، دما و pH نیز بر میزان نانوذرات تولیدی تأثیر می‌گذارند.



شکل ۱- طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش - مرئی عصاره اندامهای هوایی زیره سبز مخلوط شده با نمک طلا الف- نمونه یون طلا با رنگ زرد و طیف اسپکتروفتومتری مربوط به آن ب- نمونه نانو ذره طلا با رنگ قهوه ای و طیف اسپکتروفتومتری مربوط آن

بررسی اثر زمان بر بیوسنتز نانو ذرات طلا: شکل شماره ۲ منحنی جذبی مربوط به محلولی از نمک طلا و عصاره در زمانهای مختلف ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه را نشان می

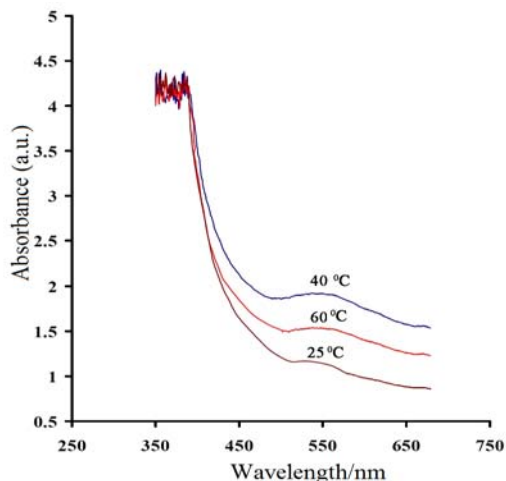
نشین شده، آب دیونیزه اضافه گردید. پس از عمل سانتریفیوژ، سوسپانسیون باقی مانده بر روی ویفر سیلیکونی نشانده شد و نمونه خشک شده برای تجزیه و تحلیل اشعه ایکس مورد استفاده قرار گرفت.

روش پراش (XRD): روش پراش (XRD) اثبات می‌کند که ذرات سنتز شده به صورت نانو کریستال طلا می‌باشند. جهت آماده سازی برای آنالیز XRD پس از سنتز نانو ذرات طلا، نمونه‌ها را با دستگاه اولترا سانتریفیوژ و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده، سپس محلول رویی دور ریخته شده و نانو ذرات ته نشین شده جهت آنالیز اشعه ایکس، بررسی می‌شوند. در این بررسی برای تابش اشعه X از دستگاه پراش پرتو $\alpha\text{Cu K } (\lambda = 1.5418 \text{ \AA})$ استفاده شد. برای تمامی نمونه های مورد استفاده، ولتاژ دستگاه برابر ۴۳ kV و آمپراژ آن برابر mA ۹۳ بود. طول گامها ۳ و زمان توقف در هر گام برابر ۳۴ برای تغییر زاویه ۳/۴ ثانیه در نظر گرفته شد.

آمپدانس الکتروشیمیایی: یکی از تواناییهای نانو ذرات سنتز شده، انتقال الکترون و کاهش مقاومت آنها می‌باشد. برای اثبات وجود فعال نانوذرات تولیدی و بررسی تأثیر آنها بر سیگنالهای الکتریکی، از روش آمپدانس الکتروشیمیایی استفاده شد.

نتایج

مطالعات طیفی اسپکتروفتومتری: در اثر احیای یونهای طلا و تولید نانو ذرات، رنگ نمونه‌ها از زرد کمرنگ (شکل ۱ - الف) به قهوه‌ای (شکل ۱- ب) تبدیل شد که با منابع همخوانی داشته (۹ و ۲) و

