بیوسنتز نانوذرات اکسیدروی توسط مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه(Saccharomyces cerevisiae) و بررسی خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی آن

راضیه معتضدی[۱]، سمیه رهایی[۱*]، محبوبه زارع[۲]

۱) گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۲) گروه گیاهان دارویی، دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۲۲**

چکیده

مقدمه: سنتز زیستی نانوذرات به عنوان یک فرآیند مقرون به صرفه، دوستدار محیط زیست و جایگزین روش های فیزیکی و شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، سنتز نانوذرات اکسیدروی توسط مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه و بررسی اثرات ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی آن است.

مواد و روش ها: در این مطالعه پس از تهیه نانوذرات و تعیین خصوصیات فیزیکی آن ها، اثر آنتی اکسیدانی نانوذرات توسط روش های مهار رادیکال آزاد DPPH (2,2 -diphenyl-1-picrylhydrazyl) و توانایی کاهندگی آهن سنجیده شد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات با استفاده از روش انتشار دیسک علیه باکتری های گرم مثبت از جمله استافیلوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز و باکتری گرم منفی اشیریشیاکلی بررسی شد.

یافته های پژوهش: نانوذرات سنتز شده دارای مورفولوژی کروی و به طور میانگین، اندازه قطر آن ها کمتر از ۳۰ نانومتر بود. پیک جذبی برجسته در ۳۷۰ نانومتر بیانگر تشکیل نانوذرات اکسیدروی است. این نانوذرات دارای فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری استافیلوکوس اورئوس بوده و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی وابسته به غلظت در هر دو روش نشان دادند.

بحث و نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای فعالیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی بوده و امکان کاربرد آن ها در بسته بندی مواد غذایی، لوازم آرایشی و نیز به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها وجود داشته، لذا به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

واژه های کلیدی: نانوذرات اکسیدروی، سنتز زیستی، ساکارومایسس سرویزیه، ضدباکتریایی، آنتی اکسیدانی

* نویسنده مسئول: گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

Email: s.rahaiee@ausmt.ac.ir, s.rahaiee@gmail.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

مقدمه

نانو فناوری شاخه ای از علوم است که از اصول فیزیک، شیمی، زیست شناسی و علم مواد برای سنتز نانوذرات و نانوساختارها استفاده می کند. نانوذرات موادی با اندازه تقریباً ۱۰۰-۱ نانومتر بوده که با توجه به نسبت سطح به حجم بالا، در صنایع مختلف کاربرد گسترده ای دارند(۱،۲). اخیراً نانوذرات فلزی با دارا بودن خصوصیات فیزیکوشیمیایی مختلفی مانند خواص نوری و گرمایی، فعالیت ضدسرطانی، ضدمیکروبی و تجزیه آلاینده های زیستی مورد توجه زیادی قرار گرفته اند(۳). نانوذرات اکسیدروی سومین نانوذره پرکاربرد هستند که توسط سازمان غذا و دارو به عنوان یک ترکیب ایمن شناخته شده است. نانوذرات اکسید روی با دارا بودن خصوصیات بی نظیری مانند فعالیت ضدتوموری، فعالیت ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی و جاذب اشعه ماوراء بنفش(۴،۵) به طور گسترده ای در زمینه های مختلف پزشکی از جمله در تولید نانوداروها، رهایش ژن، تصویربرداری پزشکی، نانو آنتی بیوتیک ها در برابر باکتری های مقاوم به چند دارویی، صنایع بسته بندی مواد غذایی و نیز تولید کرم های ضد آفتاب کاربرد دارند(۹-۶). خاصیت آنتی اکسیدانی نانوذرات، می تواند در دفاع بدن در مقابل رادیکال های آزاد و بهبود بیماری های ناشی از تنش های اکسیداتیو نقش موثری داشته باشد(۱۰). روش های فیزیکی و شیمیایی مختلفی برای سنتز نانوذرات فلزی وجود دارد که استفاده از این روش ها به علت آلودگی مواد شیمیایی و مصرف انرژی برای محیط زیست و سلامتی انسان ها خطرناک است(۱۱). از این رو، به سنتز سبز نانوذرات فلزی به عنوان روشی غیر سمی، مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست توجه خاصی شده است(۱۲).

