

بررسی بیوسنتز کوانتوم دات CdS با استفاده از عصاره متانولی گیاه فیسالیس

عاطفه پیرانزایی¹، مهدی دادمهر^{2*}، نادعلی باباییان جلودار³، نادعلی باقری⁴، سیدمرتضی حسینی⁵

1- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

2- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

3- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

4- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

5- استادیار، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین تهران

تاریخ دریافت: 1397/6/28

تاریخ پذیرش: 1399/9/22

*نویسنده مسئول: mdadmehr@pnu.ac.ir

چکیده

از کوانتوم‌دات‌ها به‌عنوان پروب‌های فلورسنت برای اهداف زیست‌شناسی سلولی، انتقال DNA، تصویربرداری زیستی و درمان سرطان استفاده می‌شود. روش‌های زیستی سنتز نانوذرات از روش‌های شیمیایی مؤثرترند و با محیط زیست سازگاری بیشتری دارند. در این تحقیق، تولید کوانتوم‌دات‌ها با استفاده از عصاره متانولی برگ گیاه فیسالیس انجام شده است. نتایج به‌دست‌آمده از طیف‌سنجی UV-Vis، TEM، FT-IR، فلورفومتری، تولید زیستی کوانتوم‌دات‌ها را با استفاده از فیسالیس تأیید کرده است. تغییر رنگ واکنش به نارنجی در عصاره متانولی نشانه‌ای از سنتز کوانتوم‌دات‌های CdS در محلول واکنش بود. حداکثر پیک جذب نانوذرات توسط UV-Vis در محدوده 600 نانومتر مشاهده شد. نتایج طیف‌نشری ثبت‌شده از سنتز سبز کادمیوم سولفید در شرایط pH مختلف نشان داد، سنتز کوانتوم‌دات‌های واجد باندهای نشری در طول موج‌های 475 و 675 نانومتر به‌وسیله فیسالیس انجام شده است. این مسئله نشان می‌دهد، کوانتوم‌دات‌ها با اندازه‌های مختلف تولید می‌شوند. نانوذرات تولیدشده شکلی کروی و اندازه 10-2 نانومتری داشتند. براساس آنالیز FT-IR، عامل احتمالی احیاء یون‌های CdS و تبدیل آن به کوانتوم‌دات‌ها، فنول‌ها و گروه‌های عاملی مختلف موجود در فیسالیس هستند.

کلید واژگان: کوانتوم‌دات، فیسالیس، تولید زیستی، عصاره متانولی

مقدمه

استفاده از نانوذرات به دلیل کاربردهای بسیاری که دارند، در حال افزایش است. نانوذرات فلزی و کوانتوم‌دات‌ها در زمینه بیولوژی، بیوتکنولوژی و زیست‌پزشکی کاربردهایی مثل انتقال ژن، دارورسانی و درمان تومورهای هیپرترمی دارند (1، 2). نانوذرات سنتز شده با استفاده از مواد بیولوژیکی مزیت‌هایی دارند که روش‌های دیگر ندارند مزیت‌هایی مثل قابلیت کنترل اندازه ذرات، ثبات داخل بدن، غیرسمی بودن، سازگاری با محیط، بی‌خطر بودن و ایجاد نانوذرات با کیفیت بالا (3). مزایای سنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان، نسبت به میکروارگانیسم‌ها، به دلیل تنوع گسترده‌ای از مولکول‌های زیستی که می‌تواند میزان احیا و تثبیت نانوذرات را افزایش دهند، هزینه پایین کشت، تولید در کوتاه‌ترین زمان، بی‌خطری و حجم بالای تولید، از سیستم‌های بیولوژیکی دیگر بیشتر است (4). پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، متابولیت‌های ثانویه (فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، پلی‌ترپنوئیدها، ترکیبات هتروسیکلیک) و پلی‌ساکاریدها در احیای نمک فلزی و پوشش و تثبیت نانوذرات سنتز شده نقش مهمی بازی می‌کنند (5). نانوذرات بیوسنتزی اغلب خواص محلول در آب و زیست سازگار دارند (6). از فواید دیگر سنتز سبز نانوذرات، استفاده نکردن از فشار بالا، انرژی، دما و مواد شیمیایی سمی است (7). کوانتوم‌دات‌ها، نانوکریستال‌های نیمه‌هادی با قطر 2 تا 10 نانومتر هستند که بعد از تحریک شدن با اشعه‌هایی همچون ماورای بنفش، در محدوده رؤیت پذیر از خود نور ساطع می‌کنند و معمولاً از 200 تا 10000 اتم تشکیل شده‌اند. نقاط کوانتومی به دلیل اندازه کوچک‌شان قابلیت تطبیق‌پذیری بسیاری دارند؛ یعنی با تغییر

