مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره سوم، شماره نهم، زمستان ۱۳۹۱

Research Article
مقاله تحقیقی

سنتز بیولوژیک نانوذره نقره

فاطمه رمضانی*[۱]، بهرام کاظمی[۲]،علی جبالی[۳]

۱-دانشجوی دوره دکتری نانوفناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی،عضو باشگاه پژوهشگران جوان واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ایران
۲-استاد گروه انگل شناسی و رئیس مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، تهران،ایران
۳-دانشجوی دوره دکتری نانوفناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: در دهه گذشته، توجه علم و صنعت به تولید نانوذرات متمرکز شده است. روش های بسیاری برای سنتز نانوذرات وجود دارد. بسیاری از تکنیک ها از نظر مصرف مواد و انرژی ناکارآمد هستند. در اکثر روش های شیمیایی، از مواد شیمیایی خطرناک برای انسان و محیط زیست استفاده می شود. به همین دلایل، تقاضا برای تولید نانوذرات با روش های بیولوژیک وجود دارد. این تحقیق بر بیوسنتز خارج سلولی نانوذرات نقره با استفاده از گونه غیر بیماری زا *لیشمانیا* متمرکز شده است.

مواد و روش ها: یون های نقره محلول در آب به محض این که در معرض تک یاخته *لیشمانیا* قرار می گیرند کاهش یافته و نانوذرات نقره تشکیل می شود. تشکیل نانوذره نقره با طیف سنجی uv-vis، تصویر میکروسکوپی و طیف پراکندگی عنصری اشعه ایکس بررسی می شود.

یافته ها: در طیف سنجی UV-VIS، نقطه اوج در طول موج ۴۲۰ نانومتر مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره است. میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) تصاویر نانوذرات تولید شده با اندازه ۸۰-۲۰ نانومتر توسط تک یاخته را در محلول نشان می دهد. طیف پراکندگی عنصری اشعه ایکس(EDX) نیز حضور عنصر نقره را تایید کرد.

نتیجه گیری: تک یاخته *لیشمانیا* یک کارخانه بالقوه سبز برای تولید نانوذره نقره است. ابعاد نانوذرات نقره در محدوده ۸۰-۲۰ نانومتر می باشد. تولید نانوذره نقره توسط این پروتوزوآ برای حفظ ایمنی محیط زیست و از نظر اقتصادی و زمان به صرفه است.

کلمات کلیدی :*لیشمانیا*، نقره، نانوذرات، بیوسنتز

مقدمه

از آنجا که نانوذرات، پلی بین حالت حجیم مواد و حالت اتمی یا مولکولی هستند بسیار مورد توجه می باشند (۶). پیش بینی شده است در قرن ۲۱ فناوری نانو به میزان قابل توجهی علم، اقتصاد و زندگی روزمره تحت تاثیر قرار دهد و تبدیل به یکی از نیروهای محرک انقلاب صنعتی بعدی شود. جنبه های مختلف از این تکنولوژی جدید شامل تولید، تعیین خواص و دستکاری ساختارها در مقیاس نانو است. در دهه گذشته، توجه علم و صنعت به تولید نانوذرات متمرکزشده است. ذرات جامد می توانند نانوکریستال، تجمع کریستالی یا تک کریستال در طیف وسیعی از ۱۰۰-۱ نانومتر باشند. روش های بسیاری برای سنتز نانوذرات وجود دارد. بسیاری از تکنیک ها از نظر مصرف مواد و انرژی ناکارآمد هستند (۷، ۴). در اکثر روش های شیمیایی، از یک عامل کاهنده شیمیایی (به عنوان مثال، سدیم بوروهیدرید) برای کاهش یون های فلزی و تثبیت کننده (به عنوان مثال، پلی وینیل پیرولیدون) برای کنترل رشد ذرات و جلوگیری از تجمع استفاده می شود. علاوه بر این، در این روش های سنتز شیمیایی ثبات ذرات بحث برانگیز می شود و تولید در مقیاس زیاد دشوار است. به همین دلایل، تقاضا برای تولید نانوذرات با روش های محیط زیست دوست وجود دارد. یک روش تولید جایگزین،