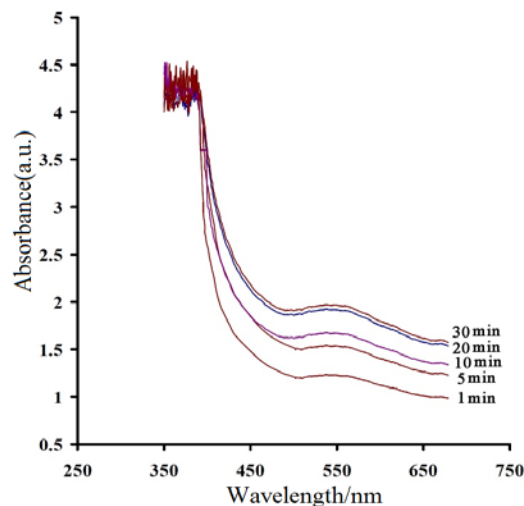


شکل ۳- اثر دما بر بیوسنتز نانو ذرات طلا

بررسی اثر pH بر بیوسنتز نانو ذرات طلا: در این مطالعه هر سه حالت خنثی، اسیدی و بازی مورد آزمایش قرار گرفت. برای تنظیم شرایط pH از سود و یا اسید کلریدریک استفاده شد. اثر pH-های مختلف ۵، ۷، ۱۰ و ۱۱ در شرایط زمان بهینه شده ۲۰ دقیقه و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۴). همان طوری که در شکل ۴ دیده می شود با افزایش pH از مقدار ۵ به ۷ و سپس به ۱۰ میزان تولید بیشتر شده است اما با افزایش pH به ۱۱ یا تغییری در تولید حاصل نمی شود و شرایط سنتز ثابت می ماند و یا گاهی کاهش سنتز اتفاق می افتد. لذا می توان pH=۱۰ را به عنوان pH مناسب و بهینه انتخاب نمود. فعالیت اکسایش احیاء در سیستم عصاره گیاهان، در شرایط بازی بهتر اتفاق می افتد.

ارزیابی طیف پراش اشعه ایکس حاصل از نانو ذرات طلا: روش پراش اشعه ایکس اثبات می کند که نانو ذرات سنتز شده به صورت نانو کریستال طلا می باشند. در این بررسی تمام طیفهای گرفته شده با طیفهای اشعه ایکس استاندارد مقایسه شد

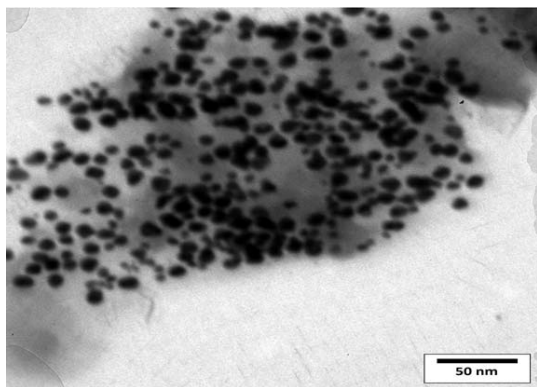
دهد. همان گونه که در شکل دیده می شود میزان تولید نانوذرات با افزایش زمان زیاد شده است اما اختلاف قابل ملاحظه ای بین زمانهای ۲۰ و ۳۰ دقیقه دیده نمی شود از این رو می توان زمان ۲۰ دقیقه را به عنوان زمان بهینه معرفی نمود.



شکل ۲- بررسی اثر زمان بر بیوسنتز نانو ذرات طلا

بررسی اثر دما بر بیوسنتز نانو ذرات طلا: در این مرحله، برای بررسی اثر دما و تعیین شرایط بهینه، مقدار ۵ میلی لیتر نمک طلا با ۵ میلی لیتر از عصاره محلول تهیه شده مخلوط و در زمان بهینه شده ۲۰ دقیقه در محدوده های دمایی ۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد طیف گیری صورت گرفت (شکل ۳). با افزایش دما از ۲۵ درجه سانتی گراد به ۴۰ درجه سانتی گراد میزان تولید نانوذرات افزایش یافت، اما با افزایش دما به ۶۰ درجه سانتی گراد میزان تولید کاهش یافت. لذا به نظر می رسد باید دمای ۴۰ درجه سانتی گراد را به عنوان دمای بهینه انتخاب کرد. با افزایش دما به بیش از ۴۰ درجه سانتی گراد جنبش ذرات بسیار زیاد می شود و در نتیجه ذرات از یکدیگر فاصله می گیرند و طبیعتاً بیوسنتز نانو ذرات کاهش می یابد.

