

تولید زیستی نانوذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*

سراج بیتا^{۱*}، مهرزاد مصباح^۱، علی شهریاری^۲ و مسعود قربانپور^۳

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

چکیده

در این تحقیق تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* با روش زیستی خارج سلولی انجام شد. روش‌های زیستی تولید نانوذرات نسبت به روش‌های شیمیایی موثرتر و با محیط زیست سازگاری بیشتری دارند. نتایج به دست آمده از طیف سنجی UV-Vis، TEM و FT-IR تولید زیستی نانوذرات نقره با استفاده از جلبک مورد آزمایش را تایید کرد. پس از اضافه نمودن نیترات نقره به عصاره جلبک، رنگ مخلوط حاصل با گذشت زمان از قهوه‌ای متمایل به زرد به رنگ قهوه‌ای تیره تغییر پیدا کرد. حداکثر پیک جذب نانوذرات توسط UV-Vis در محدوده ۴۰۶ نانومتر مشاهده شد که نشان دهنده احیاء یون‌های نقره و تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک سارگاسوم می‌باشد. نانوذرات تولید شده دارای شکل کروی و با اندازه ۳۲/۵۴ نانومتر بودند. همچنین بر اساس آنالیز FT-IR، عامل احتمالی احیاء یون‌های نقره و تبدیل آن به نانوذرات نقره، ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در جلبک سارگاسوم می‌باشد.

واژگان کلیدی: روش بیولوژیکی، تولید زیستی، جلبک دریایی، *Sargassum angustifolium*، نانوذرات نقره

*نویسنده مسؤل، پست الکترونیک: serajbita@yahoo.com

۱. مقدمه

استفاده از نانوذرات فلزی به دلیل کاربرد گسترده‌شان روز به روز در حال افزایش می‌باشد. معمولا نانوذرات فلزی با استفاده از روش های شیمیایی، مکانیکی (Balantrapu et al., 2009, Tripathi et al., 2010) و الکتروشیمیایی (Patakfalvi and Dekany, 2010) تولید می‌شوند. تولید نانوذرات با استفاده از این روش‌ها نیازمند سه ماده، شامل یون های فلزی، احیاء کننده و محافظت کننده است که تمام این مواد شیمیایی سمی بوده و سبب آلودگی محیط زیست می‌شوند (Kumar et al., 2012)، اما در روش زیستی برای تولید نانو ذرات فلزی از میکروارگانیسم‌ها و مواد گیاهی که در طبیعت وجود دارند، استفاده می‌شود. از طرفی، تولید سریع و پایدار نانوذرات طلا و نقره با استفاده از عصاره برگ گیاه گل شمعدانی، نشان دهنده امکان تولید سریع تر نانوذرات با استفاده از روش‌های زیستی در مقایسه با روش‌های شیمیایی می‌باشد (Shivshankar et al., 2003). جلبک‌های دریایی به دلیل فراوانی و دارا بودن انواع ترکیبات فیتوشیمیایی متنوع از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها (Mansuya et al., 2010)، می‌توانند نقش مهمی در احیاء یون‌های فلزی و تبدیل آن به فرم نانو را به شکل خارج سلولی داشته باشند، بنابراین امروزه تولید نانوذرات با استفاده از اصول شیمی سبز و منابع زیستی موجود در طبیعت از جمله گیاهان و جلبک‌های دریایی جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات محیط زیست و زیست‌پزشکی پیدا کرده است. تولید زیستی نانوذرات فلزی با استفاده از جلبک‌های دریایی اولین بار در سال ۲۰۰۷ توسط Govindaraju و همکاران با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum wightii* انجام شد. در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه تولید زیستی نانوذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی *Urospora sp* (Suriya et al., 2012)،

Padina tenerrimum (Kumar et al., 2012)، *Jegadeeswaran et al., 2012 tetrastromaicat*، *Ulva lactuca* (Saraniya et al., 2012) انجام شده است. جلبک دریایی سارگاسوم، جزو جلبک‌های قهوه‌ای بوده که در منطقه بین جزرومدی دریاها پراکنش دارد. هدف از این مطالعه تولید زیستی نانوذرات نقره به صورت خارج سلولی با استفاده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* و استفاده بهینه از این گونه جلبکی می‌باشد، زیرا با توجه به وجود منابع عظیم جلبک دریایی سارگاسوم در سواحل ایران و عدم استفاده از آنها، علی‌رغم کاربرد گسترده‌شان، استفاده از این جلبک، به‌عنوان گزینه مناسب در تولید زیستی نانوذرات، می‌تواند نقش بسیار مهمی در جهت استفاده بهینه از این منابع آبی در بحث فن آوری نانو و تجاری کردن آن در ایران داشته باشد.

