

مروری بر تولید نانوذرات با استفاده از روش‌های زیستی

ساناز فتحی، آرزو جعفری^{*}، زهرا توحیدی

دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

با توجه به استفاده‌ی روزافزون نانوذرات در زمینه‌های مختلف، استفاده از روش‌های ایمن و ارزان، جهت تولید نانوذرات زیست سازگار، می‌تواند اقدامی مناسب جهت کاهش عوارض جانبی آن‌ها باشد. روش‌های معمول تولید نانوذرات، روش‌های فیزیکی و شیمیایی هستند که یا باعث تولید مقدار اندک و هزینه‌بر نانوذرات می‌شوند و یا به دلیل آلودگی ناشی از مواد شیمیایی پیش ساز و تولید محصولات جانبی خطرناک، اغلب سمی بوده و مقدار زیادی انرژی مصرف می‌کنند؛ بنابراین نیاز فزاینده‌ای جهت ارائه روش‌های نوین تولید نانوذرات وجود دارد که نقش روش‌های زیستی را پررنگ‌تر می‌سازد. تولید زیستی نانوذرات و کاربرد آن‌ها در زمینه‌های مختلف به سرعت در حال گسترش است. در این تحقیق تحولات اخیر تولید زیستی نانوذرات، سازوکارهای مختلف تشکیل آن‌ها با استفاده از میکروارگانیسم‌ها و گیاهان، شرایط کنترل شکل، اندازه و پایداری نانوذرات به طور خلاصه ارائه شده است همچنین محدودیت‌های فعلی و چشم‌اندازهای آینده آن مورد بحث قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات، تولید زیستی، میکروارگانیسم، گیاهان

ایمیل نویسنده مسئول: ajafari@modares.ac.ir

۱-مقدمه

روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی برای ساخت نانوذرات وجود دارد، اما بسیاری از این روش‌ها با مشکلات زیادی همراه هستند که استفاده از حلال‌های سمی، تولید محصولات جانبی خطرناک و مصرف انرژی بالا نمونه‌هایی از این مشکلات می‌باشند؛ بنابراین نیاز اساسی به توسعه روش‌های تولید سازگار با محیط‌زیست وجود دارد. استفاده از منابع زیستی موجود در طبیعت راه حل نویدبخشی است که می‌تواند در رفع این مشکلات کمک‌های قابل‌توجهی نماید. در سال‌های اخیر، استفاده هم‌زمان از فناوری‌های نانو و زیستی شاخه جدیدی از علم به نام نانوبیوتکنولوژی به وجود آورده است که به منظور استفاده از مواد در مقیاس نانو در بیوتکنولوژی پیشرفته مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صف اول این دانش، سنتز و تولید مواد نانومتری با استفاده از روش‌های زیستی قرار دارد. در دو دهه اخیر، با توجه به افزایش تقاضای استفاده از نانوذرات فلزی و غیرفلزی در حوزه‌های گوناگون، محدوده وسیعی از روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای ساخت نانوذرات در اندازه‌ها، شکل‌ها و ترکیب درصد‌های مختلف پدید آمدند. روش‌های فیزیکی شامل لیزر، لیتوگرافی و تابش با انرژی بالا و روش‌های شیمیایی دربرگیرنده اکسایش شیمیایی، الکتروشیمی و اکسایش فتوشیمیایی هستند [۱]. اما این روش‌ها پرهزینه، سمی، نیازمند فشار و انرژی بالا، جدایی دشوار و بالقوه خطرناک هستند [۲]. در ساخت زیستی

نانوذرات، از مواد سازگار با محیط زیست که ماهیت تک‌سلولی یا چند سلولی دارند از جمله اکتینومیست‌ها^۱، باکتری‌ها، قارچ‌ها، گیاهان، ویروس‌ها و مخمرها استفاده می‌شود [۳]. این مواد را می‌توان به دو دسته میکروارگانیسم‌ها و گیاهان تقسیم‌بندی نمود. مواد زیستی یون‌های هدف را از محلولشان می‌گیرند و سپس فلز کاهش یافته در عنصر از طریق آنزیم تولید شده توسط فعالیت‌های سلول میکروبی یا گیاهی تجمع می‌یابد که این را می‌توان به تولید خارج سلولی و داخل سلولی، با توجه به مکانی که نانوذرات شکل می‌گیرند تقسیم‌بندی کرد [۴]. آنزیم‌های میکروبی و یا گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدان یا کاهش معمولاً مسئول آماده‌سازی نانوذرات فلزی و اکسید فلزی هستند. سه عامل اصلی برای تولید نانوذرات شامل انتخاب محیط کشت محلول، عامل کاهنده و مواد غیر سمی برای تثبیت نانوذرات هستند [۴و۳]. در میان چندین روش ممکن، تولید زیستی نانوذرات با استفاده از باکتری، به دلیل در دسترس بودن، در سراسر جهان به سرعت در حال گسترش است و به طور مداوم در تولید نانوذرات به کار برده می‌شود. در میان انواع میکروارگانیسم‌ها، اکتینومیست و مخمر عملکرد بهتری در کنترل پخش شونده‌ی دارند. همچنین مخمر کنترل بهتری بر روی اندازه‌ی نانوذرات دارد [۵و۶].