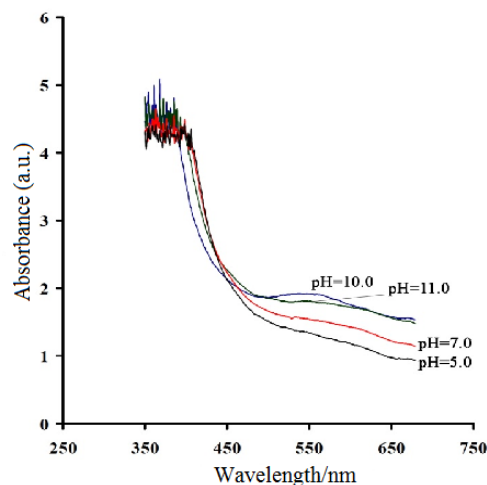
نشان می‌دهد نانو ذرات طلا با ساختار تقریباً کروی و با اندازه در حدود ۲ تا ۱۰ نانومتر سنتز شده‌اند. داده‌ها همخوانی مناسبی با داده‌های به دست آمده با روش پراش پرتوی ایکس و اسپکتروفتومتری دارد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج تحقیق کریشممورتی و همکاران تطابق دارد (۲۱).



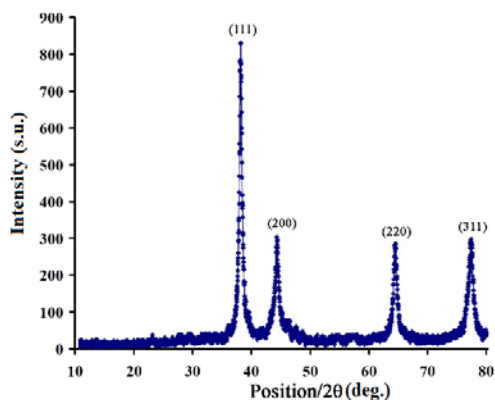
شکل ۶ - طیف TEM حاصل از نانو ذرات طلای سنتز شده

بررسی تأثیرگذاری نانوذرات سنتزی بر انتقال الکترون: برای بررسی تأثیر نانوذرات بر سیگنالهای الکتریکی، از روش آمپدانس الکتروشیمیایی استفاده شد. شکل شماره ۷، طیف نایکوئیست ۰/۱ میلی مولار ترکیب فرو/فری سیانید پتاسیم را در محلول ۰/۱ مولار کلرید پتاسیم در سطح الکتروود خمیر کربن ساده (a) و خمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات طلا (b) را نشان می‌دهد. در حضور نانو ذرات طلا سطح رسانا شعاع نیم دایره مربوط به طیف امپدانس، کم شده که تأییدی بر کاهش مقاومت انتقال الکترون و رسانندگی نانو ذرات طلاست. نتایج به دست آمده در تحقیق خلیفه سلطانی و همکاران، مشابه نتایج تحقیق مذکور می باشد (۳).

و حضور به ترتیب پیکهای (۱۱۱) (۲۰۰) (۲۲۰) و (۳۱۱) در موقعیتهای حدود ۳۸ درجه، ۴۴ درجه، ۶۳ درجه و ۷۷ درجه نشان از وجود نانو ذرات طلا بوده که تأییدی بر سنتز صحیح نانو ذرات طلا می‌باشد (شکل ۵). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج خلیفه سلطانی و همکاران (۳) و اسکندری و همکاران (۱) تطابق دارد.



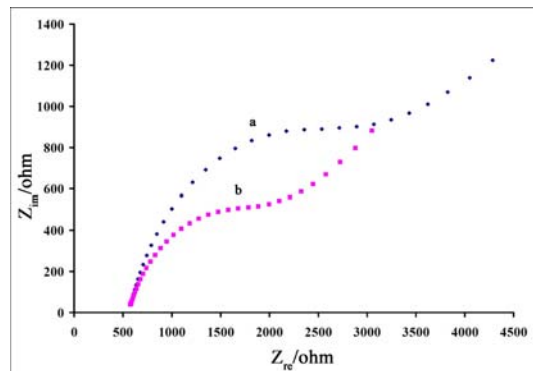
شکل ۴- بررسی اثر pH بر بیوسنتز نانو ذرات طلا