ساختار آن می‌توان خواص آن را مطابق با نیاز خود تنظیم کرد. اولین بار، اکیموف و اونیشچنکو در سال 1982 درباره نقاط کوانتومی گزارش دادند (8). کوانتوم‌دات‌ها به وسیله اپیتکسی پرتو مولکولی، ترکیبات آلی فلزی اپیتکسی فاز بخار، پرتوی الکترونی لیتوگرافی، افزایش غیرقطبی و غیره سنتز می‌شوند (9، 10). این روش‌ها که با صرف هزینه و انرژی بالایی انجام می‌شود از ترکیبات سمی، مانند بورهیدرید سدیم، تتراکس (هیدروکسی‌متیل) فسفونیوم کلرید، پلی‌ان‌وینیل پیرولیدون، هیدروکسیل‌آمین هستند (11، 12). بنابراین، سنتز کوانتوم‌دات‌ها روش شیمیایی پیچیده و دشوار و سنتز بیولوژیکی کوانتوم‌دات‌ها روشی جایگزین برای تولید نانوذرات کوانتومی با عملکرد و کیفیت بالا است. ترکیبات کوانتوم‌دات‌ها مانند کادمیم یا سلنید برای بسیاری از سلول‌ها سمی هستند، هنگامی که پوسته آبدوست نقاط کوانتومی پایدار نیست، اکسیداسیون باعث می‌شود یون‌های فلزات سنگین از هسته شسته شوند. سمی بودن کوانتوم‌ها به عوامل مختلفی چون اندازه، بار سطحی و مواد پوشاننده سطح، دوز کوانتوم‌دات‌ها و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آن بستگی دارد. بنابراین، در سنتز بیولوژیکی، نانوذرات با پروتئین یا پپتیدها پوشش داده می‌شوند و باعث بهبود توانایی زیستی و عملکردی و تولید باندهای آزاد آگریز زیادی می‌شوند (13، 14). سنتز بیولوژیکی، روشی برای تولید بیشتر کوانتوم‌دات‌ها است، زیرا سلول‌ها ظرفیت انباشتن ذرات با لیگاندهای آلی را دارند و سطح بالایی از قابلیت فتوشیمیایی با تحریک طولانی مدت را نشان می‌دهند. گیاهان به دلیل داشتن فیتوکلاتین می‌توانند کوانتوم‌دات‌ها را سنتز کنند (15). گیاهان عالی دو نوع پپتید غنی از سیستمین متصل‌شونده به فلزات را دارند؛

فیسالیس برای تولید کوانتوم دات‌های کادمیوم سولفید بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره متانولی برگ فیسالیس

برای تهیه عصاره متانولی 10 گرم از برگ‌های پودر شده به 100 میلی‌لیتر متانول 98 درصد در داخل ارلن مایر 500 میلی‌لیتری اضافه و به مدت 48 ساعت در تاریکی نگهداری شد. هر 16 ساعت محتویات ارلن به مدت 20 دقیقه به هم زده و سپس با کاغذ صافی واتمن فیلتر شد. محلول حاصل با سرعت 2000rpm برای 20 دقیقه سانتریفیوژ و بعد از تنظیم pH با استفاده از فیلتر 0/2 میکرون و تحت شرایط استریل هود لامینار برای حذف آلودگی‌های احتمالی فیلتر شد.

مراحل سنتز زیستی کوانتوم دات

پیش‌سازهای سنتز کوانتوم دات شامل نمک‌های $CdSO_4$ و Na_2S از شرکت مرک با خلوص 98 و 95 درصد تهیه شدند. استوک نمک‌های استفاده شده با اضافه کردن مقدار 10 سی‌سی نمک 0/025 مولار $CdSO_4$ و 5 سی‌سی - سی نمک 0/5 مولار Na_2S تهیه شدند (حلال آب). در ادامه برای سنتز زیستی کوانتوم دات‌ها مقدار 30 سی‌سی عصاره تخلیص شده به ارلن 100 سی‌سی استریل اضافه و روی دستگاه استیرر با دور 250rpm قرار داده شد. در مرحله بعد مقدار 2 سی‌سی نمک 0/025 مولار $CdSO_4$ از پیش تهیه شده با سرنگ استریل به عصاره قطره‌ای اضافه شد. سپس مخلوط واکنش به مدت 3 روز روی دستگاه استیرر با دور 250rpm در شرایط تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت مدت زمان 3 روز مقدار 500 ماکرولیتر نمک 0/5 مولار Na_2S با سرنگ استریل به حجم واکنش قطره‌ای اضافه شد. در این مرحله رنگ واکنش در عصاره متانولی به رنگ پرتقالی تمایل پیدا کرد. مخلوط واکنش به دست آمده (نمک‌ها +