¹ Actinomycete

تولید شدند [۱۰]. لنگک^۲ و همکاران با استفاده از سیانوباکتری‌ها، از گروه‌های Au(I)-thiosulfate و Au(III)-chloride نانو ساختارهای طلا را در اشکال مختلف (کروی، مکعب و هشت ضلعی) تولید کرده و ساز و کار شکل‌گیری آن‌ها را تجزیه و تحلیل نموده است. واکنش سیانوباکتری‌ها با محلول $Au(S_2O_3)_2^{1-}$ باعث رسوب نانوذرات کروی طلا در کیسه های غشایی شده و به صورت مخلوط با سولفید طلا، بر روی سیانوباکتری‌ها تشکیل می‌شود. در حالیکه واکنش با $AuCl_4^-$ رسوب صفحات هشت ضلعی طلا در محلول‌ها و نانوذرات طلا با سلول‌های باکتریایی را نشان می‌دهد. علاوه بر این ساز و کار، ذخیره زیستی طلا توسط سیانوباکتری‌ها از محلول Au(III)-chloride نشان داده است که در واکنش سیانوباکتری با محلول Au(III)-chloride، ابتدا رسوبات نانوذرات از Au(I)-sulfide آمورف در دیواره‌های سلول، و در نهایت طلای فلزی رسوبی در ترکیب صفحات هشت ضلعی نزدیک سطوح سلولی و در محلول‌ها گسترش پیدا می‌کنند [۱۱] و [۱۲].

نانوذرات نقره؛ در سال‌های گذشته کاملاً اثبات شده است که نقره برای بسیاری از سلول‌های باکتریایی به عنوان ماده‌ای سمی است [۱۳]. لیکن انواع دیگری از باکتری‌ها نه تنها در برابر نقره مقاومت دارند؛ بلکه می‌توانند به میزان ۲۵ درصد وزنی سلول زنده نقره را در دیواره خود جمع‌آوری کنند [۱۳]. این تجمع از سازوکارهای متفاوتی ناشی می‌شود که می‌توان به سیستم‌های انتشار به خارج، تغییر میزان انحلال و سمی بودن با تغییر حالت احیای یون فلزی، تشکیل کمپلکس‌های بیرون سلولی و رسوب فلز و عدم انتقال فلزی خاص در سیستم مورد نظر اشاره نمود. کلاوس و همکاران نشان دادند که باکتری *Pseudomonas stutzeri* جدا شده از یک معدن نقره زمانی که در یک محلول آبی غلیظ شده با نیترات نقره قرار داده شود، نقش عمده‌ای در کاهش یون Ag^+ ایفا می‌کند و تشکیل نانوذرات نقره با اندازه و توپوگرافی خاص در فضای پریپلاسمی از باکتری به خوبی نشان داده شد [۱۳]. وقتی قارچ *Fusarium*، *Verticillium*، *oxysporum* و یا *Aspergillus flavus* به کار گرفته می‌شوند، نانوذرات نقره در قالب یک فیلم و یا در محلول تولید می‌شوند و یا بر سطح این سلول‌ها انباشته می‌شوند [۱۴].

² Lengke

در این مطالعه، به مرور تحقیقات انجام‌شده بر ساخت نانوذرات مختلف از جمله نانوذرات فلزی شامل طلا، نقره و آلیاژ آن‌ها و نانوذرات دیگر فلزات، نانوذرات اکسید متشکل از نانوذرات اکسید مغناطیسی و غیر مغناطیسی، نانوذرات سولفید و دیگر نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها و سپس ساخت نانوذرات توسط گیاهان پرداخته‌شده است. همچنین پارامترهای تأثیرگذار بر کنترل اندازه و مورفولوژی نانوذرات مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- تولید زیستی نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها

میکروارگانیسم‌ها موجودات ریز میکروسکوپی هستند که طول آن‌ها کمتر از ده میکرومتر است و با چشم غیرمسلح دیده نمی‌شوند. بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در طبیعت قادر به تولید نانوذرات در داخل یا خارج سلول هستند. مثلاً باکتری‌های مگنتوتاکیک می‌توانند نانوذرات مغناطیسی تولید کنند و ارگانیسم‌های چند سلولی برای ساخت ترکیبات آلی یا معدنی مرکب و پیچیده استفاده می‌شوند [۷]. این ترکیبات معدنی زیستی شامل مواد معدنی معمول و بعضی از ترکیبات آلی مخصوص مانند پروتئین، چربی و پلی ساکاریدها هستند. در یک تقسیم‌بندی، نانوذرات تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها را می‌توان به صورت شکل ۱ به طور خلاصه بیان نمود. در ادامه نیز به بررسی تحقیقات انجام شده در زمینه ساخت نانوذرات با استفاده از مواد زیستی پرداخته شد است.

۱-۲ نانوذرات فلزی

نانوذرات طلا؛ در حوزه نانوذرات فلزی، نانوذرات طلا بخش بسیاری از مطالعات را به خود اختصاص داده است. ساستری^۱ و همکاران تولید خارج سلولی نانوذرات طلا توسط قارچ *Fusarium oxysporum* و *actinomycete Thermomonospora* sp. همچنین تولید داخل سلولی نانوذرات طلا با قارچ *Verticillium* sp. را گزارش کردند [۸،۹].

نانوذرات یکپارچه، تحت شرایط شدید بیولوژیکی مانند قلیایی یا شرایط کم دما توسط اکتینومیسست *alkalotolerant Rhodococcus*

¹ Sastry



شکل ۱- نانوذرات مختلف تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها

سایفوفین^۱ و همکاران، یک روش ترکیبی برای تولید زیستی نانوذرات نقره با استفاده از ترکیب حاوی باکتری *Bacillus subtilis* و تابش مایکروویو در آب ارائه کردند. آن‌ها تولید خارج سلولی ذرات نقره را با استفاده از باکتری گزارش دادند و برای افزایش نرخ واکنش و کاهش پخش نانوذره نقره از تابش مایکروویو استفاده کردند [۱۵].