شکل ۵- الگوی XRD نانو ذرات طلای سنتزی

مطالعات میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM): به منظور مقایسه ساختار، مورفولوژی و یکنواختی توزیع نانو ذرات تولید شده، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه شد. شکل ۶

ذرات طلا با استفاده از گیاه از کمک را مورد بررسی قرار داده‌اند. در پژوهش مذکور اندازه نانو ذرات در حدود ۶۰ نانومتر و شکل آنها کروی بیان شده است (۱). کریشما مورتی، سنتز سبز نانو ذرات طلا با استفاده از عصاره گل گیاه جعفری را به عنوان روشی زیست سازگار بررسی کرده‌است. نانو ذرات به دست آمده توسط روشهای اسپکتوفتومتری، تفرق اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی گردیده است. آنها اعلان کردند که اندازه ذرات مثلث شکل حدود ۲۰۰ نانومتر و ذرات کروی مانند، اندازه‌ای کوچکتر و در حدود ۸-۱۰ نانومتر دارند (۲۱). حال آنکه در پژوهش حاضر، نانو ذرات طلا در اندازه حدود ۲ تا ۱۰ نانومتر و به شکل تقریباً کروی تولید شدند. یکی از دلایل اصلی تفاوت در شکل و اندازه نانو ذرات تولیدی غلظت عصاره گیاهی مورد استفاده می باشد. تعیین غلظت بهینه برای هر گیاه و هر نانو ذره ای می تواند در تولید حداکثری و اقتصادی نانو ذرات بسیار مفید باشد. علاوه بر این نوع ترکیبات موجود در عصاره های گیاهی مختلف، بسته به نوع گیاه متفاوت می باشد و بدیهی است این موضوع باعث تغییر در شکل و خصوصاً میزان تولید نانو ذرات می شود. فعالیت بهینه بیومولکولها به شدت نسبت به pH محیط مجاور حساس است گزارش شده است که pH محیط نقش بسیار مؤثری در کنترل اندازه ذرات ایفاء می کند. نانو ذرات بزرگتر در pH پایین تر تشکیل می شوند. در pH اسیدی، تجمع نانو ذرات بزرگتر اطراف هسته جهت تکمیل نانو ذره جدید اتفاق می افتد. در pH قلیایی، وجود تعداد زیادی از گروههای عملکردی برای بانند شدن طلا یا نقره، موجب تشکیل تعداد زیادی از نانو ذرات با



شکل ۷- منحنی نایکوئیست الکتروکود خیمیر کربن ساده (a) و الکتروکود خیمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات طلا (b)

بحث

تهیه زیستی آسان نانو ذرات با کنترل اندازه و شکل در روشهای ارائه شده از اهمیت فراوانی برخوردار است (۱۳). گیاهان زیادی وجود دارند که قابلیت ساخت نانو ذرات و استفاده در چنین صنعت ارزشمند و گران بهایی را دارند ولی هنوز ناشناخته باقی مانده‌اند (۱۱ و ۲۴). فرآیند ساده احیای یونهای فلزی و تولید نانو ذرات، به وسیله متابولیت‌های اولیه و ثانویه ای مانند آنتی اکسیدانها، فلاونوئیدها، فلاونها، ایزوفلاونها، آنتی سیانیدینها، ایزوتیوساناتها، کاروتنوئیدها و پلی فنولها که در عصاره گیاهی وجود دارند صورت می گیرد. طبق نتایج به دست آمده، می توان گفت که گیاه دارویی زیره سبز قابلیت سنتز نانو ذرات طلا را دارا می باشد و با توجه به این که تاکنون استفاده از این گیاه به منظور کاهش زیستی یونهای طلا گزارش نشده است، نتایج حاصل از این تحقیق کارکرد خوب این گیاه را برای اولین بار به وضوح نشان می دهد. در تحقیقاتی که داس و همکاران بر روی بیوسنتز نانو ذرات طلا به وسیله گیاه تاج خروس انجام داده‌اند، اندازه نانو ذرات در حدود ۱۰ تا ۷۰ نانومتر بوده است (۱۶). در پژوهش دیگری، اسکندری و همکاران بیوسنتز نانو

