

Biosynthesis of Zinc Oxide Nano-rods Using *Xanthomonas campestris*

Zahra Sadat Mahdi

M.Sc. of Biotechnology Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran, z.mahdi0014@gmail.com

Farid Talebnia Rowshan*

Assistant Professor of Biotechnology Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran, f.talebnia@nit.ac.ir

Maryam Nikzad

Assistant Professor of Chemical Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran, m.nikzad@nit.ac.ir

Sara Zamani

M.Sc. of Biotechnology Engineering, Babol Noshirvani University of Technology, Babol, Iran, s.zamani@nit.ac.ir

Abstract

Introduction: one dimensional nanocrystals especially nano-rods have attracted a great deal of attention due to their unique properties and wide applications in industry. Chemical and physical methods which are currently used to produce zinc oxide nano-rods, often leave toxic chemicals on surface of nanoparticles limiting their applications for health and medical purposes. Therefore, biological synthesis of zinc oxide nanoparticles has been considered as an environmentally friendly process and a potential alternative to chemical and physical methods.

Materials and methods: Nano-rods of zinc oxide were produced by *Xanthomonas campestris* using zinc nitrate hexa hydrate as substrate, in a shaker incubator at 37 ° C and pH 7. The powder produced was then calcined at 600 ° C for 2 hours after drying. The synthesized ZnO nanoparticles were characterized using FTIR, XRD, SEM, EDX and UV-vis spectroscopy.

Results: FTIR analysis was used to identify functional groups involved in the biosynthesis of ZnO NPs. The peak observed at 563 cm⁻¹ corresponds to the stretching vibrations of ZnO NPs. XRD analysis revealed that the hexagonal ZnO nanoparticles synthesized were pure and crystalline in nature. The morphology and size of the powder were investigated using SEM analysis and the results showed that ZnO nano-rods have a diameter ranging from 122–200 nm with an average length about 300 nm. EDX analysis was performed for determination of the elemental composition and purity of samples. The recorded EDX spectrum revealed the high purity of the synthesized ZnO nano-rods without detection of any impurities. The absorption peak at 376 nm indicating the presence of zinc oxide nanoparticles was further confirmed by UV-Vis spectroscopy.

Discussion and conclusion: The current research work describes a low-cost, unreported, nontoxic, simple, safe and eco-friendly method for the biosynthesis of zinc oxide nanoparticle using *xanthomonas campestris* as the reducing and capping agent.

Key words: Zinc oxide, Nano-rods, *Xanthomonas campestris*, Biosynthesis, Environmentally friendly

* Corresponding author

Received: January 23, 2016 / **Accepted:** November 5, 2016

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال ششم، شماره ۲۲، تابستان ۱۳۹۶، صفحه ۱۵-۲۵
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵

زیست‌سنتر نانومیله‌های اکسید روی به‌وسیلهٔ باکتری زانتوموناس کمپستریس

زهراسادات مهدی: کارشناس ارشد مهندسی بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، بابل، ایران، z.mahdi0014@gmail.com
فرید طالب نیا روشن*: استادیار مهندسی بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، بابل، ایران، f.talebniya@nit.ac.ir
مریم نیکزاد: استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، بابل، ایران، m.nikzad@nit.ac.ir
سارا زمانی: دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، بابل، ایران، s.zamani@nit.ac.ir

چکیده

مقدمه: نانوبلورهای یک‌بعدی به‌خصوص نانومیله‌های اکسید روی به‌دلیل خواص و کاربردهای زیادی که پیدا کرده‌اند، امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید نانومیله‌های اکسید روی، معمولاً موجب باقی‌ماندن مواد شیمیایی بر روی سطح ذرات می‌شوند و ایجاد سمیت می‌کنند که موجب می‌شود کاربردهای این نانوذره در زمینه‌های بهداشتی و پزشکی محدود گردد؛ در نتیجه سنتر زیستی نانوذرات اکسید روی به‌عنوان یک فرایند دوستدار محیط زیست و جایگزین روش‌های شیمیایی و فیزیکی مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: نانومیله‌های اکسید روی به‌وسیلهٔ باکتری زانتوموناس کمپستریس و سوبسترای نیترات روی ۶آبه، در pH ۷ در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تولید شد. پودر حاصل پس از خشک‌شدن، کلسینه شد. نانوذرات اکسید روی سنتز شده با استفاده از آنالیزهای FTIR، XRD، SEM، EDX و طیف‌سنجی UV-VIS بررسی شدند.

نتایج: آنالیز FTIR برای بررسی گروه‌های عاملی استفاده می‌شود. پیک مشاهده‌شده در 563 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی نانوذرات اکسید روی است. نتایج XRD نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده خالص و با فاز شش‌ضلعی کریستالی هستند. آنالیز SEM که برای بررسی مورفولوژی و سایز نانوذرات است، نشان می‌دهد که نانومیله‌های اکسید روی قطری بین ۲۰۰-۱۲۲ نانومتر با طول متوسط حدود ۳۰۰ نانومتر دارند. آنالیز EDX که برای بررسی عناصر سازنده و خلوص محصول به کار می‌رود؛ نانومیله‌های اکسید روی تولیدی را بدون تشخیص هرگونه ناخالصی نشان داد. حضور نانوذرات اکسید روی در پیک جذب ۳۷۶ نانومتر به‌وسیلهٔ طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش نیز تأیید شد.

بحث و نتیجه‌گیری: در این پژوهش، روشی کم‌هزینه، گزارش‌نشده، غیرسمی، ساده، مطمئن و دوستدار محیط زیست برای سنتز زیستی نانوذرات اکسید روی با استفاده از باکتری زانتوموناس کمپستریس به‌عنوان عامل پوشاننده و کاهنده توصیف شده است.