نانوذرات پلاتین و پالادیم؛ باکتری‌های سولفات‌های کاهشی *Desulfovibrio desulfuricans* و باکتری کاهشی فلز *Shewanella oneidensis* قابلیت کاهش پالادیم قابل حل را به پالادیم غیر قابل حل توسط فرمات، لاکتات یا هیدروژن به عنوان اهداکننده الکترون دارند [۱۶]. گریک^۲ و همکاران نشان دادند که سلول‌های جلبک قادر به ته‌نشینی نانوذرات پلاتین به وسیله کاهش یون $PtCl_6^{2-}$ به مدت ۶۰ دقیقه در pH=۷ و دمای ۲۵°C می‌باشند. تغییر رنگ سلول از زرد به سیاه، پس از قرار دادن سلول در فضای پرپلاسمی، نشان‌دهنده تولید نانوذرات پلاتین است [۱۷].

در تولید نانوذره طلا با استفاده از جلبک *S.algae* کاهش میکروبی یون‌های طلا به حضور یک اهداکننده الکترون خاص، مولکول H_2 وابسته است [۱۷]. جلبک *S.algae* فعال‌سازی مولکول H_2 را طبق واکنش (۱) کاتالیز می‌کند:



بنابراین سلول‌های *S.algae* به احتمال زیاد الکترون را به یون‌های $AuCl_4^{-1}$ می‌دهند و آنها را طبق واکنش (۲) به فلزات طلا کاهش می‌دهد.



۲-۲- نانوذرات آلیاژی

نانوذرات آلیاژی به دلیل کاربردهای گوناگونی که در زمینه‌هایی مانند کاتالیز، الکترونیک و مواد پوششی و نوری دارند، توجه زیادی را به خود جلب نمودند. [۱۶ و ۱۸]. سنپاتی^۳ و همکاران تولید آلیاژ دو فلزی طلا- نقره توسط *Fusarium oxysporum* را گزارش کرده و اینگونه استدلال نمودند که ترشح کوفاکتور NADH نقش مهمی در تعیین ترکیب نانوذرات آلیاژ طلا- نقره ایفا می‌کند [۱۹]. ژنگ^۴ و همکاران تولید زیستی نانوذرات آلیاژ نقره-طلا را به‌وسیله سلول‌های مخمر مورد مطالعه قراردادند. نتایج به‌دست آمده از میکروسکوپ فلورسانس و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نشان دهنده این امر بود که نانوذرات آلیاژ نقره-طلا به طور عمده به صورت خارج سلولی تولید می‌شوند که عمدتاً به صورت چندضلعی‌های نامنظم وجود داشتند [۱۸].

۳-۲- نانوذرات اکسید

نانوذرات اکسید نوع مهمی از ترکیب نانوذرات تولید شده به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها هستند. تولید زیستی نانوذرات اکسید از دو جنبه بررسی می‌شود: نانوذرات اکسید مغناطیسی و نانوذرات اکسید غیر مغناطیسی.

نانوذرات اکسید مغناطیسی؛ باکتری مغناطیسی مانند *Magnetospirillum magneticum* و *Desulfovibrio magneticus*. ذرات مغناطیسی متشکل از اکسید آهن، سولفید آهن و یا هر دو را به‌صورت داخل سلولی تولید می‌کند [۱۸]. کلاوس جورجر^۵ گزارش کرد که فلزاتی مانند Co، Cr و Ni نیز می‌توانند از کریستال‌های مگنتیت تولیدشده در شرایط باکتری کاهشی گرماگیر *Thermoanaerobacter ethanolicus* (TOR-39) تولید شوند. این فرایند به تولید نانوذرات Fe_3O_4 ، هشت‌وجهی با سایز کوچک‌تر از ۱۲ نانومتر در کمیت‌های زیاد منجر می‌شود. بسیاری از میکروارگانیسم‌های کاهنده Fe(III) می‌توانند فلزات اکسیدشده از جمله هسته‌های رادیویی مانند اورانیوم (VI)، تکتونیوم (VII) و فلزات ردیابی شامل آرسنیک، کروم، کبالت، منگنز و سلیوم را کاهش دهند [۱۳].

نانوذرات اکسید غیر مغناطیسی؛ بانسال^۶ و همکاران نانوذرات $F. oxysporum$ را توسط قارچ $BaTiO_3$ و ZrO_2 ، Sb_2O_3 ، TiO_2 تولید کردند [۱۴]. در سال ۲۰۱۱، کیرتی^۷ و همکاران تولید زیستی نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم با استفاده از باکتری *Bacillus subtilis* را گزارش کردند [۳]. انصاری و همکاران در سال ۲۰۱۴ فعالیت ضد باکتری نانوذرات اکسید آلومینیوم در برابر *Escherichia coli* و تعامل آن‌ها با مولکول‌های زیستی پوشش سلولی را بررسی کردند. مشخصات نانوذرات Al_2O_3 توسط HR-TEM، SEM و XRD تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که شکل نانوذرات کروی بوده و به نظر می‌رسد ذرات تجمع یافته‌اند. اندازه نانوذرات کروی بین ۹ تا ۱۷۹ نانومتر متغیر بوده است [۲۰].

۴-۲- نانوذرات سولفید

نانوذرات سولفید کادمیوم؛ چندین تحقیق نشان داده‌اند که نانوذرات سولفید کادمیوم می‌توانند به‌صورت میکروبی از *Klebsiella aerogenes* تولید شوند [۱۲]. همچنین مخمرهایی مانند *Schizosaccharomyces pombe* و *Candida glabrata* نانوذره کادمیوم سولفید را تولید می‌کنند [۲۱ و ۲۲]. همچنین هولمز^۸ و همکاران نشان دادند که قرار گرفتن باکتری *K. aerogenes* در برابر یون‌های Cd^{2+} باعث تولید نانوذرات سولفید کادمیوم در اندازه‌های ۲۰۰-۲۰ نانومتر می‌شود [۲۲].

