دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده مهندسی شیمی

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم سپیده حامدی رساله ۲۲ واحدی خود را با عنوان توسعه راهکارهایی برای بهبود خواص نانو ذرات نقره تولید شده توسط قارچ های رشته ای در تاریخ ۱۳۹۲/۶/۲۷ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده، پذیرش آنرا برای اخذ درجه دکتری بیوتکنولوژی پیشنهاد می کنند.

عضو هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
استاد راهنما	دکتر سید عباس شجاع السادات	استاد	
استاد راهنمای دوم	دکتر سهیلا شکراله زاده	استادیار	
استاد مشاور	دکتر پوریا گیل	استادیار	
استاد مشاور	دکتر سمیره هاشمی نجف آبادی	استادیار	
استاد ناظر	دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی	استاد	
استاد ناظر	دکتر محمد موسوی	استادیار	
استاد ناظر	دکتر کاووس فلامکی	دانشیار	
استاد ناظر	دکتر احمد رضا شاهوردی	استاد	
مدیر گروه (یا نماینده گروه تخصصی)	دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی	استاد	

آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه‌ی شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدیدآورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه / رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تأیید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله‌ی مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده‌ی اساتید راهنما و دانشجو باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه / رساله منتشر می‌شود نیز نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم‌افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه‌ی واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از حوزه‌ی پژوهشی دانشگاه و براساس آیین‌نامه-های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه / رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه‌ی دانشگاه به تأیید رسید و در جلسه‌ی مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم-الاجراء است.

«اینجانب **سپیده حامدی** دانشجوی رشته‌ی **بیوتکنولوژی** ورودی سال تحصیلی **۸۹-۸۸** مقطع **دکتری** دانشکده‌ی **مهندسی شیمی** متعهد می‌شوم کلیه‌ی نکات مندرج در آیین‌نامه‌ی حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت‌مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان‌نامه / رساله‌ی تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین‌نامه‌ی فوق‌الاشاره به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن بنام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم».

امضاء

تاریخ ۱۳۹۲/۶/۲۷

آیین‌نامه‌ی چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت‌مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی - پژوهشی دانشگاه است، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش-آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱- در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲- در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل **رساله‌ی دکتری** نگارنده در رشته‌ی **بیوتکنولوژی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده‌ی **مهندسی شیمی** دانشگاه **تربیت مدرس** به راهنمایی **جناب آقای دکتر سید عباس شجاع الساداتی و سرکار خانم دکتر سهیلا شکرالله زاده**، مشاوره‌ی **سرکار خانم دکتر سمیره هاشمی نجف آبادی** و مشاوره‌ی **جناب آقای دکتر پوریا گیل** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳- به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴- در صورت عدم رعایت ماده‌ی ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵- دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده‌ی ۴ را از محل توقیف کتاب‌های عرضه شده‌ی نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶- اینجانب **سپیده حامدی** دانشجوی رشته‌ی **بیوتکنولوژی** مقطع **دکتری** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

امضاء

تاریخ ۱۳۹۲/۶/۲۷

دانشکده مهندسی شیمی

گروه بیوتکنولوژی

عنوان رساله

راهکارهای بهبود خواص نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از قارچ‌های رشته‌ای

سپیده حامدی

استادان راهنما

دکتر سید عباس شجاع الساداتی

دکتر سهیلا شکرالله زاده

استادان مشاور

دکتر سمیره هاشمی نجف آبادی

دکتر پوریا گیل

شهریور ۹۲

تقدیم به

همه آموزگاران دوران زیستن ام؛

آنان که ماندگار شدند تا وطن جاودانه بماند

آنان که افعال ایثار، اخلاق و علم را به زیبائی صرف کردند

مادرم؛

مقدس ترین واژه در لغت نامه دلم که دیروز با او، امروز به یاد او و فردائی نه چندان دور در

کنار او خواهم بود

پدرم؛

اسطوره تکرار ناشدنی و فرشته بی بدیل زندگی ام

و استاد بهترینم جناب آقای دکتر شجاع الساداتی؛

که واژگان را برای توصیف ارادتم به ایشان ناتوان می دانم

هر قلم آنگاه که می نگارد و سطرها را در می نوردد نه بر یک دست، بلکه بر دست های زیادی تکیه زده است

سپاس بی کران از:

معبود بی همتائی که علم را خالق است و تکریم حیات را در نهاد انسان به ودیعت گذاشته است.