واژه‌های کلیدی: اکسید روی، نانومیله‌ها، زانتوموناس کمپستریس، سنتر زیستی، دوستدار محیط زیست

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

مقدمه

پیشرفت‌های اخیر در عرصه نانو تکنولوژی، توانایی پژوهشگر را برای ساخت نانوذرات مختلف از جمله نانوذرات فلزی و اکسید فلزی افزایش داده است. با بهره‌گیری از دانش روز می‌توان نانوذرات مهم در علوم پایه‌ای و کاربردی را، در اندازه مورد نظر و شکل مناسب برای استفاده در محصولات صنعتی تولید کرد. در میان نیمه‌رساناهای اکسید فلزی، نانوذرات اکسید روی توجه عمیقی را به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی مثل گاف نواری پهن مستقیم^۱ (۳,۳۷ الکترون ولت) و انرژی پیوند اکسایشی بالا^۲ (۶۰ میلی الکترون ولت) به خود جلب کرده‌اند که سبب شده تا پژوهشگران از خواص این ماده در کاربردهایی نظیر مواد پیزوالکتریک، سلول‌های خورشیدی و حسگرهای فتونیک استفاده کنند (۱ و ۲). در میان نانوساختارهای مختلف اکسید روی، نانوبلورهای یک‌بعدی به خصوص نانومیله‌های اکسید روی محبوبیت زیادی در زمینه علم به دلیل خواص و کاربردهای متنوع کسب کرده‌اند؛ از جمله این خواص و کاربردها این موارد است: فعالیت‌های کاتالیزوری (۳)، سلول‌های خورشیدی (۴)، تصفیه فاضلاب، پردازش لاستیک (۵)، جذب گاز هیدروژن سولفید (۶)، سنسورها، استفاده در مواد آرایشی و بهداشتی به‌ویژه در کرم‌های سوختگی و ضد آفتاب به دلیل جذب کارآمد امواج $uv - A$ و $uv - B$ (۵)، فعالیت فتو کاتالیستی (۷)، استفاده در صنعت نساجی (۸)، کامپوزیت‌ها (۹)، صنایع غذایی (۱۰)، مواد آنتی‌باکتریال و مواد ضد قارچ (۳ و ۱۱)، سیستم‌های دارو به‌ویژه داروی درمان سرطان (۷ و ۱۲) و استفاده در سیمان‌های دندان (۱۳). تاکنون روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی مانند روش سنتز هیدروترمال، روش سل ژل، روش تجزیه

حرارتی، روش شیمیایی مرطوب، روش اسپری پیرولیز، روش میکروامولسیون، روش رسوبگذاری پالس لیزری، روش رسوب شیمیایی فاز بخار (CVD)^۳ و روش میکروامولسیون برای تولید نانوذرات اکسید روی استفاده شده است. این روش‌ها اغلب شامل فرایند نسبتاً مشکل، حرارت بالا، همراه با استفاده از مواد شیمیایی پرهزینه به‌عنوان سورفکتانت، عوامل پوشاننده و تثبیت‌کننده به منظور بهبود شکل و فاز کریستالی هستند (۱۱، ۲، ۱ و ۱۴). این پیش‌ماده‌های سنتز نانوذرات، غالباً بر سطح ذرات باقی می‌مانند و ایجاد سمیت می‌کنند. با توجه به کاربردهای نانوذرات اکسید روی در بسیاری صنایع، به دست آوردن نانوذراتی که سازگاری بیشتری با محیط زیست و انسان داشته باشند، مد نظر قرار گرفت (۱۰، ۵ و ۱۱).

سنتز زیستی یا سنتز سبز نانوذرات یک فرایند دوستدار محیط زیست در زمینه شیمی و تکنولوژی زیستی است که به صورت فرایند ای محبوسیت یافته و می‌تواند به عنوان یک راه حل در رابطه با مشکلات جهانی آلودگی و سمیت در نظر گرفته شود. برای سنتز نانوذرات تاکنون پژوهش‌های زیادی مبنی بر سنتز زیستی با استفاده از عصاره گیاهان (۱۵ و ۱۶)، عصاره میوه (۱۷)، جلبک‌ها (۱۸)، آنزیم (۱۹)، سیانو باکتر (۵)، قارچ‌ها (۱۰، ۲۰ و ۲۱) و باکتری‌ها (۷، ۲۲ و ۲۳) گزارش شده است.

تولید نانوذرات اکسید روی در سال‌های اخیر، در اندازه‌های متفاوت با سویه‌های مختلف قارچ و باکتری مورد توجه قرار گرفته است. در سال ۲۰۱۳ سلوارجان^۴ به‌همراه همکارانش، به‌وسیله باکتری لاکتوباسیلوس پلاننتاروم نانوذرات اکسید روی در اندازه‌های بسیار کوچک ۹-۷ نانومتر تولید کردند (۲۳).

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و میکروارگانیسم: در این پژوهش از

باکتری زانتوموناس کمپستریس ۱۴۷۳ PTCC خریداری شده از بانک میکروبی ایران برای سنتز استفاده شد. از مواد شیمیایی نیترات روی ۶ آبه، گلوکز و سود ساخت شرکت مرک و پیتون، عصاره مخمر و نوتریت برات شرکت کیولب استفاده شد. برای رشد باکتری از محیط کشت ساده^۵ YEDP با ترکیب ۲ درصد گلوکز، ۲ درصد پیتون و ۱ درصد عصاره مخمر استفاده شد. در تمام مراحل برای ساخت محیط کشت و محلول‌ها و شستشو از آب دی‌یونیزه استفاده شد.

