بیوسنتز نانوذرات مس با استفاده از عصاره آبی گل *Postia puberula* و بررسی فعالیت ضد باکتری آن

کاترین ابراهیمی

ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۴

چکیده

در مطالعه حاضر از عصاره آبی گل *Postia puberula* جهت احیای محلول سولفات مس و تولید نانوذرات مس استفاده شده است. وفعالیت ضد باکتری آن بررسی شد. برای شناسایی نانوذرات سنتز شده از آنالیزهای طیف سنجیUV-Vis، میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM)، پراش انرژی اشعه ایکس (EDX) استفاده شد. فعالیت ضد میکروبی نانوذرات مس سنتز شده با استفاده از روش انتشار در دیسک در برابر برخی گونه های انتخاب شده بررسی گردید. بعد از افزایش عصاره به محلول سولفات مس، رنگ محلول سولفات مس از آبی روشن به سبز مایل به زرد تغییر پیدا کرد. وجود پیک ماکزیمم در طول موج ۵۷۵ نانومتر تشکیل نانوذرات مس را تایید کرد. میکروسکوپ الکترونی روبشی اندازه ذرات را بین ۱۴تا ۳۹ نانومتر نشان داد. نانوذرات سنتز شده در برابر باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس‌سرئوس، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکولی فعالیت نشان دادند. نتایج حاصله نشان داد که عصاره آبی گل گیاه مذکور به عنوان عامل احیا کننده و پایدار کننده عمل می‌کنند. نانوذرات مس سنتز شده در مقابل هر دو باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی فعالیت نشان دادند.

واژهای کلیدی: نانو ذرات مس، خواص ضد باکتری، سنتز سبز، عصاره *Postia puberula*

نویسنده مسئول، تلفن:۰۹۱۶۱۶۰۴۰۱۰ ، پست الکترونیکی: Katrine.ebrahimi@pnu.ac.ir

مقدمه

نانوتکنولوژی نقش مهمی را در تحقیقات مدرن ایفا می‌کند. این تکنولوژی قادر است در تمام زمینه‌ها مانند داروسازی، الکترونیک، مراقبت‌های بهداشتی، غذا و تغذیه، علم زیست پزشکی، دارو و انتقال ژن، صنایع شیمیایی، علم انرژی، لوازم آرایشی، بهداشت و محیط زیست، مکانیک و صنایع فضایی کاربرد داشته باشد.همچنین برای درمان عفونت، سرطان، آلرژی، دیابت و التهاب مورد استفاده قرار گیرد(۲۸و و۶و۴).شیمی سبز طراحی و توسعه محصولات شیمیایی و فرآیندها برای به حداقل رساندن استفاده‌های خطرناک از محیط زیست می‌باشد(۱۷ و۱۵و۱۴). نانوذرات به روش‌های فیزیکی و شیمیایی سنتز می‌شوند. در مقایسه با این روش‌ها، سنتز سبز یکی از بهترین روش-ها برای تولید نانوذرات در سال‌های اخیر می‌باشد. سنتز سبز دارای مزیت‌های متعدد نسبت به روش‌های دیگر از جمله: مقرون به صرفه، ساده، استفاده از درجه حرارت کمتر، استفاده از مواد غیر سمی به علاوه سازگار با برنامه-های کاربردی پزشکی و مواد غذایی است. روش سنتز سبز در حال توسعه و سازگار با محیط زیست می‌باشد(۲۹و۱۶ و۸). در این روش عصاره به عنوان عامل کاهنده و پوشش برای نانوذرات به کار می‌رود. نانوذرات مس به علت خواص الکتریکی، نوری، کاتالیزوری، دارای کاربردهای گسترده‌ای در پزشکی،ضد قارچ و ضد باکتری است(۲۷و۸و۷). نانوذرات مس برای بسیاری از میکرو ارگانیسم ها مانند باکتری های اشریشیاکولی،استافیلوکوک

اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا سمی و برای سلول‌های حیوانی غیر سمی است(۱۲). گیاهان مختلفی برای سنتز نانوذرات با استفاده از روش سنتز سبز مورد استفاده قرار گرفته اند (۲۷و۱۸و۱۰). نانوذرات با استفاده از تمام بخش-های گیاه مانند ساقه، گل، میوه، برگ و پوست سنتز می-شوند(۲۸و۲۲ و ۲۵). تیره(Asteracea) یکی از تیره های بزرگ گیاهان دولپه ای و آخرین تیره این گروه است. و از سری پیوسته گلبرگان چهارچرخه ای با نخمدان زیرین است (۱). Postia گیاهانی چندساله علفی و نیمه چوبی با برگهای سرنیزه ای، نرم علفی یا چرمی هستند. گونه *Postia puberula* درختچه هایی متوسط با شاخه هایی منشعب –قاعده محکم و ضخیم و تقریبا بدون کرک ، ساقه دارای برگ و تا ارتفاع ۴۰ سانتیمتر طول دارد. معمولا در محل گره دارای کرک های پشمی.برگها تقریبا به طول ۳ سانتیمتر و عرض ۷ میلیمتراند. و حالت سرنیزه ای نوک تیز دارند.جام ۴ میلیمتر طول دارد. معمولا هرمافرودیت اند. فندقه ممکن است حالت ز گیل دار باشند (سه وجهی) یا ممکن است حالت زائده دار کوچک باشند(۲۰).ترکیبات عمده این گیاه هگزیل بنزوات، توریول، بتاکاریوفیلین ، آلفاپینن و لینالول می‌باشند.در این مطالعه از گلهای این گیاه برای سنتز نانو ذرات مس واثرضد باکتری آن استفاده شد. نوآوری در این پژوهش ، سنتزنانو ذرات مس برای اولین بار با عصاره ی گیاه مذکور به روش سنتزسبز و دوستدار محیط زیست است.

مواد و روشها

جمع آوری گیاه: گل های گیاه *Postia puberula* از ارتفاعات خرم آباد ، اردیبهشت ماه ۹۵ جمع آوری شد و پس از شناسایی نمونه‌های جمع آوری شده با آب مقطر شسته و در سایه و به دور از نور مستقیم خورشید خشک و سپس به کمک آسیاب پودر شدند و پودر گیاه برای استفاده های بعدی در یخچال نگه داری شد.

تهیه عصاره آبی: مقدار ۱۰ گرم از پودر گیاه *Postia puberula* را در یک ارلن ریخته و مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد. بعد از رسیدن به دمای اتاق ابتدا با کاغذ صافی، صاف و بعد عصاره به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و عصاره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگه داری شد .

سنتز نانوذرات مس: به ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول سولفات مس ۰/۰۱ مولار تازه تهیه شده در حالی که روی استیرر به طور دائم هم زده می‌شد ۷۵ میلی‌لیتر عصاره تازه تهیه شده اضافه، و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی - گراد نگه داری شد(۲۱). سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ هزار دور سانتریفیوژ شد ، این عمل دو بار تکرار شد تا تمام ناخالصی‌ها از بین بروند.تغییر رنگ محلول از سبز به زرد کهربائی تشکیل نانو ذرات را نشان می‌دهد، نانوذرات سنتز شده در آون و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای آنالیزهای بعدی خشک شد(۱۷).

شناسایی نانوذرات

آنالیز طیف سنجی UV-Vis : کاهش یون‌های مس به نانوذرات مس تاییدی بر رزونانس پلاسمون سطحی (SPR) نانوذرات مس است. ۳۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق گردید و آنالیز طیف UV-Vis با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY ۶۴۰۵) در محدوده ۷۰۰–۳۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) : اندازه و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (ساخت کشور چک Mira3) ۱۵ kv و بزرگنمایی ۱۰ x و وضوح ۱ nm مورد بررسی قرار گرفت.

پراش انرژی اشعه ایکس (EDX= Energy-dispersive X-ray spectroscopy) : طیف‌سنجی پراش انرژی اشعه

ایکس به همراه SEM برای بررسی حضور عنصر مس در تصاویر SEM استفاده شد.

آماده سازی محیط کشت و باکتری: برای روش انتشار دیسک از محیط کشت جامد و برای حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) از محیط کشت مایع استفاده می‌شود. در اینجا از مولر هینتون آگار به عنوان محیط کشت جامد و از مولر هینتون براث به عنوان محیط کشت مایع استفاده شد. برای تهیه محیط کشت بر اساس دستورالعمل نوشته شده بر ظرف محیط کشت مقدار مشخصی از محیط کشت در حجم مشخصی از آب مقطر در یک ارلن حل شد. سپس برای استریل شدن محیط کشت در اتوکلاو قرار داده شد. پس از اتوکلاو، محیط کشت مایع در یخچال قرار داده شد. وقتی دمای محیط کشت به حدود ۵۰ درجه سانتی-گراد رسید در زیر هود در پلیت‌های متعدد ریخته و پس از اینکه محیط کشت به شکل جامد درآمد پلیت‌ها وارونه و در یخچال نگه داری شدند. در زمان انجام تست باید از باکتری تازه پاساژ داده استفاده کرد. به همین منظور یک روز قبل از انجام تست از هر باکتری کشت تازه تهیه شد که این کار با لوپ بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار انجام شد. پلیت‌ها تا ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد.