⁵ Klaus-Joerger

⁶ Bansal

⁷ Kirthi

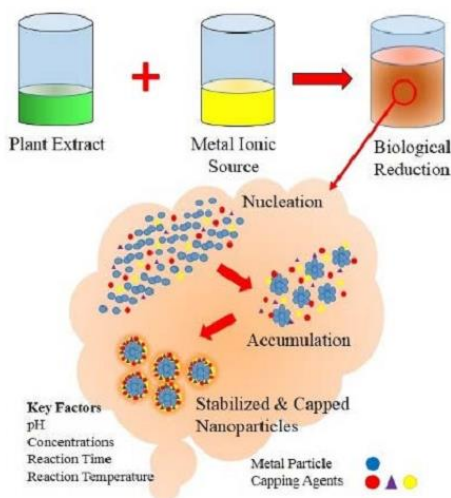
⁸ Holmz

¹ Saifuffin

² Gericke

³ Senapati

⁴ Zheng



شکل ۳. شماتیک ساخت بیولوژیکی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان [۲۸].

تغییرات ترکیب درصد و غلظت بیومولکولهای فعال در گیاهان مختلف و برهمکنشهای آنها با محلول آبی یونهای فلزی از جمله مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در تنوع اندازه و شکل نانوذرات تولیدشده می‌باشد. در استفاده از روشهای سبز در ساخت نانوذرات، سه عامل کلیدی وجود دارد: محیط حلال، عامل‌های احیاکننده غیر سمی و پایدار کننده‌هایی که از نظر زیست‌محیطی غیر سمی باشند. نکته قابل توجه این است که ساخت نانوذره با استفاده از مولکولهای زیستی یک فرایند قابل انجام در دمای اتاق است. خلاصه‌ای از فرایند به این شرح است: پس از مخلوط شدن نمونه عصاره گیاه با یک محلول نمک فلزی فرایند آغاز می‌شود. بدین ترتیب که کاهش ظرفیت نمک فلزی توسط بیومولکولها و تشکیل نانوذرات بلافاصله رخ می‌دهد که این اتفاق با تغییر رنگ محلول واکنش قابل درک است. در هنگام واکنش، یک دوره فعال‌سازی اولیه وجود دارد که در آن یونهای فلزی با حالت اکسیداسیون تک‌ظرفیتی یا دو ظرفیتی به حالت ظرفیت صفر تبدیل شده و هسته‌زایی یونهای کاهیده فلزی اتفاق می‌افتد. پس از این مرحله بلافاصله مرحله رشد هسته‌ها صورت می‌گیرد به این ترتیب که ذراتی که در همسایگی یکدیگر قرار دارند به هم می‌پیوندند و نانوذرات با پایداری ترمودینامیکی بیشتر را تشکیل می‌دهند. هم‌زمان با پیشرفت مرحله رشد، نانوذرات به شکل‌های مورفولوژی متنوعی در کنار هم قرار می‌گیرند و به اشکال نهایی مکعب، کره، مثلث، شش‌ضلعی، پنج‌ضلعی، میله و سیم تبدیل می‌شوند. در مرحله نهایی ساخت، توانایی عصاره گیاهان در پایداری نانوذرات، بهترین حالت از نظر انرژی و مورفولوژی را تعیین می‌کند. غلظت بیومولکولها، غلظت نمک، زمان واکنش، pH محلول واکنش و دما به شدت بر کیفیت، اندازه و مورفولوژی نانوذرات ساخته‌شده تأثیر می‌گذارند [۲۷]. از جمله نانوذراتی که با استفاده از گیاهان تولید می‌شوند، نانوذرات طلا هستند. نانوذرات طلا به دلیل اندازه، شکل و خواص سطحی منحصر به فردشان بسیار مورد توجه هستند. استفاده از

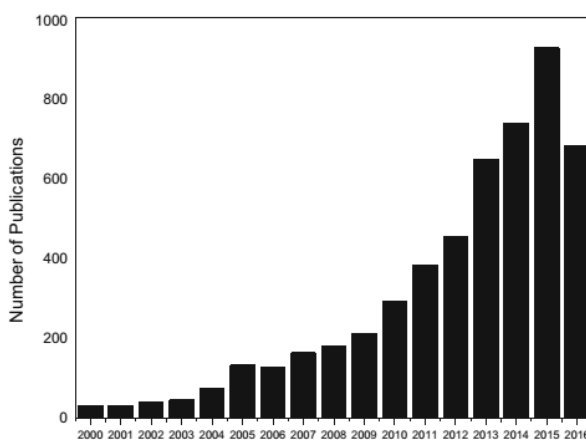
نانوذرات سولفید روی؛ لابرنز^۱ و همکاران نشان دادند که نانوذرات سولفید روی در اندازه ۲ تا ۵ نانومتر در محیط زیستی طبیعی تحت باکتری‌های کاهش سولفات خانواده *Desulfo bacteraceae* تولید می‌شوند [۲۳]. در مطالعه دیگری نانوذرات سولفید روی توسط *R. sphaeroides* تولید می‌شوند [۲۴].

نانوذرات سولفید مس؛ سولفید مس به دلیل رفتارهای الکترونیکی و غیرمعمول، طیف گسترده‌ای از کاربردها را در برمی‌گیرد. در مقاله‌ی حسینی و همکاران تولید زیستی نانوذرات سولفید مس از محلول CuSO_4 به وسیله‌ی قارچ *Fusarium oxysporum* شرح داده شده است [۲۵]. یولا^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۶ تولید زیستی نانوذرات سولفید مس نیمه‌هادی فلورسانس (نقاط کوانتومی) با تحمل pH اسیدی بالا توسط باکتری اسیددوست از جنس *acidithiobacillus* را گزارش کردند [۲۶].