سنتز نانوذره اکسید روی: ابتدا ۵۰ میلی لیتر محیط

کشت مایع YEDP ساخته شده و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل می شود، از پلیت‌های کشت جامد خالص، چند کلونی زانتوموناس کمپستریس به محیط کشت مایع YEDP تلقیح شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت محیط کشت در شیکرانکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و چرخش ۱۳۰ دور در دقیقه قرار داده می شود تا باکتری مورد نظر کاملاً رشد کند. pH محیط کشت بعد از رشد به ۵/۵ می رسد؛ سپس محیط کشت بانوترینت برات ۴ مرتبه رقیق سازی می شود و برای رشد بیشتر باکتری، محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت دیگر در شیکرانکوباتور قرار داده می شود. دانسیته نوری محیط کشت باکتری رشد کرده، به وسیله دسنتگاه اسپکتروفتومتر (CHROMTECH UV-VIS ساخت کشور تایوان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، حدود ۰/۳ اندازه گیری شد. بعد از گرمخانه گذاری، pH به وسیله سود ۰/۴ مولار روی ۷ تنظیم می شود. دانستن pH مخلوط واکنش مهم است؛ چرا که نقش مهمی در

سویه های مختلف قارچ آسپرژیلوس نیز در چند سال اخیر برای سنتز نانوذرات اکسید روی در گستره اندازه ۱۴-۱/۲ نانومتر استفاده شده اند (۱۱، ۲۰ و ۲۴). در سال ۲۰۱۳ پژوهشگر ایرانی، آشنگرف^۵ موفق به سنتز خارج سلولی نانوذرات اکسیدروی در اشکال کروی با اندازه‌ای حدود ۳۲ نانومتر توسط سویه قارچی آسپرژیلوس نایجر شد (۲۱).

استفاده از میکروارگانیسم‌ها به عنوان عوامل کاهش دهنده و پوشاننده با توجه به مزایایی همچون سادگی، سهولت رشد، در دسترس بودن، انعطاف پذیری نسبت به شرایط دمایی و pH و تنوع متابولیکی بالا، موجب می شود تا سنتز زیستی روشی قابل اعتماد و کارآمد در این زمینه باشد. هرچند سنتز زیستی نانوذره اکسید روی در دهه اخیر بارها انجام شده، مکانیسم دقیق سنتز هنوز هم بررسی می شود و یافتن گونه میکروبی مناسب که قادر به سنتز کافی نانوذرات در سایزهای مختلف و اشکال متفاوت همراه با بازده بالا باشد، هنوز هم یک چالش محسوب می شود (۷ و ۲۵).

باتوجه به اهمیت روزافزون توسعه روش های جدید و سازگار با محیط زیست در تولید نانو مواد، سنتز زیستی نانومیله های اکسید روی با استفاده از باکتری گرم منفی زانتوموناس کمپستریس^۶ در این پژوهش برای نخستین بار گزارش می شود. باکتری زانتوموناس کمپستریس یک پاتوژن گیاهی است؛ ولی در صنعت به دلیل تولید صمغ زانتان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. صمغ زانتان یک پلی ساکارید مهم است که در صنایع غذایی و بهداشتی کاربرد بسیار دارد (۲۶). تولید نانومیله های اکسید روی به وسیله باکتری زانتوموناس کمپستریس یک روش ساده، کم هزینه، مطمئن و سازگار با محیط زیست است.

در ارلن محیط کشت و نمک موردنظر در این آزمایش بود. ارلن از حمام آب گرم خارج می‌شود و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و چرخش ۱۳۰ دور در دقیقه در شیکرانکوباتور قرار گذاشته می‌شود تا تمام نانوذرات شروع به رسوب کنند. محصول حاصل در چرخش ۳۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس ۳ بار با آب دی‌یونیزه شستشو داده می‌شود. بعد از آن رسوبات حاصل در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در آون خشک می‌گردد. پودر حاصل در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت به منظور حذف بقایای باکتری و مواد آلی کلسینه می‌شود (۵ و ۲۳).

پروسه سنتز و کنترل شکل و اندازه نانوذرات ایفا می‌کند (۵ و ۲۳). ۱۰ میلی لیتر محلول نیترات روی ۰/۱ مولار تهیه و استریل می‌شود؛ سپس به ۵۰ میلی لیتر محیط کشت باکتری اضافه می‌گردد. محلول حاصل در حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰-۵ دقیقه حرارت داده می‌شود، در طی حرارت‌دادن رسوب سفیدرنگی در انتهای ارلن ظاهر می‌شود و این نشان‌دهنده آغاز تولید نانوذرات اکسید روی است (شکل ۱). محیط کشت باکتری بدون محلول نمکی به عنوان کنترل مثبت و محلول نمکی نیترات روی بدون محیط کشت باکتری به عنوان کنترل منفی در شرایط یکسان آزمایش و حرارت‌دهی شد که فاقد رسوب سفیدرنگ مشاهده شده



شکل ۱- رسوب تشکیل شده حین حرارت‌دادن محیط کشت باکتری همراه با محلول نمکی

سنجش شد. به منظور آماده‌سازی نمونه برای این آنالیز پودر حاصل با پتاسیم پروماید به نسبت ۱ به ۱۰۰ مخلوط می‌شود و سپس پودر نرم‌شده جهت قرارگیری در دستگاه به صورت قرص در آورده شده و در مسیر پرتو برای سنجش قرار می‌گیرد.

