بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه نامه **خانم میترا جمشیدی** رشته **علوم گیاهی** به شماره دانشجویی **۸۹۵۱۰۴۱۰۰۸** با عنوان : **" پاسخ های فیزیولوژیک سلولهای جدا کشت فندق به نانو ذرات نقره"** از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	خانم دکتر فائزه قناتی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	آقای دکترآیت ا... رضایی	استادیار	
۳- استاد ناظر داخلی	آقای دکترحسن زارع مایوان	دانشیار	
۴- استاد ناظر خارجی	خانم دکتر فرانسواز برنارد	دانشیار	
۵- نماینده تحصیلات تکمیلی	آقای دکترحسن زارع مایوان	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه 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 پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان 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 تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

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

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های 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 تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب میترا جمشیدی دانشجوی رشته فیزیولوژی گیاهی ورودی سال تحصیلی ۹۰-۸۹
مقطع کارشناسی ارشد دانشکده علوم زیستی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین‌بخشی 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 پایان نامه (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 پایان نامه کارشناسی ارشد/رساله دکتری نگارنده دررشته علوم گیاهی است که در سال۱۳۹۱در دانشکده‌علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب‌آقای دکترفائزه قناتی، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر آیت ا... رضایی و مشاوره‌سرکار خانم/جناب آقای دکتر 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 اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

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

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواندخسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظوراستیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب میترا جمشیدی دانشجوی رشته فیزیولوژی گیاهی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: میترا جمشیدی

تاریخ و امضا: ۱۳۹۲/۰۴/۲۳

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد علوم گیاهی

عنوان:

پاسخ‌های فیزیولوژیک سلول‌های جداکشت فندق (*Corylus avellana* L.) به نانوذرات نقره

نگارنده:

میترا جمشیدی

استاد راهنما:

دکتر فائزه قناتی

مشاور:

دکتر آیت ا... رضایی

بهمن ۱۳۹۱

پروردگارا:

نه میتوانم موهایشان را که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دستهای پینه بسته شان که ثمره تلاش برای افتخار من است، مرهمی دارم . پس توفیقم ده که هر لحظه شکر گزارشان باشم و ثانیه های عمرم را در عصای دست بودنشان بگذرانم.

تقدیم به خانواده عزیزم:

آنانی که سختی ها را به جان خریدند و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده ام برسم.

به پدرم:

به او که صبر و استقامت و مهربانی در زندگی به من آموخت. او که دلخوشی همیشگی من است.

به مادرم:

دریای بیکران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر.

و برادرم:

که همواره در دوران تحصیلات، متحمل زحماتم بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات.

تقدیر و تشکر:

بر خود لازم می دانم از زحمات استاد راهنمای گرانقدرم سرکار خانم دکتر فائزه قناتی که لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن و عظمت رسیدن به هدف را به من آموختند نهایت تشکر را داشته باشم.

هم چنین از مشاور ارجمندم جناب آقای دکتر آیت ا... رضایی که با دلسوزی و انتقال تجربیات ارزشمند خویش اینجانب را در رسیدن به هدف یاری فرمودند، صمیمانه سپاسگزارم.

از اساتید و مسؤلین محترم گروه علوم گیاهی که در طی این دوره از محضر این بزرگواران استفاده کردم کمال تشکر و قدردانی را دارم.

سپاس و تشکر ویژه از دوست عزیز و گرانقدرم مژگان صفری که در این راه پر فراز و نشیب همواره پشتیبان من بوده و از هیچ تلاشی دریغ نکردند.

از تمامی دوستان نازنین و مهربانم بهاره ناهیدیان، مینا قهرمانی نژاد، عاطفه پاینر، الهام رجب بیگی، نرگس خانپور، نجمه احمدیان، ژاله تحصیلی، مریم سلیمانی، سمیه علیخانی، نجمه برک چی، سارا سبحان نژاد، سوده فرزادفر، نرگس درخشانی، لاله یوسف زاده، نبأ نجار و محبوبه کیهانی؛ دوستان عزیزی که در طی این دوره وجودشان سبب دلگرمی و اطمینان خاطر من بود متشکرم.