استاد شایسته و با کمالات جناب آقای دکتر شجاع الساداتی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و همواره با رهنمودهای ارزنده و دانش فراوان خویش راهگشای امور بودند.

استاد فرزانه و دلسوز سرکار خانم دکتر شکرالله زاده که در طول تحصیلم همواره از راهنمایی ها و تجربیات ایشان بهره مند بوده ام.

سرکار خانم دکتر هاشمی نجف آبادی که دوست و پشتیبان متین دوران تحصیلم بودند و همواره با گشاده روئی پاسخگوی نیازهایم بودند.

جناب آقای دکتر واشقانی فراهانی به پاس دلسوزی ها و حسن خلق همیشگی

اساتید بزرگوار و مهربان جناب آقای دکتر موسوی، جناب آقای دکتر شاهوردی و جناب آقای دکتر فلامکی که زحمت مطالعه، نظارت و تصحیح رساله را تقبل فرمودند.

خواهران و یگانه برادرم به خاطر نامشان که تا بر زبان جاری ساختم در کنارم بودند.

دوستان عزیزم به ویژه خانم ها رشیدی و قاسمی نژاد که در دوران تحصیلم پشتیبان متین لحظه های پر تشویشم بوده اند.

چکیده

به دلیل نیاز فزاینده به توسعه روش‌های مقرون به صرفه و زیست‌سازگار برای تولید نانوذرات فلزی از قبیل نانوذرات نقره، استفاده از سامانه‌های زیستی به عنوان جایگزین روش‌های شیمیایی و فیزیکی مورد توجه واقع شده است. وابستگی خواص ضد میکربی نانوذرات نقره به شکل و اندازه تأکیدی بر ضرورت توسعه راهکارهایی برای کنترل اندازه، شکل و توزیع ذرات است. در این پژوهش، راهکارهایی برای بهبود خصوصیات نانوذرات نقره با استفاده از قارچ‌های *فوزاریوم اکسیسپوروم* و *نئوروسپورا اینترمدیا* مورد بررسی قرار گرفت. بررسی تولید نانوذرات با استفاده از روماند محیط کشت تخمیر در مراحل مختلف رشد قارچ‌ها نشان داد که بازدهی تولید نانوذرات در فاز سکون به مراتب بیشتر از میانه و انتهای فاز لگاریتمی است. اختلاط روماند محیط کشت قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با دو نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ و برابر در شرایط محیطی، نشان‌دهنده تولید نانوذرات در نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ و عدم تولید نانوذرات در نسبت حجمی برابر بود. تولید نانوذرات در مخلوط‌های با نسبت حجمی برابر روماند و نیترات نقره در دمای بالاتر از ۴۰ °C، pH ≥ ۹ و حضور نور فرابنفش مشاهده شد. بررسی نمودارهای طیف‌سنجی UV-vis نشان داد که افزایش دما و pH در