Research Article

DOI: 10.22034/IJCHE.2021.276471.1094

DOR: 20.1001.1.17355400.1400.20.118.6.5

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Clove Extract by Three Different Heating Methods and Evaluation of their Properties

M. Anvarinezhad[1], H. Jafarizadeh-Malmiri[2,3*], A. Javadi[4], S. Azadmard-Damirchi[5,6]

1- Ph.D. Student of Chemical Engineering, Department of Food Sciences and Technology, Mamaghan branch, Islamic Azad University

2- Associate Professor of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

3- B. Sc. of Food Science, Department of Food Science and Technology, Shirin Asal Food Industries Group

4- Associate Professor of Food Science, Department of Food Hygiene, Tabriz branch, Islamic Azad University

5- Professor of Food Science, Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Agriculture Engineering, Tabriz University

6- B. Sc. of Food Science, Tabriz University of Medical Sciences

Email: h_jafarizadeh@sut.ac.ir

Abstract

In the present study, zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) have been synthesized using hydroalcoholic clove extract and three accelerated heating methods namely, hydrothermal (at 121 °C and 1.5 bar), microwave irradiation (power of 800 W for 3 min) and conventional heating using a heater and stirrer (at 150 °C for 2 h). Characteristics of the prepared clove extract and synthesized ZnO NPs have been evaluated using GC-MS, XRD and SEM analyses and their antioxidant and antibacterial activities have been measured using DPPH and agar diffusion techniques. GC-MS analysis indicated that the provided extract had contained two main bioactive compounds of Eugenol and β-caryophyllene, which both of them are natural reductant agents. In order to synthesis ZnO NPs, 4 g of zinc nitrate and 20 mL of the provided clove extract had been mixed together and after heating the mixture solutions using three different heating methods, the solutions have been placed into the laboratory furnace adjusted at 400°C for 2h to result in pale yellow powder. Obtained results indicated that the synthesized ZnO NPs using microwave, autoclave and heater and stirrer, had particle size of 45, 50 and 52 nm, antioxidant activity of 89, 85 and 80% and methylene blue degradation of 79, 70 and 66%, respectively. Furthermore, results indicated that the synthesized ZnO NPs have high antibacterial activity against both bacteria strains of Escherichia coli and Staphylococcus aerous.

Received: 9 March 2021
Accepted: 17 June 2021
Page Number: 78-87

Keywords:
Antimicrobial Activity,
Antioxidant Activity,
Clove Extract,
Green Synthesis
Zinc Oxide Nanoparticles

Please Cite this Article Using:

Anvarinezhad, M., Jafarizadeh-Malmiri, H. Javadi, A., Azadmard-Damirchi., S., "Green Synthesis of Zinc oxide Nanoparticles Using Clove Extract by Three Different Heating Methods and Evaluation of their Properties", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 20, No. 118, pp. 78-87, In Persian, (2022).

مقـــالـــه پـــژوهشی

DOI: 10.22034/IJCHE.2021.276471.1094
DOR: 20.1001.1.17355400.1400.20.118.6.5

سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با عصاره میخک و سه روش حرارت‌دهی گوناگون و ارزیابی خواص آن‌ها

مهوش انوری‌نژاد[۱]، هدا جعفری‌زاده مالمیری[۲و۳]، افشین جوادی[۴]، صدیف آزادمرد دمیرچی[۵و۶]

۱- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ممقان
۲- دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند
۳- کارشناس صنایع غذایی، مرکز علمی- کاربردی شیرین عسل
۴- دانشیار صنایع غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
۵- استاد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تبریز
۶- کارشناس صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

پیام نگار: h_jafarizadeh@sut.ac.ir

چکیده

در تحقیق نانوذرات اکسید روی با استفاده ازعصاره هیدروالکلی میخک، به‌عنوان عامل طبیعی کاهنده و با استفاده از سه روش حرارت‌دهی هیدروترمال (دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱/۵ بار به‌مدت ۱۵ دقیقه)، مایکروویو (توان ۸۰۰ وات و برای مدت زمان ۳ دقیقه) و حرارت‌دهی با هیتر همزن‌دار (دمای ۱۵۰ °C و مدت زمان ۲ ساعت) سنتز شد. ویژگی‌های عصاره مذکور و نانوذرات سنتزشده با استفاده از تجزیه‌های GC-MS، XRD، SEM و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی نانوذرات به‌روش DPPH و فعالیت ضدباکتریایی به‌روش انتشار چاهک ارزیابی شد. نتایج حاصل از GC-MS نشان داد که عصاره مذکور حاوی ترکیبات اصلی احیاکننده شامل اوژنول و بتاکاریوفیلن است. ۴ گرم نمک نیترات روی و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر عطرمایهٔ میخک با هم، مخلوط و پس از حرارت‌دهی با سه روش مذکور، در کوره با دمای ۴۰۰ °C و برای مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا پودر زردرنگ نانوذرات اکسید روی حاصل شود. نتایج نشان داد که متوسط اندازهٔ بلورینگی نانوذرات سنتزشده با استفاده از مایکروویو، اتوکلاو و هیتر همزن‌دار به‌ترتیب ۴۵، ۵۰ و ۵۲ نانومتر است. هم‌چنین با سه روش مذکور نانوذرات اکسید روی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۸۹، ۸۵ و ۸۰ درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد و خاصیت رنگ‌بری متیلن‌بلو تا ۷۹، ۷۰ و ۶۶ درصد است. هم‌چنین نتایج نشان داد که نانوذرات سنتزشده خاصیت ضدباکتریایی بالایی در برابر هر دو گونهٔ باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس، دارند.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۷
شماره صفحات: ۷۸ تا ۸۷

کلیدواژه‌ها:
خاصیت ضدمیکروبی،
خاصیت آنتی‌اکسیدانی،
سنتز سبز،
عصاره میخک،
نانوذرات اکسید روی،
مایکروویو،
اتوکلاو

* تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکدهٔ مهندسی شیمی

استناد به مقاله:
انوری‌نژاد، م.، جعفری‌زاده مالمیری، هـ، جوادی، ا.، آزادمرد دمیرچی، ص.، "سنتز سبز نانوذرات اکسید روی با عصاره میخک و سه روش حرارت‌دهی گوناگون و ارزیابی خواص آن‌ها"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیستم، شماره ۱۱۸، صص. ۷۸-۸۷، (۱۴۰۰).

