

ساخت بیولوژیکی برخی نانوذرات فلزی

الهام تقی پور، پریناز قدم

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (س)

چکیده

طبق تعریف جوامع علمی، یک نانوذره به ذره ای با ابعاد ۱-۱۰۰ نانومتر گفته می شود. بشر خواسته یا ناخواسته سالهای بسیاری است که از نانوذرات بهره می برد، از استفاده نانوذرات نقره و طلا به عنوان رنگدانه در شیشه ها در قرن دهم گرفته تا به کار بردن نانوذرات دوده در لاستیک ها که از سال ۱۹۰۰ برای افزودن رنگ سیاه و مقاومت بیشتر در برابر سایش آنها انجام شده است. امروزه به دلیل نیاز روزافزون نانو ذرات در زمینه های مختلف، دانشمندان سعی بر تولید نانوذرات با استفاده از روشهایی با سمیت کمتر دارند. به همین دلیل روش های بیولوژیکی مختلفی برای ساخت نانوذرات به کار رفته اند و همچنان این روند ادامه دارد. با توجه به اهمیت این موضوع، در این مطالعه به بررسی ساخت نانوذرات پرکاربرد با کمک روشهای بیولوژیکی و غیر سمی پرداخته شده است.

واژه های کلیدی: نانوذرات فلزی، ساخت زیست سازگار، ساخت غیر سمی، ساخت سبز

pghadam@alzahra.ac.ir

۱- مقدمه

فناوری نانو فناوری اشیا کوچک است و به تعریفی دیگر، نانوفناوری شناخت و کنترل ماده در ابعاد نزدیک به ۱۰۰ نانومتر است، ابعادی که در آن کاربردهای جدیدی برای مواد یافت می شود. امروزه فناوری نانو منجر به تولید مفید و مقرون به صرفه کالاها و خدمات شده و از همین رو دانشمندان برای این علم کاربردهای خاصی را متصورند که جایگاه و اهمیت آن را در منافع اقتصادی ممتاز می کند و آنها را به تحقیق در زمینه های مختلفی همچون محیط زیست، پزشکی، پتروشیمی، الکترونیک، پوشاک، خودرو، بهداشت و غیره هدایت می کند [۱].

یکی از زمینه های مهم تحقیق در فناوری نانو مبحث نانوذرات است. نسبت سطح به حجم در نانوذرات با توجه به اندازه کوچک آنها افزایش می یابد و در نتیجه تعداد اتم هایی که در سطح قرار می گیرند در ابعاد کوچکتر بیشتر می شود و این منشا تغییر بسیاری از خصوصیات ماده در ابعاد نانومتری می باشد. افزایش فعالیت سطحی منجر به افزایش تاثیر ماده در محیط می شود و مزیت های نانوذرات از اینجا آغاز می گردد [۱]. نانوذرات با توجه به شکل و اندازه شان ویژگی های متفاوتی را نسبت به همان مواد ولی به صورت حجم نمایان می کنند. امروزه بیشترین و موثرترین مطالعات بر روی نانوذرات حاصل از فلزات کمیاب به ویژه فلزاتی چون طلا، نقره، پلاتین و پالادیوم انجام شده است. نانوذرات فلزی کاربردهای شگرفی در زمینه کاتالیست ها، گیرنده های نوری، پوشش های انتخابی در جذب انرژی خورشید، پروب های تشخیص زیستی، فایبرگرها، الکترونیک نوری دارند [۲ و ۳].

تولید نانوذرات می تواند با روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی انجام شود (شکل ۱)، اما امروزه نیاز روزافزونی به استفاده از شیوه های زیست سازگار برای ساخت نانوذرات احساس می شود که منجر به کاهش سمیت ناشی از ساخت شیمیایی و جلوگیری از اثرات مخرب در کاربردهای پزشکی می شود. در نتیجه محققان در

تغییر روند ساخت نانوذرات به سوی استفاده از سیستم های زیستی از جمله باکتری ها، قارچ ها، جلبک ها، مخمرها، ویروس ها و عصاره های گیاهی تلاش می کنند [۴]. در این روش ها نیازی به هزینه های زیاد، صرف انرژی و حرارت نیست [۲] و همچنین لازم نیست از مواد شیمیایی سمی در ساخت نانوذرات دارای کاربردهای پزشکی استفاده کرد [۵]. در این مطالعه سعی شده ساخت سبز و زیست سازگار نانوذرات متداول و پرکاربرد با استفاده از میکروارگانیسم ها و گیاهان بیان شود.

۲- ساخت سبز

ساخت سبز نانوذرات می تواند به پنج روش انجام شود [۶]، که شامل موارد زیر است:

• روش پلی ساکارید

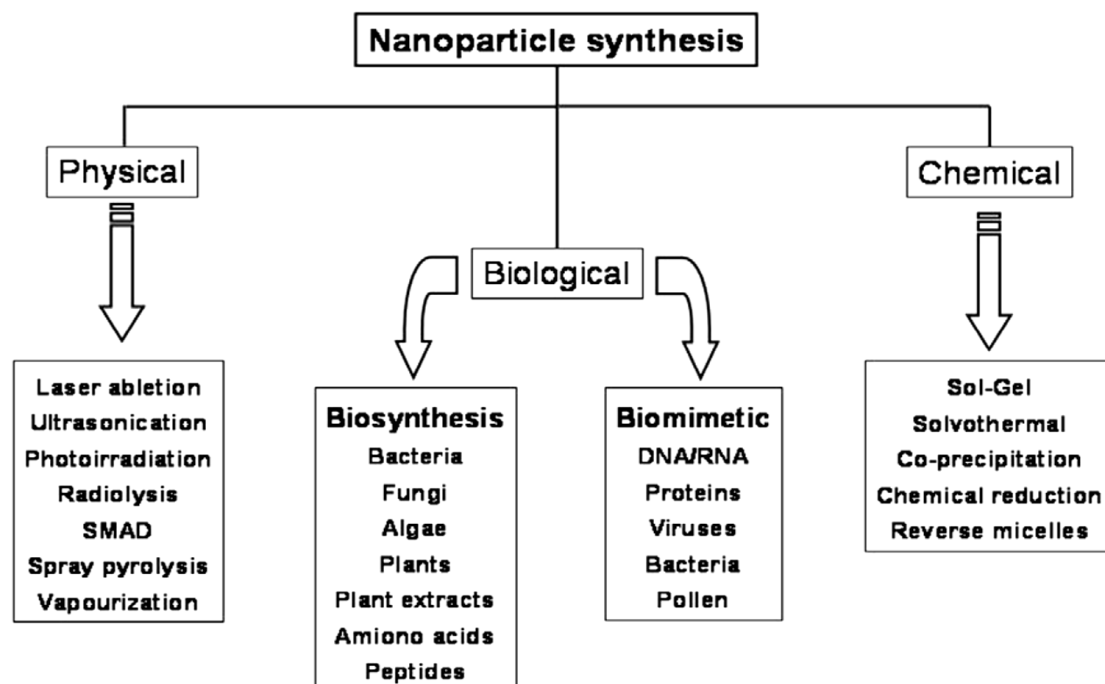
در این روش، نانوذرات نقره با استفاده از آب به عنوان حلال و پلی ساکاریدها به عنوان یک عامل پوشش دهنده تهیه می شوند. در برخی از موارد پلی ساکارید ها به عنوان عامل احیا کننده و هم به عنوان یک عامل پوشش دهنده ایفای نقش می کنند.

• روش تولنز (Tollens)

در روش نانوذرات نقره با حجم کنترل شده در یک فرایند تک مرحله ای سنتز می شوند.

• روش پرتوافکنی (Irradiation Method)

نانوذرات نقره را می توان با استفاده از انواع روش پرتودهی، ساخت. در این روش هیچ عامل احیا کننده ای لازم نیست. به عنوان مثال، با اشعه لیزر از محلول آبی نمک نقره و سورفاکتانت می توان نانوذرات نقره با شکل و اندازه کاملاً یکنواخت به وجود آورد.



شکل ۱: نمای کلی از روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ساخت نانوذرات [۶]

شیمیایی سمی و داشتن عوامل پوشش دهنده طبیعی انتخاب خوبی برای ساخت نانوذرات هستند [۱۱]. ساخت نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهی در مقایسه با ساخت میکروبی مزیت هایی دارد، از آن جمله تولید در مقیاس بالا با استفاده از مقادیر کم عصاره [۱۳] و عدم نیاز به ساختن محیط کشت همچون روش میکروبی می باشد [۴].

در زیر به برخی نانوذرات ساخته شده توسط گیاهان اشاره می شود و در جدول ۱ این نانوذرات بیان شده اند [۸].