۲. مواد و روش‌ها

تولید نانوذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی

Sargassum angustifolium

جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* از سواحل بوشهر جمع‌آوری گردید، سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی در کنار یخ به آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. در آزمایشگاه به منظور جداکردن هر گونه خار و خاشاک و سایر ضایعات، چند بار با آب تمیز و تصفیه‌شده شهری و سپس با آب دوبار تقطیرشده شستشو داده شدند و در نهایت با آب مقطر استریل آبکشی شدند. جلبک‌های شسته‌شده به مدت یک هفته در سایه قرارداد شدند تا خشک گردند (Singaravelu et al., 2007). نمونه‌های خشک‌شده توسط خردکن به شکل پودر در آورده شدند. به منظور تهیه عصاره، ۱۰ گرم از پودر خشک‌شده جلبک با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه‌شده در داخل

دستگاه طیفسنج فرابنفش-مرئی در طول موج‌های ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر خوانده شد.

تعیین شکل، توزیع و اندازه ذرات

به منظور آنالیز نمونه‌ها برای تعیین شکل و اندازه ذرات با TEM، یک قطره از محلول نانوذره نقره تولید شده بر روی گریدهای کربنی پوشیده شده با مس قرار داده شد. به نمونه قرار گرفته روی گرید کربنی TEM، اجازه داده شد تا خشک شود. سپس اندازه ذرات با استفاده از TEM مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین توزیع اندازه ذرات تولید شده با شمارش ۱۰۰ ذره در هر بار عکسبرداری با استفاده از نرم افزار Microstructure measurement به دست آمد.

آنالیز FT-IR یا تبدیل فوریه مادون قرمز نانوذرات

تولید شده

آنالیز FT-IR به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و بیومولکول‌های احتمالی مسئول احیاء یون‌های نقره و عامل‌های پوشاننده نانوذرات نقره تولید شده، انجام شد. برای این منظور ابتدا نمونه‌های نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه لیوفیلیزه با روش خشک کردن انجمادی خشک شدند و سپس نمونه‌های خشک شده با استفاده از تکنیک FT-IR، آنالیز شدند.

۳. نتایج

پس از اضافه نمودن نیترات نقره به عصاره جلبک سارگاسوم، تغییر رنگ کامل محلول حاصل بعد از گذشت ۱۱۰ دقیقه حاصل شد، به طوری که رنگ محلول حاصل از قهوه‌ای متمایل به زرد به رنگ قهوه‌ای تیره تبدیل شد (شکل ۱).

ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتر همراه با مگنت، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد، سپس محلول حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت rpm ۴۰۰۰ دوبار سانتریفیوژ گردید و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن NO.1، فیلتر شد. برای تولید نانوذرات نقره از محلول نیترات نقره به عنوان پیش‌ساز استفاده شد. مقدار ۱۷ میلی‌گرم نیترات نقره در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد (یک میلی‌مولار). به منظور احیاء یون‌های Ag^+ ، ۱۰ میلی‌لیتر عصاره جلبک به ۹۰ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره یک میلی‌مولار اضافه شد (Jegadeeswaran et al., 2012).

مشخصه‌یابی و تعیین ویژگی‌های نانوذرات نقره

تولید شده

برای تعیین ویژگی‌ها و اطمینان از تولید و کیفیت نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*، از دستگاه‌های طیفسنج فرابنفش-مرئی (UV-Vis) مدل Perkin-Elmer, Lambda 12، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل LEO 906E، مربوط به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران اهواز و FT-IR مدل Shimadzu-4300، استفاده شد.

مشخصه‌یابی و تایید ساخت نانوذرات نقره با

استفاده از طیفسنج فرابنفش-مرئی (UV-Vis)

به منظور بررسی احیاء یون‌های نقره و تایید ساخت نانوذرات نقره، بعد از اضافه کردن محلول یک میلی‌مولار نیترات نقره به عصاره آبی جلبک و مشاهده تغییر رنگ، حدود ۰/۲ میلی‌لیتر از نمونه برداشته شد و با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد، سپس مخلوط حاصل در داخل سل قرار داده شد و جذب آن توسط