بوده و باعث افزایش هزینه‌های تولید می‌شود (۳). کریشنامورتنی و همکاران سنتز نانو ذرات نقره از طریق تیمار یونهای نقره با استفاده از عصاره گیاه فلفل زینتی را مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند فاز کریستالی نانو ذرات با گذشت زمان از چند کریستالی به تک کریستالی تغییر می‌یابد و اندازه نانوذرات با افزایش زمان واکنش افزایش می‌یابد (۲۱). نتایج محمدی نژاد و همکاران در مطالعه‌ای که روی گیاه ماریتیغال انجام دادند نشان داد که با افزایش دما از ۳۰ درجه سانتی‌گراد به ۶۰ درجه سانتی‌گراد، زمان شروع فرآیند بیوسنتز کاهش می‌یابد. یعنی هنگامی که دما در ۳۰ درجه سانتی‌گراد باشد طی ۴ ساعت اول واکنش بیوسنتز به شکل قابل ملاحظه‌ای اتفاق نمی‌افتد اما در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد پس از دو ساعت فرآیند بیوسنتز آغاز می‌شود (۹). کریمی و همکاران از عصاره گیاه جعفری فرنگی معطر برای بیوسنتز نانو ذره استفاده نمودند. آنها مشخص کردند در مدت زمان ۱۵ دقیقه و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین تبدیل یونهای طلا به نانو ذرات طلا صورت گرفته است (۸). در پژوهش حاضر، تولید نانو ذرات طلا توسط عصاره زیست‌توده اندامهای هوایی گیاه زیره توسط آنالیزهای اسپکتروفتومتری، میکروسکوپ الکترونی عبوری، پراش اشعه ایکس و آمپدانس الکتروشیمیایی به اثبات رسید و مشخص شد بیشترین تولید نانو ذرات طلا توسط عصاره اندامهای هوایی گیاه زیره در مدت زمان ۲۰ دقیقه با دمای بهینه ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در $\text{pH}=10$ ، حاصل می‌گردد.

قطر کوچکتر می‌شوند. در pH بالاتر شکل اکثر نانو ذرات حاصل کروی و چند وجهی می‌باشد و این نشان دهنده نقش بسیار مهم pH در کنترل شکل و سایز نانو ذرات سنتز شده است (۳). یکی از جنبه‌های مورد توجه در سنتز سبز نانوذرات، این است که فرآیند سنتز در دمای اتاق نیز اتفاق می‌افتد. با این حال، درجه حرارت محیط میانکنش، فاکتور بسیار مهمی در تعیین اندازه نانوذرات می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد دمای بالا نه تنها منجر به تولید نانوذرات نقره با یکنواختی شکل می‌شود بلکه تبدیل بالاتری از یونهای نقره را در زمان کوتاه به همراه دارد (۲۲). تحقیق خلیفه سلطانی و همکاران نشان می‌دهد دمای بهینه جهت سنتز نانو ذرات ۳۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. دمای بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش جنبش مولکولها و به هم پیوستگی آنها می‌شود (۳). هوانگ تشکیل نانوذرات نقره را با استفاده از برگ گیاه *Cacumen Platycadi* مطالعه کرد. نتایج این تحقیق نشان داد در دماهای بالا، درصد تشکیل نانو ذرات کروی با اندازه کوچکتر به طور قابل توجهی افزایش یافته در حالی که در دماهای پایین نانو ذرات با اندازه بزرگتر و مقیاس کمتری سنتز می‌شوند (۲۰). کنترل اندازه نانو ذرات، تابع زمان واکنش نیز می‌باشد. تعیین دمای بهینه جهت سنتز نانو ذرات با استفاده از عصاره گیاه بسیار مهم می‌باشد چراکه، در دمای بهینه با گذشت زمان تغییر چشم‌گیری در اندازه سنتز نانو ذرات مشاهده نمی‌شود ضمن آنکه قبل از رسیدن به دمای بهینه نیز میزان تولید نانوذرات ناکافی