۳-۱-۱-۱-۳- نانوذرات نقره

نانوذرات نقره نقش مهمی را در زمینه سیستم های زیستی، دارویی یا پزشکی و ارگان های زنده و همچنین تولیداتی که مستقیماً با بدن انسان در تماس هستند همچون شامپو، صابون، دترجنت، خمیر دندان و غیره ایفا می کنند [۱۲]. نقره از دیرباز به عنوان بازدارنده ای موثر علیه باکتری ها و میکروارگانیسم های رایج در پزشکی و پروسه های صنعتی شناخته شده است. کاربرد وسیع و شناخته شده نقره و نانوذرات نقره در پمادهای موضعی و کرم های جلوگیری کننده از عفونت های زخم و سوختگی است. در مطالعات بسیاری از محققین، نتایجی در زمینه ضد سرطانی بودن نانوذرات نقره بیان شده است. نانوذرات نقره می توانند مهار رادیکال های آزاد بر پایه اکسیژن موثر باشند و در این صورت همچون آنتی اکسیدان ها عمل می کنند و این نقش مهم می تواند در پیچیده ای تازه به روی پیشرفت در پزشکی باز کند [۱۴ و ۱۲ و ۲]. مطالعات وسیعی در زمینه تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهانی همچون گیاهان آلوئه ورا [۱۵]، شمعاندی عطری [۱۶] و چریش [۱۷] انجام شده است [۱۳]. یکی از سریع ترین روش های احیای یون نقره با استفاده از عصاره برگ شمعاندی

• روش پلی اکسومتالات (Polyoxometalates Method) پلی اکسومتالات (POMs)، کلاسترهای آنیونی اکسیژن-فلز واسطه هستند که به دلیل حل شدن در آب و قابلیت انجام واکنش اکسیداسیون احیای مرحله به مرحله بدون اختلال در ساختارشان، پتانسیل ساخت نانوذرات نقره را دارند.

• روش زیستی (بیولوژیکی) که در ادامه شرح داده می شود.

۳- ساخت بیولوژیکی نانوذرات

در ساخت بیولوژیکی نانوذرات میکروارگانیسم ها و گیاهان به عنوان احیا کننده و پایدار کننده نانوذرات به کار می روند. بسیاری از ارگان های زیستی تک سلولی (پروکاریوتی) یا پرسلولی (یوکاریوتی) می توانند در تولید مواد غیر آلی چه به صورت درون سلولی و چه برون سلولی شرکت کنند [۸]. ساخت بیولوژیکی نانوذرات با به کار بردن عوامل زیستی همچون باکتری ها، قارچ ها، اکتینومیست ها، مخمرها، جلبک ها، ویروس ها و گیاهان انجام می شود [۹ و ۱۰]. میزان احیای یون های فلزی در روش های زیستی سریعتر است و نیز در دمای اتاق و در pH فیزیولوژیکی و در شرایط محیطی نیز انجام شدنی است و نیازی به شرایط سخت و پیچیده ندارد [۸ و ۱۱].

در ادامه عوامل زیستی مختلف برای ساخت بیولوژیکی نانوذرات بیان خواهند شد.

۳-۱-۳- گیاهان

یکی از شاخه های مهم ساخت بیولوژیکی نانوذرات استفاده از عصاره گیاهان در واکنش است [۱۲]. گیاهان به دلیل داشتن مواد

geranium (pelargonium graveolens) مشاهده شده است و نانوذرات تولید شده در محلول بسیار پایدار و کریستالی بودند. اندازه این نانوذرات ۴۰-۱۶ نانومتر بوده و به صورت ساختارهای بزرگ شبه خطی مشاهده شدند [۱۶]. ساخت بیولوژیکی نانوذرات نقره همچنین با استفاده از عصاره برگ گیاه سیکاس (Cycas) از خانواده Cycadaceae نیز انجام شده است [۱۸]. این گیاه غنی از ترکیبات فنولی همچون فلاونوئیدها است. نانوذرات نقره تولید شده با کمک عصاره سیکاس دارای اندازه بین ۶-۲۰ nm بودند [۱۹]. محققان متوجه شدند که گیاه زنده یونجه توانایی جذب نقره از محیط مایع را دارد [۲۰] و اتم های نقره کنار بافت گیاهی انباشته می شوند [۱۹]. عصاره چای سیاه نیز به عنوان عامل احیا کننده نانوذرات نقره و طلا استفاده شده است [۲۱]. اخیراً Zhang و همکاران توانستند در سال ۲۰۱۰ نانوذرات نقره را در مقادیر زیاد با استفاده از عصاره آلوئه ورا و احیا شدن نیترات نقره در دمای اتاق تولید کنند [۸]. عصاره برگ گیاهان کاج و خرما و ماگنولیا و چنار به عنوان عامل احیا کننده یون نقره، منجر به ساخت بیولوژیکی سریع نانوذرات نقره پایدار شدند. ماگنولیا در مقایسه با سایر گیاهان سریعترین واکنش را داشته و تنها در ۱۱ دقیقه و در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد بیش از ۹۰٪ یون های نقره را احیا کرده و متوسط اندازه نانوذرات ۱۰۰-۱۵ نانومتر بود [۱۲]. Shankar و همکارانش در سال ۲۰۰۴ ساخت نانوذرات خالص نقره و طلا را با استفاده از عصاره برگ چریش neem (Azadirachta indica) انجام دادند [۱۷]. موانعایی پور و همکارانش در سال ۲۰۰۹ به جای کاربرد عصاره گیاه، برای اولین بار از ماده‌ی ژرانیول برای احیای یون‌های نقره استفاده کردند که منجر به تولید نانوذرات با متوسط اندازه ۶ نانومتر شد [۳].

۳-۲- نانوذرات طلا

استفاده از نانوذرات طلا قدمت تاریخی دارد که به زمان رم باستان برمی گردد یعنی وقتی که از آنها برای شیشه های رنگی و تزئینات استفاده می شد. همچنین در قرن های پیشین از نانوذرات طلا برای درمان بیماری ها استفاده می گردید. عصر جدید در ساخت نانوذرات طلا از ۱۵۰ سال پیش با کارهای میشل فارادی آغاز شد او اولین کسی بود که موفق به مشاهده خواص متفاوت طلای کلونیدی محلول نسبت به طلای حجیم گردید [۲۲]. تحقیقات وسیعی بر روی قابلیت کاربرد نانوذرات طلا در تصویر برداری و درمان غیر تهاجمی سرطان در حال انجام است. با تغییر شکل نانوکره های طلا به نانو لوله های سیلندری شکل می توان تومورهای بدخیمی که در بخش های عمیق تر پوست قرار دارند، همانند وضعیتی که در سرطان سینه مشاهده می شود را تشخیص داد و به طور انتخابی با پرتوی لیزر که قدرت آن نصف پرتوهای به کار رفته قبلی است، بدون تخریب سلولهای سالم، سلول های بدخیم را از بین برد [۱].

یکی از روشهای ساده تولید نانوذرات طلا استفاده از عصاره گیاه آلوئه ورا است. تاثیر غلظت عامل احیا کننده بر اندازه ذرات طلا با کمک میکروسکوپ TEM نشان داد تشکیل نانوذرات تابعی از زمان بوده و نیز سرعت آهسته واکنش همراه با تاثیر کنترلی

عصاره بر شکل ذرات مسئول تشکیل نانوکریستال های منفرد مثلثی شکل طلا است [۱۵]. در بررسی دیگر توسط عصاره سنبل هندی (Lemongrass)، مقادیر زیادی نانوذرات طلای مثلثی تک کریستاله تشکیل شد. در مطالعاتی که روی عصاره این گیاه و نانو ذرات طلا انجام گرفت، مشاهده شد که کتون ها و یا آلدئیدهای حاضر در عصاره احتمالاً نقش مهمی در تکامل شکل این نانوساختار ها دارند [۱۷]. عصاره برگ گیاهان ماگنولیا (Magnolia kobus) و خرما و الی ژاپنی (Diopyrus kaki) به عنوان عوامل احیا کننده یون های طلا به کار رفته است و نانوذرات طلای پایدار در اندازه ۳۰۰-۵ نانومتر در دماهای پایین به صورت اشکال کروی و صفحه ای (سه گوش، ۵ ضلعی و ۶ وجهی) و در دمای بالا به شکل کروی کوچکتر تولید شدند [۱۲].

۳-۱-۳- نانوذرات پالادیوم

ساخت سبز و بیولوژیکی نانوذرات پایدار پالادیوم با استفاده از عصاره آبی میوه پسته (Pistacia atlantica) انجام شد و نانوذرات حاصل در حدود ۶۰ نانومتر بودند. احتمالاً ترکیبات فنولی و تری ترپنوئیدها در گیاهان مسئول احیای یون‌های Pd²⁺ هستند و ترکیبات نشاسته ای قابل دسترس در بیومس گیاه به عنوان عامل پایدار کننده عمل می کنند (۲۳). ساخت سبز نانوذرات پالادیوم بر پایه عصاره برگ های غنی از پروتئین سویا (Soybean) در اندازه حدوداً ۱۵ نانومتر و در اشکال کروی انجام شد (شکل ۳ و ۲) [۲۴].