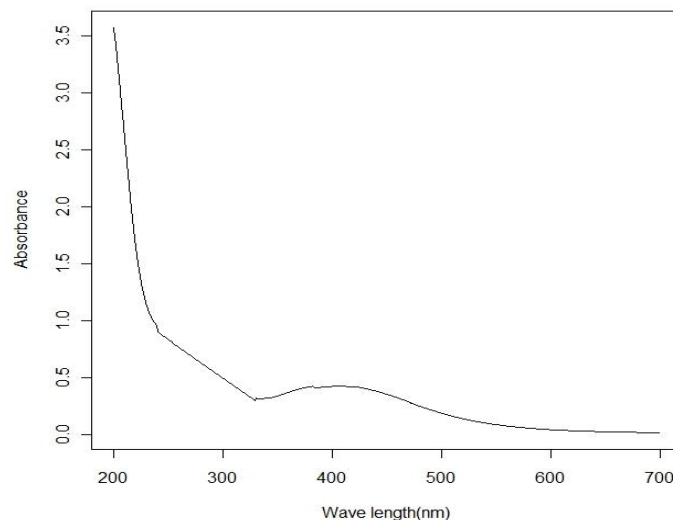


شکل ۱. تغییر رنگ محلول حاصل با گذشت زمان از قهوه‌ای متمایل به زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره پس از اضافه نمودن محلول نیترات نقره

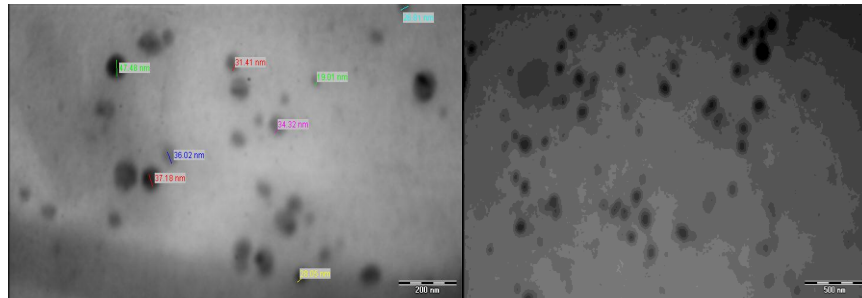
در نتیجه تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک سارگاسوم می‌باشد (شکل ۲).

طبق تصاویر به دست آمده از TEM و نرم افزار Image Analysis، میانگین اندازه نانوذرات نقره تولیدشده، ۳۲/۵۴ نانومتر و با شکل کروی بودند (شکل ۳).

جهت اطمینان از تولید نانوذرات نقره، پیک جذبی نانوذرات در فواصل زمانی مختلف، با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش مرئی (UV-Vis) در محدوده طول موج‌های ۲۰۰-۷۰۰ نانومتر، اندازه‌گیری شد. بهترین پیک بعد از گذشت ۲ ساعت از زمان واکنش و در محدوده ۴۰۶ نانومتر مشاهده شد، که پیک تشکیل شده در این محدوده، نشان دهنده احیاء یون‌های نقره و



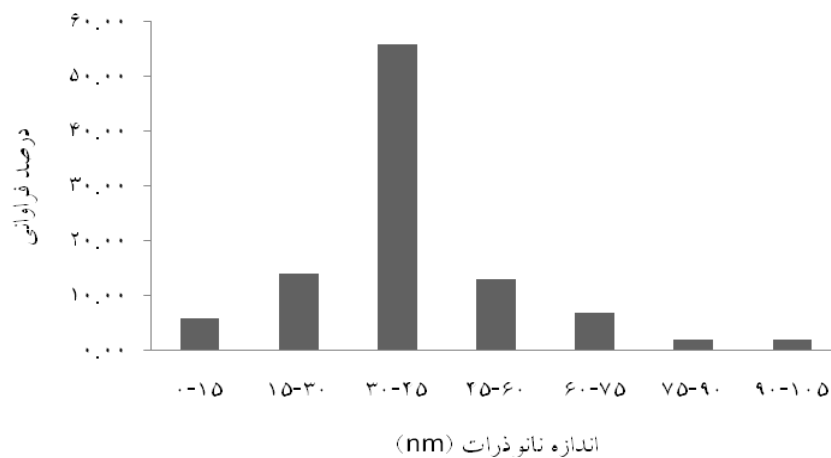
شکل ۲. طیف UV-Vis نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از جلبک *Sargassum angustifolium*



شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از نانوذرات نقره تولیدشده

درصد فراوانی را در محدوده ۳۰-۴۵ نانومتر نشان دادند (نمودار ۱).

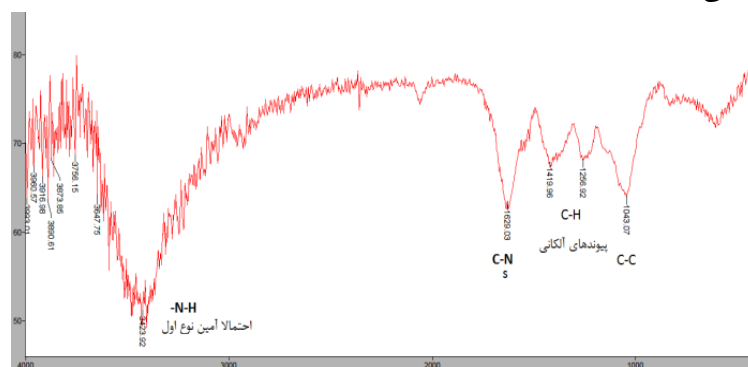
بر اساس نتایج TEM، نانوذرات نقره تولیدشده در مطالعه حاضر، از نظر اندازه و توزیع ذره‌ای، بیشترین



نمودار ۱. توزیع اندازه ذرات در نانوذرات نقره تولید شده

و C-C است. این پیک‌ها حضور گروه‌های عاملی مورد نظر از جمله پروتئین‌ها و فنول‌ها در تولید نانوذرات نقره را در مطالعه حاضر نشان می‌دهد (شکل ۴).