مخلوط‌های روماند و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر به کاهش اندازه نانوذرات منجر می‌شود. این مشاهده به افزایش قابلیت پروتئین‌ها در فرایند احیاء در مخلوط‌های واکنش با pHهای قلیایی نسبت داده شد. میانگین اندازه نانوذرات تولیدشده در دماهای ۴۰، ۵۰ و ۱۲۱ درجه سلسیوس به ترتیب ۳۵، ۲۲ و ۱۴ نانومتر بود. اشعه فرابنفش در این مخلوط‌ها با مشارکت آمینواسیدهای تیروزین و تریپتوفان در فرایند احیاء، به تولید سریع نانوذراتی با میانگین اندازه ۱۰ نانومتر منجر شد. بررسی طیف‌های جذب نانوذرات تولیدشده با صافیده حاصل از رشد قارچ در دماهای ۲۳، ۲۸ و ۳۳ °C نشان‌دهنده تولید بیشتر نانوذرات کوچک‌تر با توزیع اندازه باریک‌تر در دمای بهینه رشد (۲۸ °C) بود. طیف‌سنجی UV-vis نانوذرات تولیدی با صافیده قارچ رشد یافته در نور و تاریکی، بر تأثیر قابل‌توجه نور در افزایش ترشح آنزیم نیترات ردوکتاز و به تبع آن افزایش تولید نانوذرات و کاهش اندازه ذرات دلالت داشت. استفاده از صافیده‌های حاصل از: ۱) رشد قارچ در محیط کشت اصلاح‌شده حاوی پتاسیم نیترات و ۲) تعلیق توده زیستی در محلول پتاسیم نیترات، به تولید نانوذراتی با اندازه کوچک‌تر و توزیع اندازه باریک‌تر انجامید. بهبود ویژگی‌های نانوذرات به دلیل افزایش ترشح آنزیم نیترات ردوکتاز با این دو راهکار بود. روماند و صافیده قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* به ترتیب قابلیت تولید نانوذراتی با کوچک‌ترین اندازه (۱۹ nm) و باریک‌ترین توزیع اندازه (۰/۱۵) را دارند. نتایج آزمایش الکتروفورز نشان‌دهنده نقش پروتئین‌هایی با وزن‌های مولکولی تقریبی ۱۵ kD و ۲۳ kD به ترتیب در احیاء و پایداری نانوذرات است. تولید نانوذرات با صافیده توده زیستی غیرفعال و صافیده مجاور با دمای ۱۰۰ °C بر وجود مسیرهای جایگزین غیر آنزیمی در فرایند تولید نیز تأکید دارد. خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات تولید شده با صافیده *نئوروسپورا اینترمدیا* بیشتر از نانوذرات تولیدی با روماند بود. آنالیز FTIR حضور گروه‌های عاملی پروتئینی را در پایدارسازی نانوذرات نشان داد. همچنین، آنالیز XRD نشان داد که نانوذرات تولید شده طبیعت بلورین دارند.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، نیترات ردوکتاز، *فوزاریوم اکسیسپوروم*، *نئوروسپورا اینترمدیا*