۳-۱-۴- نانوذرات پلاتینیوم

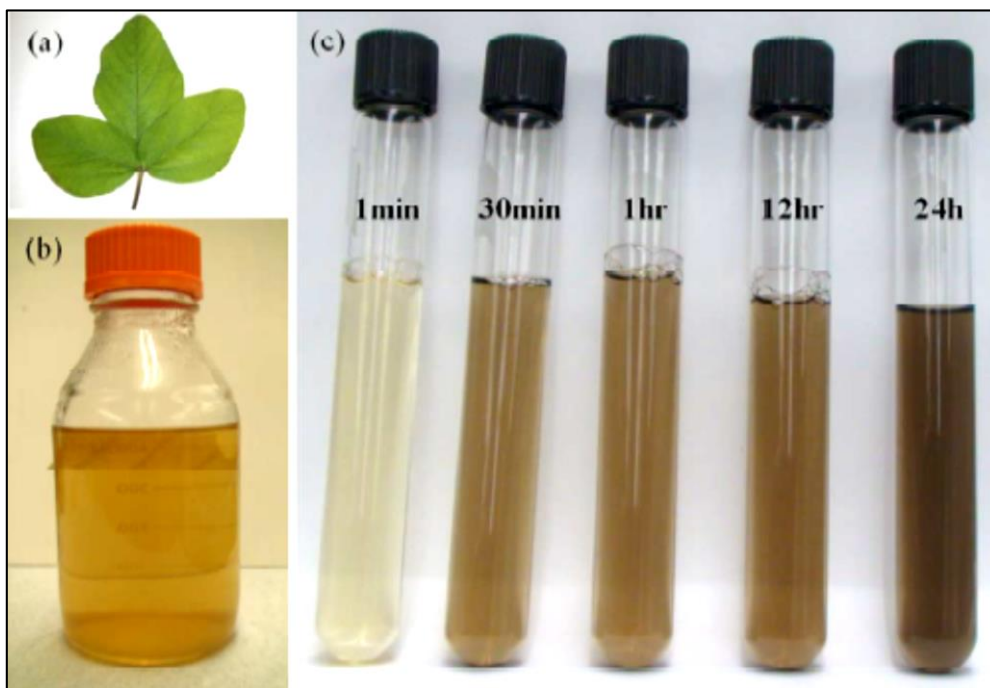
عصاره برگ گیاه ریحان (Ocimum sanctum) به عنوان عامل احیا کننده در ساخت نانوذرات پلاتینیوم در اندازه های ۲۳ نانومتر استفاده شد. آنالیز FTIR نشان داد که ترکیباتی همچون آسکوربیک اسید، گالیک اسید، ترپنوئید، پروتئین های ضروری و آمینواسیدها به عنوان عامل احیا کننده یون های پلاتینیوم نقش دارند [۲۵]. یک روش ساده ساخت نانوذرات پلاتینیوم و البته نقره و طلا، شامل احیای یون های آبی Pt(IV) و نیز Ag(I) و Au(III) با کاربرد عصاره آبی گیاه چای (Camellia sinensis) برای پلاتینیوم و نوعی کاکتوس به نام انجیر بربری (Opuntia ficus) برای طلا و نقره به عنوان عامل احیا کننده و پوشش دهنده می باشند. نانوذرات پلاتینیوم ساخته شده توسط عصاره ی آبی C. sinensis اساساً کروی با اندازه بین ۱۰-۲ نانومتر بودند [۲۶].

۳-۱-۵- مکانیسم ساخت گیاهی

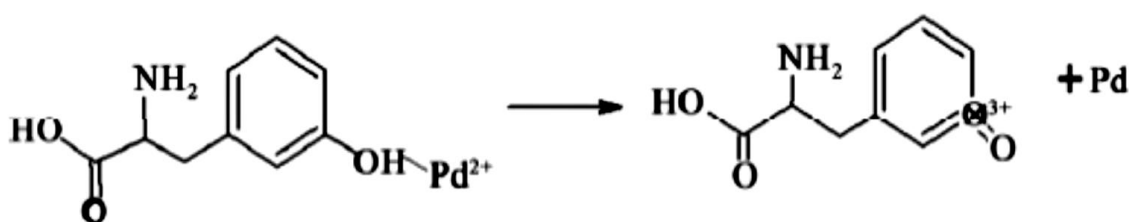
برخی آمینواسید ها و پروتئین ها بواسطه باقیمانده ی تیروزین شان تمایل به احیای Au³⁺ به Au⁰، فرم پایدار نانوذرات طلا و نیز پوشش دادن آنها دارند [۲۷]. بر پایه این احتمال Shankar و همکارانش احتمال دادند که پروتئین های استخراج شده از برگ P. graveolens یون های Ag⁺ به Ag⁰ را نیز احیا کنند و نانوذرات نقره تشکیل دهند [۱۶]. با مطالعه بر روی عصاره برگ چریش (neem) مشخص شده که ترپنوئیدها مولکول های فعال سطحی هستند که پایدار کننده نانوذرات می باشند و واکنش های

[۲۸]. در پژوهش انجام شده توسط رحیم مولایی و همکاران در ساخت نانوذرات پالادیوم باکمک عصاره میوه پسته (*P. atlantica*) پیشنهاد شده که عامل احیا کننده ترکیبات فنولی و تری ترپنوئیدها هستند [۲۳]. آنتی اکسیدان ها نیز به واسطه گروه های متعدد OH توانایی بسیار بالایی در احیا کردن یون ها دارند [۲۹].

یون های فلزی احتمالا توسط احیا کنندگی قندها و یا ترپنوئیدهای حاضر در عصاره تسهیل می شوند [۳]. اخیرا در بررسی گیاه فلفل دلمه ای (*Capsicum annuum*) مشاهده شده است که پروتئین های دارای گروه های آمین نقش احیا کننده و کنترل کننده در طول فرآیند تشکیل نانوذرات نقره در محلول ایفا می کنند



شکل ۲: تصویری از (a) برگ سویا، (b) عصاره برگ سویا، و (c) مخلوط واکنش در زمانهای مختلف [۲۴]



شکل ۳: واکنش احیای پیش بینی شده بین تیروزین و یون های پالادیوم [۲۴]

۳-۲-۱- باکتری ها

گسترده ترین تحقیقات به منظور ساخت نانوذرات بر روی باکتری ها انجام شده است که به دلیل رشد سریع آن ها می باشد [۱۱]. باکتری های خاصی می توانند برای ساخت نانوذرات خاص استفاده شوند. برای نمونه برخی از مثال های شناخته شده شامل باکتری های مغناطیسی برای نانوذرات مغناطیسی، باکتری های دارای پروتئین s-layer برای سنگ گچ (gypsum) و لایه کلسیم کربنات و باکتری ساکن معدن نقره *Pseudomonas spp.* که یون های نقره را برای تشکیل نانوذرات نقره احیا می کنند [۸]. به علاوه نانوکریستال نقره و طلا و فلز مرکب آنها در سلولهای باکتری لاکتیک اسید ساخته شده است [۳۰].

۳-۲-۲- میکروارگانیسم ها

از هنگام شروع زندگی در زمین رابطه نزدیکی بین موجودات زیستی و مواد معدنی وجود داشته است. به همین دلیل اخیرا دانشمندان توجه ویژه ای به ارتباط بین مولکول های معدنی و گونه های زیستی کرده اند. این مطالعات نشان داده است که بسیاری از میکروارگانیسم ها توانایی تولید نانوذرات غیرآلی در مسیر های درون سلولی و بیرون سلولی را دارند [۵]. در این بخش به توصیف ساخت نانوذرات فلزی تولید شده از طریق میکروارگانیسم هایی چون قارچ، باکتری، ویروس، اکتینومیسیت و جلبک می پردازیم.

جدول ۱: نانوذرات ساخته شده توسط گیاهان [۸].