چکیده

نانو ذرات نقره یکی از پرکاربردترین ذرات در حوزه نا نو است. یکی از دلایل کاربرد گسترده این ذرات خاصیت ضد میکروبی آن‌ها است. در این تحقیق از منظر جدیدی به نانو ذرات نقره نگاه شده و سعی شده که از آن به عنوان یک الیسیتور جهت بررسی تاثیرات فیزیولوژیک بر روی سلول‌های جدا کشت فندق (*Corylus avellana* L.) استفاده شود. به همین منظور پس از چندین آزمایش محدوده مناسبی از غلظت‌های مختلف نانو نقره در نظر گرفته شد وسلول‌های جدا کشت فندق در روز هفتم واکشت (در فاز لگاریتمی رشد) با نانو نقره تیمار شدند و ۷ روز بعد پاسخ‌های فیزیولوژیک آن‌هاشامل رشد, درصد زنده بودن، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ،تولید تاکسان‌ها و توان مهار رشد سلول‌های سرطانی مورد بررسی قرار گرفت. از بین غلظت‌های به کار رفته (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ ppm)، غلظت متوسط ۵ppm با داشتن کمترین کاهش در رشد و زنده بودن و هم چنین مطلوب بودن سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان غلظت مناسب جهت تیمارهای وابسته به زمان انتخاب شد. نتایج به دست آمده از بررسی میزان تاکسان‌ها تحت تاثیر تیمار با ۵ppm نانو نقره حاکی از افزایش ۵ برابری تاکسول درون سلولی در ۲۴ ساعت اولیه بعد از تیمار نسبت به سلول‌های شاهد در همان زمان و همچنین افزایش ۸ برابری تاکسول برون سلولی در همین زمان بوده است. در مورد باکاتینIII نیز به عنوان یکی دیگر از تاکسان‌های مورد مطالعه بیشترین اثر تیمار در ۲۴ ساعت اولیه مشاهده شد. تیمار سلول‌های سرطانی HeLa با عصاره سلولی فندق تیمار شده با ppm ۵ نانو نقره، باعث کاهش ۶۰ درصدی توان زیستی این سلول‌ها گردید. به عنوان نتیجه کلی می‌توان گفت نانو ذرات نقره در همان ۲۴ ساعت اولیه پس از تیمار بیشترین اثر خود را بر فیزیولوژی سلول‌های فندق گذاشته است. علاوه بر این با افزایش قابل توجه میزان تاکسان‌های درون سلولی می‌توان گفت که نانو ذرات نقره بیشتر از این که باعث افزایش خروج تاکسان‌ها به محیط کشت شود، با القای مسیرهای بیوسنتزی آن‌ها، باعث افزایش سنتز این ترکیبات در سلول‌های فندق گردیده است.

کلمات کلیدی: *آنزیم‌های آنتی اکسیدان، تاکسان‌ها، سلول‌های جداکشت فندق، نانوذرات نقره*