۱. مقدمه

فناوری نانو در دهۀ گذشته به‌دلیل داشتن نقش مهم و اساسی در بسیاری از زمینه‌های علوم، بسیار طرفدار به دست آورده است[۱]. در بین نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره و طلا، و در بین نانوذرات اکسید فلزی، نانوذرات اکسید روی و دی‌اکسید تیتانیوم به‌دلیل خواص بی‌مانندشان، به‌طور گسترده در دستگاه‌های پزشکی، الکترونیک، زیست سنسورها و صنایع غذایی استفاده می‌شوند[۳و۲]. ویژگی های نانوذرات به‌طورکلی به‌وسیلۀ اندازه، شکل، مساحت سطح و پراکندگی آن ها تعیین می‌شود[۴]. نانوذرات مدت‌ها فقط با روش‌های فیزیکی و شیمیایی تولید می‌شدند که این روش‌های فیزیکی و شیمیایی سنتز نانوذرات معمولاً گران‌قیمت هستند و به دما و فشار بالا نیاز دارند و به‌دلیل تولید مواد شیمیایی سمی، برای محیط زیست و موجودات زنده، سمی و خطرناک هستند؛ اما پیشرفت‌های اخیر نقش مهم سامانه‌های بیولوژیکی (روش‌های سبز) را در تولید نانوذرات فلزی نشان می‌دهد که می‌توانند جایگزین خوبی برای روش‌های فوق باشند. روش سبز کم‌هزینه، ساده و سازگار با محیط زیست و دارای قابلیت سنتز در مقیاس بالاست[۶و۵]. در روش سبز سنتز نانوذرات از سامانه‌های بیولوژیکی مختلف مانند باکتری، قارچ، مخمر و عصاره گیاهان استفاده می‌شود[۷]. در سنتز میکروبی نانوذرات که با استفاده از گونه‌های مختلف ریزاندام‌ها انجام می‌شود، به‌دلایل مختلفی ازجمله زیست‌سازگاری، برای کاربردهای مختلفی ازجمله پزشکی استفاده می‌شود؛ اما مرحلۀ اول که تهیه و تولید ریزاندام‌هاست، معمولاً زمان‌بر و پرهزینه‌تر از استخراج عصاره گیاهان مختلف است[۴]. در مقایسه با ریزاندام‌ها، استفاده از گیاهان به‌دلیل بی‌نیازی از کشت سلولی و زمان‌بر نبودن تهیۀ مواد اولیۀ سنتز نانوذرات، قابلیت بسیاری برای سنتز در مقیاس بالا دارد[۸]. عطرمایۀ میخک از دیرباز به دلیل طعم و رایحه و خواص درمانی بسیار بارز در درمان انواع عفونت‌های دهان و دندان مورد توجه بوده است[۹]. برای به‌دست‌آوردن عطرمایۀ میخک با فرایند تقطیر از بخش‌های مختلف آن شامل برگ، گل، غنچه و حتی شاخه‌های گل‌دار گیاه استفاده می شود؛ ولی بهترین نوع آن، عطرمایه است که از غنچه‌های ناشکفته به دست می‌آید. عطرمایۀ میخک را به‌وسیلۀ تقطیر با آب یا بخار به دست می‌آورند که ترکیب اجزای این عطرمایه شامل ۷۰ تا ۹۰ درصد اِگنول، ۱۰ تا ۱۵ درصد استات اِگنول و ۱۲ درصد مخلوط کاربوفیلن، اکسید کاریوفیلن و هوملن است[۱]. در این راستا، مطالعات زیادی در سال‌های اخیر انجام شده است که در آن از انواع مختلف عصاره‌های گیاهی برای کاهش بیولوژی یون‌های فلزی به شکل نانو ذراتشان استفاده شده است. وانگ (۲۰۰۴) اثر ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی را در دماهای ۴ °C و ۲۵ مقایسه کردند. در این مطالعه اثر آویزش اکسید روی در برابر رشد اشیرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسایتوژنز و باسیلوس سرئوس بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی، وابسته به درجۀ حرارت آزمایش، غلظت اکسید روی و نوع ریزاندام است. اکسید روی در دمای ۲۵ °C مؤثرتر از دمای ۴ °C بوده است. باکتری *باسیلوس سرئوس* مقاومت بیشتری به اکسید روی در مقایسه با *لیستریا منوسایتوژنز*، *اشیرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد[۱۰]. جیانگ و همکاران (۲۰۰۹) اکسید روی را در مقایسه با اکسیدهای فلزی دی‌اکسید تیتانیوم، اکسید آلومینیوم و دی‌اکسید سیلیکون در مقابله با باکتری‌های *اشیرشیاکلی*، *سودوموناس فلوئورسانس* و *باسیلوس‌سوبتیلوس* عامل ضدباکتریایی قوی‌تری گزارش کردند[۱۱]. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای ضدمیکروبی نانوذرات از راه تولید فوتوکاتالیتیکی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تخریب غشا و دیوارۀ سلول باکتری، قطع انتقال انرژی، مهار فعالیت آنزیمی و مهار سنتز DNA است. سازوکار عمل نانوذرات اکسید روی نیز مشابه سایر نانوذرات است ولی بیشتر از راه تخریب دیوارۀ باکتری عمل می‌کند[۱۲]. جونز و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی را مطالعه و نتایج خود را مطابق با فرضیۀ انباشت نانوذرات در داخل غشای سلولی و سیتوپلاسم باکتری شرح کردند. آن‌ها در تحقیق خود کشف کردند که نانوذرات اکسید روی علیه *اشیرشیاکلی* فعالیت ضدمیکروبی نشان می‌دهند. آن‌ها ادعا کردند که این فعالیت نتیجۀ تجمع داخل سلولی نانوذرات در غشای باکتری و مناطق سیتوپلاسمی سلول‌هاست[۱۳]. علاوه بر انباشت نانوذرات در سلول‌های باکتری، سازوکار ضدباکتریایی دیگری برای نانوذرات اکسید روی؛ با نام آزادی یون‌های روی پیشنهاد شده است[۱۴]. با توجه به مقدمه و اهمیت موضوع، هدف از انجام تحقیق حاضر سنتز نانوذرات اکسید روی به‌روش سنتز سبز با استفاده از عصاره میخک و مقایسۀ سه روش حرارت دهی شامل اتوکلاو، مایکروویو و هیتر همزن‌دار است و در آخر بررسی اندازه،