طیف FT-IR نانوذرات نقره تولید شده از جلبک دریایی، دارای پیک‌های در محدوده 1629 ، 3424 ، 1419 ، 1256 و 1043 cm^{-1} می‌باشد (شکل ۴) که به ترتیب، نشان دهنده حضور پیوندهای N-H، C-N، C-H، C-H، C-C



شکل ۴. طیف FT-IR نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*

تیره تبدیل می‌شوند (Jegadeeswaran *et al.*, 2012). تغییر رنگ محلول حاصل نشان دهنده القاء رزونانس پلاسمون سطحی به واسطه احیاء نیترات نقره می‌باشد (Harborne, 1998). بنابراین در مطالعه حاضر تغییر رنگ محلول حاصل از قهوه‌ای متمایل به زرد کم رنگ به رنگ قهوه‌ای تیره نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره می‌باشد (شکل ۱). طیف سنجی جذبی UV-Vis یکی از اولین روش‌ها برای آنالیز کلویدهای نقره است (Hayat, 1989, Chumanov *et al.*, 1996). در این مطالعه پیک جذبی نانوذرات بعد از گذشت ۲ ساعت از زمان واکنش در طول موج ۴۰۶ نانومتر شناسایی شد (شکل ۲). این پیک نشان دهنده احیاء یون‌های نقره و تشکیل نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum angustifolium* می‌باشد. Singaravelu و همکاران (۲۰۰۷) تولید نانوذرات طلا با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum wightii* را در طی ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام دادند. همچنین در مطالعه‌ای توسط Kumar و همکاران (۲۰۱۲) تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum tenerrimum* در طی ۲۰ دقیقه انجام شد که این امر از طریق تغییر رنگ قابل مشاهده است. نقره در حالت توده‌ای دارای پیک جذبی در طول موج ۳۱۶ نانومتر است در حالی که پیک تشکیل شده در محدوده ۴۳۰-۴۰۰ نانومتر نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره (باباپور و همکاران، ۱۳۸۶) و مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره می‌باشد که به القاء الکترون‌های آزاد در نانوذرات نسبت داده می‌شود (Suriya *et al.*, 2012). تشکیل پیک در این محدوده توسط سایر محققین جهت تولید نانوذرات نقره گزارش شده است (جدول ۱). اما طول موج اختصاصی نانوذرات طلا در محدوده ۵۴۰ نانومتر می‌باشد (فقری زنوز و همکاران، ۱۳۹۱) که در مطالعه Singaravelu و همکاران (۲۰۰۷) برای تولید نانوذرات طلا با استفاده از جلبک *Sargassum wightii* پیک

بر اساس شکل ۴، پیک جذبی قوی در موقعیت cm^{-1} ۳۴۲۴ نشان دهنده حضور الکل‌ها و فنول‌ها با گروه آزاد O-H و پیک cm^{-1} ۱۶۲۹ مربوط به موقعیت باند امید I ساختار دوم پروتئین‌ها، پیک cm^{-1} ۱۴۱۹ مربوط به گروه خمشی CH_2 و CH_3 و پیک ۱۲۵۶ و ۱۰۴۳ مربوط به گروه‌های آلکیلی می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

تولید نانوذرات معمولا با دو روش بالا به پایین و پایین به بالا انجام می‌شود، که تولید نانوذرات از طریق روش شیمیایی و زیستی جزو روش‌های پایین به بالا می‌باشد (Narayanan and Sakhtivel, 2011). اخیرا تولید نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان و جلبک‌های دریایی به خاطر سازگاری این روش با محیط زیست، خیلی متداول شده است (Song *et al.*, Li *et al.*, 2007). در این تحقیق، تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی جلبک *Sargassum angustifolium* به صورت خارج سلولی با روش پایین به بالا از طریق روش زیستی انجام شد. از آنجا که در روش تولید خارج سلولی، یون‌های فلزی بر روی سطح سلول‌ها به دام می‌افتند، بنابراین در مقایسه با تولید داخل سلولی، نیازی به استخراج نانوذرات تولیدشده از درون سلول نمی‌باشد و این سبب شده تا روش حاضر، نسبت به روش تولید داخل سلولی نانوذرات، مقرون به صرفه‌تر باشد (Mohseniazar *et al.*, 2011). نانوذرات نقره از طریق احیاء Ag^+ به Ag^0 با اضافه نمودن عصاره جلبک به محلول یک میلی مولار نیترات نقره تشکیل شدند. عمل احیاء یون‌های نقره در محلول حاصل به وسیله برخی از ترکیبات از جمله فلاونوئیدها، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و غیره که در جلبک قهوه‌ای سارگاسوم وجود دارند انجام می‌شود (Kumar *et al.*, 2012). به خوبی شناخته شده که نانوذرات نقره پس از تولید با استفاده از جلبک‌های قهوه‌ای به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز یا