آنالیز طیف سنج پراش اشعه ایکس^۹ XRD (دستگاه Bruker مدل AdvanceD8 ساخت کشور آلمان) با لامپی از جنس آند مس با طول موج $K\alpha$ حدود $1/5406$

مشخصه‌یابی نانوذرات اکسید روی تشکیل شده: برای

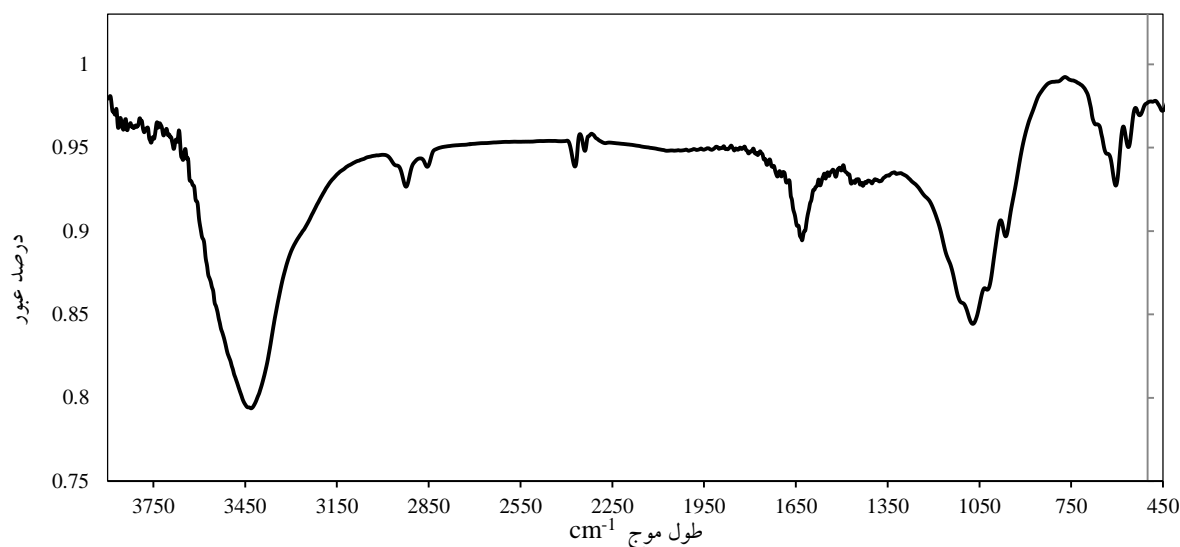
شناسایی نانوذرات اکسید روی ساخته شده، از آنالیزهای متفاوتی استفاده می‌شود تا سنتز این نانوذره را تأیید کند. پودر حاصل به وسیله آنالیز اسپکتروسکوپی مادون قرمز با تبدیل فوریه^۸ FTIR (دستگاه Bruker مدل ۲۷ Tensor ساخت کشور آلمان) به منظور شناخت پیوندها، گروه‌های عاملی درگیر، در محدوده طیف بین $4000 - 400$ cm^{-1} با میانگین ۱۶ اسکن و رزولوشن 4 cm^{-1}

آنالیز FTIR برای دستیابی به جزئیات گروه های عاملی درگیر سنتز زیستی نانوذرات اکسید روی است شکل ۲ آنالیز FTIR نمونه رسوب تولید شده توسط باکتری زانتوموناس کمپستریس را نشان می دهد که پیک های برجسته ای در ۳۴۳۱، ۲۹۲۴، ۲۳۷۲، ۲۳۴۰، ۱۶۳۰، ۱۰۷۲ و ۵۶۳ cm^{-1} دارد. پهنای قوی مشاهده شده در ۳۴۳۱ و ۱۰۷۲ cm^{-1} مربوط به حالت کشش متقارن مولکول های آب و ارتعاشات گروه عاملی O-H است (۵ و ۱۰). وجود این پیک ها نشان دهنده جذب رطوبت از محیط اطراف بر روی نانوذرات است. پیک ۲۹۲۴ cm^{-1} مربوط به لرزش های کششی گروه عاملی C-H (۱۰) و پیک های ۲۳۴۰-۲۳۷۲ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات گروه های کربونیل است. پهنای ۱۶۳۰ cm^{-1} لرزش های گروه های عاملی N-H و C=C را نشان می دهد که می تواند مربوط به گروه های آمید ۱ و وینیل باشند (۳ و ۱۰). پیک برجسته ۱۰۷۲ cm^{-1} هم مربوط به لرزش های گروه عاملی O-H است (۵). وجود پیک های ذکر شده ممکن است به دلیل وجود اجزای باقیمانده از مواد آلی و پروتئین ها در ساختار کریستالی نانوذره و یا بخشی از آن در اثر جذب موادی همچون آب و دی اکسید کربن از محیط بر روی سطح نانوذره باشد. در مراجع مختلف، لرزش های Zn-O (اکسید فلزی) در بازه ۶۰۰-۴۰۰ cm^{-1} گزارش شده است (۵ و ۷)؛ بنابراین پیک مشاهده شده در ۵۶۳ cm^{-1} متناظر با لرزش کششی نانوذرات اکسید روی است (۱۱). نتایج حاصل از طیف سنجی FTIR احتمال حضور گروه های عاملی مربوط به پروتئین ها را تأیید می کنند. بر اساس نتایج پژوهش های قبل، نقش این پروتئین ها این است که نانوذرات اکسید روی را تثبیت کنند و باعث جلوگیری از بهم چسبیدن و آگلومر شدن آنها شوند (۱۰).