سنجش انتشار دیسک: فعالیت ضد باکتری نمونه در برابر استافیلوکوک اورئوس (*Staphylococcus aureus* PTCC 1112)، باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus* PTCC 1556)، اشریشیا کولی (*Escherichia coli*PTCC1330) و کلبسیلا پنومونیه (*Klebsiella pneumonia* PTCC 1053)، وبا استفاده از روش دیسک-انتشار مورد بررسی قرار گرفت (۳). در شرایط استریل یک لوپ از کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری در محلول نرمال سالین ریخته شد تا کدورتی مشابه استاندارد نیم مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۶}$CFU/ml)تهیه شود و بعد به وسیله سواپ بر سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت یکنواختی تهیه گردید. بعد ۱۰۰µl از نمونه بر روی دیسک بلانک ریخته شد. سپس دیسک های بلانک روی سطح پلیت ثابت گردید. نرمال سالین به عنوان کنترل منفی و آمیکاسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد .

تعیین MIC : تعیین MIC در میکروپلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد(۱۵).بدین منظور ابتدا از محیط کشت مولر هینتون براث ۱۰۰ µl داخل ۱۰ چاهک میکروپلیت ریخته شد و سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ µl نمونه اضافه گردید با چند بار بالا و پایین کردن با سمپلر خوب با هم مخلوط شد. سپس از چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک بعدی اضافه شد و این کار تا چاهک شماره ۱۰ انجام شد و از چاهک شماره ۱۰، ۱۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد و به این ترتیب غلظت عصاره در هر چاهک نصف چاهک قبلی شد.از کشت ۲۴ ساعته باکتری سوسپانسیون یکنواختی معادل محلول استاندارد نیم مک فارلند در محیط کشت مایع براث تهیه، صد برابر رقیق و ۱۰۰µl از آن به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، وجود کدورتی که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری است یادداشت شد و طبق تعریف (رقیق ترین)چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشد معادل MIC در نظر گرفته شد. سوسپانسیون باکتری و محیط کشت به عنوان کنترل مثبت، و از محیط کشت مولر هینتون براث نیز به عنوان کنترل منفی و از آمیکاسین به عنوان آنتی بیوتیک استاندارد استفاده گردید.

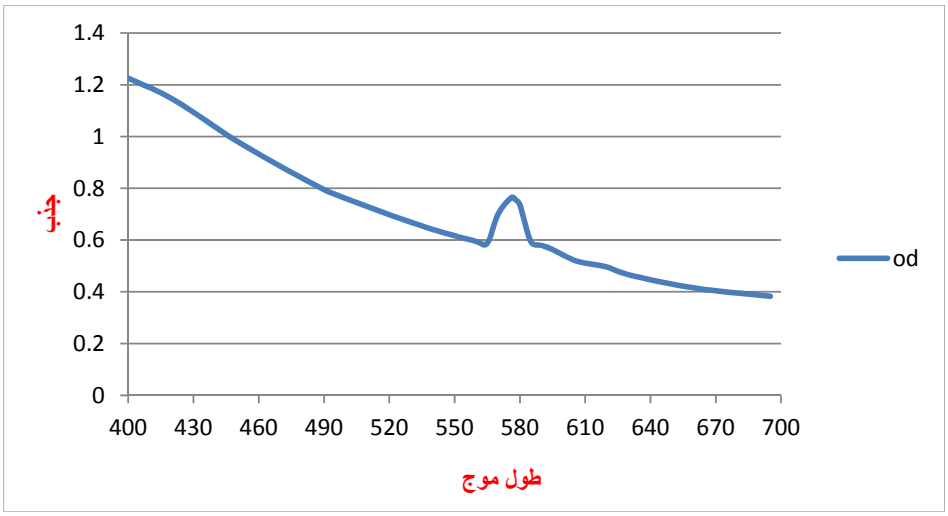
نتایج

پس از اضافه شدن عصاره به محلول سولفات مس رنگ سولفات مس از آبی کم رنگ به سبز متمایل به زرد تغییر پیدا کرد که این تغییر رنگ دلیل بر سنتز نانوذرات مس می‌باشد (شکل ۱).