فهرست مطالب

عنوان **شماره صفحه**

فصل۱ مقدمه ۲

۱-۱ نانوفناوری ۲

۱-۲ نانوذرات ۵

۱-۳ روش‌های تولید نانوذرات ۷

۱-۳-۱ روش‌های فیزیکی ۸

۱-۳-۲ روش‌های شیمیایی ۸

۱-۳-۳ روش‌های سبز در تولید نانوذرات ۱۰

فصل۲ مروری بر پژوهش‌های پیشین ۱۴

۲-۱ نانوذرات نقره ۱۴

۲-۱-۱ کاربرد نانوذرات نقره در حوزه پزشکی ۱۴

۲-۱-۱-۱ سازوکار عملکرد ضد میکربی نانوذرات نقره ۱۵

۲-۲ روش‌های زیستی برای تولید نانوذرات نقره ۱۶

۲-۲-۱ باکتری‌ها ۱۸

۲-۲-۱-۱ تولید درون سلولی نانوذرات ۱۸

۲-۲-۱-۲ تولید برون سلولی نانوذرات ۱۹

۲-۲-۲ قارچ‌ها ۲۲

۲-۲-۲-۱ تولید درون سلولی نانوذرات نقره ۲۲

۲-۲-۲-۲تولید برون سلولی نانوذرات نقره ۲۴
۲-۲-۳ مخمر ۲۷
۲-۲-۴ اکتینومایست‌ها ۲۸
۲-۲-۵ گیاهان ۲۸
۲-۳ سازوکار تولید نانوذرات با استفاده از منابع زیستی ۲۹
۲-۳-۱ تولید درون سلولی نانوذرات ۳۰
۲-۳-۲ تولید برون سلولی نانوذرات ۳۱
۲-۳-۲-۱ نتیجه‌گیری درباره تولید برون سلولی نانوذرات نقره ۳۸
فصل۳ مواد و روش‌ها ۴۱
۳-۱ مواد شیمیایی و زیست شیمیایی ۴۱
۳-۲ ریزسازواره‌ها ۴۳
۳-۲-۱ سویه‌های قارچی ۴۳
۳-۲-۲ سویه‌های باکتریایی ۴۳
۳-۳ تجهیزات ۴۳
۳-۴ روش‌ها ۴۳
۳-۴-۱ آماده‌سازی محیط‌های کشت جامد ۴۳
۳-۴-۱-۱ قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* ۴۴
۳-۴-۱-۲ قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۴۵
۳-۴-۱-۳ باکتری *اشریشیاکلی* ۴۵

۳-۴-۲ تهیه مایه تلقیح ۴۶
۳-۴-۲-۱ سویه‌های قارچی ۴۶
۳-۴-۲-۲ سویه باکتریایی ۴۷
۳-۴-۳ محیط کشت مایع برای رشد ریزسازواره‌ها ۴۷
۳-۴-۳-۱ روش تهیه محیط کشت قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* ۴۷
۳-۴-۳-۲ روش تهیه محیط کشت *نئوروسپورا اینترمدیا* ۴۸
۳-۴-۳-۳ روش تهیه محیط کشت باکتری *اشریشیاکلی* ۴۸
۳-۴-۴ روش تولید نانوذرات نقره ۴۹
۳-۴-۴-۱ تولید نانوذرات نقره با روماند محیط‌های مایع رشد ۴۹
۳-۴-۴-۲ تولید نانوذرات نقره با استفاده از صافیده سلولی ۵۲
۳-۴-۴-۳ تولید نانوذرات نقره با استفاده از توده زیستی ۵۲
۳-۴-۴-۴ بررسی اثر دمای رشد قارچ بر تولید نانوذرات نقره ۵۲
۳-۴-۴-۵ اثر نور در مرحله رشد قارچ بر تولید نانوذرات نقره ۵۳
۳-۴-۵ تعیین مشخصات نانوذرات نقره ۵۳
۳-۴-۵-۱ طیف‌سنجی نور فرابنفش-مرئی (UV-vis) ۵۳
۳-۴-۵-۲ عکس‌برداری با ریزبین الکترونی روبشی (FESEM) ۵۳
۳-۴-۵-۳ طیف‌سنجی پرتو ایکس با توزیع انرژی (EDX) ۵۴
۳-۴-۵-۴ طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس (XRD) ۵۴
۳-۴-۵-۵ طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) ۵۴
۳-۴-۵-۶ اندازه‌گیری توزیع اندازه نانوذرات با تفرق دینامیکی نور (DLS)..... ۵۵

۳-۴-۶ بررسی سازوکار تولید نانوذرات نقره ۵۵
۳-۴-۶-۱ بررسی حضور زی‌مایه نیترات ردوکتاز در قارچ‌ها ۵۶
۳-۴-۶-۲ تحریک ترشح زی‌مایه نیترات ردوکتاز ۵۹
۳-۴-۶-۳ بررسی مسیرهای دیگر تولید نانوذرات نقره ۶۰
۳-۴-۶-۴ الکتروفورز یک بعدی پروتئین‌ها (SDS-PAGE) ۶۳
۳-۴-۷ اندازه‌گیری کمی پروتئین‌ها با روش بردفورد ۷۰
۳-۴-۷-۱ روش تهیه معرف‌ها ۷۰
۳-۴-۷-۲ روش تهیه منحنی استاندارد ۷۱
۳-۴-۷-۳ روش تعیین غلظت پروتئین ۷۲
۳-۴-۸ بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره ۷۲