آنکستروم در ۳۵ کیلوولت و ۳۵ میلی آمپر در رنج زاویه براگ، $2\theta > 10^\circ$ به منظور تعیین فازها، تشخیص ساختار کریستالی ماده انجام شد. پودر تولید شده با آنالیزهای میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM، طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس EDX^{۱۱} (دستگاه Zeiss sigma vp ساخت کشور آلمان) سنجش شد. آنالیز SEM به منظور بررسی شکل، ساختار و سایز نانوذرات و آنالیز EDX برای تعیین عناصر تشکیل دهنده و خلوص نمونه است. خواص نوری نانوذرات اکسید روی تولیدی به وسیله طیف سنجی UV-VIS^{۱۲} (UVD-3200 LABOMED ساخت کشور آمریکا) بررسی شد. به این منظور ابتدا پودر تولیدی در آب دیونیزه به وسیله دستگاه اولتراسونیک به طور یکنواخت پراکنده شد؛ سپس پودر سنتز شده بر حسب میزان طیف جذب در طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر شناسایی شد.

نتایج

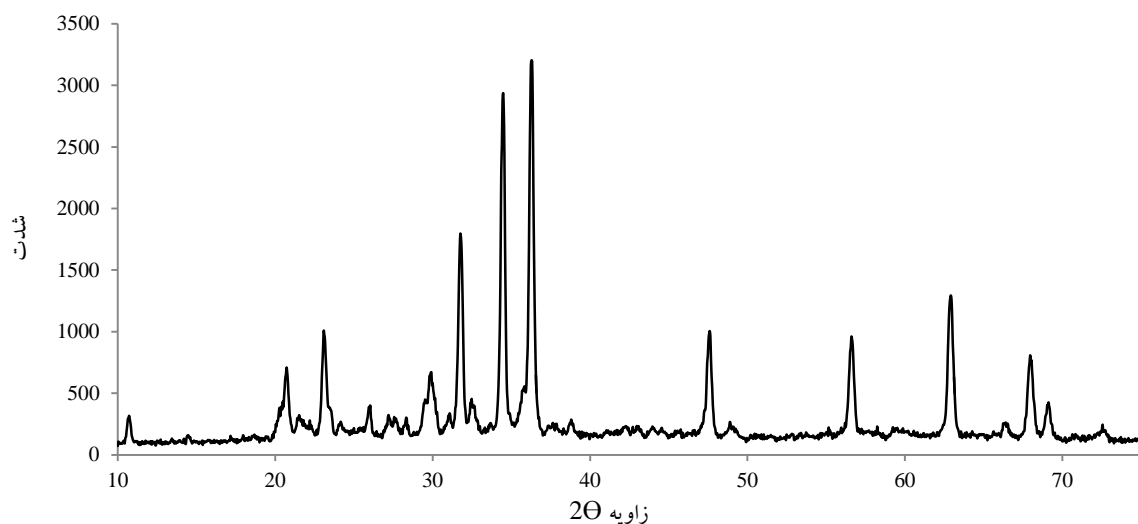
زیست سنتز نانوذرات اکسید روی مطابق روش ذکر شده در قسمت مواد و روش ها همراه با آزمایشات کنترل انجام شد. آزمایشات کنترل با استفاده از محلول نمکی بدون حضور میکروگانسیم و نیز محیط میکروبی بدون حضور محلول نمکی در شرایط یکسان انجام گرفت ولی منجر به تولید رسوب نشد؛ اما در آزمایش اصلی همان گونه که در شکل ۱ مشاهده می شود رسوب سفید رنگ در انتهای ارلن بیان کننده تشکیل نانوذرات اکسید روی است. برای تأیید این موضوع آنالیزهای FTIR، XRD، SEM و EDX انجام گرفت که نتایج آن به شرح زیر است:



شکل ۲- نمودار FTIR نانومیله‌های اکسید روی سنتز شده توسط زانتوموناس کمپستریس

JCPDS مطابقت دارد. همه خطوط پراش گویای سنتز خالص نانوذره اکسید روی با ساختار هگزاگونال (ورتزیت) ^{۱۳} است. هیچ پیکی ناخالصی و یا وجود فاز دیگری غیر از اکسید روی را بیان نمی‌کند. در واقع به وسیله آنالیز XRD خالص بودن و تبلور نانوذرات اکسید روی نشان داده شده است (۲۷ و ۲۸).

شکل ۳ الگوی XRD پودر سنتز شده نانومیله‌های اکسید روی را نمایش می‌دهد. نانوذرات کریستالی اکسید روی در سطوح (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳)، (۲۰۰)، (۱۱۲)، (۲۰۱)، (۰۰۴) و (۲۰۲) پیک‌هایی را نشان می‌دهند که با داده‌های کریستالوگرافی استاندارد الگوی مرجع ۱۴۵۱-۳۶



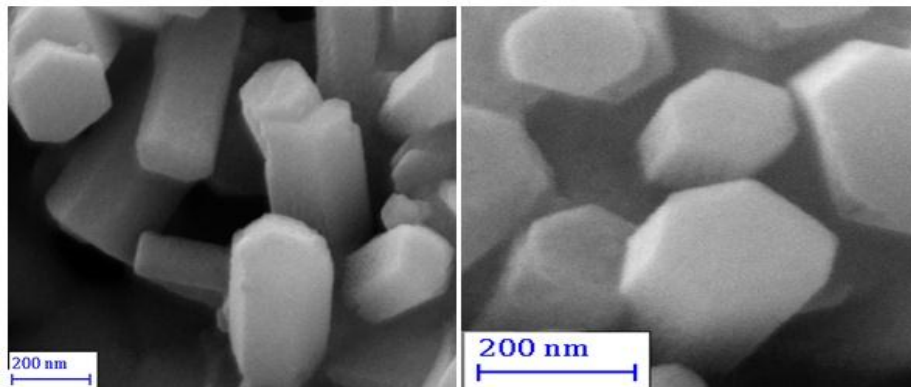
شکل ۳- نمودار XRD نانومیله‌های اکسید روی سنتز شده توسط زانتوموناس کمپستریس

پوشش دهی پودر اکسید روی بر روی نوارچسب‌های طلا به منظور انجام آنالیز است. مقدار روی موجود در پودر سنتز شده ۷۶/۵ درصد و اکسیژن ۲۳/۵ درصد است و تأیید می‌کند که نانوذرات تولید شده خالص است و اثری از ناخالصی عناصر دیگر در آن وجود ندارد (۱۰) و (۲۴).