فهرست مطالب

فصل۱ ..... ۱

۱- مقدمه ۱

۱-۱- معرفی نانو ذرات نقره ۱

۱-۲- برخی از روش‌های تولید نانوذرات نقره ۲

۱-۲-۱- روش رادیولیز ۲

۱-۲-۲- روش احیای فتوشیمیایی ۲

۱-۲-۳- روش احیای شیمیایی ۲

۱-۲-۴- روش سبز ۳

۱-۳- تاثیر نانو نقره در کنترل بیمارگرهای گیاهی..... ۴

۱-۴- گونه‌های فعال اکسیژن و نقش آن‌ها در سلول‌های گیاهی ۵

۱-۵- سیستم دفاعی آنتیاکسیدان در گیاهان..... ۶

۱-۶- متابولیت‌های ثانویه و مسیرهای بیوسنتز آن‌ها..... ۷

۱-۷- الیسیتور..... ۸

۱-۸- تاکسول ۸

۱-۸-۱- مسیر بیوسنتز تاکسول ۹

۱-۹- اهداف ۱۱

فصل۲..... ۱۲

۲- مواد و روش‌ها..... ۱۳

۲-۱- نگهداری لاین سلولی موجود و تهیه منحنی رشد ۱۳

۲-۲- تیمار سلول‌ها با نانو ذرات نقره ۱۴

۲-۳- اندازه‌گیری رشد سلولی، مشاهدات میکروسکوپی و تعیین درصد زنده بودن سلول‌ها ۱۵

۲-۴- آنالیزهای بیوشیمیایی ۱۵

۲-۴-۱- اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و مقدارکل ذرات محلول ۱۵
۲-۴-۲- اندازه‌گیریpH ۱۶
۲-۴-۳- بررسی تمامیت غشا (Membrane integrity) ۱۶
۲-۴-۴- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۱۶
۲-۴-۵- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز (POX) ۱۷
۲-۴-۶- اندازه‌گیری پروتئین ۱۷
۲-۴-۷- تعیین مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) ۱۷
۲-۴-۸- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۱۸
۲-۴-۹- استخراج و سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) ۱۸
۲-۴-۱۰- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) ۱۹
۲-۴-۱۱- استخراج و اندازه‌گیری فنل کل ۱۹
۲-۴-۱۲- استخراج و اندازه‌گیری فلاونویید کل ۲۰
۲-۴-۱۳- استخراج و اندازه‌گیری آنتوسیانین کل ۲۰
۲-۴-۱۴- استخراج و اندازه‌گیری فعالیتDXR (۱-دئوکسی-D-زایلولوز-۵-فسفات ردوکتوایزومراز) ۲۰
۲-۵- آنالیز تاکسان‌ها ۲۱
۲-۵-۱- استخراج تاکسان‌ها ۲۱
۲-۵-۲- تایید ساختار و اندازه‌گیری تاکسان‌ها (تاکسول و باکاتینIII) ۲۲
۲-۶- تعیین اندازه و بار نانو ذرات نقره ۲۳
۲-۷- کشت سلولی HeLa ۲۳
۲-۸- تهیه عصاره سلولی جهت بررسی فعالیت آنتی توموری ۲۴
۲-۹- آزمایش بررسی سمیت سلولی ۲۴
۲-۱۰- روش بررسی مورفولوژی سلول‌های HeLa ۲۵
۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری ۲۵
فصل۳ ..... ۲۶

۳- نتایج ..... **Error! Bookmark not defined.**
۳-۱- اثر نانو نقره بر رشد و زنده بودن سلول‌های جداکشت فندق(*Corylus avellana* L.) ۲۷
۳-۲- بررسی تغییر میزان هدایت الکتریکی(EC) تحت تاثیر نانو نقره ۲۸
۳-۳- تاثیر نانو نقره بر مقدارکل ذرات محلول (TDS) ۲۸
۳-۴- روند تغییر pH در محیط سلول‌های تحت تیمار با نانو نقره ۲۹
۳-۵- تاثیر نانو نقره بر تمامیت غشا سلول‌های جدا کشت فندق ۳۰
۳-۶- تاثیر نانو نقره بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) ۳۱
۳-۷- تاثیر نانو نقره بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) ۳۱
۳-۸- تاثیر نانو نقره بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز سلول‌های فندق (POX) ۳۲
۳-۹- تاثیر ذرات نانو نقره بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) ۳۳
۳-۱۰- تاثیر نانو نقره بر میزان تولید هیدروژن پراکسید H_2O_2 ..... ۳۴
۳-۱۱- تاثیر نانو نقره بر محتوای پروتئین کل سلول‌های فندق ۳۵
۳-۱۲- فعالیت آنزیم PAL(فنیل آلانین آمونیا لیاز) سلول‌های فندق تحت تاثیر تیمار نانو نقره ۳۶
۳-۱۳- تاثیر تیمار نانو نقره بر محتوای ترکیبات فنلی سلول‌های فندق ۳۷
۳-۱۴- تاثیر تیمار نانو نقره بر محتوای ترکیبات فلاونوییدی ۳۸
۳-۱۵- تاثیر تیمار نانو نقره بر محتوای آنتو سیانین ۳۹
۳-۱۶- تاثیر نانو نقره با غلظت ۵ppm بر فعالیت آنزیم DXR(۱- دئوکسی-D-زایلولوز -۵- فسفات ردوکتوایزومراز) ۴۰
۳-۱۷- بار الکتریکی و سایز نانو ذرات نقره در سلول‌های فندق تیمار شده با نانو ذرات نقره ۴۱
۳-۱۸- میزان تولید تاکسان‌ها (تاکسول و باکاتینIII) در سلول‌های فندق تحت تاثیر نانو نقره ۴۲
۳-۱۹- تاثیر عصاره سلول‌های فندق بر مورفولوژی سلول‌های سرطانی ۴۵
۳-۱۹-۱- تاثیر سمیت عصاره سلول‌های فندق بر سلول‌های سرطانی HeLa ۴۵
فصل۴ ..... ۴۷
۴- بحث ۴۸
۴-۱- پیشنهادات: ۵۵