Plant	Used parts	Metal/alloy	Size/shape	Citations
<i>Azadirachta indica</i>	Leaves	Au3+ Ag+		Shankar et al., 2004
<i>Cinnammum camphora</i>	Leaves	Au3+	55 to 80 nm/triangular or spherical	Huang et al., 2007
<i>Cinnamon zeylanicum</i>	Bark	Ag+	31 and 40/Quasi-spherical and small, rod-shaped	Sathishkumar et al., 2009
<i>Aloe vera</i>	Pulp	Ag	25/ spherical	Zhang et al., 2010
<i>Cynnamon zeylanicum</i>	Bark	Ag+		Sathishkumar et al., 2009
<i>Coriandrum sativum</i>	Leaves	Ag+	26 spherical	Sathyavathi et al., 2010
<i>Diopyros kaki</i>	Leaves	Platinum	2 to 12 nm	Song et al., 2010
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Leaves	Ag+		Philip, 2010
<i>Medicago sativa</i>	Leaves	Gold	fcc tetrahedral, hexagonal platelets, icosahedral multiple twinned, decahedral multiple twinned and irregular shaped- 15-200 nm	Singh et al., 2006
<i>Pelargonium graveolens</i>	Leaves	Gold	Spherical rods, flat, sheets and triangular 21-70 nm	Zong et al., 2004
<i>Avena sativa</i>	Leaves	Gold	fcc tetrahedral, decahedral, hexagonal, icosahedral multiple twinned, irregular shaped, rod shaped	Armendariz et al., 2004
<i>Quercetin</i>	Leaves	Ag+	Radius 1-1.5 mm	Egorova and Revina, 2000
<i>Cinnamommum camphora</i>	Leaves	Silver and gold	Triangular, spherical 55-80 nm	Huang et al., 2007
<i>Capsicum annum</i>	Leaves	Silver		Gardea-Torresdey et al., 2005
<i>Brassica juncea</i>	Leaves	Silver, gold, copper		Haverkamp et al., 2007

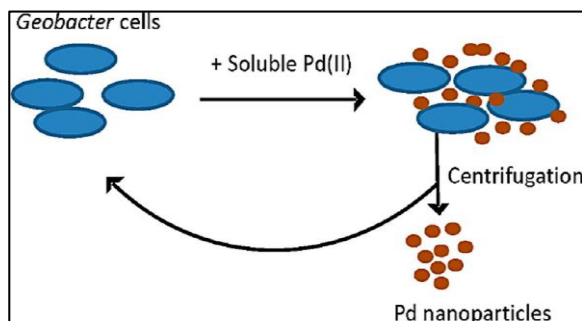
سلولهای در حال استراحت *S.algae* توانایی احیا کردن یون های $PtCl_6^{2-}$ آبی به عنصر پلاتینیوم در دمای اتاق و در pH طبیعی در ۶۰ دقیقه را دارند که در اینجا لاکتات به عنوان دهنده الکترون به کار می رود. این نانوذرات ۵ نانومتری پلاتینیوم در فضای پری پلاسمی دیده شدند [۴۲].

۳-۱-۲-۴- نانوذرات پالادیوم

نانوذرات پالادیوم می توانند با کمک باکتری احیاکننده سولفات *Pseudovibrio desulfuricans* و باکتری احیاکننده یون فلزی *Shewanella oneidensis* ساخته شوند [۴۴ و ۴۳]. تولید خارج سلولی نانوذرات پالادیوم با استفاده از *Geobacter sulfurradicus* و با کمک هیدروژن به عنوان دهنده الکترون با احیای یونهای $pd(II)$ محلول وتشکیل $pd(0)$ انجام شده است (شکل ۴) [۴۶].

۳-۱-۲-۵- نانوذرات سولفید

Cunningham و Lundie یافتند که باکتری *Clostridium thermoaceticum* می تواند CdS را روی سطح سلول و نیز در محیطی حاوی $CdCl_2$ در حضور هیدروکلرید سیستئین به عنوان منبع سولفید رسوب دهد [۴۸]. باکتری *K. pneumoniae* وقتی در معرض یون های کادمیوم در محیط رشد قرار می گیرد تشکیل CdS های ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتری روی سطح سلول می دهد [۴۹]. یکی دیگر از انواع نانوذرات سولفیدی، نانوذرات مغناطیسی یا FeS هستند. Bazylinski و همکارانش تشکیل Fe_3S_4 را توسط یک باکتری magnetotactic گزارش کردند [۵۰]. به طور متوسط در هر سلول ۴۰ مگنتوزوم وجود دارد و به صورت یک خوشه بزرگ در سلول دیده می شوند. مگنتوزوم های به صف درآمده تشکیل یک ساختار رشته ای شکل را می دهند که در کنار خوشه بزرگ دیده می شود. باکتری احیا کننده سولفات توانایی تولید نانوذرات مغناطیسی FeS را دارد [۵۱]. نانوذرات PbS با استفاده از *Rhodobacter sphaeroides* که قطر آنها توسط زمان کشت قابل کنترل است ساخته شدند [۵۲].



شکل ۴: شکل شماتیک ساخت نانوذرات پالادیوم از سلول های *Geobacter* [۴۶].

۳-۱-۲-۱- نانوذرات نقره

یک روش جدید در ساخت بیولوژیکی نانوذرات نقره استفاده از ترکیب سوپرناتانت محیط کشت *Bacillus subtilis* و امواج ماکروویو است که توسط سیف الدین و همکارانش معرفی شد. تشکیل نانوذرات با این روش بی نهایت سریع و با اندازه های کوچک بین ۵۰-۵ نانومتر است [۳۱]. تشکیل خارج سلولی نانوذرات نقره توسط سیانوباکتری فتواتوتروف *Plectonema boryanum* نیز انجام شده است. بدین طریق اندازه نانوذرات درون سلولی بین ۱ تا ۴۰ نانومتر و نانوذرات نقره ای که بیرون سلول باکتری تشکیل شده اند و رسوب کرده اند، بین ۱ تا ۲۰۰ نانومتر است [۳۲]. اخیراً یک روش سریع برای ساخت نانوذرات نقره توسط تیمار محلول نیترات نقره با سوپرناتانت محیط کشت سویه های مختلفی از *Enterobacteria* مثل *Klebsiella pneumoniae* انجام شده است. پروسه ساخت نسبتاً سریع و متوسط اندازه نانوذرات ۵۲/۵ نانومتر بوده است [۳۳ و ۳۴]. تأثیر تابش نور مرئی بر ساخت نانوذرات نقره به تازگی بررسی شده است و تشکیل نانوذرات نقره با استفاده از سوپرناتانت *K. pneumoniae* در حضور نور انجام گرفته است [۳۳].

۳-۱-۲-۲- نانوذرات طلا

Beveridge و همکارانش در سال ۱۹۸۰ ثابت کردند که ذرات طلا در ابعاد نانو در سلول های باکتریایی بوسیله آنکوبه شدن سلولها با یون های Au^{3+} به آسانی رسوب می کنند [۳۵]. تولید درون سلولی نانوذرات طلا توسط احیای میکروبی یون های $AuCl_4^-$ با کاربرد باکتری بی هوازی *Shewanella algae* در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) و نانوذرات با اندازه ۱۰-۲۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت [۳۶]. Ogi و همکارانش نیز از عصاره سلولی باکتری احیای کننده فلز *S. algae* به عنوان عامل احیا کننده و کنترل کننده شکل برای ساخت نانوذرات کروی و نانوصفحات طلا در دمای اتاق و در pH ۲/۸ استفاده کردند که اندازه نانوذرات کروی حاصل در حدود ۹/۶ nm بود [۳۷]. ساخت خارج سلولی نانوذرات طلا نیز توسط دو سویه ایزوله شده از باکتری *Pseudomonas aeruginosa* انجام شد که منجر به تولید نانوذرات با اندازه ۳۰-۱۵ nm شد [۳۸]. مواد ترشح شده از باکتری ها به کنترل بهتر اندازه و تفرق نانوذرات کمک می کنند. به علاوه ثابت شده است که ساخت خارج سلولی نانوذرات می تواند مفیدتر از ساخت داخل سلولی آنها باشد [۳۹]. بر اثر آنکوبه کردن باکتری و یون های $AuCl_4^-$ ، نانوذرات طلا در سطح سلولهای باکتریایی تولید می شود. باکتری *Rhodospseudomonas capsulata* برای احیای زیستی یون های طلا استفاده شده و مشخص گردیده است که می توان شکل نانوذرات طلا را با کمک pH محلول کنترل کرد [۴۰].

۳-۱-۲-۳- نانوذرات پلاتینیوم

Konishi و همکاران گزارش کردند که می توان نانوذرات پلاتینیوم را با باکتری احیاکننده یون های فلزی *S. algae* بدست آورد.

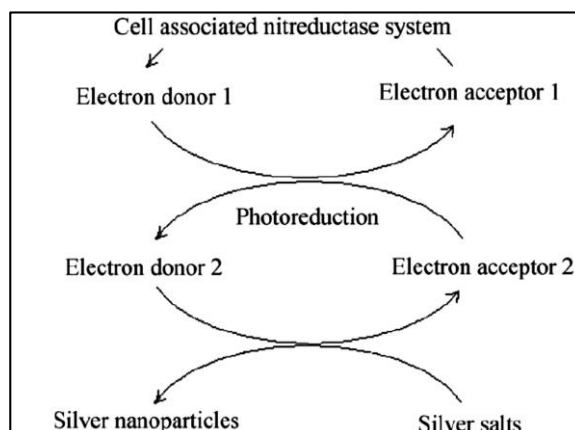
حمل و نقل اقتصادی و آسان بیومس قارچی و تولید میزان بالایی از آنزیم های بیرون سلولی می باشند. با کمک قارچ ها علاوه بر تولید ذرات یکنواخت، می توان نانوذرات با ابعاد کاملاً مشخص بدست آورد [۹].