ریخت‌شناسی و کاربرد نانوذرات سنتزشده در زمینهٔ موارد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی و فوتوکاتالیتیکی نانوذرات اکسیدروی سنتزشده است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ تهیهٔ عصاره میخک

به‌منظور تهیهٔ عصاره میخک، ۶۰ گرم از میخک تهیه‌شده از بازار تبریز، آسیاب و به ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول اتانول (شامل ۷۰ میلی‌لیتر آب و ۳۰ میلی‌لیتر اتانول) اضافه شد و محلول برای مدت ۲۴ ساعت در حمام آب گرم که دمای آن بر روی °C ۵۵ تنظیم شده بود، قرار گرفت. پس از آن محلول به‌وسیلهٔ کاغذ صافی، صاف شد و به‌وسیلهٔ روتاری اواپراتور، با شرایط دمایی °C۶۰، فشار ۰/۴ اتمسفر و دور rpm ۲۰۰ ، برای مدت ۱ ساعت، حلال اتانول جدا شد تا عصاره آبی میخک به دست آید. این عصاره در شیشهٔ تیره و درب‌بسته قرار داده و تا زمان سنتز نانو ذرات اکسید روی در یخچال نگهداری شد.

۲-۲ سنتز سبز نانوذرات اکسید روی

نمک فلزی نیترات روی ۶ آبه از شرکت مرک[1] برای سنتز سبز نانوذرات اکسید روی تهیه شد و بر اساس نتایج قبلی، ۴ گرم نمک نیترات روی و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر عطرمایهٔ میخک با هم مخلوط و پس از حرارت‌دهی با سه روش هیدروترمال (دمای °C۱۲۱ و فشار ۱/۵ بار) به مدت ۱۵ دقیقه، مایکروویو (توان ۸۰۰ وات و برای مدت زمان ۳ دقیقه) و حرارت‌دهی با هیتر همزن‌دار (دمای °C ۱۵۰ و مدت زمان ۲ ساعت)، برای انجام فرایند آهکینگی و تولید پودر نانوذرات در کوره با دمای °C ۴۰۰ و برای مدت ۲ ساعت قرار داده شد. پودر زردرنگ و آهکینه شدهٔ حاصل، نانوذرات اکسید روی سنتزشده است[۱۶و۱۵].

۲-۲-۱ تجزیهٔ عصاره میخک

یکی از اصلی‌ترین تجزیه‌های انجام‌گرفته کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) است که امکان تجزیهٔ کمی و هم تجزیهٔ کیفی عصاره‌های گیاهی با آن وجود دارد و ساخته‌شدهٔ شرکت اجیلنت[2] است؛ ترکیبات مؤثر در عصاره میخک تعیین و در این دستگاه از ستون مویین (Capillary HP-5) با ابعاد ۳۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر و گاز هلیوم به‌عنوان فاز سیال استفاده شد.

۲-۲-۲ تجزیهٔ ویژگی‌های نانوذرات اکسید روی

اندازه‌گیری متوسط اندازهٔ بلورینگی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با استفاده از تجزیهٔ پراش پرتو ایکس[3] با طول موج ۱/۵۴°Aو در محدودهٔ ۲θ مابین ۱۰ تا ۹۰ درجه، انجام و قطر بلورها با استفاده از فرمول شرر (معادلهٔ ۱) حساب شد[۱۷و۱۶].

$$D = \lambda \times 0.89 / \beta \cos\theta \qquad (۱)$$

در این معادله، D، λ، β و θ به‌ترتیب اندازهٔ بلور، طول موج لولهٔ تولیدکنندهٔ پرتو ایکس، پهنای پین در نصف ارتفاع بیشینه و زاویهٔ پراش است. بررسی ریخت‌شناسی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی[4] انجام شد[۱۵].