منابع و مراجع.....۵۶
۵- منابع و مراجع ۵۶

فهرست اشکال

شکل۱-۱ ساختار مولکول تاکسول ۹
شکل۱-۲ مسیر بیوسنتز تاکسول ۱۰
شکل۲-۱ بنیان‌گذاری سلول‌های فندق(*Corylus avellana* L.) ۱۳
شکل۲-۲ منحنی رشد سلول‌های فندق در محیط کشت تعلیقی ۱۴
شکل۲-۳ تبخیر فاز دی کلرومتان تحت جریانی از هوای صاف شده ۲۲
شکل۳-۱ تاثیر نانو ذرات نقره با غلظت‌های متفاوت برمیزان رشد و زنده بودن در سلول‌های جدا کشت فندق (*Corylus avellana* L.)..... ۲۷
شکل۳-۲ تغییر میزان هدایت الکتریکی تحت تاثیر نانو ذرات نقره با غلظت‌های متفاوت..... ۲۸
شکل۳-۳ تغییر مقدارکل ذرات محلول تحت تاثیر نانو ذرات نقره با غلظت‌های متفاوت..... ۲۹
شکل۳-۴ روند تغییر pH در سلول‌های تحت تیمار با نانو نقره با غلظت‌های متفاوت ۳۰
شکل۳-۵ تاثیر تیمار نانو نقره با غلظت‌های متفاوت بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا ۳۰
شکل۳-۶ تغییر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز(SOD) تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانو نقره ۳۱
شکل۳-۷ تغییرات میزان فعالیت کاتالاز(CAT) تحت تاثیر نانو ذرات نقره با غلظت‌های مختلف بعد از تیمار سلول‌های جدا کشت فندق..... ۳۲
شکل۳-۸ تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز(POX) تحت تاثیر نانو ذرات نقره با غلظت‌های متفاوت ۳۳
شکل۳-۹ تغییرات میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز(APX) تحت تاثیر نانوذرات نقره ۳۴
شکل۳-۱۰ تغییرات میزان هیدروژن پراکسید(H_2O_2) تحت تاثیر تیمار نانو نقره با غلظت‌های متفاوت . ۳۵
شکل۳-۱۱ تغییرات محتوای پروتئین کل تحت اثر غلظت‌های مختلف تیمار نانو نقره..... ۳۶
شکل۳-۱۲ تغییر فعالیت PAL تحت تاثیر تیمار نانو نقره با غلظت‌های متفاوت..... ۳۷
شکل۳-۱۳ تغییر در محتوای ترکیبات فنلی تحت تأثیر تیمار با غلظت‌های مختلف نانو نقره..... ۳۸
شکل۳-۱۴ تغییر محتوای ترکیبات فلاونوییدی تحت تاثیر تیمار با غلظت‌های متفاوت نانو نقره..... ۳۹
شکل۳-۱۵ روند تغییرات محتوای آنتو سیانین در سلول‌های جدا کشت فندق(*Corylus avellana* L.) تحت تاثیر تیمار با غلظت‌های متفاوت نانو نقره..... ۴۰
شکل۳-۱۶ تغییرات میزان فعالیت آنزیم DXR(۱- دئوکسی-D-زایلولوز -۵- فسفات ردوکتوایزومراز) تحت تاثیر تیمار ۵PPM نانو ذرات نقره در سلول‌های جدا کشت فندق ۴۱
شکل۳-۱۷ سلول‌های سرطانی HeLa (الف) حالت کنترل (ب) تیمار شده با عصاره فندق ۴۵
شکل۳-۱۸ توان زیستی سلول‌های HeLa تیمار شده با عصاره فندق..... ۴۶