۳-۲-۲-۱- نانوذرات نقره

ساخت بیولوژیکی نانوذرات نقره می تواند درون سلول، بیرون سلول و یا در سطح دیواره سلولی انجام شود. ساخت بیرون سلولی نانوذرات نقره و نقره- طلا در قارچ *Fusarium oxysporum* مشاهده شده است. اندازه نانوذرات حاصل بین ۵۰-۵ نانومتر و به شکل کروی بودند. احیای یون های نقره توسط این قارچ به ردوکتازهای وابسته به نیترات و به پروسه خارج سلولی شاتل کوئینین ارتباط دارد [۵۶]. در سال ۲۰۰۶ Bhainsa و Dsouza توانستند نانوذرات نقره نسبتاً یکنواختی را ظرف ۱۰ دقیقه و به صورت خارج سلولی از قارچ رشته ای *Aspergillus fumigatus* در اندازه های ۲۵-۵ نانومتر تولید کنند که این اولین گزارش از ساخت سریع نانوذرات توسط قارچ ها بود [۷]. Gajhiye و همکارانش در سال ۲۰۰۹ ساخت بیولوژیکی خارج سلولی نانوذرات نقره با استفاده از قارچ *Alternaria alternata* را گزارش کردند [۵۷]. ساخت ذرات نقره با استفاده از سویه های ساکن خاک *Aspergillus niger* توسط Sadowski و همکاران بررسی شد [۳۳]. در سال ۲۰۰۹، Kathiresan و همکارانش از قارچ دریایی *Penicillium fellutanum* برای ساخت نانوذرات نقره پایدار استفاده کردند [۵۸]. در بررسی دیگر، ساخت خارج سلولی نانوذرات نقره پایدار با استفاده از قارچ *Penicillium brevicompactum* مطالعه شد. آنالیز داده های بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی نشان داد که متوسط اندازه این نانوذرات $17/88 \pm 5/25$ نانومتر بود [۵۹]. استفاده از قارچ *Fusarium semitectum* برای ساخت خارج سلولی نانوذرات نقره توسط Basavaraja و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شد و مشخص گردید که مقدار آن با توجه به زمان واکنش به تدریج زیاد می شود و اندازه نانوذرات حاصل ۳۵ نانومتر بود [۶۰].

۳-۲-۲-۲- نانوذرات طلا

اولین تجربه ای که در آن با استفاده از قارچ ها نانوذرات با ابعاد مشخص و توزیع یکنواخت ایجاد شد احیای زیستی یون های محلول $AuCl_4^-$ به وسیله قارچ *Verticillium sp.* بود که نانوذرات طلا در اندازه ۲۰ نانومتر تولید کرد [۶۱]. این نتایج مشخص کرد که بدام افتادن یون های $AuCl_4^-$ در سطح سلول های قارچی می تواند توسط برهمکنش الکتروستاتیک با گروه های بار + (مثل باقیمانده های Lys) در آنزیم که در دیواره سلولی میسلیوم قارچ حضور دارند رخ دهد. در اینجا یون های طلای احیا شده توسط آنزیم ها در دیواره سلولی، به سمت جمع شدگی اتم های فلز و تشکیل نانوذرات طلا پیش می رود [۴۰]. قارچ اسید دوست *Verticillium sp.* توانایی تولید نانوذرات طلا و نیز نقره را در صورت انکوبه شدن با یون های $AuCl_4^-$ و Ag^+ دارد [۶۲]. قارچ *Collitotrichum sp.* که روی برگ های گیاه



شکل ۵: مکانیسم فرضی ساخت نانوذرات نقره با استفاده از محیط کشت باکتری *Bacillus lichemiformis* [۳۴].

۳-۲-۱-۶- مکانیسم ساخت باکتریایی

مکانیسم کلی ساخت نانوذرات فلزی با کمک میکروارگانیسم ها در دو مرحله انجام می شود: ابتدا یون های فلزی روی سطح یا درون سلول های میکروبی بدام می افتند، سپس یون های فلزی بدام افتاده در حضور آنزیم ها به نانوذرات احیا می شوند [۶]. در بررسی که توسط مختاری و همکارانش بر روی باکتری گرم منفی *Enterobacteria* انجام گرفت، مشخص شد که 2 piperitone (3methyl-6-1. methylethyl)-cyclohexan- 1-one می تواند مسئول احیای یون های نقره به فلز باشد [۳۴]. این نتیجه، این فرضیه را که آنزیم های نیتروردوکتاز احتمالاً در جریان احیای یون های نقره قرار دارند حمایت می کرد (شکل ۵)، [۲۰].

NADH و آنزیم های نیترات ردوکتاز وابسته به NADH عوامل مهمی در ساخت بیولوژیکی نانوذرات فلزی هستند. *B.licheniformis* در ترشح کوفاکتور NADH و آنزیم های وابسته به NADH خصوصاً نیترات ردوکتاز که احتمالاً مسئول احیای زیستی Ag^+ به Ag^0 و شکل های بعدی نانوذرات نقره است، شناخته شده است [۳۹].

در کل، نانوذرات زمانی ساخته می شوند که میکروارگانیسم ها، یون های هدف را از محیط برابند و سپس یون های فلزی را بواسطه آنزیم های تولید شده از فعالیت سلولی به فلز عنصری تبدیل کنند. می توان دو مسیر ساخت بیرون سلولی و درون سلولی را بر طبق مکان تشکیل نانوذرات در نظر گرفت [۵۳] و [۵۴]. روش درون سلولی شامل انتقال یون ها به درون سلول های میکروبی برای تشکیل نانوذرات در حضور آنزیم هاست. ساخت بیرون سلولی نانوذرات شامل بدام انداختن یون های فلزی در سطح سلول ها و احیای آنها در حضور آنزیم است [۵۵].

۳-۲-۳- قارچ ها

یوکاریوت ها همچون قارچ ها انتخاب بسیار خوبی برای ساخت نانوذرات فلزی هستند. قارچ ها به دلیل مقاومت بالا و توانایی ذخیره فلزات، در مطالعات تولید زیستی نانوذرات فلزی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. برخی از مزایای آنها عبارت از تولید و

جریان روشن کردن مکانیسم تشکیل نانوذرات، در یک بررسی آزمایشگاهی که در آن ردوکتازهای وابسته به NADH خاصی توسط قارچ *F. oxysporum* ترشح می شدند، منجر به احیای موفقیت آمیز یون های $AuCl_4^-$ به نانوذرات طلا شد. این برای اولین بار بود که یک روش آزمایشگاهی بر پایه آنزیم های قارچی برای ساخت نانوذرات در پیش گرفته می شد [۶۷].

می توان نتیجه گرفت که قارچ ها در مقایسه با باکتری ها می توانند منبعی برای تولید مقادیر زیاد نانوذره باشند. زیرا مقادیر بسیار زیادی پروتئین ترشح می کنند بنابراین به طور مشخص می توانند تولید زیادتری از نانوذرات در مسیر ساخت بیولوژیکی داشته باشند [۴۰].

۳-۲-۳- مخمرها، جلبک ها، اکتینومیست ها و ویروس ها

جلبک ها و مخمرها در ساخت بیولوژیکی نانوذرات مشابه هم عمل می کنند، البته گزارشات کمی در زمینه کاربرد جلبک به عنوان یک کارخانه زیستی برای ساخت نانوذرات ارائه شده است [۶۸]. ساخت بیولوژیکی نانوذرات به سمت استفاده از ویروس ها، پروتئین ها، پپتیدها و آنزیم ها گسترده شده است. ویروس *cowpea chlorotic mottle* و ویروس موزائیک لوبیا برای معدنی کردن مواد غیرآلی استفاده شده اند [۶۹]. ویروس موزائیک تنباکو با موفقیت توانست مستقیماً نانوسیم های کریستالی و سولفیدی را معدنی کند. در اقدام بعدی توانایی پپتیدها در ایجاد هسته برای رشد نانوکریستال روی سطح باکتریوفاژ M13 شناسایی شد [۷۰].