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتزشده به‌روش احیای رادیکال آزاد (DPPH)[5] که این ماده از شرکت سیگما[6] تهیه شده بود، انجام شد. برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتزشده غلظت‌های مختلف از محلول نانوذرات سنتزی حل‌شده در دی‌متیل سولفوکسید با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی (۵۰ درصد) حاوی DPPH (۱mM) آمیخته و به‌شدت تکان داده شد. سپس در دمای اتاق و تاریکی به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از طیف‌نورسنج (UV vis) اندازه‌گیری و درصد مهارکنندگی مطابق معادلهٔ (۲) حساب شد[۱۸]. در این پژوهش برای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتزشده از نسبت‌های ۱۰mg/mL و mg/mL ۲۰ استفاده شد.

درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

$$= (۱ - (A_{sample}/A_{control}) \times ۱۰۰ \qquad (۲)$$

1. Merck GmbH & Co. KG, Darmstadt, Germany

2. Agilent 6890, Santa Clara, CA, USA
3. XRD: D5000, Siemens Co., Karlsruhe, Germany
4. SEM, CamScan MV 2300, Tescan, Czech Republic
5. 2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
6. St.Louis, Missouri, USA

که در آن A_{sample} جذب نمونه و $A_{control}$ جذب نمونهٔ شاهد است.

به‌منظور ارزیابی خاصیت فتوکاتالیستی نانوذرات اکسید روی سنتزشده، ۰/۵گرم از نانوذرات اکسید روی سنتزشده در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول متیلن‌بلو با غلظت ۵، ppm اضافه و در معرض نور UV با طول موج ۳۶۰ نانومتر قرار داده شد. پس از گذشت ۲ ساعت، غلظت متیلن‌بلو در نمونهٔ مذکور، به‌وسیلهٔ دستگاه طیف‌نورسنج در طول موج ۶۶۳ نانومتر، اندازه‌گیری و میزان تخریب رنگ، بر حسب درصد گزارش شد[۲۰].

برای بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با استفاده از عصاره میخک به‌روش انتشار چاهک از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (*PTCC1189*) (گرم مثبت) و *اشرشیا کلی* (*PTCC1395*) (گرم منفی) (بانک میکروبی ایران) استفاده شد. برای بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات سنتزشده، ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت بیان‌شده کشت شدند. برای مشخص‌کردن تعداد اولیهٔ باکتری در هر نمونه از استاندارد نیم درصد مک‌فارلند استفاده شد. نمونهٔ حاصل از این استاندارد حاوی 10^8 باکتری بود. برای انجام تست ضدباکتری ابتدا نانوذرات سنتزشده در محلول حاوی دی‌متیل سولفوکسید و آب مقطر که با نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شده بودند، باتکان‌دادن شدید، حل شدند. علت استفاده از دی‌متیل سولفوکسید این است که نانوذرات اکسید روی در آب نامحلول است و این ماده سبب انحلال این نانوذرات می‌شود. در ادامه برای انجام تست، باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت کشت داده‌شده بر صفحات حاوی محیط کشت PCA[1]، به‌صورت خطی کشت شدند. سپس بر روی پلیت‌ها حفره‌هایی به قطر ۸ میلی‌متر ایجاد شد. بر روی هر یک از این حفره‌ها آویزش نانوذرات سنتزشده ۱۰۰ میکرولیتر منتقل شد. در پایان کار پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۶/۵°C قرار گرفت. برای پی‌بردن به این‌که نانوذرات سنتزی دارای خاصیت ضدباکتریایی هستند یا خیر، باید در کناره‌های حفره‌های ایجادشده از رشد باکتری‌ها ممانعت شده باشد که اصطلاحاً به این منطقه، منطقهٔ مهار رشد گفته می‌شود. برای اطمینان از نتایج حاصل از انجام تست، هرکدام از گونه‌های باکتری‌هادو بار آزمایش شدند.

۳. نتایج و بحث

۳-۱ بررسی خصوصیات عصاره میخک

تجزیهٔ GC-Ms نشان داد که هفت مادهٔ مهم در عطرمایهٔ میخک وجود دارد (جدول (۱)) که ترکیبات اصلی آن شامل اوژنول (۸۶٪) و بتاکاریوفیلن (۷٪) است.

جدول ۱. ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ عطرمایهٔ میخک.

Table 1. Main components of clove extract.

(%)	Component name	number
1.0	decana	1
0.5	Methoxyphenol	2
0.5	Naphthalene	3
1.2	Chavicol	4
86.0	Eugenol	5
7.0	Caryophyllene	6
3.2	Eugenol acetate	7
1.8	Hephazane	8

۳-۲ ساز و کار و روش سنتز نانوذرات اکسید روی

سنتز نانوذرات اکسید روی با عصاره میخک مطابق واکنش‌های سه مرحله‌ای زیر انجام می‌پذیرد:

$$Zn(NO_3)_2.6H_2O \rightarrow Zn^{2+} + 2No_3^{2-} + 6H_2O$$

$$Zn^{2+} + 2\,OH^- \rightarrow Zn(OH)_2$$

$$Zn(OH)_2 \rightarrow ZnO + H_2O$$

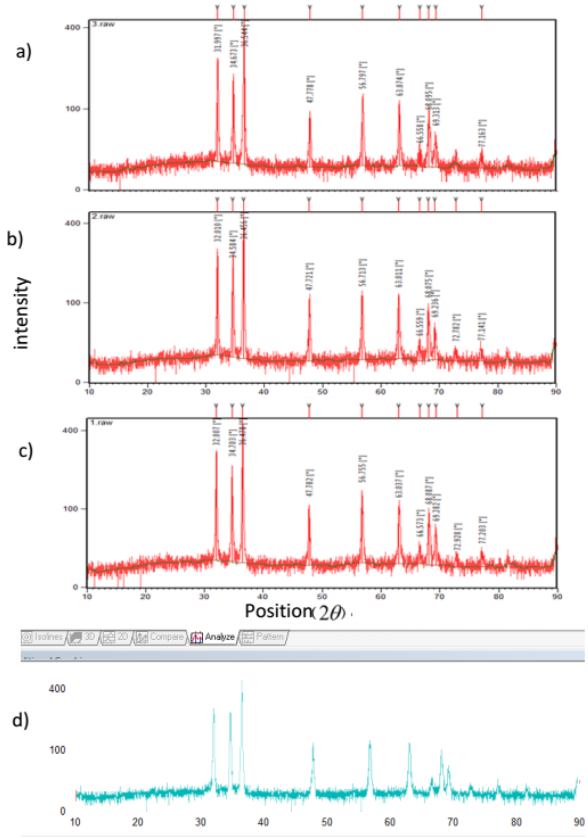
در واقع گروه نیترات موجود در نمک فلزی نیترات روی ۶ آبه یک اکسیدکنندهٔ بسیار قوی است و می‌تواند گروه‌های هیدروکسیل را به گروه‌های کربونیل تبدیل کند. علاوه بر این، عصاره میخک حاوی مواد احیاکنندهٔ بسیار قوی مانند اوژنول و بتاکاریوفیلن است که این ترکیبات به‌دلیل داشتن گروه‌های OH^- با یون‌های Zn^{2+} وارد واکنش می‌شوند و آن‌ها را احیا می‌کنند که در آخر نانوذرات اکسید روی سنتز می‌شوند[۱۸].

1. Plate Count Agar

۳-۳ تعیین اندازهٔ بلور نانوذرات اکسید روی سنتزشده

نتایج تجزیهٔ XRD برای نمونهٔ نانوذرات اکسید روی سنتزشده با استفاده از روش حرارت‌دهی اتوکلاو، مایکروویو و هیتر همزن‌دار در شکل ((۱)- a-d) نشان داده شده است. با استفاده از نرم‌افزار X'pert و با مطابقت قراردادن الگوی حاصل از تجزیه با الگوی مرجع (شکل (۲)) مربوط به اکسید روی در این نرم‌افزار، چنین به دست آمد که از آنجایی که در الگوی حاصل از تجزیه برای نمونه های سنتزشده با هر سه روش هیچ پیک اضافه‌ای وجود ندارد، که این نشان دهندهٔ خلوص نانوذرات اکسید روی سنتزشده است. موقعیت پیک‌ها برای هر سه نمونه مقادیر ۲θ در زوایای °۳۲/۰، °۳۴/۷، °۳۶/۴، °۴۷/۷، °۵۶/۷، °۶۳/۳، °۶۶/۵، °۶۸/۰۸۷۱، °۶۹/۲، °۷۲/۷ و °۷۷/۱ مشاهده شد که هرکدام از پیک‌ها دارای صفحاتی به‌ترتیب (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳)، (۲۰۰)، (۱۱۲)، (۲۰۱)، (۰۰۴) و (۲۰۲) هستند. پیک‌ها در تطابق کامل با مرجع کتابخانه XRD برای نانو ذرات اکسید روی سنتزشده است که در شکل ((۱)- d) نشان داده شده است.

مطابق فرمول شرر و با استفاده از نرم‌افزار X'pert متوسط اندازهٔ بلورینگی برای سه پیک اول که دارای بالاترین شدت هستند، برای نانوذرات اکسید روی سنتزشده با سه روش حرارتی اتوکلاو، مایکروویو و هیتر همزن‌دار برابر با ۵۰، ۴۵ و ۵۲ نانومتر است. علاوه بر این، پیک‌ها و عرض نسبتاً کم آن ها نشان دهندهٔ درجهٔ بالای بلوری محصول است. مجموعه‌ای از پیک‌ها که در زاویه‌های بین ۳۰ تا ۴۰ درجه مشاهده می‌شود، مربوط به تشکیل ساختار شش گوشی اکسید روی است. پیک‌های موجود به‌دلیل بلوری‌بودن نانوذرات سنتزشده تیز است و جدایی پیک‌ها بسیار مطلوب است که دلیلی بر تک‌فاز بودن ساختار بلوری آن است[۲۱].