فهرست جداول

جدول۳-۱ تغییر بار الکتریکی و سایز نانوذرات نقره در عصاره سلول‌های فندق تیمار شده با نانونقره... ۴۲
جدول۳-۲ تاثیرتیمار سلول‌های جدا کشت فندق با ۵PPM نانو نقره بر میزان تاکسول آن‌ها ۴۳
جدول۳-۳ تاثیرتیمار سلول‌های جدا کشت فندق با ۵PPM نانو نقره بر میزان باکاتین آن‌ها..... ۴۴

فصل ۱

مقدمه

مقدمه

۱-۱- معرفی نانو ذرات نقره

نانو ذرات نقره یکی از پرکاربردترین ذرات در حوزه نانو است که روز به روز هم بر کاربردهای آن افزوده می شود. محلول های نانو نقره از ذرات نقره در اندازه های ۱۰-۱۰۰ نانومتر تشکیل شده اند و به صورت کلوئیدی در محلولی به حالت سوسپانسیون قرار دارند(Panyala et al. 2008). ذرات نقره در این محلول به دلیل اندازه کوچک، از سطح ویژه بالایی برخوردارند که با افزایش سطح ویژه، میزان چسبندگی آن‌ها افزایش می‌یابد(Shah & Belozerova, 2009). نانو ذرات نقره عمدتا به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه ای که از خود نشان می دهند، در زمینه‌های الکترونیکی، دارویی و بهداشتی کاربرد فراوان پیدا کرده-اند (Yen & Chang,1989; Elechiguerra et al. 2005). یکی از دلایل کاربرد گسترده این ذرات خاصیت ضد میکروبی آن‌ها است. در واقع نقره در حالت توده ای فعالیت ضد میکروبی کمتری دارد، در حالی که نانوذرات نقره با کمترین غلظت خاصیت ضد میکروبی قوی را از خود نشان می دهند .Sondi et al) (2004. از جمله مهمترین کاربردهای ضد میکروبی نانوذرات نقره می توان به کاربرد آن در تجهیزات بهداشتی و پزشکی(مسواک، چسب‌های زخم، ژل‌های مرطوب کننده و ...) ظروف پلاستیکی، غذایی، دارویی، در سامانه‌های تهویه و تصفیه هوا و استفاده‌های فراوان دیگر اشاره کرد. خاصیت ضد باکتریایی نقره بستگی به کاتیون Ag^+ دارد که با گروه‌های الکترونی مولکول‌sهای بیولوژیکی نظیر گوگرد، اکسیژن یا نیتروژن که درون سلول وجود دارندیک پیوند بسیار قوی ایجاد می‌کند.

۱-۲- برخی از روش‌های تولید نانوذرات نقره

۱-۲-۱- روش رادیولیز

در این روش محلول نمک نقره بدون هیچ ماده افزودنی در مقابل تابش با انرژی زیاد (گاما) قرار می گیرد. به علت تشکیل الکترون‌های هیدراته و اتم‌های هیدروژنی که قادر به احیای اتم‌های نقره اند (نظیر تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل) با اکسید کردن دوباره ذرات نقره، فرایند احیا به آرامی انجام گرفته و در نتیجه رشد نانوذرات نیز کند می شود. بنابراین محصول، نانوذرات با پراکندگی ذره یکسان می‌باشد (Starowicz et al. 2006).

از تابش امواج فراصوت نیز به علت تجزیه آب به هیدروژن احیاکننده و رادیکال‌های هیدروکسیل استفاده می شود. این روش هم مانند روش استفاده از تابش نور، ذرات بسیار ریز با توزیع ابعادی مناسب تولید می کند(Prucek et al.2004).