۳- تولید زیستی نانوذرات با استفاده از گیاهان

تحقیقات نشان می‌دهند که گیاهان دارای پتانسیل جمع کردن و کاهش بیولوژیکی یونهای فلزی هستند [۲۷-۲۹]. این خواص باعث شده است از گیاهان در مسیر ساخت نانوذرات فلزی و برای برنامه‌های کاربردی سم‌زدایی استفاده شود. شکل ۲ تحقیقات سالانه‌ای که در سال‌های ۲۰۰۰-۲۰۱۶ در زمینه ساخت سبز نانوذرات منتشر شده‌اند را نشان داده است. همان‌طور که در نمودار مشخص است، از سال ۲۰۰۶ افزایش ثابتی در مطالعات در زمینه ساخت سبز نانوذرات مشاهده می‌شود [۲۷].

عصاره‌های گیاهی حاوی آلکالوئید فعال زیستی، اسیدهای فنولیک، پلی‌فنولها، پروتئین‌ها، قند و تریپنئیدها هستند که نقش مهمی ابتدا در ساخت نانوذرات و سپس در پایداری آن‌ها دارند. در شکل ۳ به طور ساده ساخت بیولوژیکی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان نشان داده شده است [۲۸].



شکل ۲. مقالات منتشر شده سالانه در زمینه ساخت سبز نانوذرات فلزی [۲۷].

^۱ Labrenz

^۲ Ulloa

گیاهان، امکان تولید سازگار با محیط زیست نانوذرات طلا را فراهم کرده است. به عنوان مثال داس^۱ و همکاران، توانستند نانوذرات کروی طلا با اندازه حدود ۲۰ nm را با استفاده از عصاره گل یاسمن شب تولید کنند. همچنین نرایانان^۲ و همکاران در ساخت نانوذرات طلا، از عصاره برگ گشنیز استفاده کردند و توانستند ذراتی با ابعاد ۵۸-۷ nm تولید کنند. ذرات تشکیل شده شکل های متنوعی از جمله ده ضلعی، کروی و مثلثی داشته اند. مطالعات مختلفی در زمینه ساخت نانوذرات طلا با استفاده از گیاهان صورت گرفته است که در آن ها از عصاره برگ و پوست *Ficus carica* (Fig)، *Sphaeranthus amaranthoides* و *Putranjiva roxburghii* استفاده شده است. همچنین با استفاده از بیومس جو، می توان نانوذرات طلا با اندازه های ۸۵-۵ nm تولید نمود که pH محیط واکنش در اندازه آن ها تعیین کننده بوده است. این نانوذرات به شکل های مختلف ده وجهی، شش گوشه، بیست وجهی، نامنظم و میله ای شکل تشکیل شدند. در مطالعه دیگری، نانوذرات طلا با استفاده از برگ اکالیپتوس ساخته شدند که به شکل کروی و با اندازه بین ۲۰-۸۰ nm بوده اند. علاوه بر ذرات کروی، ذرات دیگری با شکل های متنوعی از جمله شش گوشه، پنج گوشه و مثلثی نیز با اندازه های ۵۰-۱۰۰ nm تشکیل شدند [۲۸]. با ظهور فناوری های سبز در تولید نانوذرات، در ساخت نانوذرات مغناطیسی نیز تحولی به وجود آمده است. تحقیقات نشان داده است که می توان نانوذرات اکسید آهن را با استفاده از بیومس آلفالفا تولید نمود. pH ۱۰ باعث ایجاد ذرات کوچک تر با نسبت Fe_2O_3 بیشتر و اندازه ۴-۱ nm شده و زمانی که pH مخلوط واکنش ۵ باشد ذرات بزرگتری تشکیل می شوند [۲۹]. نانوذرات اکسید آهن از جمله نانوذراتی هستند که در فرایندهای ازدیاد برداشت نفت مورد استفاده قرار می گیرد و عموماً به روش های شیمیایی ساخته می شود. در سال ۲۰۱۵، والی^۳ و همکاران، نانوذرات اکسید تیتانیوم در اندازه ۴۰ نانومتری را از بقایای گیاه *Cassia auriculata* تولید کردند [۳۰]. در جدول ۱ تنوع نانوذرات تولید شده توسط گیاهان مختلف گزارش شده است.

جدول ۱-۴: تنوع نانوذرات ساخته شده با گیاهان مختلف [۲۷]

نوع گیاه	نانوذره	اندازه (nm)	شکل
<i>Aloe vera</i>	طلا یا نقره	۵۰-۳۵۰	کروی و مثلثی
<i>Aloe vera</i>	اینسیدیم اکسید	۵-۵۰	کروی
<i>Camelia sinensis</i>	طلا یا نقره	۳۰-۴۰	کروی، مثلثی و نامنظم
<i>Citrullus colocynthis</i>	نقره	۳۱	کروی
<i>Curcuma longa</i>	پالادیم	۱۰-۱۵	کروی
<i>Diopysos kaki</i>	پلاتین	۱۵-۱۹	کریستالی
<i>Eucalyptus</i>	طلا	۲۰-۱۰۰	کروی و مثلثی و شش وجهی
<i>Mangifera indica</i>	نقره	۱۰-۱۰۰	کروی و مکعبی
<i>Rhododendron dauricum</i>	نقره	۲۵-۴۰	کروی، مثلثی و شش وجهی
<i>Psidium guajava</i>	طلا	۲۵-۳۰	کروی
<i>Pyrus sp.</i>	طلا	۲۰۰-۵۰۰	مثلثی و شش وجهی
<i>Terminalia catappa</i>	طلا	۱۰-۳۵	کروی