فصل۴ نتایج و بحث ۷۴

۴-۱ رابطه تولید نانوذرات نقره با رشد قارچ‌ها ۷۴
۴-۲ ارزیابی نانوذرات نقره تولید شده با قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* ۷۹
۴-۲-۱ ارزیابی تولید نانوذرات نقره با روماند قارچ ۷۹
۴-۲-۱-۱ اختلاط روماند و نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ ..... ۷۹
۴-۲-۱-۲ اختلاط روماند و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر ۸۶
۴-۲-۲ ارزیابی تولید نانوذرات نقره با صافیده توده زیستی ۹۶
۴-۲-۲-۱ نتایج طیف‌سنجی UV-vis ۹۶
۴-۲-۲-۲ نتایج آنالیز DLS ۹۷

۴-۲-۲-۳ نتایج آنالیز SEM ۹۸
۴-۲-۲-۴ نتایج طیف‌سنجی XRD ۹۸
۴-۲-۲-۵ تولید نانوذرات نقره با صافیده توده زیستی فعال و غیرفعال ۹۹
۴-۲-۲-۶ اثر دما در مرحله رشد قارچ ۱۰۲
۴-۲-۲-۷ اثر نور در مرحله رشد قارچ بر تولید نانوذرات نقره ۱۰۵
۴-۲-۳ مقایسه ویژگی‌های نانوذرات تولید شده با روماند و صافیده قارچ ۱۰۹
۴-۲-۴ بررسی سازوکار تولید نانوذرات نقره با استفاده از قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* ۱۱۱
۴-۲-۴-۱ بررسی حضور زی‌مایه نیترات ردوکتاز ۱۱۱
۴-۲-۴-۲ بررسی فعالیت زی‌مایه نیترات ردوکتاز در مدت رشد قارچ ۱۱۱
۴-۲-۴-۳ بررسی روش‌های القاء زی‌مایه نیترات ردوکتاز ۱۱۲
۴-۲-۴-۴ نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) ۱۱۹
۴-۳ ارزیابی نانوذرات نقره تولید شده با قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۲۱
۴-۳-۱ ارزیابی تولید نانوذرات نقره با روماند قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۲۱
۴-۳-۱-۱ بررسی اثر نسبت حجمی ۱۲۱
۴-۳-۲ تولید نانوذرات با صافیده توده زیستی قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۲۹
۴-۳-۲-۱ اثر تاریکی ۱۲۹
۴-۳-۳ مقایسه ویژگی‌های نانوذرات نقره تولید شده با روماند و صافیده ۱۳۵
۴-۳-۴ تولید نانوذرات نقره با توده زیستی قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۳۷
۴-۳-۵ بررسی خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره تولید شده با قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۳۹
۴-۳-۶ بررسی سازوکار تولید نانوذرات نقره ۱۴۱

۴-۳-۶-۱ بررسی حضور زی‌مایه نیترات ردوکتاز ۱۴۱
۴-۳-۶-۲ بررسی نقش پروتئین‌ها و ساختار آن‌ها در تولید نانوذرات ۱۴۱
۴-۳-۶-۳ بررسی وزن مولکولی پروتئین‌های مؤثر در تولید نانوذرات نقره ۱۴۳
۴-۳-۶-۴ شناسایی پروتئین‌های احیاکننده و پوشاننده ۱۴۹
۴-۳-۶-۵ بررسی طیف‌های تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) ۱۵۲
۴-۴ مقایسه ویژگی‌های نانوذرات نقره تولید شده با قارچ‌ها ۱۵۵
فصل۵ نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۱۵۸
۵-۱ نتیجه‌گیری ۱۵۸
۵-۲ پیشنهادها ۱۶۲
مراجع ۱۶۳

فهرست جدول‌ها

عنوان **شماره صفحه**

جدول ۱-۱- رویدادهای مهم زمینه‌ساز پیشرفت نانوفناوری ۴

جدول ۳-۱- مواد شیمیایی و زیست شیمیایی مورد استفاده در آزمایش‌ها ۴۱

جدول ۳-۲- تجهیزات مورد استفاده در آزمایش‌ها ۴۴

جدول ۳-۴- تهیه نانومول‌های مختلف نیتریت برای رسم منحنی استاندارد ۵۸

جدول ۳-۵- ترکیب ژل‌های جداکننده و متراکم کننده در آزمایش الکتروفورز یک بعدی ۶۵

جدول ۳-۶- تهیه غلظت‌های مختلف پروتئین BSA برای رسم منحنی استاندارد روش بردفورد ۷۱