جذبی، ۵۲۷ نانومتر گزارش شده است (جدول ۱). در جدول زیر نتایج مطالعات انجام شده توسط سایر محققین در زمینه تولید خارج سلولی نانوذرات با استفاده از جلبک‌های دریایی آورده شده است.

جدول ۱. مقایسه تحقیق حاضر با سایر مطالعات انجام شده در زمینه تولید نانوذرات از جلبک‌های دریایی

منبع	شکل ذرات	اندازه ذرات (nm)	پیک جذبی (nm)	گونه جلبکی
Singaravelu و همکاران ۲۰۰۷	دو وجهی و مسطح	۸-۱۲	۵۲۷	<i>Sargassum wightii</i> (نانوذرات طلا)
Kumar و همکاران ۲۰۱۲	کروی	۳۳-۴۰	۴۱۴	<i>Sargassum ilicifolium</i>
Kumar و همکاران ۲۰۱۲	کروی	۲۰	۴۲۰	<i>Sargassum tenerrimum</i>
Thangaraju و همکاران ۲۰۱۲	کروی همراه با ذرات طویل	۵۰-۱۰۰	۴۲۰	<i>Sargassum polycystum</i>
Saraniya و همکاران ۲۰۱۳	مکعبی	۳۰	۴۲۰	<i>Sargassum longifolium</i>
Kumar و همکاران ۲۰۱۲	کروی	۱۸-۴۶	۴۲۰	<i>Gracilaria corticata</i>
Suriya و همکاران ۲۰۱۲	کروی	۲۰-۳۰	۴۳۰	<i>Urospora sp</i>
Kannan و همکاران ۲۰۱۳	---	۳-۴۴	۴۲۲	<i>Chaetomorpha linum</i>
Vivek و همکاران ۲۰۱۱	کروی	۲۲	۴۰۸	<i>Gelidiella acerosa</i>
Jegadeeswaran و همکاران ۲۰۱۲	کروی	۱۰-۱۰۰	۴۲۶	<i>Padina tetrastrumatica</i>
مطالعه حاضر	کروی	۳۰-۴۵	۴۰۶	<i>Sargassum angustifolium</i>

ذرات کوچکتر شده و پیک جذبی پلاسمونی آنها به سمت طول موج‌های کوچکتر هدایت می‌شود. هر چقدر اندازه ذرات بزرگتر شود، این پیک به سمت طول موج‌های بالاتر شیفت می‌کند. در مطالعه حاضر طبق نرم افزار Image Analysis، میانگین اندازه نانوذرات ۳۲/۵۴ نانومتر و با شکل کروی بود (شکل ۳). طبق تصاویر به دست آمده از TEM، نانوذرات نقره تولید شده در مطالعه حاضر دارای توزیع یکنواخت بوده و در تماس مستقیم با همدیگر نیستند، که یکی از دلایل احتمالی آن می‌تواند به واسطه نقش پروتئین‌ها در تولید نانوذرات نقره باشد. زیرا مولکول‌های پروتئین سبب می‌شوند تا نانوذرات تولید شده، پایدار بوده و از توزیع یکنواختی برخوردار باشند (Nithya and Ragunathan, 2009)، به طوری که، آنالیز FT-IR نانوذرات نقره تولید شده در مطالعه حاضر نیز قله جذبی را در ناحیه 1629 cm^{-1} نشان داد (شکل ۴). این پیک مربوط به موقعیت باند