۴-۲- pH

میزان pH محیط واکنش نقش مهمی در تشکیل نانوذرات ایفا می کند. مطالعات نشان داده است که تغییرات pH محیط واکنش باعث تغییرات در اندازه نانوذرات می شود و ذرات با اندازه بزرگتر در محیطی تشکیل شده اند که pH پایین تری داشته است. به عنوان مثال هی^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷ تولید نانوذرات طلا با استفاده از باکتری *Rhodopseudomonas capsulata* را تحت pH های مختلف بررسی کردند. مطابق شکل ۴ نتایج آن ها نشان می دهد که در pH پایین، سرعت واکنش یون های طلا بسیار کند بوده و جذب طلا-زیست توده قوی می شود که به شکل گیری

۴-۱- اثر عوامل مختلف بر تولید نانوذرات با روش های زیستی

۴-۱-۴- درجه حرارت

دما تأثیر مستقیمی بر فعالیت میکروارگانیسم ها و حرکت یون ها دارد. از این رو دما اثر قابل توجهی در خواص نانوذرات مانند اندازه ذرات، مورفولوژی و پخش شونده گی طی فرایند تولید آن ها خواهد داشت [۳۱]. در مطالعه ای تولید نانوذرات طلا در دماهای مختلف ۲۵، ۳۵ و ۵۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفته است. بررسی ها نشان داده اند که با افزایش دما اندازه ذرات از میانگین اندازه کمتر از ۱۰ نانومتر به بیشتر از ۵۰ نانومتر افزایش می یابد. همچنین درجهی حرارت بالاتر منجر به پخش شونده گی بسیار پایین می شود [۳۱].

^۱ Dass

^۲ Narayanan

^۳ He

زمانی که غلظت بالاتر از این مقدار است، اندازه‌ی ذرات افزایش می‌یابد و اندازه‌ی نانوذرات تا حد زیادی از ۵۰ نانومتر تا چند صد نانومتر توزیع می‌شود [۱۷].

۴-۴- زمان واکنش

نتایج نشان داده است که تغییرات زمان می‌تواند منجر به تولید ذرات با اشکال مختلفی در کنار نانوذرات کروی شود (مانند اشکال نانوصفحات مثلثی و شش‌ضلعی). زمان انکوباسیون عامل مهم دیگری در شکل‌گیری نانوذرات است. هر واکنش نیاز به زمان مشخص برای به انجام رساندن تغییرات دارد؛ بنابراین زمان واکنش می‌تواند اندازه‌ی ذرات و پخش شونده‌ی را کنترل کند. در مطالعاتی از تولید نانوذرات طلا، اثر زمان تولید بر اندازه و پخش شونده‌ی موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تولید با زمان کوتاه‌تر در معرض قرار گرفتن سلول‌ها با محلول یون‌ها (۱ ساعت)، ذرات با اندازه‌ی کوچک‌تر و پخش شونده‌ی خوب، نسبت به زمان طولانی‌تر در معرض قرار گرفتن با محلول یون‌ها (۲۴ ساعت) مشاهده شد. این مطلب نشان می‌دهد که اندازه‌ی ذرات و پخش شونده‌ی می‌تواند با دست‌کاری زمان واکنش کنترل شود [۱۷].

۵- چشم‌انداز آینده

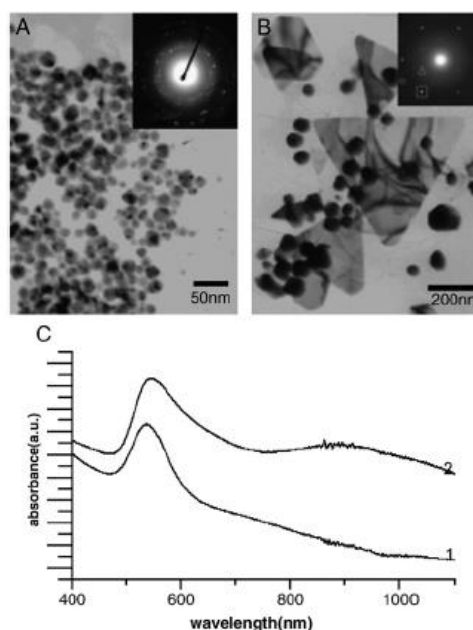
چالش مهمی که اغلب در تولید زیستی نانوذرات وجود دارد، کنترل شکل و اندازه برای رسیدن به یکپارچگی در فاز محلول است. تحولات زیادی در زمینه نانوذرات تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌ها و کاربرد آن‌ها در دهه گذشته صورت گرفته است. با این حال، همچنان تحقیقات بسیار زیادی جهت بهبود کارایی ساخت و کنترل اندازه ذرات و مورفولوژی لازم است. نکته قابل‌توجه دیگر این است که ساخت نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی، یک روند کاملاً آهسته (چند ساعت و حتی چند روز) است؛ بنابراین به کار بردن روش‌هایی جهت کاهش زمان ساخت نانوذرات، از جمله مسائلی است که باید به آن توجه نمود.

مطالعات متعدد نشان داده است که نانو ذرات تشکیل‌شده توسط میکروارگانیسم‌ها ممکن است بعد از یک دوره زمانی مشخص تجزیه شوند. بنابراین، ثبات و پایداری نانوذرات تولیدشده توسط روش‌های بیولوژیک مستلزم مطالعه بیشتر است [۳۳-۳۵].