متالوتیونین‌ها (MT) و فیتوکلاتین‌ها (16). مقادیر زیاد فلزات و یون‌های دیگر فلزات سنگین غیرضروری مثل کادمیوم، سرب و جیوه برای سلول‌ها بسیار سمی هستند (17). از این رو، ارگانسیم‌های عالی در پاسخ به حضور فلزات سنگین، پپتیدهای غنی از سیستمین مانند گلو‌تاتیون، فیتوکلاتین و متالوتیونین را تولید می‌کنند. این پپتیدها به یون‌های فلزی نظیر کادمیوم، جیوه، سرب و مس متصل می‌شوند و آنها را از نظر زیستی به فرم غیرفعال تبدیل می‌کنند (18). پروتئین‌های متصل‌شونده به فلز (فیتوکلاتین) نقش مهمی در پایداری ساختمان، سیگنالینگ، انتقال، پاسخ ایمنی، کنترل متابولیسم و هموستازی فلزات بازی می‌کنند. پپتیدها و قطعات پروتئینی با اندازه‌های مختلف، در زنجیره‌های جانبی خود چندین گروه عملکردی دارند که برای اتصال به فلز مناسب هستند (19). چنانچه گیاهان بررسی شده این ترکیبات را داشته باشند، صرف‌نظر از نوع و جنس گیاه قادرند یون‌های فلزی را تثبیت و احیای و کوانتوم دات با ابعاد و خصوصیات متفاوت را تولید کنند. فیسالیس با نام علمی *Physalis peruviana* از خانواده سولاناسه (Solanaceae) (20) و در درمان سرطان، هپاتیت، آسم، مالاریا و درماتیت مؤثر است (21). این گیاه به دلیل داشتن آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنول، اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین‌ها (A, B, C, E و K_1), فیتواسترول، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و موادمعدنی خاصیت دارویی دارد و از ارزش غذایی بالایی برخوردار است. عصاره برگ‌های فیسالیس به دلیل ترکیبات فعال (ویتانوئیدها، فنل‌ها و ...) فعالیت بیولوژیکی چون خاصیت ضدقارچ، آنتی‌اکسیدان، ضد تومور و ضد التهاب دارد (22). در این مقاله عصاره متانولی برگ گیاه

یک قطره از محلول کوانتوم‌دات تولیدشده روی گریدهای کربنی پوشیده‌شده با مس قرار داده و پس از خشک‌شدن اندازه ذرات با استفاده از TEM آنالیز شد.

آنالیز FT-IR یا تبدیل فوریه مادون قرمز نانوذرات تولیدشده

آنالیز FT-IR با دستگاه FTIR perkin elmer Spectrum Two به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و بیومولکول‌های احتمالی مسئول احیاء و عامل‌های پوشاننده کوانتوم‌دات‌های تولیدشده انجام شد.

یافته‌ها

ارزیابی خصوصیات جذبی کوانتوم‌دات‌های سنتز شده

به وسیله اسپکتروفتومتری UV-Vis

در مرحله مربوط به سنتز کوانتوم‌دات‌ها بعد از اضافه کردن مخلوط نمک‌ها به عصاره گیاهی به دست آمده طبق پروتکل استفاده‌شده، در محلول واکنش تغییر رنگ واضحی رخ داد که در شکل 1 مشاهده می‌شود. این تغییر رنگ بر احیای اولیه نمک‌های پیش‌ساز کوانتوم‌دات دلالت می‌کند. به منظور بهینه‌کردن شرایط انجام واکنش، فرایند تشکیل کوانتوم‌دات‌ها در سه pH مختلف انجام و بررسی شد.



شکل 1 تغییر رنگ عصاره متانولی گیاه فیسالیس حاصل از سنتز زیستی کادمیوم سولفید

عصاره) مدت 4 روز روی دستگاه استیرر با دور rpm-250 در شرایط تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت 4 روز برای تجزیه و تحلیل فیزیکی نانوذرات محلول واکنش در 5000rpm به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ و از فاز روئی برای آزمایش‌های موردنظر استفاده شد. همچنین، در این مرحله محلول عصاره بدون اضافه‌کردن نمک به عنوان نمونه کنترل درنظر گرفته شد.

مشخصه‌یابی و تعیین ویژگی‌های کوانتوم‌دات‌های تولیدشده

برای تعیین ویژگی‌ها و اطمینان از تولید و کیفیت کوانتوم‌دات‌های تولیدشده با استفاده از عصاره گیاه و ریشه‌های مویین گیاه فیسالیس از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش مرئی، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، فلورفتومتری و FT-IR استفاده شده است.

بررسی کوانتوم‌دات‌ها با استفاده از طیف‌سنج فرابنفش مرئی (UV-Vis) و اسپکتروفلوریمتری

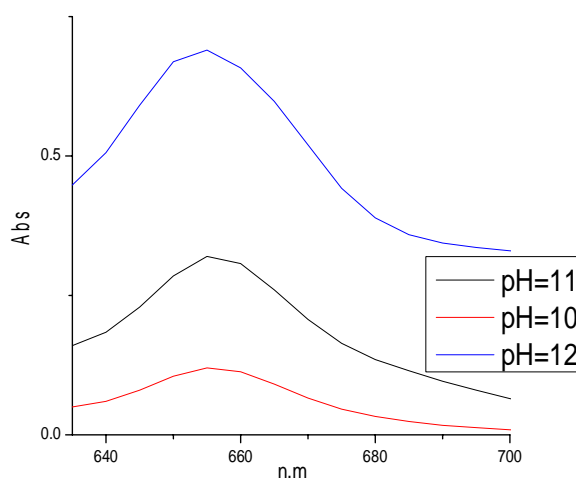
برای بررسی احیای یون‌های کادمیوم سولفید و تأیید ساخت و میزان نشر کوانتوم‌دات‌ها حدود 500 ماکرولیتر از نمونه‌ها برداشته و با 1 میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد. سپس، مخلوط حاصل داخل سل قرار داده و جذب آن با دستگاه طیف‌سنج فرابنفش مرئی مدل Specord 250 spectrophotometer (AnalytikJena, Germany) و نشر آن به وسیله اسپکتروفلوریمتر Perkin ElmerLS-45 fluorescencespectrometer در طول موج‌های 200-700 نانومتر خوانده شد.