طبق این جدول اختلاف در اندازه ذرات و پیک‌های مشاهده شده در طول موج‌های مختلف در مطالعات قبلی با مطالعه ما احتمالاً به خاطر اختلاف در ترکیبات فیتوشیمیایی، تازگی و کیفیت جلبک، نوع جلبک و روش عصاره‌گیری، غلظت نیترات نقره و شیوه بکاربرده شده در تولید نانوذرات می‌باشد. به طوری که در پژوهش حاضر حداکثر پیک جذب در طول موج ۴۰۶ نانومتر مشاهده شد. از طرفی دیگر پیک حاصل از دستگاه طیف‌سنجی فرابنفش مرئی به تغییرات اندازه ذره، ثابت دی‌الکتریک محیط و حالت انبوهش یا تجمع ذرات خیلی حساس می‌باشد (Binaeian et al., 2012) که اختلاف در پیک مشاهده شده از این مطالعه با نتایج سایر پژوهشگران احتمالاً به همین دلیل می‌باشد. در مطالعه باباپور و همکاران (۱۳۸۶) جهت تولید نانوذرات نقره با استفاده از غلظت‌های مختلف نیترات نقره مشخص شد که با کاهش غلظت نیترات نقره، اندازه

پروتئین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در جلبک‌های دریایی قادر به احیاء یون‌های فلزی به فرم نانو می‌باشند. همچنین این ترکیبات نقش مهمی در پوشش نانوذرات تولیدشده و پایداری آن‌ها ایفاء می‌نمایند (Suriya et al., 2012). در مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۱۲)، پیک‌های جذبی در موقعیت cm^{-1} ۳۴۳۰، ۱۶۳۷ و ۶۵۸ نشان دهنده حضور فنول‌ها و پروتئین‌ها و ارتعاشات کششی حلقه‌های آروماتیک است که به گروه آزاد O-H متصل شده است و این ترکیبات مسوول تولید نانوذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی *Gracilaria corticata* می‌باشد. در مطالعه Jegadeeswaran و همکاران (۲۰۱۲) نانوذرات نقره تولیدشده در آنالیز FT-IR، پیک‌های جذبی مختلف در محدوده‌های cm^{-1} ۳۴۴۸ و ۱۳۸۴ در مطالعه Kumar و همکاران (۲۰۱۲) در محدوده‌های cm^{-1} ۳۴۳۱، ۲۳۸۶، ۲۰۷۳، ۱۶۳۷، ۶۹۳، در مطالعه Suriya و همکاران (۲۰۱۲) در محدوده‌های cm^{-1} ۲۹۱۷، ۱۶۴۵، ۱۰۳۹، مشاهده شد که نشان دهنده حضور گروه‌های عاملی C-H، N-H، O-H و C-O و مولکول-هایی از قبیل پروتئین‌ها، فنول‌ها، آلکان‌ها، آمین‌ها و غیره در تولید نانوذرات نقره با استفاده از گونه‌های مختلف جلبک‌های دریایی می‌باشد.

طبق نتایج به‌دست آمده، در این تحقیق تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* به روش زیستی قابل انجام است. آنالیزهای مربوط به مشخصه‌یابی و تعیین ویژگی‌های نانوذرات نیز نشان دهنده تولید نانوذرات نقره و احیاء یون‌های نقره توسط عصاره جلبک سارگاسوم می‌باشد. نتایج بدست آمده از TEM شکل و اندازه نانوذرات را به وضوح نشان می‌دهد. بر اساس این نتایج شکل ذرات کروی بوده و از نظر اندازه و توزیع ذره‌ای، بیشترین درصد فراوانی را در محدوده ۴۵-۳۰ نانومتر نشان می‌دهند. با توجه به این‌که تولید نانوذرات با استفاده از

آمید I پروتئین‌ها بوده و نشان دهنده حضور و نقش پروتئین‌های موجود در عصاره جلبک *Sargassum angustifolium* در تولید نانوذرات نقره می‌باشد. زیرا یکی از ترکیباتی که در جلبک‌های دریایی در تشکیل و پایداری نانوذرات نقره نقش دارد، پروتئین‌ها هستند، علاوه بر این جلبک‌های دریایی دارای ترکیبات فیتوشیمیایی متنوع از قبیل کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها می‌باشند (Mansuya et al., 2010) که این ترکیبات می‌توانند نقش مهمی در احیاء یون‌های فلزی در تولید نانوذرات فلزی داشته باشند. هر چند که از نظر اندازه، نانوذرات نقره تولیدشده از جلبک‌های دریایی توسط سایر پژوهشگران با مطالعه حاضر اختلاف داشتند ولی اندازه ذرات در بیشتر این مطالعات غالباً کمتر از ۵۰ نانومتر گزارش شده است (جدول ۱). رستمی و همکاران (۱۳۸۶) اختلاف در اندازه نانوذرات تولیدشده از دو گیاه یونجه و کلزا را ناشی از تفاوت گونه‌ای دو نوع گیاه ذکر کردند، بنابراین یکی از دلایل اختلاف در اندازه نانوذرات تولیدشده در مطالعه ما با سایر پژوهشگران، احتمالاً ناشی از تفاوت گونه‌ای جلبک‌های استفاده شده جهت تولید باشد.