با توجه به اینکه در روش‌های شیمیایی و فیزیکی ساخت نانوذرات، پارامترهای کنترل شکل ذرات هنوز هم یک مسئله در حال تحقیق است، روش‌های زیستی ساخت نانوذرات با توجه به توانایی کنترل دقیق مورفولوژی ذرات، با تغییر پارامترهایی مانند نوع میکروارگانیسم، مرحله رشد (فاز) سلول‌های میکروبی، محیط کشت، شرایط سنتز، pH، غلظت سوبسترا، ترکیب منبع نانوذرات هدف، دما، زمان واکنش و اضافه کردن یون‌های غیر هدف، مزیت قابل‌توجهی نسبت به روش‌های پیشین دارند.

با درک بهتر سازوکار ساخت زیستی نانوذرات در سطح سلولی و مولکولی، از جمله جداسازی و شناسایی ترکیبات مسئول کاهش

مورفولوژی نانوصفحه کمک می‌کند. با افزایش مقدار pH سرعت واکنش افزایش می‌یابد و به شکل‌گیری ذرات کروی کمک می‌کند [۳۲]. گریک^۱ و همکارش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که pH بر روی اندازه و پخش شونده‌ی مؤثر است [۲۰]. نتایج نشان می‌دهد که در pH=۳ اندازه‌ی ذرات غالباً زیر ۱۰ نانومتر است و ذرات به طور مساوی بر روی سلول توزیع شده بودند. در حالی که با افزایش pH از ۳ به ۵، ۷ و ۹ اندازه‌ی عمده‌ی ذرات تا ۳۰ نانومتر افزایش یافته و ذرات با اشکال مختلف رشد کردند. در نمونه دیگری، نانوذرات میله‌ای شکل طلا که از بیومس جو دو سر در pH=۲ ساخته می‌شوند اندازه بزرگ‌تری (۸۵-۲۵ nm) نسبت به محیط با pH ۳ و ۴ با اندازه ۲۰-۵ nm دارند. بر اساس این مطالعات در pH بین ۳ و ۴ عصاره گیاه دارای گروه‌های عاملی بیشتری برای تشکیل هسته‌ها هستند؛ اما در pH حدود ۲ این گروه‌های عاملی کمتر بوده و در نتیجه تجمع ذرات بیشتر صورت می‌گیرد که باعث بزرگ‌تر شدن ذرات می‌شود [۲۸].



شکل ۴. تصاویر TEM از نانوذرات طلا در (A) pH=۷ و (B) pH=۴. طیف جذب UV-Vis نانوذرات طلا در pH=۷ (منحنی ۱) و pH=۴ (منحنی ۲) (C) [۳۲].

۴-۳- غلظت واکنش‌دهنده‌ها

در یک واکنش شیمیایی غلظت واکنش‌دهنده‌ها مقدار واکنش را تعیین می‌کنند. این مطلب در تولید زیستی نانوذرات نیز صادق است. در مطالعات مختلف غلظت یون‌های فلزی مرتبط (غلظت سوبسترا) به منظور بررسی تأثیر آن بر اندازه و پخش شونده‌ی نانوذرات تولیدشده مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این نمونه‌ها تولید نانوذرات طلا با استفاده از *V. luteoalbum* است. نتایج این تحقیق نشان داده است که با کاهش غلظت $AuCl_4^-$ به زیر ۵۰۰ mg/L، اندازه‌ی نانوذرات در حدود ۲۰۰ nm است. لکن

¹ Gericke

- [5] Ahmad, A., Satyajyoti, S., Khan, M.I., Rajiv, K., Ramani, R., Srinivas, V., Murali, S., b., Nanotechnology, 14, 824-828, (2003).
- [6] Murali, S., Ahmad, A., Khan, M.I., Rajiv, K., Curr. Sci. 85, 162-170, (2003).
- [7] Mandal, Deendayal, Mark E. Bolander, Debabrata Mukhopadhyay, Gobinda Sarkar, and Priyabrata Mukherjee, Applied microbiology and biotechnology, 69/5, 485-492, (2006).
- [8] A. Ahmad, S. Senapati, M. I. Khan, R. Kumar, and M. Sastry, Langmuir, 19, 3550-3553, (2003).
- [9] P. Mukherjee, A. Ahmad, D. Mandal, Angewandte Chemie—International Edition, 40, 3585-3588, (2001).
- [10] A. Ahmad, S. Senapati, M. I. Khan, Nanotechnology, 14, 824-828, (2003).
- [11] M. F. Lengke, M. E. Fleet, and G. Southam, Langmuir, 22, 2780-2787, (2006).
- [12] M. F. Lengke, B. Ravel, M. E. Fleet, G. Wanger, R. A. Gordon, and G. Southam, Environmental Science & Technology, 40, 6304-6309, (2006).
- [13] T. Klaus, R. Joerger, E. Olsson, and C. -G. Granqvist, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96, 13611-13614, (1999).
- [14] Xiangqian Li, Huizhong Xu, Zhe-Sheng Chen, and Guofang Chen, Journal of Nanomaterials, 2011, 1-16, (2011).
- [15] G. Southam and T. J. Beveridge, Geochimica et Cosmochimica Acta, 58, 4527-4530, (1994).
- [16] Iravani, S., International Scholarly Research Notices, International scholarly research notices, 2014, 1-18, (2014).
- [17] Y. Konishi, T. Tsukiyama, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, and S. Nagamine, Hydrometallurgy, 81/1, 24-29, (2006).
- [18] A. Arakaki, H. Nakazawa, M. Nemoto, T. Mori, and T. Matsunaga, Journal of the Royal Society Interface, 5, 977-999, (2008).
- [19] S. Senapati, A. Ahmad, M. I. Khan, M. Sastry, and R. Kumar, Small, 1, 517-520, (2005).
- [20] M.A. Ansari, H.M. Khan, A.A. Khan, S.S. Cameotra, Q. Saquib, J. Musarrat, Journal of Applied Microbiology, 116, 772-783, (2014).
- [21] C. T. Dameron, R. N. Reese, R. K. Mehra, Nature, 338/6216, 596-597, (1989).
- [22] P. Williams, E. Keshavarz-Moore, and P. Dunnill, Journal of Biotechnology, 48/3, 259-267, (1996).
- [23] M. Labrenz, G. K. Druschel, T. Thomsen-Ebert, Science, 290/5497, 1744-1747, (2000).
- [24] H. Bai and Z. Zhang, Materials Letters, 63/9-10, 764-766, (2009).