تعیین شکل، توزیع و اندازه ذرات

به منظور آنالیز نمونه‌ها برای تعیین شکل و اندازه ذرات از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل Zeiss, EM10C 80 KV, Germany استفاده شد. در این مرحله

کادمیوم سولفید در واکنش را اثبات می‌کند و پیک تشکیل شده در این محدوده، احیاء یون‌های کادمیوم سولفید و در نتیجه تولید کوانتوم‌دات‌ها را نشان می‌دهد. جذب عصاره متانولی برگ در سه pH بررسی شد که بیشترین پیک جذبی نیز در عصاره دارای pH=12 مشاهده شد. این امر حضور نانوذرات بزرگ‌تر در نمونه را نشان می‌دهد.

در ادامه، انکوباسیون به مدت 4 روز انجام شد تا حداکثر احیای یون‌های حاصل از نمک‌های اضافه‌شده در محلول واکنش انجام شود. برای اطمینان از تولید کوانتوم‌دات‌ها، پیک جذبی کوانتوم دات‌ها با استفاده از طیف‌سنج فرابنفش مرئی (UV-Vis) در طول موج‌های 200-700 نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل 2). باند جذبی 600 نانومتر، حضور کوانتوم دات‌های



شکل 2 طیف‌های UV-Vis کوانتوم دات (کادمیوم سولفید)

وسط و سمت چپ، نشر فلورسانس کوانتوم‌دات‌های سنتز شده را به ترتیب با pH های 10 و 12 نشان می‌دهد. میزان نشر در نمونه سنتز شده در pH = 12 به میزان زیادی بیشتر است که کارایی بالاتر روش سنتز در این pH را نشان می‌دهد.

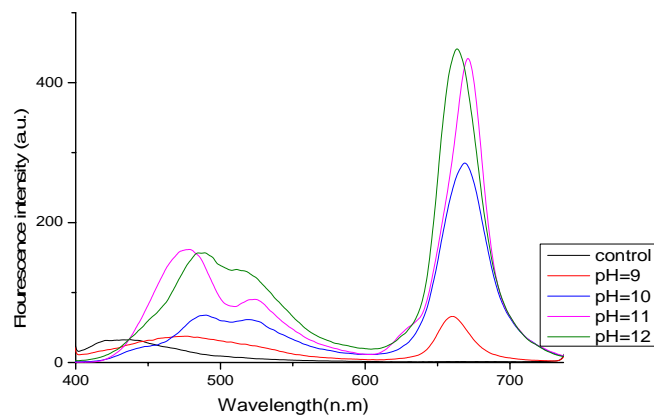
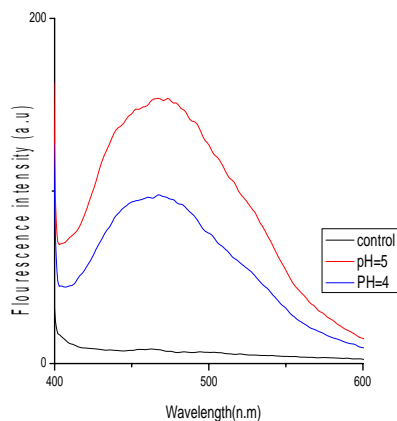
ارزیابی خصوصیات نشر فلورسانس نمونه‌های سنتز شده

برای تعیین نوع فلورسانس تابشی کوانتوم‌دات‌های سنتز شده و میزان نشر آنها، نمونه‌ها ابتدا زیر نور ماورای بنفش بررسی و آنالیز شدند. همان‌طور که در شکل 3 می‌بینیم، در سمت راست نمونه کنترل است. نمونه‌های



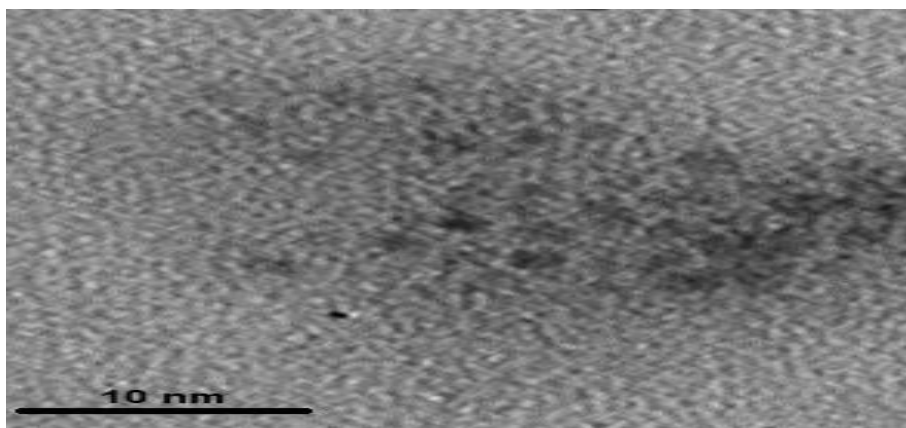
شکل 3 نشر نمونه‌های سنتز شده (کنترل + انواع کوانتوم‌دات‌ها)

فلورسنس قرمز و اندازه نانوذرات 6 نانومتر است. درحالی که در pH اسیدی حداکثر میزان نشر در 475 نانومتر و دارای فلورسنس آبی و قطر نانوذرات 2 نانومتر است (شکل 4). بنابراین، با افزایش pH در سنتز عصاره متانولی برگ، اندازه نانوذرات افزایش می یابد.