۳-۲-۳-۱- مخمرها

۳-۲-۳-۱-۱- نانوذرات نقره

ساخت نانوذرات نقره با خاصیت ضد میکروبی توسط مخمر *Yarrowia lipolytica* NCYC789 انجام گرفت. نانوذرات مشاهده شده در سطح سلول های مخمر اندازه حدوداً ۱۵ نانومتر داشتند [۷۱]. *Kowshik* و همکارانش نیز اثبات کردند که نژاد MKY3، گونه ای از مخمر مقاوم به نقره است که زمانی که با نقره محلول در آغاز فاز رشد همراه شود، اکثریت نقره به صورت نانوذرات خارج سلولی رسوب می کنند [۷۲].

۳-۲-۳-۲- جلبک ها

۳-۲-۳-۲-۱- نانوذرات اکسید فلزی

ساخت بیولوژیکی نانوذرات اکسید مس در اندازه های ۴۵-۵ نانومتر با استفاده از عصاره جلبک قهوه ای *Bifurcaria bifurcata* انجام شده است. نانوذرات به دست آمده به صورت کوپریک اکساید (CuO) و کوپروس اکساید (Cu_2O) در بودند [۷۳].

۳-۲-۳-۲-۲- نانوذرات نقره

ساخت بیولوژیکی نانوذرات نقره کروی و همسان با استفاده از عصاره جلبک قهوه ای دریایی *Cystophora moniliformis* انجام شده است. متوسط اندازه نانوذرات تولید شده در دمای زیر

Geranium رشد می کند برای ساخت نانوذرات طلای پایدار و در اشکال متفاوت و در اندازه های ۲۰-۴۰ نانومتر استفاده شده است. عوامل احیا کننده در این قارچ به نظر آنزیم ها یا پلی پپتیدها هستند [۱۷]. ساخت بیولوژیکی خارج و درون سلولی نانوذرات طلا با کمک قارچ *Trichothecium sp.* توسط *Absar* و همکارانش گزارش شد. در این پژوهش مشاهده شد که هرگاه یون های طلا و بیومس قارچ *Trichothecium sp.* تحت شرایط ثابت با هم واکنش دهند منجر به تشکیل سریع خارج سلولی نانوذرات طلایی شود و در صورتی که واکنش با هم زدن انجام شود منجر به تشکیل داخل سلولی نانوذرات طلای مثلی می شود [۶۳]. مطالعه ای روی قارچ خوراکی *Volvariella volvacea* به عنوان عامل احیا کننده و حفاظت کننده برای هردو نانوذرات طلا و نقره توسط *Philip* انجام شد. در این تجربه نشان داده شد که می توان شکل و اندازه نانوذرات طلا را توسط تغییر حرارت و غلظت های نسبی عصاره قارچی و یون های فلز کنترل کرد [۶۴].

۳-۲-۳-۲-۳- نانوذرات سولفیدی

اخیراً نانوذرات سولفیدی توجه بسیاری را در تحقیقات بنیادین و کاربردهای تکنولوژی به عنوان مارکرهای زیستی فلورسانت کوانتوم دات و به عنوان عوامل نشان گذاری به دلیل خواص نوری و الکترونیکی جدید و جالب آنها به خود جلب کرده است [۶۵]. نانوکریستال های CdS یکی از انواع رایج نانوذرات سولفیدی هستند و توسط میکروارگانیزم ها ساخته می شوند. *Ahmed* و همکاران دریافتند که ارگانیزم های یوکاریوتی همچون قارچ ها، کاندیداهای خوبی برای ساخت خارج سلولی نانوذرات فلزی سولفید هستند [۶۶]. برخی از این نانوذرات پایدار همچون CdS , ZnS , PbS , MoS_2 می توانند به صورت خارج سلولی توسط قارچ *F. oxysporum* تولید شوند و این وقتی است که این قارچ ها در معرض محلول آبی سولفات فلز قرار بگیرند. کوانتوم دات ها زمانی تشکیل می شوند که واکنش بین یون های Cd^{2+} و یون های سولفید که توسط احیای آنزیمی یون های سولفات به یون های سولفید تبدیل شده اند، رخ می دهد [۶].

۳-۲-۳-۴- مکانیسم ساخت قارچی

مکانیسم تشکیل نانوذرات فلزی همچون نقره به طور مشخصی بیان نشده است. یکی از فرضیه ها پیشنهاد می کند که مرحله اول شامل بدام افتادن یون های نقره در سطح سلول های قارچی است. این امر توسط برهمکنش الکتروستاتیک بین Ag^+ و یک گروه کربوکسیل بار - در سطح سلول انجام می گیرد. احیای یون های نقره در سطح با کمک آنزیم های موجود در دیواره ی سلولی صورت می گیرد [۶۱]. آنزیم های خارج سلولی همچون *anthraquinones* و *naphthoquinones* ویژگی های اکسیداسیون احیای خوبی را نشان می دهند. آنها می توانند به عنوان شاتل های الکترون در احیای یون های نقره عمل کنند [۲۰].

مشخص است که آنزیم هیدروژناز در عصاره فیلتر شده حاصل از قارچ *F. oxysporum* وجود دارد. توانایی تولید نانوذرات نقره وابسته به رابطه ردوکتازها و شاتل های الکترون است [۲۰]. در

این میکروارگانیسم ها سازگاری های متنوعی را به زنده ماندن در زیستگاه های با شرایط غیر عادی به دست آورده اند که شامل مکانیسم انتقال آنزیم، متابولیسم تنظیمی، حفظ ساختار و عملکرد غشاء و فرآیندهای غشایی است. اکتینومیست ها میکروارگانیسم هایی هستند که می توانند ویژگی های مهم قارچ و باکتری را دارا باشند. نانوذرات حاصل از اکتینومیست ها حتی برای خود سلول ها نیز سمی نیستند [۶۲].

۳-۳-۲-۴- مکانیسم کلی ساخت نانوذرات در میکروارگانیسم ها
 طرح کلی برای ساخت نانوذرات با کمک میکروارگانیسم ها که توسط Marsili و Das (۲۰۱۰) گزارش شده، در شکل ۶ نشان داده شده است [۷۷]. البته مطالعات جزئی تر برای فهم کامل تفاوت در شکل و اندازه نانوذرات بین فلزات مختلف زمانی که میکروارگانیسم هایی از یک نوع آنها را احیا می کنند مورد نیاز است. به علاوه مکانیسم مشخص احیا، ایجاد هسته و مدل رشد یون های فلزی و نانوذرات زمانی که با فرآیندهای متابولیسمی میکروارگانیسم ها و بیومولکول ها مواجه می شوند، هنوز به عنوان یک چالش بزرگ باقی مانده است [۲۷].

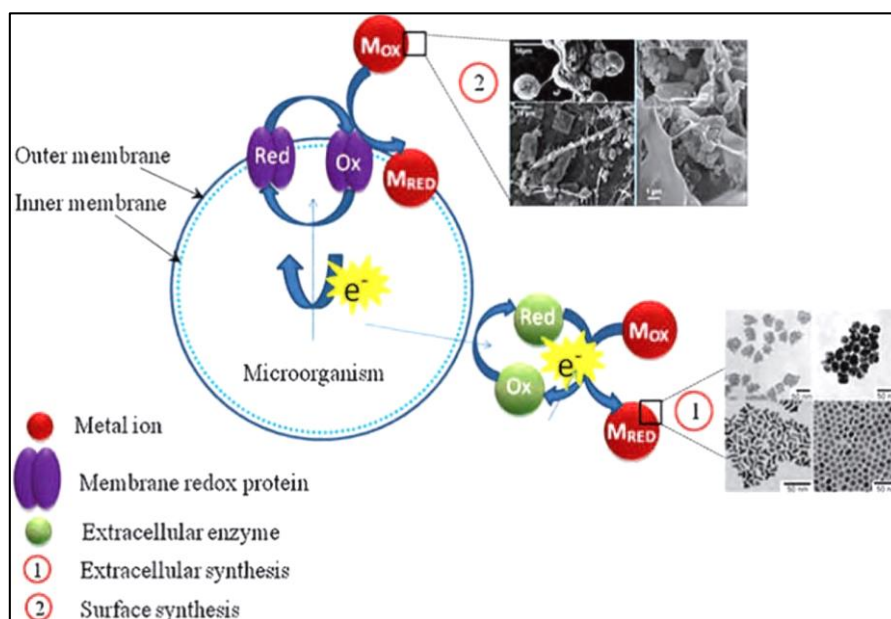
۶۵ درجه سانتی گراد حدود ۷۵ نانومتر بود و با افزایش دما کلوخه شدن نانوذرات مشاهده شد. به طوری که در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد خوشه های ذرات در اندازه ی بزرگتر از ۲ میکرومتر پدیدار شد [۷۴].
 نانوذرات نقره کروی و نیمه کروی توسط احیای محلول نیترات نقره با استفاده از عصاره Phyllanthin در دمای اتاق انجام شد. همچنین نانوذرات طلای نیز به همین روش ساخته شد. در این مطالعه توانستند شکل نانوذرات را با استفاده از تغییر در غلظت عصاره phyllanthin کنترل کنند [۷۵].