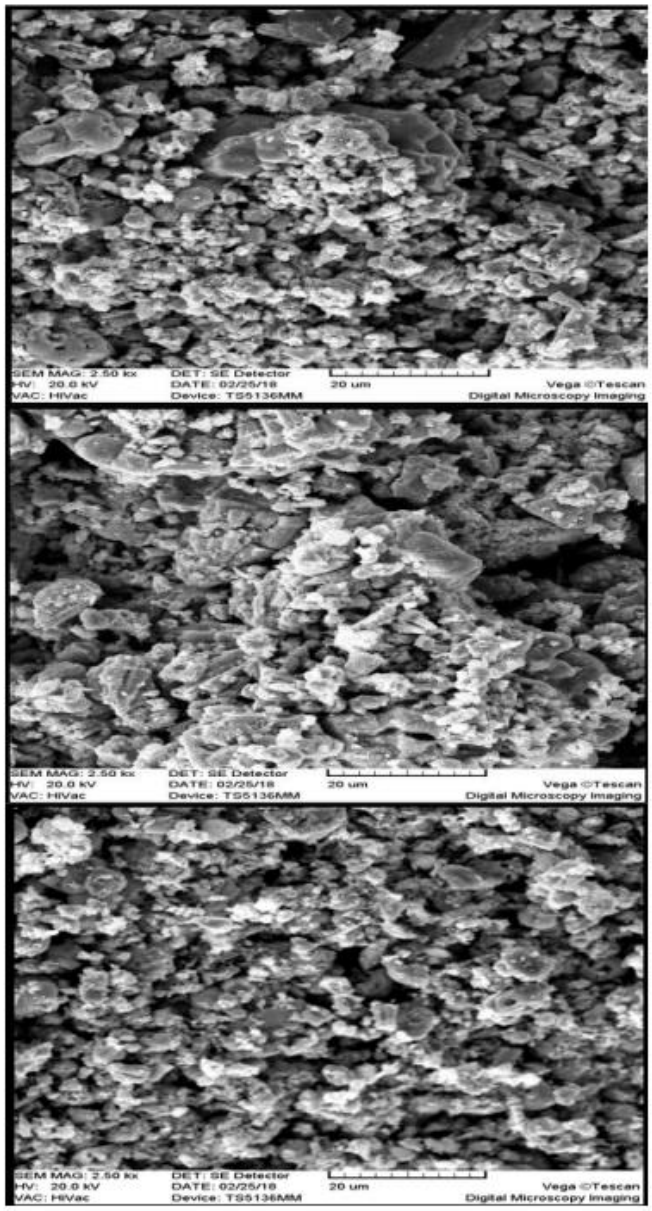


شکل ۱. تجزیهٔ XRD نانوذرات سنتزشدهٔ اکسید روی با استفاده از عصاره میخک و (a) روش حرارت‌دهی اتوکلاو (b) مایکروویو (c) و هیتر همزن‌دار (d) الگوی مرج مربوط به اکسید روی در کتابخانهٔ نرم‌افزار xpert.

Figure 1. XRD pattern of the synthesized ZnO NPs using clove extract and hydrothermal (a), Microwave (b), heater and stirrer (c) heating methods, standard curve (d).

۳-۴ ریخت‌شناسی نانوذرات اکسید روی سنتزشده

شکل (۲) تصویر حاصل از تصویربرداری SEM انجام‌گرفته با بزرگ نمایی ۲۰ میکرومتر بر روی نانوبلورهای اکسید روی سنتزشده با استفاده از روش حرارت‌دهی اتوکلاو، مایکرویو و هیتر همزن‌دار را نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، نانوذرات سنتزشده دارای شکل غالباً دارای ساختارهای چندوجهی (شش‌وجهی) هستند و در سنتز آن ها آگلومره شدن به‌صورت جزئی مشاهده می‌شود، که به‌نظر می رسد با توجه به پایداربودن اندازهٔ بلورهای به دست آمده و هم‌چنین یک‌نواخت‌بودن اندازهٔ آن‌ها، نانوبلورهای به دست‌آمده کاربردهای مناسبی داشته باشند.



شکل ۲. تصویر تجزیهٔ SEM نانوذرات سنتزشدهٔ اکسید روی با استفاده از عصاره میخک و روش حرارت‌دهی اتوکلاو (a) مایکرویو (b) و هیتر همزن‌دار(c)

Figure 2. SEM images of the synthesized ZnO NPs using clove extract and hydrothermal (a), Microwave (b), heater and stirrer (c) heating methods.

۳-۵ خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فتوکاتالیستی نانوذرات اکسید روی سنتزشده

نتایج حاصل از ارزیابی خاصیت فتوکاتالیستی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره میخک و روش‌های حرارتی مختلف، نشان‌دهندهٔ خاصیت بالای رنگ‌بری و تخریب متیلن‌بلو به‌وسیلهٔ نانوذرات اکسید روی تهیه‌شده است. همان‌گونه که در جدول (۲) ملاحظه می‌شو، در طول مدت زمان ۲ ساعت در معرض پرتو UV ، نانوذرات اکسید روی سنتزشده با روش مایکروویو و هیتر همزن‌دار، دارای بیشترین (۷۹٪) و کمترین (۶۶٪) درصد تخریب رنگ متیلن‌بلو هستند. به‌نظر می‌رسد اندازهٔ ذرات به دست‌آمده ارتباط مستقیمی با این خاصیت دارد و هرچه اندازهٔ ذرات کمتر باشد، به‌علت نفوذ بیشتر و کامل‌تر، تخریب مناسب‌تری را به‌دنبال دارد. نتایج به دست‌آمده در راستای نتایج حاصل از تحقیقات سیار و جعفری‌زاده مالمیری است[۱۸]. آنان موفق به حذف ۸۶٪ از رنگ متیلن‌بلو در طول مدت زمان ۳ ساعت به‌وسیلهٔ نانوذرات اکسید روی تهیه‌شده با کورکومین زردچوبه شدند.

هم‌چنین نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با استفاده از عصاره میخک و روش مایکروویو برابر بالاترین مقدار ۸۹ درصد را داراست (جدول (۲)).

جدول ۲. خاصیت فتوکاتالیستی و آنتی‌اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره میخک.

Table 2. Photocatalytic and antioxidant activities of the synthesized ZnO NPs and three different heating methods.

Antioxidant (%)	Color degradation (%)	method
85	70	Autoclave
89	79	Microwave
80	66	Heater stirrer

انزابی با سنتز نانوذرات اکسید روی به‌وسیلهٔ عصاره زرشک و ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن ها، به این خاصیت با درصد مهارکنندگی ۲۸/۸ دست یافت[۲۲]. در مقایسه با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره میخک اشاره کرد. نتایج در تحقیق حاضر نشان داد که عصاره میخک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۷۵٪ است که به‌نظر می‌رسد عصاره میخک به‌تنهایی خاصیت مناسبی در مهار رادیکال های آزاد داشته؛ اما با استفاده از آن به‌عنوان مادهٔ اولیه در سنتز نانوذرات اکسیدروی، این خاصیت افزایش پیدا کرده است.