شکل 4 سنتز زیستی کادمیوم سولفید در pH های اسیدی و بازی با استفاده از عصاره متانولی برگ فیسالیس

به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نشان داد، کوانتوم دات های تولید شده شکل کروی و قطر حدود 2-10 نانومتر دارند و پراکنده هستند (شکل 5).



شکل 5 تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، از کوانتوم دات های کادمیوم سولفید سنتز شده

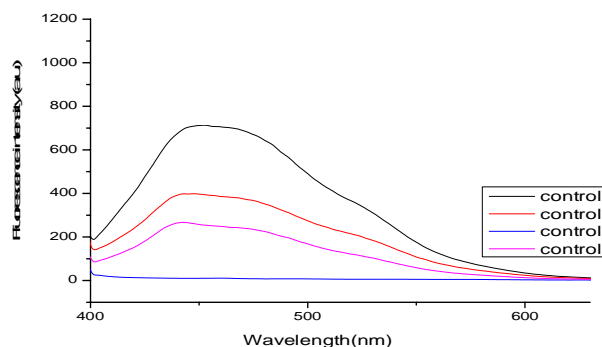
استفاده از عصاره متانولی گیاه فیسالیس نشان داد، نشر نمونه های کنترل، با گذشت زمان و در یک ماه به ترتیب کاهش یافته است (شکل 6).

نتایج به دست آمده از نشر فلورسانس سنتز زیستی کادمیوم سولفید در pH های اسیدی و بازی با استفاده از عصاره متانولی برگ فیسالیس نشان داد، دو نوع کوانتوم دات در pH های اسیدی و بازی تشکیل شده اند که در pH های بازی میزان نشر در 675 نانومتر و دارای

آنالیز میکروسکوپی TEM کوانتوم دات های سنتز شده برای تعیین شکل ظاهری و اندازه کوانتوم دات های سنتز شده آنالیز میکروسکوپ الکترونی انجام شد. تصاویر

بررسی پایداری نشر فلورسانس

برای تعیین پایداری طیف نشری، محلول حاوی کوانتوم دات های سنتز شده در شرایط اسیدی و در طول موج 480 نانومتر بررسی شد. نتایج حاصل از پایداری شدت نشر با

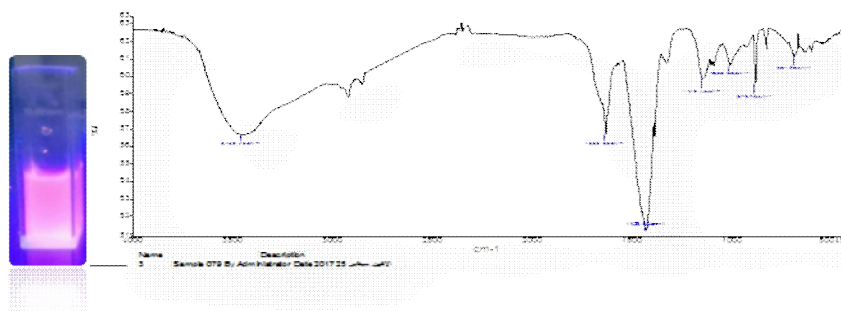


شکل 6 کاهش نشرعصاره (کنترل)

حلقه‌های آروماتیک، هیدروکربن‌ها، آمیدها، آلکیل‌ها در سطح کوانتوم‌دات‌ها را نشان می‌دهد (شکل 7). این نتایج نشان می‌دهد گروه‌های عاملی مختلف در سنتز بیولوژیکی دخالت داشته‌اند.

آنالیز FTIR کوانتوم‌دات‌های سنتز شده

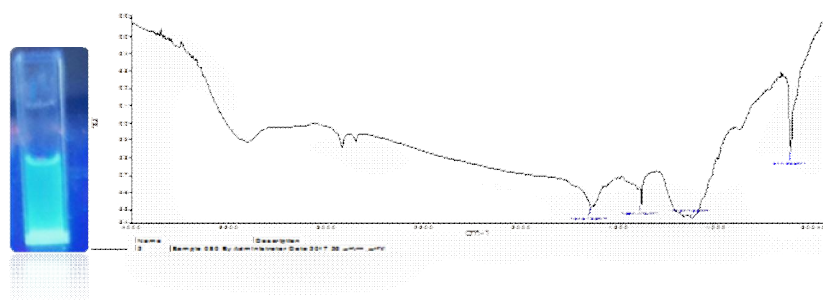
آنالیز طیف FT-IR کوانتوم‌دات تولید شده با عصاره بازی متانولی فیسالیس پیک‌هایی در محدوده $1630, 3450 \text{ cm}^{-1}$ ، $1006, 1142, 1428, 681, 879$ را نشان می‌دهد. این پیک‌ها حضور گروه‌های عاملی فنل‌ها، استرها، آمین‌ها،



شکل 7 طیف FT-IR کوانتوم‌دات تولید شده از عصاره متانولی در pH بازی فیسالیس

گروه‌های عاملی مورد نظر از جمله آمیدها، هیدروکربن‌ها، آلکیل‌ها، آلکن‌ها را در تولید کوانتوم‌دات‌ها نشان می‌دهند (شکل 8).