۳-۳-۲-۳- نانوذرات طلا

ساخت نانوذرات طلا در اندازه های ۱۰-۶ نانومتر توسط جلبک دریایی *Turbinaria conoides* انجام شده است [۷۶].

۳-۳-۲-۳- اکتینومیست ها

بیشتر اکتینومیست ها خصوصا اکتینومیست های گرمادوست، *Thermomonospora sp* زمانی که در معرض یون های نقره و طلا قرار بگیرند، فلزات به صورت خارج سلولی احیا می شوند [۱۲].



شکل ۶: طرح تشکیل نانوذرات از طریق میکروارگانیسم ها [۲۷]

۴- نتیجه گیری

موجودات زنده دارای توانایی بسیاری در تولید نانوذرات/نانوابزارها با کاربرد های وسیع هستند. با استفاده از موجودات از ساده ترین باکتری ها تا پیشرفته ترین یوکاریوت ها، می توان نانوذرات / نانو ابزارهای با اشکال و اندازه متنوع بدست آورد. با این وجود فناوری نانو هنوز در ابتدای راه قرار دارد و تنها معدودی از عوامل احیاکنندهی مختلف موجود در محیط زیست، مورد مطالعه قرار گرفته اند [۴۰]. امید است در آینده دریچه های جدیدی از علم فناوری نانو و بیوسنتز نانوذرات به روی بشر گشوده شود.

۵- منابع

1. Abbound Y., Saffaj T., Chagraoui A., El Bouari A., Brouzi K., Tanane O. and Ihssane B. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*). *Appl Nanosci* (2013)
2. Absar A., Satyajyoti S., Khan M. I., Rajiv K. and Sastry M. Extra-/intracellular biosynthesis of gold nanoparticles by an alkalotolerant fungus,



- Trichothecium sp., J. Biomedical Nanotechnnology, 1 (1) 47-53, (2005).
3. Ahmad A., Mukherjee P., Mandal D. et al, Enzymemediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. Journal of the American Chemical Society, 124 (410): 12108–12109, (2002).
4. Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R. and Sastry, M. Extra-/ intracellular, biosynthesis of gold nanoparticles by an alkalotolerant fungus, *Trichothecium*. J. Biomed. Nanotechnol., 1(2005) 47-53.
5. Ankamwar B. Chaudhary m and sastry m. Gold nanotriangles biologically synthesized using tamarind leaf extract and potential application in vapor sensing. Synthesis and reactivity in inorganic, metal-organic and nano-metal chemistry, 35 (2005) 19-26.
6. Apte M., Sambre D., Gaikawad S., Joshi S., Bankar A., Kumar A. R. and Zinjarde S. Psychrotrophic yeast *Yarrowia lipolytica* NCYC 789 mediates the synthesis of antimicrobial silver nanoparticles via cell-associated melanin. AMB Express, 3 (2013) 32.
7. Bai H. J. and Zhang Z. M. Microbial synthesis of semiconductor lead sulfide nanoparticles using immobilized *Rhodobacter sphaeroides*. Materials Letters, 63 (9- 10) 764–766, (2009).
8. Basavaraja S., Balaji D. S., Lagashetty A., Rajasab H. A. and Venkataraman A. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium semitectum*, Materials Research Bulletin, 43 (2008) 1164-1170.
9. Bazylnski D. A., Frankel R. B., Heywood B. R. et al. Controlled biomineralization of magnetite (Fe₃O₄) and greigite (Fe₃S₄) in a magnetotactic bacterium. Applied and Environmental Microbiology, 61 (9) 3232–3239, (1995).
10. Begum A. N., Mondal S., Basu S., Laskar A. R. and Mandal D. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts, Colloids Surfaces B. Biointerfaces, 71 (2009) 113-118.
11. Beveridge T. J. and Murray R.G.E. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol., 141(1980) 876-887.
12. Bhainsa K. C. and D'Souza S. F. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. Colloids Surf B: Biointerf, 47 (2006) 160–164.
13. Bharde AA, Parikh RY, Baidakova M, Jouen S, Hannoyer B, Enoki T, Prasad BL, Shouche YS, Ogale S, Sastry M. Bacteria-mediated precursor-dependent biosynthesis of superparamagnetic iron oxide and iron sulfide nanoparticles. Langmuir. 24(2008) 5787-5794.
14. Chandran P. S., Chaudhary M., Pasricha R., Ahmad A. and Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract, Biotechnology Prog., 22 (2006) 577-583.
15. Cunningham D. P. and Lundie Jr. L. L. Precipitation of cadmium by *Clostridium thermoaceticum*. Applied and Environmental Microbiology, 59 (1) 7–14, (1993).
16. Das S. K., Marsili E. A green chemical approach for the synthesis of gold nanoparticles: characterization and mechanistic aspect. Rev Environ Sci Biotechnol, 9 (2010) 199–204.
17. Deplanche K., Merroun M. L., Casadesus M., Tran D. T., Mikheenko I. P., Bennett J. A., Zhu J., Jones I. P., Attard G. A., Wood J., Selenska-Pobell S. and Macaskie L. Microbial synthesis of core/shell gold/palladium nanoparticles for applications in green chemistry . Journal of the Royal Society, Interface 9 (72): 1705-1712, (2012).
18. DeWindt W., Aelterman P. and Verstraete W. Bioreductive deposition of palladium (0) nanoparticles on *Shewanella oneidensis* with catalytic activity towards reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls. Environmental Microbiology. 7 (3): 314–325, (2005).
19. Dipankar C, Murugan S. The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from *Iresine herbstii* leaf aqueous extracts. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 98 (2012) 112–119
20. Dubey M., Bhadauria S., Mahour K. and Gautam R. K. Formation Of Highly Bioactive Silver Nanoparticles And Their Antibacterial Activity. Pharmacologyonline 3 (2009) 437-446.
21. Gajbhiye M., Kesharwani J., Ingle A., Gade A. and Rai M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. Nanomed Nanotechnol Biol Med, 5 (2009) 382–386.
22. Gardea-Torresdey J. L., Gomez E., Peralta-Videa J. R., Parsons J. G., Troiani H. and Jose-Yacamán M. Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. Langmuir 19 (2003) 1357–1361.

23. Hayat M. A. Colloidal Gold: Principles, Methods, and Applications, Academic Press, San Diego, Calif, USA, (1989).
24. He S., Guo Z., Zhang Y., Zhang S., Wang J., Gu N. Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulate*, Materials Letters, 61(2007) 3984-3987.
25. Holmes J. D., Richardson D. J., Saed S., Evans-Gowing R., Russell D. A. and Sodeau J. R. Cadmium-specific formation of metal sulfide "Q-particles" by *Klebsiella pneumoniae*, Microbiology, 143 (8) 2521-2530, (1997).
26. Husseiny M. I., El-Aziz M. A., Badr Y. and Mahmoud M. A. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. Spectrochimica Acta Part A, 67 (3-4) 1003-1006, (2007).
27. Jha K. A. and Prasad K. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cycas* leaf broth. Bioprocess Biosystems Eng.(2009).
28. Kathiresan K., Manivannan S., Nabeel A.M. and Dhivya B. Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus *Penicillium fellutanum* isolated from coastal mangrove sediment. Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 71 (2009) 133-137.
29. Konishi Y., Tsukiyama T., Ohno K., Saitoh N., Nomura T., Nagamine S. Intracellular recovery of gold by microbial reduction of $AuCl_4^-$ ions using the anaerobic bacterium *Shewanella algae*. Hydrometallurgy, 81 (2006) 24-29.
30. Konishi Y., Ohno K., Saitoh N. et al., Bioreductive deposition of platinum nanoparticles on the bacterium *Shewanella algae*, Journal of Biotechnology, 128 (3) 648-653, (2007).
31. Kowshik M., Ashtaputre S., Kharrazi S., Vogel W., Urban J., Kulkarni S. K., Paknikar K. M. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. Nanotechnology 14 (2003) 95-100.
32. Li S., Shen Y., Xie A., Yu X., Qiu L. and Zhang L. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum* L. extract. Green Chem., 9 (2007) 852-885.
33. Li X., Xu H., Chen Z. and Chen G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. Journal of nanomaterials, (2011) 10.1155/270974.
34. Liangwei D., Hong J., Xiaohua L., Erkang W. Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by *Escherichia coli* DH5 α and its application on direct electrochemistry of hemoglobin. Electrochem Commun, 9 (2007) 1165-1170.
35. Lloyd J. R., Yong P. and Macaskie L. E. Enzymatic recovery of elemental palladium by using sulfate-reducing bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 64 (11) 4607-4609, (1998).
36. Mann S. Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry. Oxford University Press, Oxford, UK. (2001).
37. Mohanpuria P., Rana N. K. and Yadav S. K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. J Nanopart Res, 7 (2008) 9275-9280.
38. Mokhtari N., Daneshpajouh S., Seyedbagheri S., Atashdehghan R., Abdi K., Sarkar S., Minaian S., Shahverdi H. R., Shahverdi A. R. Biological synthesis of very small silver nanoparticles by culture supernatant of *Klebsiella pneumonia*. The effects of visible-light irradiation and the liquid mixing process, Materials Research Bull, 44 (2009) 1415-1421.
39. Molaie R., Farhadi K., Forough M. and Emamali Sabzi R. Biological and Green Synthesis of Palladium Nanoparticles Using aqueous extract of *Pistacia Atlantica* plant's Fruit; A Facile biological approach. Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures (ICNS4) 12-14 March, 2012, Kish Island, I.R. Iran.
40. Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar R. S., Khan I. M., Parishcha R., Ajaykumar V. P., Alam M., Kumar R. and Sastry M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelia matrix. A novel biological approach to nanoparticle synthesis. Nano Letters, 1(10): 515-519, (2001).
41. Mukherjee P., Senapati S., Mandal D. et al. Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. ChemBioChem., 3 (5): 461-463, (2002).
42. Mukherjee P, Roy M, Mandal B, Dey G, Mukherjee P, Ghatak J, et al. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by anon-pathogenic and agriculturally important fungus *T.asperillum*. Nanotechnology; 19 (75): 103-110, (2008).
43. Ogi T., Saitoh N., Nomura T. and Konishi Y. Room-temperature synthesis of gold nanoparticles and