جدول ۴-۱- مقایسه اثر نور بر ترشح پروتئین‌های کل و زی‌مایه نیترات ردوکتاز قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در دو محیط کشت MGYP و PDB ۱۰۸

جدول ۴-۲- مقایسه مشخصات نانوذرات نقره تولید شده با روماند و صافیده قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در شرایط محیطی و حضور نور ۱۱۱

جدول ۴-۳- مقایسه ویژگی‌های نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از روماند محیط تخمیری و صافیده توده زیستی قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ۱۳۶

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین و توزیع اندازه نانوذرات تولید شده با صافیده‌های تغلیظ نشده، تغلیظ شده با برش-حذف‌های ۱۰ و ۲۰ kD، و عبوری از غشاء با برش-حذف ۱۰۰ kD ۱۴۸

جدول ۴-۵- مقایسه مشخصات نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از برخی قارچ‌ها ۱۵۵

فهرست شکل‌ها

عنوان **شماره صفحه**

شکل ۱-۱- مقایسه دو رویکرد "بالا به پایین" و "پایین به بالا" در تولید نانوذرات ۷

شکل ۲-۱- نانوذرات نقره تولید شده با شکل‌های سه گوش، شش گوشه و کروی به وسیله باکتری *سودوموناس استاتزاری* AG259 ..... ۱۹

شکل ۲-۲- طیف‌های گسیل فلورسانس نیتریت با معرف DAN. A: صافیده قارچ، B: پتاسیم نیترات و صافیده قارچ با نسبت وزنی به حجمی ۰/۱ ٪..... ۳۳

شکل ۲-۳- سازوکار پیشنهادی برای تولید نانوذرات نقره با استفاده از صافیده توده زیستی قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم*..... ۳۳

شکل ۲-۴- اثر نور در سازوکار تولید نانوذرات نقره با استفاده از روماند کشت باکتریایی *کلبسیا نومونیا*..... ۳۵

شکل ۲-۵- سازوکار پیشنهادی برای تولید نانوذرات طلا با استفاده از باکتری *استنوتروفوموناس مالتوفیلیا* ۳۶

شکل ۲-۶- سازوکار احتمالی تولید نانوذرات نقره با استفاده از باکتری *باسیلوس لیکینیفورمیس*..... ۳۶

شکل ۲-۷- سازوکار پیشنهادی برای تولید نانوذرات نقره با صافیده قارچ *تریکودرما آسپرلوم*..... ۳۸

شکل ۳-۱- منحنی استاندارد نیتریت حاصل از شدت جذب محلول‌های شامل غلظت‌های مختلف نیتریت..... ۵۸

شکل ۳-۲-منحنی استاندارد پروتئین BSA مورد استفاده در روش بردفورد ۷۱

شکل ۴-۱- منحنی رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در محیط مایع MGYP در مدت گرماگذاری ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۸ °C و دور ۲۰۰ rpm..... ۷۵

شکل ۴-۲- منحنی رشد قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* در محیط مایع PDB غنی شده با عصاره مخمر در مدت گرماگذاری ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۴ °C و دور ۲۰۰ rpm ۷۵

شکل ۴-۳- ارزیابی تولید نانوذرات نقره با استفاده از روماند محیط‌های تخمیری در میانه فاز لگاریتمی (۱)، انتهای فاز لگاریتمی (۲) و فاز سکون (۳) رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* . ۷۷

شکل ۴-۴- ارزیابی تولید نانوذرات نقره با استفاده از روماند محیط‌های تخمیری در میانه فاز لگاریتمی (۱)، انتهای فاز لگاریتمی (۲) و فاز سکون (۳) رشد قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* ... ۷۷

شکل ۴-۵- تولید نانوذرات کادمیوم سولفید در نیمه فاز لگاریتمی، انتهای فاز لگاریتمی و فاز سکون رشد باکتری *رودوسودوموناس پالوستریس*..... ۷۸