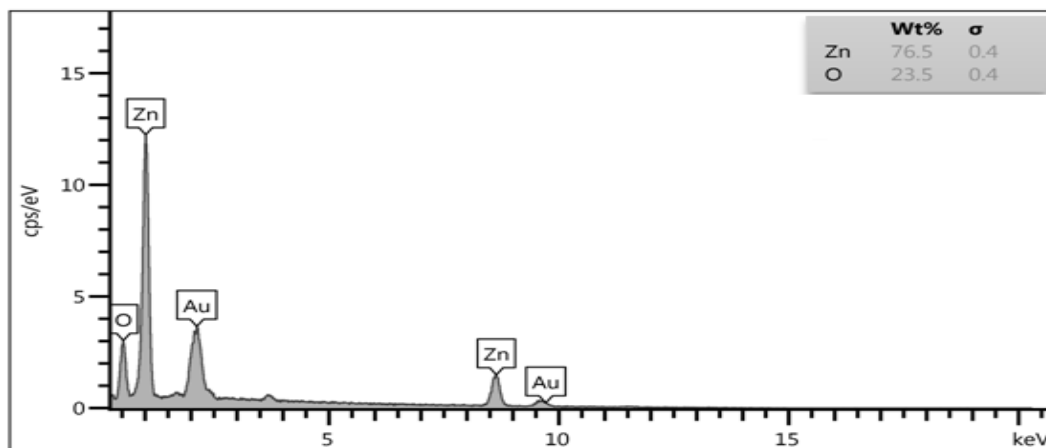
طیف‌سنجی مرئی-فرا بنفش (UV-VIS) پودر سنتز شده در شکل ۶ نشان داده شده است؛ همان طور که در شکل قابل توجه است، پیک جذب برجسته و مشخصی در ۳۷۶ نانومتر مشاهده می‌شود که در راستای نتایج دیگر (۳) بیان کننده حضور نانوذرات اکسید روی است.

آنالیز SEM به منظور بررسی مورفولوژی و سایز نانوذرات است. شکل ۴ تصاویر SEM نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط زانتوموناس کمپستریس را نشان می‌دهد که همان طور که در تصویر مشخص است، مورفولوژی نانوذرات تولید شده به صورت کریستال‌های میله‌ای شکل به طول تقریبی ۳۰۰ نانومتر است. قطر سطح مقطع شش گوشه این نانوذرات بین ۱۲۲-۲۰۰ نانومتر با میانگین تقریبی ۱۶۳ نانومتر است (۲۸).

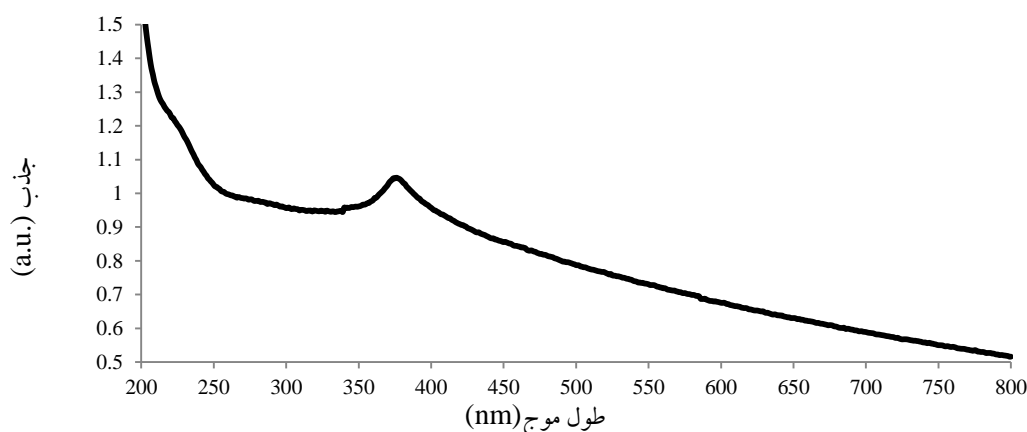
شکل ۵ آنالیز EDX را نشان می‌دهد که مربوط به بررسی عناصر تشکیل دهنده و خلوص محصول است. پیک‌های نشان داده شده مربوط به عناصر روی، اکسیژن و طلا است که طلای به کار برده شده مربوط به آماده‌سازی نمونه برای آنالیز EDX و SEM و