منابع

- ۱- اسکندری، م. باقی زاده، ا. دهقان زاده، ح. کریمی مله، ح. ۱۳۹۵. سنتز نانو ذرات طلا با استفاده از گیاه از مک. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نوراصفهان.
- ۲- بهارآرا، ج. رمضانی، ط. ۱۳۹۴. سنتز سبز نانو ذرات طلا توسط گیاه دارویی آویشن شیرازی. مجله زیست شناسی تکوینی، شماره ۲: ۱-۸.
- ۳- خلیفه سلطانی، م. باقی زاده، ا. کریمی مله، ح. ۱۳۹۵. بررسی تنوع ژنتیکی قسمتی از ژرم پلاسما کاکتوس و ارزیابی سنتز نانوذرات طلا توسط این گیاه. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان.
- ۴- رضایی، آ. پورعلی، پ. یحیایی، ب. ۱۳۹۵. بررسی اثرات سمیت سلولی نانوذرات طلای تولیدی توسط *Bacillus cereus* بر روی رده های سلولی هپاتوسیت و فیبروبلاست. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی. جلد (۳): ۲۹-۳۰۱.
- ۵- سمیعی، س. گوهرشادی، ا. ۱۳۸۹. سنتز سبز، شناسایی و اندازه گیری خواص نوری نانوذرات. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۶- ضرابی، م. صفاری، ز. اکبرزاده، ع. ۱۳۹۲. تهیه و کاربردهای زیستی، کاتالیزتی و پزشکی نانوذره های طلا. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی، شماره ۱۳: ۱۷-۹.
- ۷- طرزی، ع. ۱۳۷۴. بررسی اثر شوری بر ترکیبات سازنده اسانس زیره سبز در کشت بافت و گیاه کامل. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی دانشگاه تهران.
- ۸- کریمی، م. کریمی مله، ح. خلیل زاده، م. ع. سعیدی، م. ۱۳۹۳. استفاده از عصاره گیاه جعفری فرنگی معطر برای بیوسنتز نانو ذره طلا. نخستین کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در علوم زیستی و کشاورزی، ص ۵-۱.
- ۹- محمدی نژاد، ر. باقی زاده، ا. پورسیدی، ش. منصوری، غ. ۱۳۹۱. بیوسنتز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاه زنده و عصاره بذر گیاه ماریتیغال. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان.
- ۱۰- یعقوبی، ه. کاوسی، س. ۱۳۹۶. سنتز نانو ذرات نقره به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه مرزنجوش اروپایی (*Origanum majorana*) و بررسی اثرات ضد میکروبی آن. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی. جلد ۳۰ (۲): ۳۱۱-۲۹۹.
- 11- Ahmad N, Bhatnagar S, Saxena R, Iqbal D, Ghosh AK, Dutta R. 2017. Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles: Kinetics, in vitro and in vivo study. *Materials Science and Engineering: C*. 1:78:553-564.
- 12- Ankamwar B, Damle C, Ahmad A, Sastry M. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblica officinalis* fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 5(10):1665-1671.
- 13- Aromal SA, Vidhu VK, Philip D. 2012. Green synthesis of well-dispersed gold nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 31:85(1):99-104.
- 14- Choi O, Deng KK, Kim N-J, Ross L, Surampalli RY, Hu Z. 2008. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water research*. 42(12):3066-3074.
- 15- Das RK, Borthakur BB, Bora U. 2010. Green synthesis of gold nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Centella asiatica*. *Materials Letters*. 64(13):1445-1447.
- 16- Das RK, Gogoi N, Babu PJ, Sharma P, Mahanta C, Bora U. 2012. The synthesis of gold nanoparticles using *Amaranthus spinosus* leaf extract and study of their optical properties. *Advances in Materials Physics and Chemistry*. 28:2(4):275.
- 17- Dinesh S, Karthikeyan S, Arumugam P. 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Glycyrrhiza glabra* root extract. *Arch Appl Sci Res*. 4(1):178-187.
- 18- Dubey SP, Lahtinen M, Sillanpää M. 2010. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry*. 45(7):1065-71.
- 19- Fazaludeena MF, Manickamb C, Ashankyty IM, Ahmed MQ, Bege QZ. 2017. Synthesis and characterizations of gold nanoparticles by *Justicia gendarussa* leaf extract. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 31:2(1):23-34.
- 20- Huang J., 2011. Biogenic Silver Nanoparticles by *Cacumen Platycladi* Extract: Synthesis,