شکل ۴-۶- طیف جذب نانوذرات نقره کلوئیدی تشکیل شده از طریق اختلاط روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ پس از: ۲۴ ساعت (۱)، ۴۸ ساعت (۲) و ۷۲ ساعت (۳)..... ۸۰

شکل ۴-۷- آنالیز تفرق پویای دینامیکی (DLS) نانوذرات تولید شده از طریق اختلاط روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰..... ۸۱

شکل ۴-۸- الف) تصویر SEM، ب) طیف توزیع انرژی (EDX) نانوذرات تولید شده از طریق اختلاط روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰..... ۸۲

شکل ۴-۹- طیف پراش پرتو ایکس (XRD) نانوذرات نقره تولید شده در مخلوط‌های روماند و نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ (اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده صفحات بلوری ساختار شبکه مکعبی با مراکز وجوه پر نانوذرات هستند) ۸۳

شکل ۴-۱۰- مقایسه طیف‌های جذب نانوذرات کلوئیدی حاصل از اختلاط جداگانه محلول‌های: روماند محیط کشت (۱)، روماند محیط کشت با تنظیم pH ۸/۵ (۲) و روماند اتوکلاو شده (۳) با نیترات نقره با نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰ پس از تکمیل واکنش‌ها ۸۴

شکل ۴-۱۱- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده در مخلوط‌های نیترات نقره و الف) روماند، ب) روماند با pH ۸/۵، ج) روماند اتوکلاو شده حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* با نسبت حجمی ۱۰۰ به ۱ ..... ۸۵

شکل ۴-۱۲- طیف جذب نانوذرات نقره کلوئیدی تشکیل شده در محلول‌های روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر و pH اولیه ۸ (۱)، ۹ (۲)، ۱۰ (۳)، ۱۰/۵ (۴) و ۱۱ (۵) ۸۷

شکل ۴-۱۳- طیف‌های جذب نانوذرات نقره کلوئیدی تولید شده با گذشت زمان در محلول‌های روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر در دمای الف: ۴۰ °C، ب: ۵۰ °C، ج: ۱۲۱ °C ۹۱

شکل ۴-۱۴- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده حاصل از اختلاط روماند محیط تخمیری *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر در دمای الف: ۴۰ °C، ب: ۵۰ °C، ج: ۱۲۱ °C ۹۲

شکل ۴-۱۵- مقایسه میانگین اندازه نانوذرات نقره تولید شده در محلول‌های روماند محیط تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر در دماهای ۴۰ °C، ۵۰ °C و ۱۲۱ °C ۹۳

شکل ۴-۱۶- طیف‌های جذب نانوذرات نقره کلوئیدی تولید شده در محلول‌های واکنش روماند محیط کشت تخمیری قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر پس از تابش نور فرابنفش در مدت ۱ ساعت (۱)، ۲ ساعت (۲)، ۱۰ ساعت (۳) ۹۵

شکل ۴-۱۷- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده حاصل از اختلاط روماند محیط تخمیری *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر پس از مجاورت با اشعه فرابنفش ۹۵

شکل ۴-۱۸- طیف‌های جذب نانوذرات نقره تشکیل شده در محلول‌های صافیده و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر پس از ۲۴ ساعت (۱)، ۴۸ ساعت (۲)، ۷۲ ساعت (۳) ۹۷

شکل ۴-۱۹- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از صافیده قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر ۹۷

شکل ۴-۲۰- تصویر SEM نانوذرات نقره تشکیل شده در محلول‌های صافیده قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر ۹۸

شکل ۴-۲۱- طیف XRD نانوذرات نقره تولید شده در مخلوط‌های صافیده قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر ۹۹

شکل ۴-۲۲- مقایسه طیف‌های جذب نانوذرات نقره کلوئیدی حاصل از اختلاط الف) صافیده توده زیستی فعال، ب) صافیده توده زیستی غیرفعال قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* و نیترات نقره با نسبت حجمی برابر پس از ۲۴ ساعت (۱)، ۴۸ ساعت (۲)، ۷۲ ساعت (۳) ۱۰۱