شکل ۴- تصاویر SEM نانومیله‌های اکسید روی به وسیله ی زانتوموناس کمپستریس



شکل ۵- نمودار EDX نانومیله‌های اکسید روی توسط زانتوموناس کمپستریس



شکل ۶- طیف‌سنجی مرئی- فرابنفش نانومیله‌های اکسید روی توسط زانتوموناس کمپستریس

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، در میان تولید نانوذرات اکسید روی به وسیله میکروارگانیسم‌ها، بیشتر گزارش‌ها مبنی بر تولید نانوذرات اکسید روی هستند؛ از این رو تولید اکسید روی به شکل نانومیله‌ها به دلیل کاربرد آن در صنایع الکترونیک می‌تواند اهمیت زیادی داشته باشد. با توجه به نتایج آنالیزهای گفته شده، سنتز نانومیله‌های اکسید روی با فاز هگزاگونال و رتزیت به وسیله باکتری *زانتوموناس کمپستریس* برای اولین بار گزارش شد. پیش‌تر باکتری *زانتوموناس کمپستریس* به دلیل تولید صمغ زانتان بسیار در صنعت مورد توجه قرار گرفته است. این نکته گفتنی است که صمغ زانتان تولیدی به عنوان عامل تثبیت کننده و کاهنده برای تولید نانوذرات پالادیم و طلا و حتی به عنوان عامل تثبیت کننده و پلیمریزاسیون برای ساخت کامپوزیت اکسید روی استفاده شده است و عوامل مؤثر در فرایند مانند دما، زمان واکنش، غلظت زانتان، pH و... ارزیابی شده اند (۲۹، ۳۰ و ۳۱). در واقع در این پژوهش، یک روش سنتز ارزان، غیرسمی، دوستدار محیط زیست و در دسترس برای تولید نانومیله‌های اکسید روی با سایز

میانگین قطر ۱۶۳ نانومتر و طول تقریبی ۳۰۰ نانومتر به وسیله باکتری گرم منفی *زانتوموناس کمپستریس* گزارش شده است.

روشن است که باکتری *زانتوموناس کمپستریس* نقش کلیدی در شکل‌گیری نانومیله‌های اکسید روی دارد و این به این دلیل است که سطح باکتری‌ها پتانسیل الکتریکی منفی دارند که به آسانی می‌توانند کاتیون‌ها را جذب کنند و باعث سنتز نانوذرات شوند. تغییر رنگ محیط کشت بعد از ۲۴ ساعت در واقع بیان‌کننده کاهش یون‌های نیترات روی به دلیل پروتئین‌های حاضر در محیط مایع است که شکل‌گیری دانه‌های سفیدرنگ نانوذرات اکسید روی را نتیجه می‌دهد. آنالیز FTIR گروه‌های عاملی را نشان می‌دهد که در فرایند سنتز نانوذرات اکسید روی نقش احتمالی دارند. همه این گروه‌های عاملی در ساختار پروتئین‌های غشایی موجود هستند. چنین فرض می‌شود که مولکول‌های پروتئین موجود در محیط آبی حالت پوشاننده و تثبیت کننده در سنتز نانوذرات اکسید روی دارد و از آگلومره شدن و تجمع نانوذرات جلوگیری می‌کند (۱۰). البته گفتنی است که گرچه سنتز زیستی نانومواد از جمله اکسید روی

- Biomolecular Spectroscopy* 2012; 90: 78-84.
- (4) Lima FA., Vasconcelos I., Lira-Cantu M. Electrochemically synthesized mesoporous thin films of ZnO for highly efficient dye sensitized solar cells. *Ceramics International* 2015; 41(8): 9314-9320.
- (5) Singh G., Babele PK., Kumar A., Srivastava A., Sinha RP., Tyagi MB. Synthesis of ZnO nanoparticles using the cell extract of the cyanobacterium, *Anabaena* strain L31 and its conjugation with UV-B absorbing compound shinorine. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2014; 138: 55-62.
- (6) Prasad K, Jha AK. ZnO nanoparticles: synthesis and adsorption study. *Natural Science* 2009; 1(2): 129-135.
- (7) Kunda D, Hazra C, Chatterjee A, Chaudhari A, Mishra S. Extracellular biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Rhodococcus pyridinivorans* NT2: Multifunctional textile finishing, biosafety evaluation and in vitro drug delivery in colon carcinoma. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2014; 140: 194-204.
- (8) Lim ZH, Chia ZX, Kevin M, Wong AS, Ho GW. A facile approach towards ZnO nanorods conductive textile for room temperature multifunctional sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2010; 151(1): 121-126.
- (9) Kim D., Jeon K., Lee Y., Seo J., Seo K., Han H., et al. Preparation and characterization of UV-cured polyurethane acrylate/ZnO nanocomposite films based on surface modified ZnO. *Progress in organic coatings* 2012; 74(3): 435-442.

روشی نوین است و مزایای بسیاری دارد، بسیاری از جنبه های آن هنوز به دقت شناسایی و بررسی است. با توجه به پژوهش های پیشین می توان گفت که پارامترها و عوامل زیادی شامل ترکیب محیط کشت، قدرت یونی، pH محیط کشت، سوبسترای استفاده شده، زمان و دمای حرارت دادن محلول در حمام آب گرم، پتانسیل کلی اکسایش و کاهش می توانند در زیست سنتز نانوذرات مؤثر باشند (۶، ۱۱ و ۲۳). میزان pH همراه با عواملی نظیر دما و محیط کشت سلولی ممکن است بر سرعت تولید نانوذره، اندازه ذرات متشکله و مورفولوژی آن مؤثر باشند و تا اندازه ای به عنوان عوامل کنترل کننده در نظر گرفته شوند. البته نوع و میزان تأثیر بسته به نوع میکروارگانیسم و اینکه نانوذره به صورت داخل یا خارج سلولی تولید شود، می تواند متفاوت باشد (۳۲). با توجه به اینکه بسیاری از جنبه های این تأثیرات هنوز به طور کامل شناسایی نشده اند، به بررسی دقیق تر و پژوهش های بیشتری در این زمینه نیاز است.