از آنجایی که قطر بلورهای نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره میخک و با استفاده از روش حرارت دهی مایکروویو از قطر نانوذرات سنتزشده به‌وسیلهٔ دو روش دیگر کمتر است؛ لذا این نانوذرات دارای نسبت سطح به حجم بیشتری در مقایسه با این ویژگی نانوذرات سنتزشده با دو روش دیگر است؛ لذا واکنش‌پذیری نانوذرات اکسید روی سنتزشده با روش مایکروویو، بیشتر و خاصیت فتوکاتالیستی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بیشتر است.

۳-۶ خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتزشده

خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره میخک و سه روش حرارت‌دهی مختلف در برابر دو باکتری *اشریشیا کولی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* و بر اساس قطر محدودهٔ مهار رشد، در جدول (۳) آورده شده است.

جدول ۳. خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی سنتزشده با عصاره میخک.

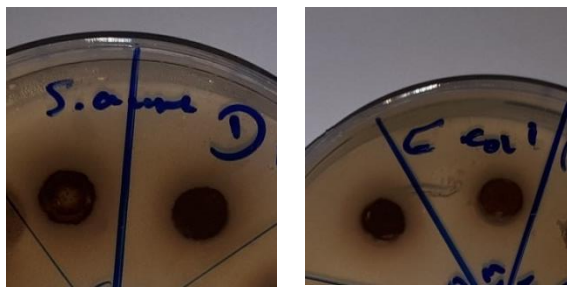
Table 3. Bacterial activity of the synthesized ZnO NPs and three different heating methods.

Staphylococcus aureus-Created clear zone (mm)	*Escherichia coli* - Created clear zone (mm)	method
12	11	Autoclave
14	13	Microwave
13	11	Heater stirrer

همان‌گونه که در جدول (۳) ملاحظه می‌شود، تمامی نانوذرات اکسید روی سنتزشده در برابر هر دو گونه باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی از خود خاصیت ضدباکتریایی نشان می‌دهند و

هرچند این خاصیت برای نانوذرات اکسید روی سنتزشده با روش حرارت‌دهی مایکروویو از مابقی بیشتر است که این نتایج نیز به‌طور مستقیم به‌اندازهٔ کوچک‌تر نانوذرات سنتزشده با روش مایکروویو مرتبط است که در سنتز با استفاده از مایکروویو با توجه به حرارت سریع و یک‌نواخت بر روی نمونه‌های مورد نظر، منجر به سنتز مناسب و دارای پایداری بالای خواهد شد. تحقیقات بسیاری نشان داده است که با افزایش قطر نانوذرات فلزی و اکسید فلزی، نسبت سطح به حجم نانوذرات کاهش پیداکرد، میزان پیوستن نانوذرات به دیوارهٔ سلولی و غشای سیتوپلاسمی و یا نفوذ آن‌ها از غشا کاهش می‌یابد و خاصیت ضد میکروبی آن‌ها کم می‌شود[۲۶-۲۳و۱۶].

شکل (۳)، هالهٔ شفاف ایجادشده دور چاهک‌های پرشده با عصاره میخک و نانوذرات اکسید روی سنتزشده با روش مایکروویو آورده شده است.



اشریشیا کولی　　استافیلوکوکوس ارئوس

شکل ۳. هالهٔ شفاف ایجادشده دور چاهک پرشده با عصاره میخک و نانوذرات اکسید روی سنتزشده با مایکروویو.

Figure 3. Created clear zones around the wells containing the synthesized ZnO NPs using clove extract and microwave heating against *Escherichia coli and Staphylococcus aureus.*

۴. نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر نانوذرات اکسید روی به‌روش سنتز سبز، با استفاده از عصاره میخک به‌عنوان منبع بیولوژیکی و نیترات روی ۶ آبه به‌عنوان نمک فلزی با به‌کارگیری سه روش حرارت‌دهی هیدروترمال (اتوکلاو)، مایکروویو و هیتر همزن‌دار با موفقیت سنتز شد؛ نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی میخک دارای توان احیاکنندگی بالا در کاهش یون روی و تبدیل آن به نانوذرات اکسید روی دارد. هم‌چنین در میان سه روش حرارت‌دهی به‌کاررفته در تحقیق حاضر، روش مایکروویو در کمترین زمان ممکن، قابلیت سنتز نانوذرات اکسید روی را با کوچک‌ترین اندازه و بالاترین خواص فتوکاتالیستی، آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی دارد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که سنتز نانوذرات اکسید روی به‌روش سبز با استفاده از عصاره میخک و حرارت‌دهی با مایکروویو، روشی آسان (بدون نیاز به حلال‌های شیمیایی و روش‌های پیچیده) و مقرون‌به‌صرفه در مقایسه با سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی در سنتز این نانوذرات است. نانوذرات اکسید روی سنتزشده با روش به‌دست‌آمده و انتخابی در تحقیق حاضر در فرمول‌بندی‌های غذایی، دارویی و آرایشی قابلیت استفادهٔ بسیار دارند. پیشنهاد می‌شود که برای ادامهٔ تحقیق، سایر روش‌های سبز سنتز نانوذرات؛ مانند سنتز در دمای محیط نیز انجام گیرد و با روش‌های مختلف سنتزشده در مقالهٔ حاضر مقایسه شود.

مراجع

[1] Ahmad, N., Alam, M. K., Shehbaz, A., Khan, A., Mannan, A., Hakim, S. R., Owais, M, "Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis", Journal of drug targeting, 13 (10), pp. 555-561, (2005).