شکل۱-تغییر رنگ محلول سولفات مس بعد از افزایش عصاره آبی گیاه

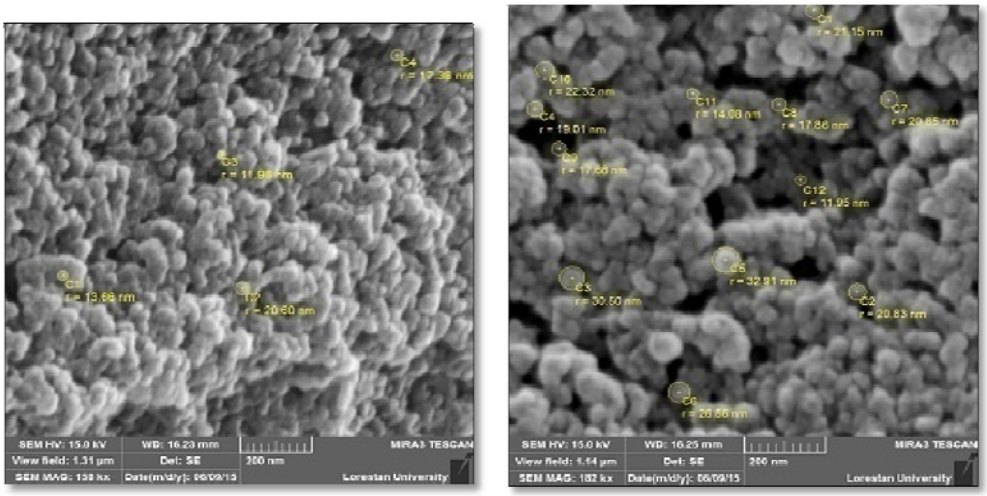
آنالیز طیف UV-Vis : برای بررسی تشکیل نانو ذرات مس می توان از طیف UV بهره جست. به این ترتیب غلظت های مختلف از سولفات مس و عصاره تهیه شده، با هم مخلوط و طیف جذبی UV-Vis آنها در محدوده ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر اندازه گیری شد.

نانوذرات سنتز شده در دو ناحیه ی۴۰۰ و بین ۶۰۰-۵۰۰ نانومتر ماکزیمم جذب نوری دارد. شکل۲ نشان می‌دهد که پیک جذبی آن در طول موج ۵۷۵ نانومتر برای نانوذرات مس رخ داده است.



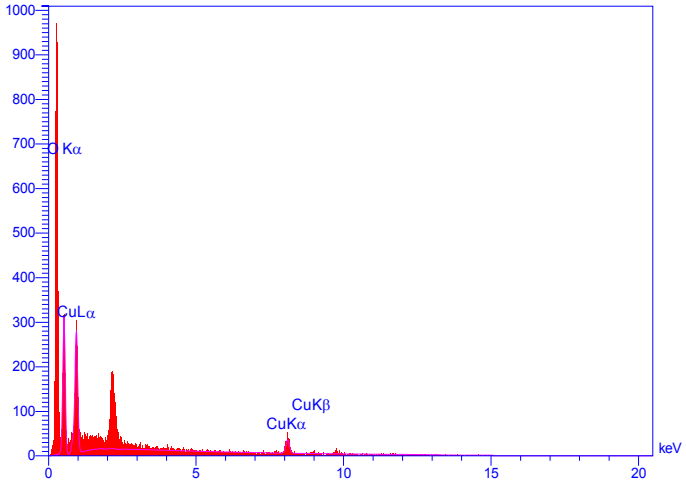
شکل۲-طیف جذبی نانوذرات مس

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM): پس از تایید سنتز نانو ذرات با استفاده از تغییر رنگ و همچنین طیف های جذبی UV-Vis مورفولوژی نانوذرات سنتز شده توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی دانشگاه لرستان بررسی گردید.با توجه به تصاویر حاصله، نانوذرات مس سنتز شده مورفولوژی کروی داشته و اندازه ذرات بین ۱۴تا ۳۹ نانومتر تعیین گردید (شکل۵).