References

- (1) Zhao X., Li M., Lou X. Sol-gel assisted hydrothermal synthesis of ZnO microstructures: Morphology control and photocatalytic activity. *Advanced Powder Technology* 2014; 25(1): 372-378.
- (2) Panwar RS. Preparation of modified ZnO nanoparticles by sol-gel process and their characterization [Dissertation]. Patiala: Thapar University; 2009.
- (3) Jayaseelan C., Rahuman AA., Kirthi AV., Marimuthu S., Santhoshkumar T., Bagavan A., et al. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and*

- (10) Sarkar J., Ghosh M., Mukherjee A., Chattopadhyay D., Acharya K. Biosynthesis and safety evaluation of ZnO nanoparticles. *Bioprocess and biosystems engineering* 2014; 37(2): 165-171.
- (11) Baskar G., Chandhuru J., Fahad KS., Praveen AS. Mycological Synthesis, Characterization and Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Asian Journal of Pharmacy and Technology* 2013; 3(4): 142-146.
- (12) Bakrudeen HB., Sugunalakshmi M., Reddy BS. Auto-fluorescent mesoporous ZnO nanospheres for drug delivery carrier application. *Materials Science and Engineering* 2015; 1(56): 335-340.
- (13) Hojati ST., Alaghemand H., Hamze F., Babaki FA., Rajab-Nia R., Rezvani MB., et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dental Materials* 2013; 29(5): 495-505.
- (14) Poornajar M., Marashi P., Fatmehsari DH., Esfahani MK. Synthesis of ZnO nanorods via chemical bath deposition method: The effects of physicochemical factors. *Ceramics International* 2016; 42(1): 173-184.
- (15) Sangeetha G., Rajeshwari S., Venckatesh R. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *aloe barbadensis* miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin* 2011; 46(12): 2560-2566.
- (16) Azizi S., Ahmad MB., Namvar F., Mohamad R. Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum* aqueous extract. *Materials Letters* 2014; 116: 275-277.
- (17) Samat NA., Nor RM. Sol-gel synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Citrus aurantifolia* extracts. *Ceramics International* 2013; 39: S545-S548.
- (18) Suganya KU., Govindaraju K., Kumar VG., Dhas TS., Karthick V., Singaravelu G., et al. Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. *Materials Science and Engineering: C* 2015; 47: 351-356.
- (19) Ahmad R., Mohsin M., Ahmad T., Sardar M. Alpha amylase assisted synthesis of TiO₂ nanoparticles: structural characterization and application as antibacterial agents. *Journal of hazardous materials* 2015; 283: 171-177.
- (20) Jain N., Bhargava A., Tarafdar JC., Singh SK., Panwar J. A biomimetic approach towards synthesis of zinc oxide nanoparticles. *Applied microbiology and biotechnology* 2013; 97(2): 859-869.
- (21) Ashengroph M. Isolation and characterization of a native strain of *Aspergillus niger* ZRS14 with capability of high resistance to zinc and its supernatant application towards extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticles. *Biological Journal of Microorganism* 2013; 2(7): 29-44.
- (22) Ashengroph M. Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles by *Ralstonia* sp. SM8 Isolated from the Sarcheshmeh Copper Mine. *Biological Journal of Microorganism* 2014; 3(9): 53-64.
- (23) Selvarajan E., Mohanasrinivasan V. Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* VITES07. *Materials Letters* 2013; 112: 180-182.
- (24) Raliya R., Tarafdar JC. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research* 2013; 2(1): 48-57.
- (25) Ashengroph M. Fast and extracellular synthesis of zinc oxide nanocrystals using

the novel isolated yeast strain *Candida* sp. MY2. *journal of cell and molecular research* 2014; 27(2): 155-166.

- (26) Niknezhad V., Asadollahi M., Biria D., Zamani A. Optimization of microbial production of xanthan gum by the bacterium *Xanthomonas campestris* using the hydrolyzed starch. *Biological Journal of Microorganism* 2013; 2(5): 1-10.
- (27) Huang N., Shu J., Wang Z., Chen M., Ren C., Zhang W. One-step pyrolytic synthesis of ZnO nanorods with enhanced photocatalytic activity and high photostability under visible light and UV light irradiation. *Journal of Alloys and Compounds* 2015; 648: 919- 929.
- (28) Ocakoglu K., Mansour SA., Yildirimcan S., Al-Ghamdi AA., El-Tantawy F., Yakuphanoglu F. Microwave-assisted hydrothermal synthesis and characterization of ZnO nanorods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015; 148: 362- 368
- (29) Amrutham S k., Maragoni V., Dasari A., Guttena V. Green synthesis, characterization and catalytic activity of palladium nanoparticles by xanthan gum. *Applied Nanoscience* 2015; 5: 315- 320.
- (30) Deep P, Sravani P, Hitesh K, Shyam S R, Ramakrishna S. Xanthan gum stabilized gold nanoparticles: Characterization, biocompatibility, stability and cytotoxicity *Carbohydrate Polymers* 2014; 110:1-9.
- (31) Ting-Ting L., Mao-Hua W., Han-Ping Zh., Zhong-Yin Z. Sol-gel synthesis of doped nanocrystalline ZnO powders using xanthan gum and varistor properties study. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 2015; 26: 9056-9062.
- (32) Xiangqian L, Huizhong X, Zhe-Sheng C, and Guofang C. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials* 2011; 8: 16 pages: DOI=<http://dx.doi.org/10.1155/2011/270974>

-
- ¹- Wide Direct Band Gap
²- High Exciton Binding Energy
³-Chemical Vapor Deposition
⁴- Selvarjan
⁵- Ashengroph
⁶- *XanthomonasCampestris*
⁷- Yeast Extract Peptone Dextrose
⁸-Fourier Transform Infrared Spectroscopy
⁹- X-Ray Diffraction
¹⁰-Scanning Electron Microscopy
¹¹Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy
¹²-Ultraviolet Visible Spectroscopy
¹³- wurtzite