نانوذرات، انتظار می‌رود که زمان واکنش کوتاه و کارایی فرایند تولید افزایش یابد. علاوه بر مطالب ذکر شده، چالش مهم دیگر، بالا بردن مقیاس در روند تولید است. مقیاس صنعتی تولید زیستی نانوذرات، به اصلاح برخی پارامترها از جمله محیط کشت، تلقیح از دانه به زیست‌توده، برداشت سلول‌ها، تولید نانوذرات با اضافه کردن یون‌های فلزی به سلول‌ها، جداسازی سلول توسط فیلتراسیون، همگن‌سازی سلول‌ها به نانوذرات تولیدی ایزوله، پایداری نانوذرات، فرمولاسیون محصول و کنترل کیفیت ذرات نیاز دارد که لازم است قبل از اینکه روش‌های زیستی به عنوان روش‌های موفق و جایگزین در تولید صنعتی نانوذرات استفاده شوند؛ به آن توجه کافی مبذول داشت.

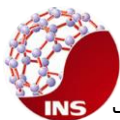
۶- نتیجه‌گیری

ساخت زیستی نانوذرات به عنوان یک روش سازگار با محیط زیست و غیر سمی قابل قبول است. از جمله موضوعات اصلی وابسته به تولید زیستی نانوذرات، می‌توان به پایداری، تجمع نانوذرات تولید شده، کنترل رشد بلور، شکل و توزیع اندازه نانوذرات اشاره نمود. خصوصیات نانوذرات می‌توانند توسط بهینه‌سازی پارامترهای مهم مانند شرایط رشد میکروارگانیسم، فعالیت سلولی و فرآیندهای آنزیمی، نوع محیط کشت، دمای محیط کشت، سرعت همزن محلول، تغییرات pH و زمان ماندن باکتری در محلول غنی از نانوذره کنترل شوند. در تولید زیستی نانوذرات، دانستن سازوکارهای دقیق واکنش و شناسایی آنزیم‌ها و پروتئین‌هایی که عامل تولید نانوذرات هستند، اهمیت بسیاری دارد. تولید زیستی نانوذرات، به دلیل اینکه نیاز به هیچ‌گونه مواد شیمیایی گران، سمی و خطرناک برای تولید و فرآیندهای پایداری ندارد، قابل رقابت با تولید شیمیایی آن‌ها می‌باشد اما به‌منظور دستیابی به شرایط بهتر برای تولید و افزایش مقیاس در کاربردهای صنعتی همچنان نیاز به مطالعات و تحقیقات محققین دارد.

تولید کارآمد مواد، دستگاه‌ها و سیستم‌ها با کنترل ساده در مقیاس نانومتری و بهره‌برداری از خواص جدید آنها، پدیده نوظهوری است که در مقیاس نانو توسعه یافته است [۱۷].

۵. منابع

- [1] M. Sundrarajan and S. Gowri, Chalcogenide Lett, 8.8, 447-451, (2011).
- [2] K. B. Narayanan, N. Sakthivel, Advances in Colloid and Interface Science, 169, 59-79, (2011).
- [3] A.V. Kirthi, A.A. Rahuman, G. Rajakumar, S. Marimuthu, T. Santhoshkumar, C. Jayaseelan, G. Elango, A. Abdur Zahir, C. Kamaraj, A. Bagavan, Materials Letters, 66, 2745-2747, (2011).
- [4] Prathna T.C., Lazar Mthew, N. Chandrasekaran, Ashok M. Raichur and Amitava Mukherjee, Biomimetics-Learning from nature InTech, 1-20, (2010).



- [25] M.R. Hosseini, M. Schaffie, M. Pazouki, E. Darezereshki, M. Ranjbar, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 15, 222-225, (2012).
- [26] G. Ulloa, B. Collao, M. Araneda, B. Escobar, S. Álvarez, D. Bravo, *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 217-224, (2016).
- [27] Peralta-Videa, Jose R., Yuxiong Huang, Jason G. Parsons, Lijuan Zhao, Laura Lopez-Moreno, Jose A. Hernandez-Viezcas, and Jorge L. Gardea-Torresdey, *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 1/1, 4, (2016).
- [28] Shah, Monaliben, *Materials*, 8/11, 7278-7308, (2015).
- [29] Iravani, Siavash, *Green Chemistry*, 13/10, 2638-2650, (2011).
- [30] G.Valli, S.Geetha, *J. Biomed. and Pharm. Sci* 2, 490-497, (2015).
- [31] H.J. Bai, Z.M. Zhang, Y. Guo, G.E. Yang, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 70, 142-146, (2009).
- [32] S. He, Z. Guo, Y. Zhang, S. Zhang, J.Wang, and N. Gu, *Materials Letters*, 61, 3984-3987, (2007).
- [33] L. Xiang, W. Bin, J. Huali, *Journal of Gene Medicine*, 9/8, 679-690, (2007).
- [34] R. Hergt, R. Hiergeist, M. Zeisberger, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293/1, 80-86, (2005).
- [35] R. Hergt and S. Dutz, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311/1, 187-192, (2007).