آدرس نویسنده مسئول:باشگاه پژوهشگران جوان واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران ایران
Email:fr_750@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۰۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۸/ ۳۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.11.5]

تولید نانوذرات با استفاده از روش های بیولوژیک است (۱۱). توسعه فرآیندهای بیولوژیکی تجربی برای سنتز نانوذرات در حال تکامل است و به یک شاخه مهم از فناوری نانو تبدیل شده است (۱). با توجه به اثر بخشی و انعطاف پذیری، سیستم های تولید بیولوژیک از توجه خاصی برخوردار شده اند. سلول های میکروبی واحدهای بسیار سازماندهی شده هستند که با توجه به مورفولوژی و مسیرهای متابولیک، قادر به سنتز ذرات تجدید پذیر با اندازه و ساختار مشخص هستند. نانوذرات بیوسنتزی اغلب خواص محلول در آب و زیست سازگار دارند ، که برای بسیاری از کاربردها ضروری است (۹). از دیگر فواید بیوسنتز نانوذرات، عدم استفاده از فشار بالا، انرژی، دما و مواد شیمیایی سمی است (۳). اخیراً چند میکروارگانیسم ها به عنوان کارخانه های بالقوه برای سنتز نانوذرات فلزی مانند سولفید کادمیم، طلا و نقره گزارش شده اند (۱۴،۱۵). به عنوان مثال *Pseudomonas stutzeri* و *Plectonema boryanum* (سیانو باکتر) به صورت داخل سلولی نانوذره نقره (۸، ۱۰) و *Escherichia coli* نانوذره سولفید کادمیوم تولید می کنند (۱۷). از قارچ ها، قارچ *Trichoderma asperellum* و قارچ *Fusarium oxysporum* به صورت خارج سلولی نانوذرات طلا و نقره تولید می کنند (۲،۱۲).

جلبک *Sargassum wightii* (۱۶) و *Chlorella vulgaris* (۵) می توانند به صورت خارج سلولی نانوذره طلا تولید کنند. سنتز نانوذرات در بسیاری از موارد به صورت داخل سلولی است، که کار پردازش پایین دست را دشوار می سازد (۱۴). هیچ گونه گزارشی از سنتز نانوذرات توسط تک یاخته ها در مقالات گزارش نشده است. این تحقیق بر بیوسنتز خارج سلولی نانوذرات نقره با استفاده از سویه غیر بیماری زا گونه *لیشمانیا* متمرکز شده است.

مواد و روش ها

تک یاخته غیربیماری زا گونه *لیشمانیا*، از خاک جدا شد و در محیط RPMI ، حاوی (در هر لیتر): عصاره مالت (۰,۳٪)، گلوکز (۱,۰٪)، عصاره مخمر (۰,۳ درصد)، و پپتون (۰,۵٪) در C ° ۲۶ به مدت ۳۶ ساعت کشت داده شد. پس از آن، سلول های تک یاخته با استفاده از سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور در دقیقه) در ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه از محیط مایع جدا و سلول های رسوب داده شده سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس یک گرم از جرم سلول مرطوب، در محلول ۰,۰۰۱مولار $AgNO_3$، با pH= ۵/۵-۶ حل شد. کل مخلوط در ۲۸ °C در همزن (۵۰ دور در دقیقه) قرار داده شد و واکنش طی ۳ ساعت انجام شد. به طور معمول تغییرات، با بازرسی چشمی توده و همچنین اندازه گیری طیف VIS-UV سلول های تک یاخته مشاهده شده است. ظاهر شدن رنگ قهوه ای تیره پس از واکنش با یون نقره یک شاخص واضح و روشن از کاهش یون های فلزی و تشکیل نانوذرات نقره در محیط است. نانوذرات نقره به علت تحریک ارتعاشات پلاسمون سطح به رنگ زرد روشن به قهوه ای هستند و این ابزار مناسبی برای تشخیص تشکیل نانوذره نقره در محیط است.

