

## بسمه تعالی

### بیوسنتز نانوذرات فلزی به روش میکروبی

منصوره السادات سیدکریمی

مرکز آموزشی و تحقیقاتی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر تلفن: ۲۹۶۲۸۲۴۱

#### چکیده :

بی تردید نانوذرات نقش مهمی در بسیاری از تکنولوژیهای آینده دارند. یک جنبه کلیدی از نانوتکنولوژی، توسعه روشهای معتبر و ایمن از نظر محیط زیست، برای سنتز نانومواد می باشد. میکروارگانیسم های بسیاری شناخته شده اند که می توانند ذرات غیرآلی را بصورت داخل سلولی یا خارج سلولی ایجاد کنند. در این مقاله، مروری بر میکروارگانیسمهای بکار رفته برای تولید نانوذرات فلزی صورت گرفته و سپس به عنوان یک مطالعه موردی، بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از قارچ ورتیسلیوم (Verticillium sp) شرح داده می شود. در این فرایند یونهای فلزی توسط قارچ احیا گردیده و نانوذرات فلزی تولید می شوند.

**کلمات کلیدی :** نانوذرات ، بیوسنتز ، میکروارگانیسم

#### Abstract

There is little doubt that nanoparticles will play an important role in many technologies of the future. One key aspect of nanotechnology concerns the development of reliable and environmentally methods for the synthesis of nanomaterials.

Many organisms are known to produce inorganic materials either intra or extracellularly . In this article, a review of microorganisms that produce metal nanoparticles is presented then a case study of silver nanoparticles biosynthesis by the fungus Verticillium sp is described. Metal ions are reduced by fungus and silver nanoparticles are produced.

**Keywords :** nanoparticles , biosynthesis , microorganism

#### مقدمه :

نانو، به یک میلیاردم از ماده اطلاق می شود. با کوچکتر شدن ذرات و عبور از وضعیت میکروذرات به نانوذرات، نسبت سطح به حجم افزایش می یابد و رفتار اتمهای روی سطح یک ذره، بر آنهایی که در داخل ذره قرار گرفته اند غلبه پیدا می کند (Schmid G. and Corain B. 2003) در چنین شرایطی فلزات خواص فیزیکی و شیمیایی خیلی متفاوتی نسبت به نمونه معمولی فلز ارائه می دهند. روشهای فیزیکی سنتز نانوذرات معمولاً نیاز به دما یا فشار عملیاتی بالا دارند. در روشهای شیمیایی می توان با انتخاب غلظتهای خاص، شکل نهایی ذرات را بخوبی کنترل کرد اما آلودگی حاصل از مواد شیمیایی ایجاد مشکل می کند بنابراین لازمست روشهای سنتز غیرسمی و سازگار با محیط زیست (شیمی سبز) توسعه پیدا کنند.

در روش میکروبی، میکروارگانیسمها به عنوان کارخانجات کوچک و زنده تولید نانومواد بکار می روند. با استفاده از میکروارگانیسمها، می توان بسیاری از نقایص روشهای قبلی را برطرف نمود. میکروارگانیسمها قادرند نانوذرات فلزی را در سایز ۱ تا ۲۰۰ نانومتر در دمای اتاق (۲۵ الی ۳۰°C) یا دمای بالاتر (در مورد ترموفیلها) با استفاده از عوامل احیا کننده ارزان و تجدیدپذیر خود مانند لاکتات یا استات، سنتز کنند. نانوذرات نقره، طلا، مگنتیت (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)، سیدریت (FeCO<sub>3</sub>)، پالادیم و رادیونوکلئوتیدها مثل اورانیم همچنین فلزات دیگر توسط بسیاری از میکروارگانیسمها سنتز شده اند. اولین بار Beveridge و همکارانش در سال ۱۹۸۰ شرح دادند که وقتی سلولهای باکتریایی در تماس با یونهای Au<sup>3+</sup> قرار می گیرند، نانوذرات طلا در سلولهای باکتری رسوب می کند. تاکنون میکروارگانیسمهای بسیاری شامل قارچ و باکتری یافت شده اند که نانوذرات غیرآلی را بطور خارج سلولی و یا داخل سلولی (درون سیتوپلاسم یا در فضای سیتوپلاسمیک) ایجاد کنند. به عنوان مثال برخی از میکروارگانیسمهای بکار رفته برای بیوسنتز نانوذرات فلزی عبارتند از: باکتری مگنتوتاکتیک (Magnetotactic) که نانوذرات مغناطیسی سنتز می کند.

باکتری Pseudomonas stutzeri که نانوذرات نقره ایجاد می کند. (Klaus T. and Coworkers 1999)

باکتری *Klebsiella aerogenes* که قادر به تشکیل نانوذرات نیمه هادی سولفید کادمیم (cds) می باشد.  
مخمر *Torulopsis sp* که قادر به سنتز نانوکریستالهای نیمه هادی سولفید سرب (pbs) می باشد.  
قارچهای *Fusarium oxysporum* و *Verticillium sp* که قادر به سنتز نانوذرات طلا و نقره می باشند  
(Ahmad A. and Coworkers 2003, Sastry M. and Coworkers 2003)

#### مکانیسم تشکیل نانوذرات فلزی توسط میکروبیها :

در مورد باکتریها، اغلب یونهای فلزی برای باکتری سمی اند بنابراین احیای یونها و تشکیل آب از کمپلکس های محلول، یک مکانیسم دفاعی انجام شده توسط باکتری برای غلبه بر چنین سمیتی می باشد. اما در مورد قارچها که معمولاً با مقادیر زیادی از یونهای فلزی سروکار ندارند احیای یونهای فلزی تعجب انگیز است. محققان دریافته اند که قارچها اگر با یونهای فلزی مواجه شوند، پروتئینها یا آنزیم هایی ترشح می کنند که قادرند کمپلکس فلزی را در حضور عامل کمکی NADH احیا کرده و بصورت نانوذرات فلزی در بیاورند.