- nanoplates using *Shewanella* algae cell extract. *J Nanopart Res*, 12 (2010) 2531–2539.
44. Panda K. K., Achary V. M. M., Krishnaveni R., Padhi B. K., Sarangi S. N., Sahu S. N. and Panda B. B. In vitro biosynthesis and genotoxicity bioassay of silver nanoparticles using plants. *Toxicology in vitro*, 25 (2011) 1097–1105.
45. Petla R. K., Vivekanandhan S., Misra Amar M., Mohanty K. and Satyanarayana N. Soybean (*Glycine max*) Leaf Extract Based Green Synthesis of Palladium Nanoparticles. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3 (2012) 14–19.
46. Philip D. Biosynthesis of Au, Ag and Au-Ag nanoparticles using edible mushroom extract, *Spectrochimica Acta Part A*, 73 (2009) 374–381.
47. Prasad T., Kambala V. S. R. and Naidu R. Phyconanotechnology: synthesis of silver nanoparticles using brown marine algae *Cystophora moniliformis* and their characterization. *J Appl Phycol*, 25 (2013) 177–182.
48. Rai M., Yadav A. and Gade A. Current trends in phytosynthesis of metal nanoparticles. *Crit Rev Biotechnol*, 28(4): 277–284, (2008).
49. Rajeshkumar S., Malarkodi C., Gnanajobitha G., Paulkumar K., Vanaja M., Kannan C. and Annadurai G. Seaweed-mediated synthesis of gold nanoparticles using *Turbinaria conoides* and its characterization. *Journal Of Nanostructure in Chemistry*, 3 (2013) 44.
50. Sadowski Z., Maliszewska H. I., Grochowalska B., Polowczyk I. and Kozlecki T. Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms, *Materials Science-Poland*, 26 (2) 419–424, (2008).
51. Zygmunt Sadowski (2010). Biosynthesis and Application of Silver and Gold Nanoparticles, *Silver Nanoparticles*, David Pozo Perez (Ed.), ISBN: 978-953-307-028-5 from: <http://www.intechopen.com/books/silver-nanoparticles/biosynthesis-and-application-of-silver-and-gold-nanoparticles>
52. Safaepour M., Shahverdi A. R., Shahverdi H. R., Khorramzadeh M. R. and Gohari A. R. Green synthesis of small silver nanoparticles using geraniol and its cytotoxicity against fibrosarcoma – wehi 164. *Avecina j med biotech*, 1(2): 111–115, (2009).
53. Sahayaraj K. and Rajesh S. Bionanoparticles: synthesis and antimicrobial applications. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. A. Mendez-vilas(Ed.), (2011).
54. Saifuddin N., Wang W. C. and Nur Yasumira A. A. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of bacteria with microwave irradiation, *E JournalChem.*, 6(2): 61–70. (2009).
55. Victor Sanchez-Mendieta and Alfredo Rafael Vilchis-Nestor (2012). Green Synthesis of Noble Metal (Au, Ag, Pt) Nanoparticles, Assisted by Plant-Extracts, Noble Metals, Dr. Yen-Hsun Su (Ed.), ISBN: 978-953-307-898-4 from: <http://www.intechopen.com/books/noble-metals/green-synthesis-of-noble-metal-au-ag-pt-nanoparticles-assisted-by-plant-extracts>.
56. Sastry M., Ahmad A., Khan M. I. and Kumar R. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Curr. Sci.*, 85 (2003) 162–170.
57. Shahverdi R. A., Minaeian S., Shahverdi R. H., Jamalifar H. and Nohi A-A. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: A novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42 (2007) 919–923.
58. Shaligram S. N., Bule M., Bhambure R., Singhal S. R., Singh K. S., Szakacs G., Pandey A. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal, *Process Biochemistry*, 44, (2009) 939–943.
59. Shankar S., Ahmad A. and Sastry M. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles, *Biotechno. Prog.*, 19 (2003) 1627–1631.
60. Shankar S., Rai A., Ahmad A. and Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Inter. Sci.*, 275 (2004) 496–502.
61. Sharma V. K., Yngard R. A. and Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv Colloid Interface Sci*, 145 (2009) 83–96.
62. Simkiss K. and Wilbur K. M. Biomineralization, Academic, New York, NY, USA, (1989).
63. Singaravelu G., Arockiamary J., Ganesh K., and Govindaraju K. A novel extra cellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 57 (2007) 97–101.
64. Song J. Y. and Kim B. S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess Biosyst Eng.*, 32 (2009) 79–84.

65. Soundarrajan C., Sankari A., Dhandapani P., Maruthamuthu S., Ravichandran S., Sozhan G. and Palaniswamy N. Rapid biological synthesis of platinum nanoparticles using *Ocimum sanctum* for water electrolysis applications. *Bioprocess Biosyst Eng*, 35 (2012) 827–833.
66. Sulaiman G. M. Green synthesis, antimicrobial and cytotoxic effects of silver nanoparticles using *Eucalyptus chapmaniana* leaves extract. *Asian pac j trop biomed*, 3(1): 58-63, 2013.
67. Thakkar K. N., Mhatre S. S. and Parikh R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine*, 6(2): 257–262, (2010).
68. Thirumalai Arasu V., Prabhu D. And Soniya M. Stable Silver Nanoparticle Synthesizing methods and its Applications. *J. B i o s c i. R e s*. 1(4): 259-270, (2010).
69. VanderJagt T. J., Ghattas R., VanderJagt D. J., Crossey M. and Glew R. H. Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. *Life Sci*. 70 (2002) 1035–1040
70. Vithiya K. and Sen S. Biosynthesis of nanoparticles. *International journal of pharmaceutical sciences and research (IJPSR)*. 2(11): 2781-2785, (2011).
71. Watson J. H. P., Ellwood D. C., Soper A. K. and Charnock J. Nanosized strongly-magnetic bacterially-produced iron sulfide materials. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 203 (1–3): 69–72, (1999).
72. Yang H., Santra S. and Holloway P. H. Syntheses and applications of Mn-doped II-VI semiconductor nanocrystals,”*Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 5 (9): 1364–1375, (2005).
73. Yates M. D., Cusick R. D. and Logan E. B. Extracellular Palladium Nanoparticle Production using *Geobacter sulfurreducens*. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 1 (2013) 1165–1171.
74. Yong P., Rowson N. A., Farr J. P. G., Harris I. R. and Macaskie L. E. Bioreduction and biocrystallization of palladium by *Desulfovibrio desulfuricans* NCIMB 8307. *Biotechnology and Bioengineering*. 80 (40): 369–379, (2002).
75. Zhang X., Yan S., Tyagi R. D. and Surampalli R. Y. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*. 82 (4): 489–494, (2011).
76. Zhou Y., Chen W., Itoh H., Naka K., Ni Q., Yamane H., Chujo Y. Preparation of a novel core-shell nanostructured gold colloid-silk fibroin bioconjugate by the protein in situ redox technique at room temperature. *Chem. Commun.*, (2001) 2518-2519.
۷۷. مهندس محمد اسماعیل کفایتی، ۱۳۸۸. آشنایی با فناوری نانو