طیف سنجی UV-VIS

طیف های VIS-UV از یک فیلم نازک از محیط واکنش حاوی میکروارگانیسم و $AgNO_3$ پس از ۳۶ ساعت، ثبت شده است.

تجزیه و تحلیل میکروسکوپی

مورفولوژی محصول نهایی با استفاده از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده شد. تصاویر AFM با سیلیکون گرفته شد. برای تصویربرداری SEM، نمونه ای از محلول، روی نوار کربن متصل به پایه SEM قرار گرفت و در ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه خشک شد.

تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

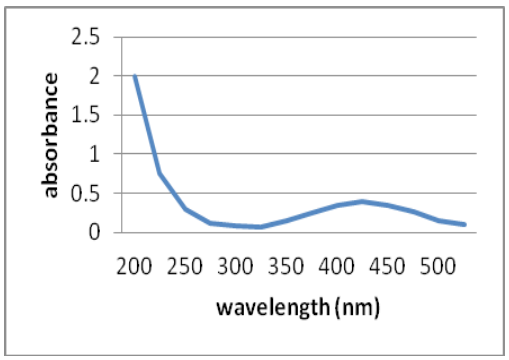
خصوصیات بیشتر نانوذره نقره با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) (IRPrestige-۲۱ ®، آلمانی) مشخص شد.

یافته ها

طیف UV-VIS محیط حاصل از واکنش سلول های *لیشمانیا* در معرض یون های نقره باند جذب نسبتا گسترده در ca.۴۲۵ نانومتر نشان می دهد (شکل ۱).

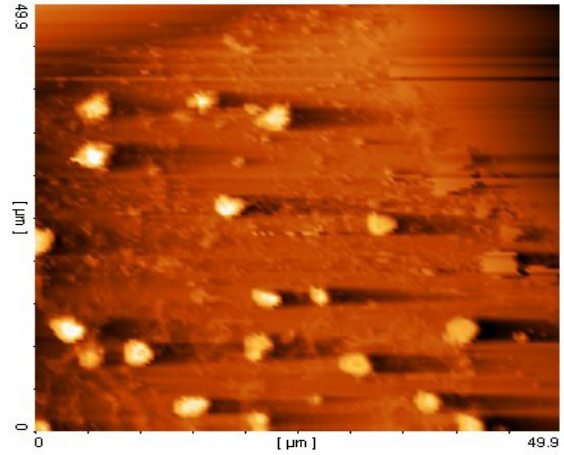
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.11.5]



شکل۱- طیف جذبی نانوذرات نقره که توسط تک یاخته لشمانیا سنتز شده است.

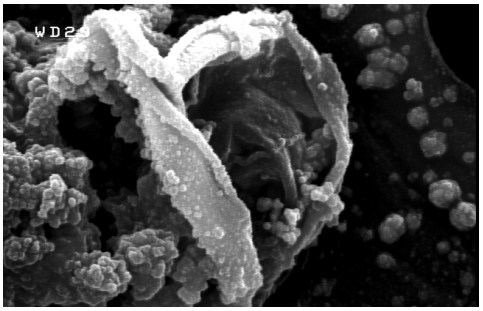
مشاهده رزونانس گسترده ساختار کمپلکس نانوذرات نقره را در فیلم نشان می دهد. در تصاویر میکروسکوپی نشان داده شده است که نانوذرات AgNPs به صورت مجزا و کمپلکس ساخته شده اند. تصویر AFM از AgNPs در شکل ۲ نشان داده شده است.



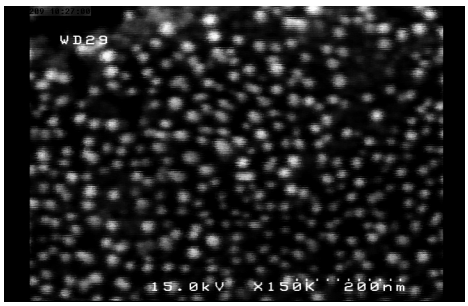
شکل۲- تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی نانوذرات نقره که در محیط واکنش ساخته شده اند.