شکل ۵-تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات مس سنتز شده

بررسی طیف EDX : حضور مس فلزی از طریق آنالیز EDX تایید گردید(شکل۶). نانوذرات مس یک پیک جذبی در ۱ Kev دارند که شاخص برای نانوذرات فلزی مس است. آلودگی اصلی در این طیف اکسیژن می‌باشند . اکسیژن ناشی از جذب فیزیکی در طول تهیه نمونه باشد.



شکل ۶- طیف EDX نانوذرات مس سنتز شده

فعالیت ضد باکتری نانوذرات سنتزی: نانوذرات مس در مقابل باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سرئوس) و باکتری‌های گرم منفی (کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکولی) دارای فعالیت ضد باکتری است. نتایج در جدول ۱ آمده است.

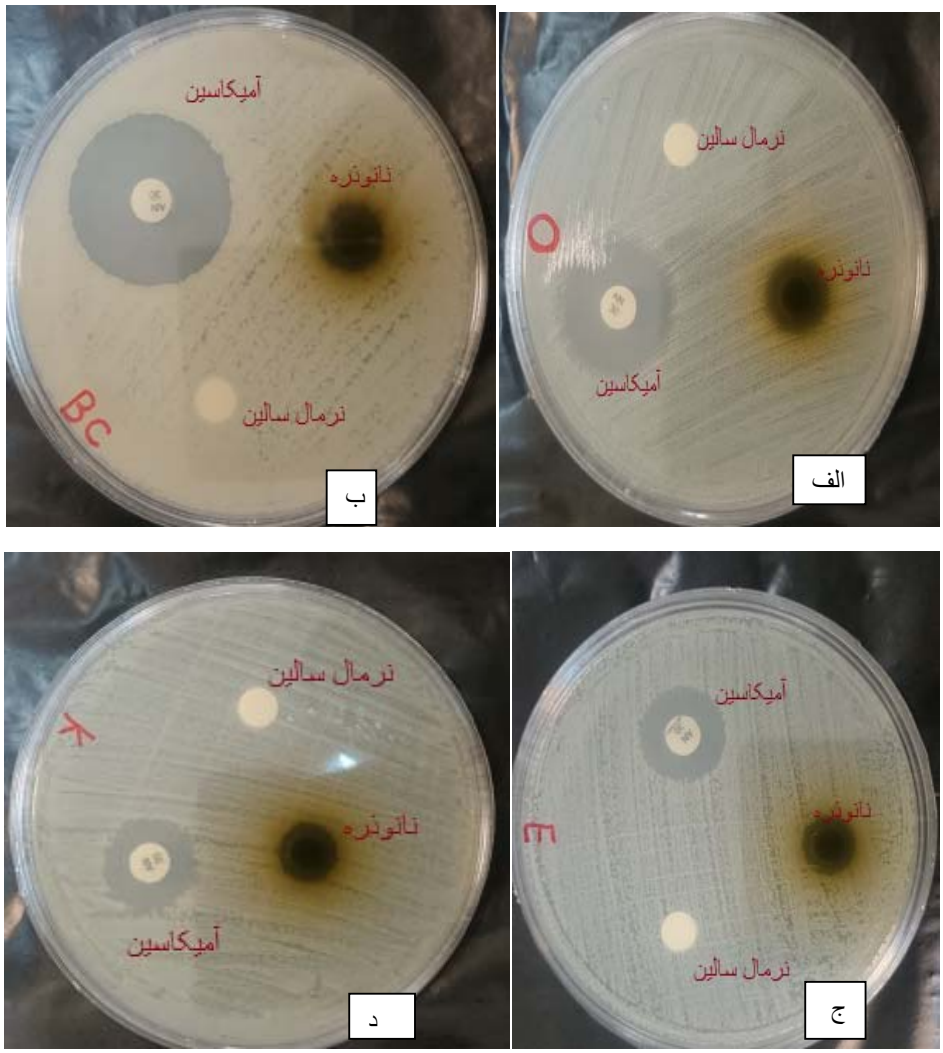
بحث

بررسی نتایج نشان دادکه استفاده از عصاره آبی میوه گیاه *Postia puberula* یک روش ساده، سریع، ارزان، سازگار با محیط زیست و قابل انجام در هر نوع آزمایشگاه برای سنتز نانوذرات مس است. در این روش از معرف های شیمیایی و سمی استفاده نمی شود، هیچگونه آلودگی ای برای محیط ایجاد نمی کند و بنابراین برسایر روش های شیمیایی و فیزیکی سنتز نانوذرات برتری دارد. گروههای عاملی موجود در عصاره گل های گیاه فوق الذکر ، مسئول احیای یون های فلزی مس به نانوذرات مس بودند. در این