[2] Vivek, R., Thangam, R., Muthuchelian, K., Gunasekaran, P., Kaveri, K., Kannan, S., "Green biosynthesis of silver nanoparticles from Annona squamosa leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells", Process Biochemistry, 47(12), pp. 2405-2410, (2012).

[3] Roopan, S. M., Madhumitha, G., Rahuman, A. A., Kamaraj, C., Bharathi, A., Surendra, T. V., "Low-cost and eco-friendly phyto-synthesis of silver nanoparticles using Cocos nucifera coir extract and its larvicidal activity", Industrial Crops and Products, 43, pp. 631-635, (2013).

[4] Mittal, A. K., Chisti, Y., Banerjee, U. C., "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", Biotechnology advances, 31(2), pp. 346-356, (2013).

[5] Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., Kalinina, N. O., "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants", Acta Naturae 6(20), pp. 25-36, (2006).

[6] Iravani, S., "Green synthesis of metal nanoparticles using plants", Green Chemistry, 13(10), pp. 2638-2650, (2011).

[7] Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., Srinivasan, K., "Biosynthesis of silver nanoparticles using Citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity", Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 79(3), pp. 594-598, (2011).

[8] Song, J. Y., Jang, H. K., and Kim, B. S. "Biological synthesis of gold nanoparticles using Magnolia kobus and Diopyros kaki leaf extracts" Process Biochemistry, 44(10), pp. 1133-1138, (2009).

[9] Nagababu, E., Lakshmaiah, N., "Inhibitory effect of eugenol on non-enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria" Biochemical pharmacology, 43(11), pp. 2393-2400, (1992).

[10] Wang, Z. L., "Functional oxide nanobelts: materials, properties and potential applications in nanosystems and biotechnology", Annu. Rev. Phys. Chem. 55, pp. 159-196, (2004).

[11] Jiang, W., Mashayekhi, H. Xing, B., "Bacterial toxicity comparison between nano-and micro-scaled oxide particles", Environmental pollution, 157(5), pp. 1619-1625, (2009).

[12] Russo, T. A. Johnson, J. R., "Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: focus on an increasingly important endemic problem", Microbes and infection, 5(5), pp. 449-456, (2003).

[13] Jones, N. Ray, B. Ranjit, K. T. Manna, A. C., "Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms", FEMS microbiology letters, 279(1), pp. 71-76, (2008).

[14] Sawai, J. Yoshikawa, T., "Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay", Journal of applied microbiology, 96(4), pp. 803-809, (2004).

[15] Anvarinezhad, M., Javadi, A., Jafarizadeh-Malmiri, H., "Green approach in fabrication of photocatalytic, antimicrobial, and antioxidant zinc oxide nanoparticles–hydrothermal synthesis using clove hydroalcoholic extract and optimization of the process", Green Processing and Synthesis, 9(1), pp. 375-385, (2020).

[16] Vahidi, A., Vaghari, H., Najian, Y., Najian, M. J., Jafarizadeh-Malmiri, H., "Evaluation of three different green fabrication methods for the synthesis of crystalline ZnO nanoparticles using Pelargonium zonale leaf extract", Green Processing and Synthesis, 8(1), pp. 302-308, (2019).

[17] Bunaciu, A. A. UdriŞTioiu, E. G. Aboul-Enein, H. Y., X-ray diffraction: instrumentation and applications. Critical reviews in analytical chemistry, 45(4), pp. 289-299, (2015).

[18] Sayyar, Z. Jafarizadeh-Malmiri, H., "Photocatalytic and antibacterial activities study of prepared self-cleaning nanostructure surfaces using synthesized and coated ZnO nanoparticles with Curcumin nanodispersion", Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 234(5), pp. 307-328 , (2019).

[19] Liu, Y., "Recent progress in fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy study of compositional, structural and physical attributes of developmental cotton fibers", Materials, 6(1), pp. 299-313, (2013).

[20] Chamoli, S., "ANN and RSM approach for modeling and optimization of designing parameters for a V down perforated baffle roughened rectangular channel", Alexandria Engineering Journal, 54(3), pp. 429-446, (2015).

[21] Azam, A., Ahmed, F., Arshi, N., Chaman, M., Naqvi, A. H., "Formation and characterization of ZnO nanopowder synthesized by sol–gel method", Journal of Alloys and Compounds, 496(1-2), pp. 399-402, (2010).

[22] Anzabi, Y. "Biosynthesis of ZnO nanoparticles using barberry (Berberis vulgaris) extract and assessment of their physico-chemical properties and antibacterial activities", Green Processing and Synthesis, 7(2), pp. 114-121, (2018).

[23] Ahmadi, O., Jafarizadeh-Malmiri, H., Jodeiri, N., "Eco-friendly microwave-enhanced green synthesis of silver nanoparticles using Aloe vera leaf extract and their physico-chemical and antibacterial studies", Green Processing and Synthesis, 7(3), pp. 231-240, (2018).

[24] Fardsadegh, B., Vaghari, H., Mohammad-Jafari, R., Najian, Y., Jafarizadeh-Malmiri, H., "Biosynthesis, characterization and antimicrobial activities assessment of fabricated selenium nanoparticles using Pelargonium zonale leaf extract", Green Processing and Synthesis, 8(1), pp. 191-198, (2019).

[25] Eskandari-Nojehdehi, M., Jafarizadeh-Malmiri, H., Jafarizad, A., Microwave accelerated green synthesis of gold nanoparticles using gum Arabic and their physico-chemical properties assessments. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 232(3), pp. 325-343, (2018).

[26] Mohammadlou, M., Maghsoudi, H., Jafarizadeh-Malmiri, H., A review on green silver nanoparticles based on plants: Synthesis, potential applications and eco-friendly approach. International Food Research Journal, 23(2), (2016).