شکل ۴-۲۳- آنالیز DLS نانوذرات تولید شده با استفاده از صافیده توده زیستی الف) فعال، ب) غیرفعال قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* ۱۰۲

شکل ۴-۲۴- مقایسه طیف‌های جذب نانوذرات تولید شده با صافیده توده زیستی حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در دمای الف) ۲۳ °C، ب) ۲۸ °C و ج) ۳۳ °C پس از ۲۴ ساعت (۱) و ۴۸ ساعت (۲) ۱۰۴

شکل ۴-۲۵- طیف‌های جذب نانوذرات کلوئیدی تولید شده با صافیده حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در الف) محیط کشت MGYP و در حضور نور، ب) محیط کشت MGYP و در تاریکی، ج) محیط کشت PDB و در حضور نور و د) محیط کشت PDB در تاریکی پس از ۲۴ ساعت (۱)، ۴۸ ساعت (۲)، ۷۲ ساعت (۳)..... ۱۰۷

شکل ۴-۲۶- آنالیز DLS نانوذرات تولید شده با صافیده حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در حضور نور در محیط‌های کشت الف) MGYP، ب) PDB ۱۰۸

شکل ۴-۲۷- فعالیت زی‌مایه نیترات ردوکتاز در صافیده حاصل از قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در مراحل مختلف رشد..... ۱۱۲

شکل ۴-۲۸- طیف‌های جذب نانوذرات کلوئیدی تولید شده با صافیده حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در الف) محیط کشت MGYP، ب) محیط کشت اصلاح شده حاوی نیترات پس از ۱۲ ساعت (۱)، ۲۴ ساعت (۲)، ۳۶ ساعت (۳)، ۶۰ ساعت (۴) و ۷۲ ساعت (۵) ۱۱۴

شکل ۴-۲۹- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده با صافیده‌های توده زیستی حاصل از رشد قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در الف) محیط مایع MGYP، ب) محیط کشت اصلاح شده حاوی نیترات ۱۱۵

شکل ۴-۳۰- طیف‌های جذب نانوذرات کلوئیدی تولید شده با صافیده حاصل از تعلیق توده زیستی قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* در الف) آب مقطر، ب) پتاسیم نیترات ۲۵ میلی‌مولار، ج) پتاسیم نیترات ۵۰ میلی‌مولار، د) آمونیوم نیترات ، ه) آمونیوم سولفات پس از ۲۴ ساعت (۱)، ۴۸ ساعت (۲)، ۷۲ ساعت (۳) و یک ماه (۴)..... ۱۱۷

شکل ۴-۳۱- طیف‌های تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) الف) روماند، ب) صافیده قارچ *فوزاریوم اکسیسپوروم* (۱) قبل از اختلاط با نیترات نقره (۲) پس از تولید نانوذرات نقره ۱۲۰

شکل ۴-۳۲- طیف‌های جذب نانوذرات نقره کلوئیدی حاصل از اختلاط روماند محیط تخمیری قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* و نیترات نقره با الف) نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰، ب) نسبت حجمی برابر پس از (۱) ۱۲ ساعت، (۲) ۲۴ ساعت، (۳) ۳۶ ساعت، (۴) ۷۲ ساعت، (۵) دو ماه نگه‌داری در دمای اتاق..... ۱۲۳

شکل ۴-۳۳- سرعت تولید نانوذرات نقره کلوئیدی در مخلوط‌های روماند محیط کشت تخمیری *نئوروسپورا اینترمدیا* و نیترات نقره با الف) نسبت حجمی ۱ به ۱۰۰، ب) نسبت حجمی برابر ۱۲۴

شکل ۴-۳۴- آنالیز DLS نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از روماند محیط تخمیری قارچ *نئوروسپورا اینترمدیا* و نیترات نقره با نسبت‌های حجمی الف) ۱ به ۱۰۰، ب) برابر ۱۲۶