۱-۲-۲- روش احیای فتوشیمیایی

در این روش بر نمک نقره و پایدارکننده مخلوط واکنش، مواد آلی افزوده شده و به کمک تابش فرابنفش رادیکال‌های آزاد تولید می‌شود که باعث احیای یون‌های نقره می شود. از جمله پایدارکننده‌ها می‌توان به استون، استوفنول، بنزوفنول یا آسکوربیک اسید اشاره کرد که حساس به تابش هستند (Lau & Furman, 2008).

۱-۲-۳- روش احیای شیمیایی

پیشگامان تولید نانوذرات نقره، این ذرات را با احیای یون نقره با عامل کاهنده قوی سدیم بوروهیدرات در محیط آبی تولید کردند(Creighton et al.1997). ذرات حاصل از این روش ۵ تا ۲۰ نانومتر بودند. در این روش با تغییر نسبت نیترات نقره به سدیم بوروهیدرات می توان تغییراتی در خواص نانو ذرات از جمله اندازه، بارسطحی و پایداری ایجادکرد. علاوه بر بوروهیدرات عوامل کاهنده دیگری نظیر سیترات، هیدروژن

هیدروکسیل آمین، هیدرازین، فرمالدهید ومشتقاتش، آسکوربیک اسید، پتاسیم بی تارترات و بعضی از منوساکاریدها نیزجهت احیای نمک‌های نقره مورد استفاده قرار می گرفته است (Brust & kiely, 2002; Sun et al.2004; Lu et al.2006; Sarkar et al. 2010).

در طی سال‌های اخیر پژوهش‌های مختلفی بر روی تولید نانو ذرات نقره صورت گرفته است.در این پژوهش‌ها از نمک‌های نقره مانند سیترات نقره(Rana et al.2011)، سولفات نقره و نیترات نقره(Mahendra et al.2009)، استات نقره (Inoue et al.2010) و از پلیمرهایی مانند PVP و PEG با وزن-های مولکولی مختلف به عنوان پایدار کننده استفاده شده است.

۱-۲-۴- روش سبز

اگر چه روش‌های فیزیکی و شیمیایی متنوع به طور گسترده برای تولید نانوذرات با اندازه مناسب مورد استفاده قرار می گیرند، اما پایداری نانوذرات تولید شده و استفاده از ترکیبات شیمیایی غیر سمی برای حفظ محیط زیست و سلامت افراد هدف مهمتری می باشد. بنابر این توسعه روش‌های زیست سازگار، غیر سمی و بی خطر محیطی برای تولید نانوذرات موضوع پژوهش‌ها در این حوزه است (Narayanan & Sakthivel, 2010).

انتظار می رود که در روش‌های غیر سبز، تولید نانوذرات نقره با کنترل بیشتر و توزیع اندازه باریک تر صورت گیرد. طبق گزارش شارما (۲۰۰۹) تولید سبز شامل روش‌های پلی اکسومتالات[1] با ظرفیت‌های مختلف،پلی ساکارید، تالنز[2]، تابش و زیستی است. در روش‌های سبز ذراتی با اندازه بزرگتر تولید می شود. همچنین می توان استنباط کرد که ذراتی با اندازه کمتر از ۲۰ نانو متر با واکنش پذیری زیاد، به ندرت با استفاده از روش سبز تولید می شوند(Sharma et al.2009). تولید نانو ذرات نقره با روش سبز بر اساس دیدگاه ترکیبات شیمیایی سبز شامل سه مرحله اصلی می باشد: ۱.انتخاب محیط حلال ۲. انتخاب عامل