طیف FT-IR کوانتوم‌دات تولید شده در عصاره اسیدی متانولی فیسالیس پیک‌هایی را در محدوده $1645, 617, 1132, 1384$ نشان می‌دهد. این پیک‌ها حضور



شکل 8 : طیف FT-IR کوانتوم‌دات تولید شده از عصاره متانولی در pH اسیدی فیسالیس

بحث

کوانتوم‌دات‌ها نانوکریستال‌هایی با خواص الکتریکی و نوری منحصربه‌فرد هستند. کوانتوم‌دات‌ها معمولاً با استفاده از روش‌های شیمیایی همچون هسته کریستال در حلال‌های آبی یا آلی تولید می‌شوند. در این روش تولید نانوبلورهای هم‌اندازه هنگام جلوگیری از بی‌ثباتی و تجمع ذرات دشوار است. بنابراین، برای تولید کوانتوم‌دات‌های با کیفیت بالا، ارزان، قابل بازیابی و با مقدار زیاد به تکنیک‌های بهبودیافته نیاز هست. راه‌حل بالقوه برای برطرف کردن این مشکلات تولید بیولوژیکی کوانتوم‌دات‌ها است (23). در این مقاله سنتز و میزان جذب، نشر، خواص نوری، اندازه و شکل کوانتوم‌دات‌های کادمیوم سولفید تولیدشده و پایداری آنها را در عصاره متانولی فیسالیس بررسی کردیم. تغییر رنگ واکنش (شکل 1)، طیف‌های جذبی (شکل 2)، خواص نوری (شکل 3)، طیف‌های نشر (شکل 4) TEM (شکل 5)، نشان‌دهنده تشکیل کوانتوم‌دات‌ها، خصوصیات و اندازه کوانتوم‌دات‌های سنتز شده بوسیله گیاه فیسالیس بودند. تغییر رنگ واکنش به نارنجی در عصاره متانولی گیاه فیسالیس نشانه‌ای از سنتز کوانتوم‌دات‌های کادمیوم سولفید در محلول واکنش بود (شکل 1). بروویا و همکاران (2014) نیز به نتایج مشابهی در تحقیقی دیگر دست پیدا کردند. آنها تغییر رنگ واکنش به زرد در عصاره آبی تولید نانوکریستال‌های کادمیوم سولفید لومینسانسی پایدار با پیک‌های جذبی در 398، 362، 464 و 500 نانومتر، پیک‌های نشری در 425، 462، 500 نانومتر، اندازه نانوذرات با قطر 3/8 نانومتر، با فلورسانس آبی و شکل کروی و پایداری شدت نشر را تا 3 ماه پس از سنتز در ریشه موین گیاه *Linaria maroccana L* گزارش کردند (24). در مطالعه دیگری بروویا و همکاران (2015) اولین سنتز کوانتوم‌دات خارج سلولی را با کشت سوسپانسیون سلولی با استفاده از گیاه *N. tabacum* با موفقیت انجام دادند. آنها می‌گویند، نانوذرات کادمیوم

سولفید، حداکثر جذب و نشر را در طول موج 292 و 381 نانومتر دارند. این مسئله، حضور نانوذرات کوچک در نمونه، آنالیز HRTEM کوانتوم‌دات‌هایی با شکل کروی و اندازه نانوذرات با قطر 3 تا 7 نانومتر را نشان می‌داد (25). مطالعات قبلی نشان دادند، رنگ فلورسانس نانوکریستال‌ها در طول سنتز کنترل می‌شود، زیرا به ترکیب شیمیایی، خواص سطح و اندازه آن بستگی دارد. به‌طورکلی، رنگ فلورسانس کوانتوم‌دات‌ها از قرمز به آبی تغییر می‌کند (26). کوانتوم‌دات‌ها در عصاره متانولی برگ تا مدت‌ها بعد از سنتز پایدار بودند. رنگ فلورسانس کوانتوم‌دات‌ها در عصاره متانولی برگ به رنگ قرمز، زرد و سبز-آبی تشکیل شدند. مقدار pH محیط واکنش نقش مهمی در شکل‌گیری نانوذرات بازی می‌کنند (27). نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد، در سنتز زیستی کادمیوم سولفید در pHهای مختلف با استفاده از عصاره متانولی برگ کوانتوم‌دات‌های مختلفی با تغییر pH تشکیل شدند. ساتشکمار و همکاران (2010) می‌گویند، مقدار pH عصاره گیاه در شکل‌گیری نانوذرات نقش مهمی بازی می‌کند. تغییر در pH طبیعی مواد شیمیایی موجود در عصاره گیاهی، روی اتصال و احیای کاتیون‌ها و آنیون‌ها فلزی در طی سنتز اثرگذار هستند. این مسئله می‌تواند شکل، اندازه و عملکرد نانوذرات را تحت تأثیر قرار دهد (28). مطالعات نشان می‌دهد، تغییر pH محیط واکنش سبب تنوع در تولید، شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده می‌شود. هنگامی که از عصاره پوست درخت دارچین برای سنتز پالادیوم (PD) استفاده شد با افزایش pH اندازه ذرات افزایش یافت، pH کمتر از 5 به تولید نانوذرات 15 تا 20 نانومتر انجامید و در pH بیشتر از 5 اندازه ذرات در محدوده 20 تا 25 نانومتر بود (29). آنالیز FTIR برای شناسایی بیومولکول‌های احتمالی مسئول احیا و عامل پوشاننده کوانتوم‌دات‌های تولیدشده با فیسالیس انجام شد. همچنین، براساس تحقیق بروویا و همکاران (2014)

Nanoparticles: Capacity of Biological Systems and Prospects for Development. *Nanostructure Material Science*, 4, 89—103

3. Blume, Y. B., Pirko, Y. V., Burlaka, O. M., Borova, M. M., Danylenko, I. A., Smertenko, P. S., & Yemets, A. I. (2015) «Green» Synthesis of Noble Metal Nanoparticles and CdS Semiconductor Nanocrystals Using Biological Materials.