آنالیز FT-IR، به منظور شناسایی بیومولکول‌های احتمالی مسئول احیاء یون نقره و عامل پوشاننده نانوذرات نقره تولیدشده با جلبک *Sargassum angustifolium* انجام شد. Satvayani و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که یون‌های نقره احتمالاً با ترکیبات فنولی دارای یک یا چند حلقه باند شده و سبب تشکیل نانوذرات نقره می‌شوند. بنابراین در مطالعه حاضر با توجه به پیک مشاهده شده در ناحیه cm^{-1} ۳۴۲۴، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که یکی از گروه‌های احتمالی در تولید نانوذرات نقره ترکیبات فنولی موجود در جلبک *Sargassum angustifolium* می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که بیومولکول‌هایی مانند

Harborne, J. B. 1998. Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. 3rd edition. Chapman & Hall Pub. London, UK. P: 302.

Hayat, M.A. 1989. Colloidal gold: principles, methods and applications. Academic. San Diego. P:536.

Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R. and Venckatesh, R. 2012. Green synthesis of silver nanoparticles from extract of *Padina tatrastromatica* laef. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 7: 991 – 998.

Kannan, R.R., Arumugam, R., Ramya, D., Manivannan, K. and Anantharaman, P. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using marine macroalga *Chaetomorpha linum*. Applied Nanoscience. 3: 229-233.

Kaviyaa, S., Santhanalakshmia, J., Viswanathanb, B., Muthumaryc, J. and Srinivasanc, K. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. Spectrochimica Acta Part A. 79: 594–598.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S. and Govindaraju, M. 2012. Seaweed-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using *Gracilaria corticata* for its antifungal activity against *Candida* spp. Applied nanoscience., DOI 10.1007/s13204-012-0151-3.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Prem Kumar, K., Ganeshkumar, R.S. and Govindaraju, M. 2012. Synthesis of silver nanoparticles from *Sargassum tenerrimum* and screening phytochemicals for its antibacterial activity. Nano Biomedicine and Engineering. 4: 2-16.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Selvaraj, M., Macklin Rani, L., Suganthi, P., Sarojini Devi. and Govindaraju, M. 2012. Antibacterial activity and in-vitro cytotoxicity assay against brine shrimp using silver nanoparticles synthesized from *Sargassum ilicifolium*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 7: 1447-1455.

Li, S., Shen, Y., Xie, A., Yu, X., Qiu, L., Zhang, L. and Zhang, Q. 2007. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum* L. extract. Green Chemistry. 9: 852-858.

Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar, J.S. and Babu, S. 2010. Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected

روش زیستی، نسبت به بقیه روش‌ها مقرون به صرفه، ساده و سازگار با محیط زیست و منطبق با اصول شیمی سبز می‌باشد. بنابراین توصیه می‌شود تا از نانوذرات تولید شده از جلبک‌های دریایی به دلیل عاری بودن از هر گونه ترکیبات سمی در تولید آن‌ها و آلودگی کمتر محیط زیست، در بحث فن آوری نانو استفاده شود.

منابع

باباپور، ع.، سمیعی، ل.، اخوان، ا.، و مشفق، ع. ۱۳۸۶. تاثیر غلظت نیترات نقره بر تشکیل نانوذرات نقره در سیستم $Ag-SiO_2$ به روش سل-ژل. مجله پژوهش فیزیک ایران، جلد ۷، شماره ۴، ص. ۲۱۸-۲۱۳.

فقری زوز، ن.، صلوتی، م.، و دولتیاری، ل. ۱۳۹۱. تولید زیستی نانوذرات نقره با استفاده از باکتری *Streptomyces* sp ERI-3. مجله زیست فن آوری دانشگاه تربیت مدرس. جلد ۳، شماره ۱، ص. ۲۲-۱۵.

رستمی، ح.، حق نظر، ع.، کاویی، ق.، و قره یاضی، ب. ۱۳۸۶. تولید زیست گیاهی نانوذرات طلا. دومین همایش دانشجویی فن آوری نانو، پژوهشکده علوم و فن آوری نانو دانشگاه کاشان، ص ۱۶-۱۴.

Balantrapu, K. and Goia, D. 2009. Silver nanoparticles for printable electronics and biological applications. Journal of Materials Research. 24: 2828-2836.

Binaeian, E., Safekordi, A.A., Attar, H., Saber, R., Chaichi, M.J. and Hosseinzadeh Kolagar, A. 2012. Comparative toxicity study of two different synthesized silver nanoparticles on the bacteria *Vibrio fischeri*. African Journal of Biotechnology. 11: 7554-7564.

Chumanov, G., Sokolov, K. and Cotton, T.M., 1996. Unusual extinction spectra of nanometer-sized silver particles arranged in two-dimensional arrays. The Journal of Physical Chemistry. 100: 5166-5168.