روش نانوذرات مس با پایداری خوب سنتز گردید. بنابراین بیوملکول های موجود در عصاره نه تنها یون های مس را احیا کردند، بلکه بعد از تهیه شدن، از آنها در مقابل عوامل اکسیدان محافظت به عمل آوردند. نانوذرات حاصل شده از این روش بسیار پایدار و تجدیدپذیر می‌باشند. نانوذرات مس دارای کاربردهای گسترده ای در پزشکی از جمله: فعالیت ضدسرطان، ضدانگل، ضدقارچ، ضدباکتری، در بسته بندی مواد غذایی و پانسمان زخم می‌باشند. همچنین این نانوذرات در صنعت دارای کاربردهایی از جمله: خازن های الکتریکی، انتقال حرارت، مواد فوق العاده قوی، حسگرها، کاتالیزورها و... می‌باشند.

جدول۱- فعالیت ضد میکروبی نانوذرات مس

باکتری	هاله عدم رشد ۴mg/disc	MIC (mg/ml)	MBC(mg/ml)
باسیلوس سرئوس	۱۵	۵	۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۴	۵	۵
اشریشیا کلی	۱۰	۱۰	۱۰
کلبسیلا نومونیه	۱۲	۱۰	۱۰



شکل۷- فعالیت ضد باکتری عصاره در مقابل (الف) استافیلوکوک اورئوس، (ب) باسیلوس سرئوس (ج) اشیرشیاکلی (د)

نتایج نشان داد، شکل نانوذرات سنتز شده به این روش نزدیک به کروی و اندازه ی آنها بین ۳۹ -۱۴ نانومتر بود. همچنین نانوذرات مس سنتز شده توانایی مقابله با میکروارگانیسم های بیماری زا دارند. هاله عدم رشد مشاهده شده در مقابل باکتری های گرم مثبت بیشتر از هاله ایجاد شده در برابر باکتری های گرم منفی بود. تاکنون برای سنتز نانوذرات از گیاهان مختلف از جمله: سنتز نانو ذره نقره به روش سبز با استفاده از گیاه مرزنجوش اروپایی و اثرات ضدمیکروبی آن توسط کاووسی و همکاران(۲۰۱۴) انجام شد(۲). ولی برای سنتز نانوذرات مس میتوان به موارد زیر اشاره کرد:

گیاه ریحان(*Ocimus sanctum*) توسط(Kulkarni،۲۰۱۴) (۱۳) ، گیاه کور (*Capparise zeylanica*) توسط (Saranya adevi et al ،۲۰۱۴) (۲۳) ، گیاه شعله زنبق (*Gloriosa superbal*) توسط(Naika et al, ۲۰۱۵) (۱۹) ، عصاره انگور(*Vitis vinifera*) توسط (Angrasan Subbaiya،۲۰۱۴ and)(۵) ، گیاه خرزهره (*Nerium oleander*) توسط (Gopinath et al،۲۰۱۴)(۹) ، گیاه (*Artabotrys odoratissimus*) توسط (Kathad and ،۲۰۱۴ Gajera)(۱۱) استفاده شده است. .Saranya adevia و همکاران اندازه ذرات سنتز شده را بین ۱۰۰-۵۰ نانومتر اعلام کردن(۲۳).

subhankari و همکاران اندازه ذرات را بین ۴۰-۲۵ نانومتر گزارش دادند(۲۶).Kulkarni اندازه ذرات را ۷۷ نانومتر (۱۳)و همچنین Shend و همکاران اندازه ذرات را بین ۶۰-۱۰ نانومتر گزارش کردند(۲۴). در این تحقیق بررسی فعالیت ضد باکتری نانوذرات در مقابل باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد که این ذرات تاثیر بیشتری روی باکتری های گرم مثبت دارند. نتایج این تحقیق با نتایجی که ، Angrasan and Subbaiya اعلام کردند همخوانی دارد.بررسی منابع نشان داد تا کنون گزارشی در سنتز نانو ذرات مس با عصاره آبی گیاه *Postia puberula* انجام نشده و این بررسی برای اولین بار انجام شده است .