4. Njagi, E. C., Huang, H., Stafford, L., Genuino, H., Galindo, H. M., Collins, J. B., ... & Suib, S. L. (2010). Biosynthesis of iron and silver nanoparticles at room temperature using aqueous sorghum bran extracts. *Langmuir*, 27(1), 264-271.

5. Duan, H. et al. (2015) Greenchemistryfor nanoparticesynthesis. *Chem. Soc.Rev.* 44, 5778–5792

6. Krumov, N., Perner-Nochta, I., Oder, S., Gotcheva, V., Angelov, A., & Posten, C. (2009). Production of inorganic nanoparticles by microorganisms. *Chemical engineering & technology*, 32(7), 1026-1035

7. Nabikhan, A., Kandasamy, K., Raj, A., & Alikunhi, N. M. (2010). Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 488-493.

8. Ekimov, A. I., & Onushchenko, A. A. (1982). Quantum size effect in the optical-spectra of semiconductor micro-crystals. *Soviet Physics Semiconductors-Ussr*, 16(7), 775-778.

9. Nirmal, M., Dabbousi, B. O., Bawendi, M. G., Macklin, J. J., Trautman, J. K., Harris, T. D., & Brus, L. E. (1996). Fluorescence intermittency in single cadmium selenide nanocrystals. *Nature*, 383(6603), 802-804.

10. Gaponik, N., Talapin, D. V., Rogach, A. L., Hoppe, K., Shevchenko, E. V., Kornowski, A., ... & Weller, H. (2002). Thiol-capping of CdTe nanocrystals: an alternative to organometallic synthetic routes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(29), 7177-7185.

11. Singh, S., Bozhilov, K., Mulchandani, A., Myung, N., & Chen, W. (2010). Biologically programmed synthesis of core-shell CdSe/ZnS nanocrystals. *Chemical Communications*, 46(9), 1473-1475.

12. Irvani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.

ریشه موین گیاه *Linaria maroccana* L می تواند مقدار زیادی از ترکیبات آلکالوئید، فلاونوئید، آسکوربیک اسید، ترکیبات پکتین، D, L-peganin، glycosides را جمع کند. احتمالاً این ترکیبات در شکل گیری پایدار نانوذرات نیمه رسانا کادمیوم سولفید نقش دارند (24). بنابراین، با توجه به پیک های مشاهده شده در این مطالعه می توان نتیجه گرفت، گروه های احتمالی در تولید کوانتوم دات ها ترکیباتی از قبیل پروتئین ها، فنول ها و ترکیبات موجود دیگر در فیسالیس هستند. در مطالعه خاتمی و همکاران (2016) پیک های جذبی در موقعیت 1631، 3437 و 570 حضور فنول ها، پروتئین ها و ارتعاشات کششی حلقه های آروماتیک را نشان می دهند و این ترکیبات مسئول تولید نانوذرات طلا با استفاده از گیاه شبدر ایرانی هستند (30).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، تولید کوانتوم دات ها با استفاده از فیسالیس به روش زیستی انجام پذیر است. آنالیزهای مشخصه یابی و تعیین ویژگی های نانوذرات نیز تولید کوانتوم دات ها را در فیسالیس نشان می دهد. نتایج به دست آمده از TEM شکل و اندازه کوانتوم دات ها را به وضوح نشان می دهد. بر اساس این نتایج، شکل کوانتوم دات ها کروی و اندازه شان 10 - 2 نانومتر است و به دلیل حضور ترکیبات فیتوشیمیایی از پایداری مناسبی برخوردار هستند. کوانتوم دات ها در زمینه هایی مانند تصویربرداری پزشکی، تشخیص و درمان سرطان به دلیل تنوع رنگی بالای کوانتوم دات ها و امکان کنترل تابش در فرکانس های مطلوب کاربرد بسیاری دارد.