[1] Polyoxometallates
[2] Tollens

احیاگر بی خطر محیطی ۳. انتخاب مواد غیر سمی برای پایداری نانوذرات نقره(Eshleman et al. 2011). از روش‌های تولید سبز نانو ذرات معدنی کردن زیستی بهترین روش تولید سازگار با طبیعت است. در یک فرایند تقلید زیستی برای تولید نانو ذرات نقره، احیای یون نقره با استفاده از باکتری و میکروارگانیسم‌ها انجام می گیرد. آنزیم‌های موجود در میکروارگانیسم‌ها موجب احیای یون نقره می شوند Kalishwaralal). (et al.2008; Vaidyanathan et al.2009 پلیمرهای طبیعی مانند کیتوزان[۳]، نشاسته قابل حل، هیدروکسی پروپیل[۴]، کربوکسی متیل سلولز[۵]، آنزیم‌ها و پروتئین‌های ترشح شده از قارچ‌ها می توانند به عنوان عامل پایدارکننده و احیاگر برای تولید نانوذرات نقره عمل کنند(Hebeish et al.2011).

۱-۳- تاثیر نانو نقره در کنترل بیمارگرهای گیاهی

جو و همکاران(Jo et al. 2009) تاثیر نانو نقره را بر روی قارچ‌های بیمارگر گیاهیBipolaris sorokiniana و Magnaporthe grisea مورد بررسی قرار دادند. بررسی‌های درون شیشه‌ای نشان داد که یون‌های نقره و نانو ذرات عملکرد مناسبی در ممانعت از تشکیل کلونی این دو بیمارگر داشتند. اثر بازدارندگی روی تشکیل کلونی به طور معنی‌داری بعد از این‌که کاتیون‌های نقره به وسیله یون‌های کلراید خنثی شدند، کم شد. هر دو فرم یونی و نانو ذره‌ای نقره به طور معنی‌داری هر دو بیماری قارچی را روی چاودار چند ساله(Lolium perenne) کاهش دادند.

کاسپرویچ و همکاران (Kasprowicz et al. 2010) تاثیر نانو نقره بر روی اسپورهای Fusarium culmorum را بررسی کردند. کاهش معنی داری در رشد میسلیومی برای اسپورهایی که با نانو ذرات نقره تیمار شدند، مشاهده شد.

[3] chitosan
[4] hydroxypropyl
[5] carboxymethyl cellulose

کیم و همکاران (Kim et al. 2009) فعالیت ضد قارچی سه شکل مختلف نانو نقره علیه قارچ Raffaelea sp. را بررسی کردند که عامل مرگ تعداد زیادی از درختان بلوط در کره می باشد. نانونقره به طورمعنی داری در غلظت‌های مختلف مانع از رشد قارچ گردید.

پتیکا و همکاران(Petica et al. 2008) نشان دادند که محلول‌های کلوئیدی پایدار حاوی غلظت ۳۵ پی پی ام نانو نقره دارای خاصیت ضد قارچی موثری علیه گونه‌های Aspergillus، Penicillium و Trichoderma می باشند.

مطالعاتی که بر اساس میکروسکوپ الکترونی عبوری(STM) صورت گرفته است، نشان می دهد که ذراتی کوچک تر از ۱۰nm می توانند مستقیما وارد سلول شوند و رشد میکروارگانیسم را متوقف سازند . (Monteiro & Riviere, 2009). طی مطالعاتی مشخص شده که با کاهش اندازه ذره ای، میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یافته که خود می تواند عاملی در ایجاد سمیت و مرگ سلولی باشد .(Chio & Hu,2008)

۱-۴- گونه‌های فعال اکسیژن و نقش آن‌ها در سلول‌های گیاهی

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS; Reactive Oxygen Species) درطی متابولیسم طبیعی سلول-ها(فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس و تنفس نوری) ایجاد می‌شود و در اثر تحریک گیاهان با محرک‌های مختلف غیر زیستی مانند محرک‌های فیزیکی و شیمیایی و همچنین محرک‌های زیستی مانند باکتری‌ها و ویروس‌ها و قارچ‌ها زیاد می‌شود. مهم‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن، رادیکال‌های آنیون سوپراکسید($O_2^{\bullet-}$)،هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) هستند (Franco et al.2008). این مولکول‌ها دارای یک یا چند الکترون جفت نشده در اربیتال هستند که به این دلیل تمایل زیادی به واکنش با سایر مولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA در سلول دارند.