#### شرح فرایند تولید نانوذرات نقره از قارچ *Verticillium Sp* (Sastry M. and Coworkers 2003) :

##### مواد و روشها :

قارچ اسیدوفیل *Verticillium sp* در فلاسک ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری که حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط MGYP می باشد، کشت داده شد. این محیط تشکیل شده از: عصاره مالت (۳/۰٪)، گلوکز (۱٪)، عصاره مخمر (۳/۰٪) و پپتون (۵/۰٪). سپس فلاسک روی یک شیکر با دور rpm ۲۰۰ قرار می گیرد. بعد از گذشت ۹۶ ساعت از تخمیر، توده قارچی توسط سانتریفوژ از مایع کشت جدا شده و توسط آب مقطر استریل، سه بار شستشو داده می شود. ۱۰ گرم از این توده قارچی در ۱۰۰ میلی لیتر محلول آبی نیترات نقره  $10^{-4} \times 2$  مولار، در pH=5.5-6 سوسپانسیون می شود. در مخلوط در یک شیکر با دور rpm ۲۰۰ و دمای  $28^{\circ}\text{C}$  قرار گرفته و واکنش در یک دوره زمانی ۷۲ ساعته انجام می گیرد. روند تغییر شکل بیولوژیکی، با مشاهده بیومس و همچنین اندازه گیریهای اسپکتروسکوپی پیگیری می شود. بعلاوه نمونه هایی که در طی تخمیر نمونه گیری شده اند برای مطالعات TEM (Transmission Electron Microscopy) و (X-Ray Diffraction) آماده می شوند.

##### نتایج :

در بیوسنتز نانوذرات نقره توسط قارچ ورتیسیلیوم، ظاهر شدن رنگ قهوه ای تیره در بیومس قارچی، یک شاخص واضح برای احیای یونهای فلزی و تشکیل نانوذرات نقره بطور داخل سلولی می باشد. در مطالعات اسپکتروفتومتری، وجود یک باند جذب واضح در طول موج ۴۵۰ نانومتر، نشان دهنده حضور نانوذرات نقره در لایه سلولی است زیرا نانوذرات نقره در طول موج ۴۵۰ جذب نور دارند. قبل از آنالیز TEM، نمونه ها باید روی دانه های مخصوص TEM آماده شوند. لایه هایی از نمونه های تخمیر، روی دانه های مخصوص TEM قرار می گیرند. تصاویر حاصل از TEM بخوبی اطلاعاتی در مورد محل استقرار نانوذرات، همچنین شکل و اندازه نسبی آنها ارائه می دهد. آنالیز XRD برای تعیین جنس نانوذرات و اطمینان از اینکه نانوذرات تشکیل شده، حتماً نانوذرات نقره اند بکار می رود. متوسط اندازه قطر نانوذرات نقره ۲۵ نانومتر تعیین شد.

##### خاتمه :

نانوذرات فلزی کاربردهای بیشماری در صنایع الکترونیک و بیوالکترونیک، حسگری، محیط زیست، صنایع شیمیایی (به عنوان کاتالیزور) و در بیوتکنولوژی (به عنوان برچسب بیولوژیکی برای تثبیت آنزیم و سلول به عنوان ماده ضد میکروبی و غیره) دارند. استفاده از میکروارگانیسمها برای سنتز نانوذرات، روشی ایمن و آسان بوده و در حال توسعه است.



چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران  
کرمان مردادماه ۱۳۸۴



## منابع :

- 1- Ahmad A., Mukherjee P., Senapati S., Mandal D., Islam khan M. , Kumar R., Sastry M. , 2003 , Extracellular Biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28, 313-318.
- 2- Ahmad A., Senapati S., Islam khan M. and Kumar R. , Ramani R., Srinivas V. and Sastry M. 2003, Intracellular Synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* Species. *Nanotechnology*, 14, 824-828
- 3- Beveridge T.J. and Murry R.G.E., *J. Bacteriol.*, 1980, 141, 876-887.
- 4- Klaus T. , Joerger R. , Olsson E., Granqvist C. G. , 1999, Silver-based Crystalline nanoparticles, Microbially fabricated. *PNAS*, 96(24), 13611-13614
- 5- Mukherjee P. , Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S. R. , Islam khan M. , Ramani R., Parischa R. , Ajayakumar P. V. and Alam M., 2001 , Bioreduction of  $AuCl_4^-$  ions by the fungus, *verticillium* sp. And Surface trapping of the gold nanoparticles formed. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40(19), 3585-3588
- 6- Sastry M., Ahmad A., Islam khan M. and Kumar R. , 2003, Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current science*, 85(2), 162-170.
- 7- Schmid G. and Corain B. ,2003, Nanoparticulated gold : Syntheses, structures, electronics and reactivities .*Eur.J.Inorg.Chem.* ,3081-3098