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که باکتریهای گرم منفی به دلیل داشتن دیواره ضخیم تر در مقایسه با باکتریهای گرم مثبت مقاوم ترند. همچنین اثر ضد باکتری نانوذرات فلزی به اندازه کوچک و نسبت بالای سطح به حجم آنها ارتباط داده می شود. این ویژگی به نانوذرات اجازه می دهد که بتوانند تماس بیشتری با غشای باکتری ها داشته باشند درنتیجه اثر مهارکنندگی آنها روی عوامل پاتوژن بیشتر شود. به توجه به دلایل فوق از گیاه *Postia puberula* می‌توان برای سنتز نانوذرات مس به روش کم خطر وارزان و سازگار با محیط زیست در مقیاس بالا استفاده کرد و از آنها در بسیاری از مصارف پزشکی بهره جست.

تقدیر و تشکر:از دانشگاه پیام نور مرکز خرم آباد جهت همکاری در انجام این پژوهش تشکر می‌کنم.

منابع

۱- قهرمان، ا.،۱۳۷۳، کورموفیت های ایران ،جلد سوم چاپ اول، مرکزنشر دانشگاهی تهران.

۲- کاووسی.س.،یعقوبی، ه.، ۱۳۹۶، سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه مرزنجوش و بررسی اثر ضد میکروبی آن، مجله پژوهش های سلولی و ملوکولی،جلد۳۰، شماره ۲، ص:۳۱۱-۲۹۹.

3.Abboud. Y, Saffaj T, Chagraoui A, Brouzi K, Tanane O, Ihssane B. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles(CPNPs) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*) Appl Nanosci 2013;DOI 10.1007/s13204-013-0233-x.

4. Akl M Awwad1, Nidà M. Green Synthesis of Silver Nanoparticles by Mulberry Leaves Extract Nanoscience and Nanotechnology. 2012; 2(4): 125-128.

5. Angrasan J, and Subbaiya R, Biosynthesis of copper nanoparticles by *Vitis vinifera* leaf aqueous extract and its antibacterial activity. Int J Curr Microbiol Appl Sci, 2014. 3(9): p. 768-774.

6. Basarkar A, Singh J. Poly (lactide-co-glycolide)-polymethacrylate nanoparticles for intramuscular delivery of plasmid encoding interleukin-10 to prevent autoimmune diabetes in mice. Pharm Res 2009; 26: 72–81.

7. Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. Adv Drug Deliv Rev 2012; 64: 24–36.

8. Chandrakant K, Tagad, Sreekantha Reddy Dugasanic, Rohini Aiyer, Sungha Parkc, Atul Kulkarni, Sushma Sabharwal. Green synthesis of silver nanoparticles and their application for the development of optical fiber based hydrogen peroxide sensor. Sensors and Actuators B 2013; 183: 144– 149.

9. Gopinath M, Subbaiya R, Selvam M M, Suresh D. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2014, 3, 814.

10. Ingle, A.P., N. Duran, and M. Rai, Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review. Applied microbiology and biotechnology, 2014. 98(3): p. 1001-1009.

11. Katha U, and Gajera H. Synthesis of copper nanoparticles by two different methods and size comparison. Int J Pharm Bio Sci, 2014. **5**(3): p. 533-540.

12. Kalimuthu K, Babu RS, Venkataraman D, Bilal M, Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by Bacillus licheniformis. Colloids Surf B. 2008; 65(1): 150-153.

13. Kulkarni, VD. And Kulkarni, PS. Green synthesis of copper nanoparticles using *Ocimum sanctum* leaf extract. Int J Chem Stud, 2013. **1**(3): p. 1-4.

14. Li Z, Lee D,Sheng X,Chohen RF,Ruber MF. Two –level antibacterial coating with both release-killing and contact-killing capabilities.Langmuir.2006;22:9820-3.

15.Laboratory Diagnosis of Infectious Engelkirk, Janet.Engelkirk, Paul; Duben 120.Lippincott Williams & Wilkins, 2008;168 Diseases**.**

16-.Luciana D, Panzarini E, Serra A, Buccolieri A, Manno D (2011) Synthesis and in vitro cytotoxicity of glycans-capped silver nanoparticles. Nanomater. nanotechnol 1(1):58–64

17. Mano Priya M, Karunai Selvia B, John Paul JA. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from the Leaf Extracts of *Euphorbia Hirta* and *Nerium Indicum*. Digest .J. Nanomat. Biostruct. 2011; 6(2): 869 – 877.