نتایج SEM و طیف پراش اشعه X (EDX) در شکل ۳ به نمایش در آمده است.

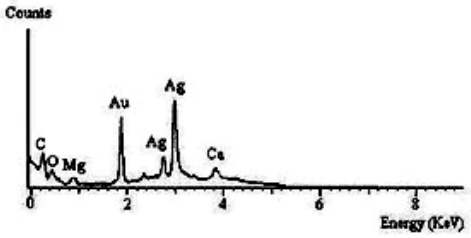
a)



b)



c)



شکل ۳- تصاویر SEM که تولید نانوذرات نقره توسط گونه *لشمانیا* را بعد از ۳ ساعت قرار گرفتن در معرض $AgNO_3$ نشان می دهد (Scale bar = ۲۰۰nm). a) تشکیل نانوذره نقره روی سطح *لشمانیا* و b) در محیط. c) طیف پراش اشعه X مربوط به نانوذره نقره.

بحث

تولید نانوذرات فلزی و نانوساختارها به علت خواص نوری، شیمیایی، فتوشیمیایی و الکتریکی غیرمعمولی که دارند جالب توجه است. فلزاتی مانند طلا و نقره که رزونانس پلاسمون سطحی قویی دارند بسیار حائز اهمیت هستند. ذرات نانوکریستال نقره کاربردهای عمده ای در تشخیص های بیومولکولی بسیار حساس، خواص ضد میکروبی، درمان، کاتالیز و ساخت سنسورها دارند. یک پروتوکل کم هزینه و سازگار با محیط زیست برای سنتز نانوذره نقره استفاده از میکروارگانیسم های مختلف است. با توجه به مشکلات عمده ای که در روش های شیمیایی و فیزیکی برای تولید نانوذره وجود دارد نیاز به روش هایی آسان، کم هزینه، ایمن، غیر سمی، سازگار با محیط زیست وجود دارد. در این مقاله تولید نانوذره نقره توسط میکروارگانیسم نشان داده شده است. با رشد لشمانیا و قرار دادن آن در معرض محلول نیترات نقره مشخص شد که لشمانیا قادر به تولید نانوذرات نقره است. تشکیل نانوذرات نقره به صورت خارج سلولی و در دمای اتاق از مزایای این میکروارگانیسم است

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.11.5]

زیرا در این صورت کنترل فرایند پایین دستی راحت تر است. از طرف دیگر وقتی تشکیل نانوذره به صورت بیرون سلولی است، وجود ترکیبات سلولی غیرضروری مهار می شود و نانوذره تولید شده را می توان به صورت مستقیم در کاربردهای بیولوژیک مختلف مورد استفاده قرار داد. با توجه به مقالات، مشکل بزرگ تولید نانوذرات از طریق بیولوژیک، سرعت پایین است (۱۳) اما گونه *لشمانیا* به محض قرار گرفتن در معرض محلول $AgNO_3$ شروع به تولید سنتز نانوذرات و تغییر رنگ به قهوه ای تیره می کند. پس از ۳ ساعت تغییر رنگ متوقف می شود و رنگ ثابت می ماند. در تست های UV-Vis، اسپکتروسکوپی و آنالیز FTIR نشان داده شده است که در این روش، پروتئین ها عوامل پایدارکننده نانوذره نقره هستند.