Govindaraju, K., Kiruthiga, V., Ganesh Kumar, V. and Singaravelu, G. 2009. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a marine alga, *Sargassum wightii*, *Grevilli* and their antibacterial effects. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 9: 5497-5501.

- Shivshankar, S., Ahmad, A. and Sastry, M. 2003. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Journal of Biotechnology Program*. 19: 1627-1631.
- Singaravelu, G., Arockiamary, J.S., Ganesh Kumar, V. and Govindaraju, K. 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*. 57: 97-101.
- Song, K.C., Lee, S.M., Park, T.S. and Lee, B.S. 2009. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 26: 153-155.
- Suriya, J., Bharathi, R.S., Sekar, V. and Rajasekaran, R. 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity using seaweed *Urospora* sp. *African Journal of Biotechnology*. 11: 12192-12198.
- Thangaraju, N., Venkatalakshmi, P.R., Chinnasamy, A. and Kannaiyan, P. 2012. Synthesis of silver nanoparticles and the antibacterial and anticancer activities of the crude extract of *sargassum polycystum* C.Agardh. *Nano Biomedicine and Engineering*. 4: 89-94.
- Tripathi, R.M., Saxena, A., Gupta, N., Kapoor, H. and Singh, R.P. 2010. Biological synthesis of silver nanoparticles by using Onion (*Allium Cepa*) extract and their antibacterial activity. *Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures*. 5: 323-330.
- Vedpriya, A. 2010. Living Systems: eco-friendly nanofactories. *Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures*. 5: 9-21.
- Vivek, M., Senthil Kumar, P., Steffi, S. and Sudha, S. 2011. Biogenic silver nanoparticles by *Gelidiella acerosa* extract and their antifungal effects. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*. 3: 143-148.
- seaweeds from Gulf of Mannar Region. *Journal of Experimental Sciences*. 1: 23-26.
- Mohseniazar, M., Barin, M., Zarredar, H., Alizadeh, S. and Shanebandi, D. 2011. Potential of Microalgae and Lactobacilli in Biosynthesis of Silver Nanoparticles. *BioImpacts*. 1: 149-152.
- Narayanan, K.B. and Sakthivel, N. 2011. Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Advances in Colloid and Interface Science*. 169: 59-79.
- Nithya, R. and Ragunathan, R. 2009. Synthesis of silver nanoparticle using *Pleurotus sajor caju* and its antimicrobial study. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 4: 623-629.
- Patakfalvi, R. and Dekany, I. 2010. Preparation of silver nano-particles in liquid crystalline systems. *Colloid Polymer Science*. 280: 461-470.
- Rajesh, S., Patric Raja, D., Rathi, J.M. and Sahayaraj, K. 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ulva fasciata* (Delile) ethyl acetate extract and its activity against *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Journal of Biopesticides*. 5: 119-128.
- Saraniya Devi, J. and Bhimba, B.V. 2012. Anticancer Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by the Seaweed *Ulva lactuca* *Invitro*. 1: 242. doi:10.4172/scientificreports.242.
- Saraniya Devi, J., Bhimba, B.V. and Peter, D.M. 2013. Production of biogenic silver nanoparticles using *Sargassus longifolium* and its applications. *Indian Journal of Geo-Marine Science*. 42: 125-130.
- Satyavani, K., Gurudeeban, S., Ramanathan, T. and Balasubramanian, T. 2011. Biomedical potential of silver nanoparticles synthesized from calli cells of *Citrullus colocynthis* (L.). *Journal of Nanobiotechnology*. 9: 43-50.

Biosynthesis of silver nanoparticles using *Sargassum angustifolium* seaweed**Seraj Bita^{1*}, Mehrzad Mesbah², Ali Shahryari³, Masood Ghorbaanpoor⁴**

1- Ph.D student of Aquatic animal health, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

2- Associate Professor of Aquatic animal health, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

3- Associate Professor of Biochemistry, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

4- Professor of Microbiology, Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

Abstract

Synthesis of metallic nanoparticles using biological methods is more efficient and eco-friendly than chemical methods. In this study, we have investigated extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Sargassum anustifolium* extract. The results recorded from UV-Vis spectrum, transmission electron microscopy (TEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) support the biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using this seaweed. After adding silver nitrate to *Sargassum anustifolium* extract, the brownish yellow color in mixture turned in to dark brown color over time. The maximum peak absorption of synthesized silver nanoparticles was observed at 406 nm indicating the reduction of silver ions and formation of silver nanoparticles. The synthesized silver nanoparticles were predominately spherical shape and 32.54 nm size. According to the FT-IR analysis, the responsible compounds for reduction of silver ions into silver nanoparticles are phytochemical compounds of this seaweed.

Keywords: Biological methods, Biosynthesis, Seaweed, *Sargassum angustifolium*, Silver nanoparticles