18. Mallikarjunaa K, Narasimhab G, Dillipa GR, Praveenb B, Shreedharc B, Sree Lakshmic C et al. Green Synthesis ,of Silver Nanoparticles Using OcimumLeaf Extract and Their Characterization. Digest.J.Nanomat.Biostruct. 2011; 6(1): 181–186.

19.Naika HR, Lingaraju K, Manjunath K, Kumar D, Nagaraju G, Suresh D, Nagabhushana H. *Journal of Taibah University for Science* 2015, *9*, 7. (20) Angrasan, J.; Subbaiya, R. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2014, *3*, 768.

20. Rechinger, K,. H., Flora Iranica, vol.145, Akademische Durk-U. Verlagsan stalt press, 1982. P. 133. Compositeae.

21. Roy K, Mao HQ, Huang SK, Leong KW. Oral gene delivery with chitosan-DNA nanoparticles generates immunologic protection in a murine model of peanut allergy. Nat. Med 1999; 5: 387–391.

22. Rastogi, L. and J. Arunachalam, Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic *(Allium sativum*) extract and their antibacterial potential. Materials Chemistry and Physics, 2011. **129**(1): p. 558-563.

23. Saranya adevi, Subha KV, Ravindran R E, Renganathan S. Int J ChemTech Res 2014, *6*, 4533.

24. Shende S, et al. Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus medica Linn*.(Idilimbu) juice and its antimicrobial activity. World J of Microbiology and Biotechnology, 2015. **31**(6): p. 865-873.

25.Sreemanti Das, Jayeeta Das, Asmita Samadder, Soumya Sundar Bhattacharyya, Durba Das, Anisur Rahman Khuda-Biosynthesized silver nanoparticles by ethanolic extracts of Phytolacca decandra, Gelsemium sempervirens, Hydrastis canadesis and Thuja occidentalis induce differential cytotaxicity through G2/M arrest in A375 cells. Colloids Surf B:Biointerfaces 2013;101:325-336.

26. Subhankari, I. and P. Nayak, Synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* (Cloves) aqueous extract by using green

chemistry. World J. Nano Sci. Technol, 2013. **2**: p. 14-17.

27. Umesh B. Jagtap, Vishwas A. Bapat. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. Seed extract and its antibacterial activity. Industrial Crops and Products.2013; 46: 132– 137.

28. Wilson DS, Dalmasso G, WangL, Sitaraman SV, Merlin D, Murthy N. Orally delivered thioketal nanoparticles loaded with TNF-α–siRNA target inflammation and inhibit gene expression in the intestines. Nat. Mater. 2010; 9: 923–928.

29. Yamini SudhaLakshmi G, Fouzia Banu, Ezhilarasan, Arumugam, Sahadevan. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Cleome Viscosa*: Synthesis and Antimicrobial Activity.2011; 5.

Synthesis of Copper nanoparticles using aqueous extract of *Postia puberula* flora and evaluation of their antimicrobial activity.

Ebrahimi K.

Biology Dept., Payam e Noor University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The development of nanotechnology is making the intrest of researchers towards synthsis of nanoparticles for the bio application**.** In the present study, copper nanoparticles (CuNPs) have been synthesized by the reduction of copper sulfate using aqueous extract of ***Postia puberula*** Flora.The green synthesized CuNPs were characterized using UV-Vis absorption spectroscopy, Scanning Electron Microscopy (SEM) and Enerrgy Dispersive X-ray analysis(EDX) The antimicrobial activity of CuNPs was determined by disc diffusion and broth microdilution methods against some selected species of bacteria. After addition of flower extract, the change in colour of Copper Sulfate solution was noted from light blue to sea green. The UV-Vis absorption spectra confirmed the formation of the CuNPs with the characteristic peak 575 nm. XRD and SEM analysis of copper nanoparticles indicated that they exist in amorphous in nature and with size ranged from14 to 39 nm. Fruit extract acts as both reducing and capping agent**.** The synthesized Cu nanoparticles exhibited activity against of both gram positive and gram negative ba cteria**.**

Key words: Copper nanoparticles, antibacterial, extract of *Postia puberula,* Green synthes,