منابع

1. Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517.
2. Burlaka, O.M., Pirko, Ya.V., Yemets, A.I., and Blume, Ya. B(2012) «Green» Synthesis of Metal

22. Franco, L. A., Matiz, G. E., Calle, J., Pinzón, R., & Ospina, L. F. (2007). Antiinflammatory activity of extracts and fractions obtained from *Physalis peruviana* L. calyces. *Biomedica*, 27(1), 110-115.
23. M.N.V. Prasad, *Environ. Exp. Bot* 35 (1995) 525.
24. Borovaya, M. N., Naumenko, A. P., Matvieieva, N. A., Blume, Y. B., & Yemets, A. I. (2014). Biosynthesis of luminescent CdS quantum dots using plant hairy root culture. *Nanoscale research letters*, 9(1), 686.
25. Mariya N. Borovaya, Olga M. Burlaka, Antonina P. Naumenko, Yaroslav B. Blume and Alla I. Yemets. (2016). Extracellular Synthesis of Luminescent CdS Quantum Dots Using Plant Cell Culture
26. Rizvi, S. B., Ghaderi, S., Keshtgar, M., & Seifalian, A. M. (2010). Semiconductor quantum dots as fluorescent probes for in vitro and in vivo bio-molecular and cellular imaging. *Nano reviews*, 1(1), 5161.
27. Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Gamez, G., Dokken, K., Tehuacanero, S., & Jose-Yacaman, M. Gold nanoparticles obtained by bio-precipitation from gold (III) solutions. *Journal of Nanoparticle Research*, 1(3), 397-404.
28. Sathishkumar, M., Sneha, K., & Yun, Y. S. (2010). Immobilization of silver nanoparticles synthesized using *Curcuma longa* tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. *Bioresource technology*, 101(20), 7958-7965.
29. Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S. W., Cho, C. W., Kim, S., & Yun, Y. S. (2009). Cinnamon *zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 332-338.
30. Khatami, M., Nejad, M. S., Salari, S., & Almani, P. G. N. (2016). Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Trifolium resupinatum* seed exudate and their antifungal efficacy on *Neofusicoccum parvum* and *Rhizoctonia solani*. *IET nanobiotechnology*, 10(4), 237-243.
13. Lovrić, J., Bazzi, H. S., Cuie, Y., Fortin, G. R., Winnik, F. M., & Maysinger, D. (2005). Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots. *Journal of Molecular Medicine*, 83(5), 377-385.
14. Hoshino, A., Hanaki, K. I., Suzuki, K., & Yamamoto, K. (2004). Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body. *Biochemical and biophysical research communications*, 314(1), 46-53.
15. Al-Shalabi, Z., Stevens-Kalceff, M. A., & Doran, P. M. (2014). Application of *Solanum lycopersicum* (tomato) hairy roots for production of passivated CdS nanocrystals with quantum dot properties. *Biochemical engineering journal*, 84, 36-44.
16. Prasad M. N. V. and Strzalka K. (1999), Impact of heavy metals on photosynthesis. In: Heavy Metal Stress in Plants (Prasad M. N. V. and Hagemeyer J., eds.). Springer Publ., Berlin, pp. 117-138
17. Cobbett, C., & Goldsbrough, P. (2002). Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual review of plant biology*, 53(1), 159-182
18. Mehra, R. K., & Winge, D. R. (1991). Metal ion resistance in fungi: molecular mechanisms and their regulated expression. *Journal of cellular biochemistry*, 45(1), 30-40.
19. Lin, H. H., Han, L. Y., Zhang, H. L., Zheng, C. J., Xie, B., Cao, Z. W., & Chen, Y. Z. (2006). Prediction of the functional class of metal-binding proteins from sequence derived physicochemical properties by support vector machine approach. *BMC bioinformatics*, 7(Suppl 5), S13.
20. Cedeño López, M. M., & Montenegro Ceballos, D. M. (2004). *Plan exportador, logístico y de comercialización de uchuva al mercado de Estados Unidos para FRUTEX™ PO SCI Ltda* (Bachelor's thesis, Facultad de Ingeniería).
21. Zavala, D., Mauricio, Q., Pelayo, A., Posso, M., Rojas, J., & Wolach, V. (2006). Citotoxic effect of *Physalis peruviana* (capuli) in colon cancer and chronic myeloid leukemia. *Anales de la Facultad de Medicina*, 67(4), 283-289.

Study of biosynthesis of CdS Quantum dots (QD) by methanolic extracts of *Physalis peruviana* L.

Atefeh Piran Zaei¹, Mehdi Dadmehr^{*2}, Nad Ali Babaeian jolodar³, Nad Ali Bagheri⁴,
Morteza Hosseini⁵

1. M.Sc of Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2. Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources

4. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources

5. Professor, Department of Biological engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran

Received: 2018/9/19

Accepted: 2020/12/12

*Corresponding author:mdadmehr@pnu.ac.ir

Abstract

Quantum dots as a fluorescent probe are applied for cell biology, DNA transformation, biomedical imaging and cancer therapy. Biological based synthesis of nanoparticles would be more efficient and environment-friendly rather than chemical approaches. In the present study, quantum dots have been synthesized through leaf methanolic extracts. The obtained results by UV-vis spectroscopy, TEM, FT-IR and fluorescence spectroscopy showed the presence of synthesized CdS quantum dots. Yellow and orange colors of obtained solution also indicated the successful synthesis of CdS quantum dots. The maximum UV-Vis spectrum absorption of quantum dots was observed at 410 nm. Results of fluorescence analysis also showed that emission bands were at 475, 490 and 675 respectively which indicated the synthesis of different CdS quantum dots in different pH values. Obtained nanoparticle were spherical and at the range between 2-10 nm according to TEM analysis. FT-IR analysis also showed that the proteins, leucine and lysine amino acids, phenols and other functional groups present in physalis extracts would be determining factors in reducing CdS ions and converting them to quantum dots.

Keyword: Quantum dot; Physalis; Biological Production; Methanolic extract.