نتیجه گیری

در این کار، با استفاده از طیف سنجی UV-VIS، تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و میکروسکوپ الکترونی اسکنر (SEM) و طیف پراکندگی عنصری اشعه ایکس(EDX) نشان داده شده است که تک یاخته *لیشمانیا* یک کارخانه بالقوه سبز برای تولید نانوذره نقره است. ابعاد نانوذرات نقره در محدوده ۸۰- ۲۰ نانومتر می باشد. تولید نانوذره نقره توسط این پروتوزوآ برای حفظ ایمنی محیط زیست و از نظر اقتصادی و زمان به صرفه است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکاران در آزمایشگاه تحقیقات سلولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تقدیر و تشکر می شود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.11.5]

منابع

(1) Abd El-Raheem R ,Shanshoury El ,Sobhy Silk E ,Mohamed Ebeid E .Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Escherichia coli ATCC 8739, Bacillus subtilis ATCC 6633, and Streptococcus thermophilus ESh1 and Their Antimicrobial Activities. ISRN Nanotechnology, 2011; 1-7.

(2)Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, Kumar R,Sastry M. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus Fusarium oxysporum. Colloids Surf B, 2003; 313-8.

(3)Asmathunisha N, Kathiresan K, Raj A, AlikunhiNM .Synthesis of Antimicrobial Silver Nanoparticles by Callus and Leaf Extracts from Saltmarsh Plant, Sesuvium portulacastrum L. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces , 2010; 488–493.

(4)Faramarzi MA ,Forootanfar H .Biosynthesis and Characterization of Gold Nanoparticles Produced by Laccase from Paraconiothyrium variabile. Colloids Surf B, 2011; 23-7.

(5)Jianping X, Jim YL, Daniel ICW, Yen PT. Identification of Active Biomolecules in the High-ield Synthesis of Single-crystalline Gold Nanoplates in Algal Solutions. Small, 2007; 668-72.

(6)Kaushik Thakkar N , Snehit Mhatre S , Rasesh Parikh Y .Biological Synthesis of Metallic Nanopa rticles. Nanomedicine: NBM, 2010; 257–262.

(7)Klaus T, Joerger R, Olsson E ,Granqvist CG .Bacteria as Workers in the Living Factory: Metal Accumulating Bacteria and their Potential for Materials Science. Trends Biotechnol, 2001; 15-20.

(8)Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist CG. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. Proc Natl Acad Sci, 1999; 13611-4.

(9)Krumov N , Perner-Nochta I, Oder S, Gotcheva V, Angelov A, and Posten C.Biological synthesis of Inorganic Nanoparticles by Microorganisms. Chem. Eng. Technol, 2009; 1026–1035.

(10)Lengke M, Fleet M, Southam G. Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver(I) nitrate complex. Langmuir, 2006; 1021-30.

(11)Liesje Sintubin, Wim De Windt, Jan Dick, Jan Mast, David van der Ha, Willy Verstraete and Nico Boon.Lactic acid Bacteria as Reducing and Capping Agent for the Fast and Efficient Production of Silver Nanoparticles. Appl Microbiol Biotechnol, 2009; 741–749.

(12)Mukherjee P, Roy M, Mandal B, Dey G, Mukherjee P, Ghatak J, et al. Green Synthesis of Highly Stabilized Nanocrystalline Silver Particles by a non-pathogenic and Agriculturally Important Fungus T. asperellum. Nanotechnology, 2008; 75103-10.

(13)Murali S, Absar A, Islam Khan M, Kumar R. Biosynthesis of Metal Nanoparticles Using Fungi and Actinomycete. Curr Dir Psychol Sci, 2003; 1201-7.

(14)Nanda A, Saravanan M. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Staphylococcus aureus and its Antimicrobial Activity Against MRSA and MRSE. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, 2009; 452–456.

(15)Rai1 M, Yadav A, Bridge P , Gade A .Myconanotechnology a New and Emerging Science, Applied mycology, 2009; 258-267.

(16)Singaravelu G, Arockiamary J, Ganesh K, Govindaraju K. A Novel Extracellular Synthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles Using Marine Alga, Sargassum wightii Greville. Colloids Surf B, 2007; 97-101.

(17)Sweeney RY, Mao C, Gao X, Burt JL, Belcher AM, Georgiou G, et al. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals. Chem Biol, 2004; 1553-9.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1391.3.9.11.5]