- Formation Mechanism, and Antibacterial Activity. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 50(15): 9095-9106.
- 21- Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. 2012. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. *Journal of Nanoparticle Research*. 1:14(9):1063.
- 22- Li S, Shen Y, Xie A, Yu X, Qiu L, Zhang L, Zhang Q. 2007 Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum* L. extract. *Green Chemistry*. 9(8): 852 - 858.
- 23- Manonmani V, Juliet V, editors. 2011. Biosynthesis of Ag nanoparticles for the detection of pathogenic bacteria in food. *Int Conf Innov Manag Serv IPEDR*.
- 24- MubarakAli D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. 2011. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1:85(2):360-365.
- 25- Noruzi M, Zare D, Davoodi D. 2012. A rapid biosynthesis route for the preparation of gold nanoparticles by aqueous extract of cypress leaves at room temperature, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 94: 84-88.
- 26- Raghunandan D, Bedre MD, Basavaraja S, Sawle B, Manjunath SY, Venkataraman A. 2010. Rapid biosynthesis of irregular shaped gold nanoparticles from macerated aqueous extracellular dried clove buds (*Syzygium aromaticum*) solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1:79(1):235-240.
- 27- Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy SK, Poinern GE. 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*. 8(11):7278-7308.
- 28- Shoseyov O, Levy I. 2008. *Nanobiotechnology: bioinspired devices and materials of the future*: Springer Science & Business Media.
- 29- Smitha S, Philip D, Gopchandran K. 2009 Green synthesis of gold nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* leaf broth. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 74(3):735-739.
- 30- Sneha K, Sathishkumar M, Lee SY, Bae MA, Yun YS. 2011. Biosynthesis of Au nanoparticles using cumin seed powder extract. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 11 (2): 1811-1814.
- 31- Vaidyanathan R, Kalishwaralal K, Gopalram S, Gurunathan S. 2009. RETRACTED: Nanosilver-The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnology Advances*. 27(6):924-937.
- 32- Willets KA, Van Duyne RP. 2007. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu. Rev. Phys. Chem.*. 5(58):267-297.
- 33- Yin H, Langford R, Burrell R. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of ACTICOAT antimicrobial barrier dressing. *Journal of Burn Care & Research*. 20(3):195-200.

Biosynthesis of gold nanoparticles by extract of aerial organs of Cumin (*Cuminum cyminum* L.)

Baghizadeh A.¹, Salari N.², Karimi Maleh H.³ and Asadi M.⁴

¹ Dept. of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran

² Dept. of Agricultural Engineering, Islamic Azad University, Jiroft Branch, Jiroft, I.R. of Iran

³ Dept. of Chemical Engineering, laboratory of nanotechnology, Quchan University of Technology, Quchan, I.R. of Iran

⁴ Dept. of Agricultural Biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

Several physical and chemical methods have been studied for synthesis of metal nanoparticles at commercial scale for use in biological and non-biological purposes.

Nowadays, the green synthesis or biosynthesis method by plants is the most efficient way for synthesis of nanoparticles. In this study, biosynthesis of gold nanoparticles has done by adding gold nitrate in extract of aerial organs biomass of cumin. The highest conversion of gold ions into nanoparticles of gold was achieved under optimal conditions of 40 °C, pH=10 and 20 minutes. Synthesis of gold nanoparticles surveyed by UV-visible spectroscopy, transmission electron microscope (TEM) and X-Ray diffraction (XRD). Spectrophotometric analysis showing absorbance in 550 nm approved synthesis of gold nanoparticles using extract of aerial organs biomass of cumin . TEM analysis showed spherical shape of gold nanoparticles in range of 2-10 nm. Moreover, XRD analysis showed nano crystals synthesis by extract of aerial organs biomass of cumin. Using nyquist plot, electric conduction comparison between simple carbon dough electrode with its modified counterpart with gold nanoparticles verified the presence of gold nanoparticles in Cumin extract.

Key words: biological synthesis; gold nanoparticles; green cumin