جهت سنتز بیولوژیکی نانوذرات، عصاره های گیاهی، آنزیم ها و میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرند. در این میان، سنتز نانوذرات توسط میکروب های مختلفی از جمله باکتری ها، قارچ ها و مخمرها گزارش شده است زیرا میکروب ها دارای پتانسیل ذاتی احیاء مواد معدنی و تولید نانوذرات توسط مکانیسم های درون سلولی و برون سلولی هستند. مطالعات نشان داده است که مخمرها می توانند گزینه مناسبی برای تولید نانوذرات باشند چون نسبت به حضور فلزات تحمل بالایی داشته و می توانند میزان بالایی از آنزیم ها را تولید کنند. علاوه براین، در مقایسه با باکتری ها، میزان بالایی از فلزات در مخمرها تجمع پیدا می کند(۱۳،۱۴). مخمر ساکارومایسس سرویزیه یا مخمر نانوایی، یک مخمر ارزان قیمت با کاربرد ساده در صنعت است(۱۵،۱۶). ساکارومایسس سروزیه به عنوان یک گونه پروبیوتیکی، سرشار از آنزیم ها، ویتامین ها، مواد مغذی و کوفاکتورها است و توسط موسسه غذا و دارو، به عنوان یک ترکیب ایمن شناخته شده است(۱۷). علاوه بر این، در میان مخمرها بیشترین مطالعات فیزیولوژیکی و ژنتیکی، در مورد ساکارومایسس سرویزیه انجام شده و با دارا بودن ترکیبات زیست فعال مختلف می تواند به عنوان عوامل کاهنده و پایدار کننده در تولیدزیستی نانوذرات فلزی به کار رود(۱۸). ضایعات صنایع مختلف از جمله ضایعات کارخانه های تولید مخمر نانوایی می توانند منابع ارزان قیمتی جهت سنتز زیستی نانوذرات به شمار روند. لذا با توجه به این که تاکنون مطالعه ای بر سنتز زیستی نانوذرات اکسیدروی توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه انجام نشده است، هدف این پژوهش کاربرد مواد درون سلولی این مخمر جهت سنتز سبز نانوذرات اکسید روی می باشد. نانوذرات تولید شده با استفاده از تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی(FESEM) و طیف سنجی UV-Vis مشخصه یابی و تایید شدند. هم چنین فعالیت های بیولوژیکی نانوذرات اکسید روی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

آماده سازی کشت مخمر ساکارومایسس سرویزیه:

جهت انجام آزمایش، مخمر ساکارومایسس سرویزیه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران(IROST) تهیه شد. از محیط کشت YPD براث به منظور کشت مخمر استفاده شد. بعد از تلقیح مخمر به محیط کشت استریل، در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری انجام شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

سنتز نانوذرات اکسیدروی: برای تهیه نانوذرات اکسید روی توسط مخمر از مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه استفاده گردید. به منظور تهیه مواد درون سلولی، مخمر کشت داده شده پس از ۷۲ ساعت، به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد و سرعت ۶۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی را دور ریخته، و ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه استریل به ته نشست افزوده شده که به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از ذوب شدن توده زیستی در دمای اتاق، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد و سرعت ۶۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد و از مایع رویی که حاوی مواد درون سلولی مخمر بود، به منظور تهیه نانوذرات اکسیدروی استفاده شد. جهت سنتز نانوذرات اکسید روی توسط مواد درون سلولی مخمر، استات روی با غلظت ۰/۱ مولار و pH برابر ۱۲ به عنوان پیش ساز تهیه شد و در نسبت ۱:۳ به صورت قطره قطره به مایع رویی تحت شرایط تاریکی و همزنی افزوده شدند. محلول تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۳۰rpm و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری، رسوب سفید رنگ نانوذرات اکسیدروی در ته ظرف مشاهده شد. سانتریفیوژ نمونه ها جهت جمع آوری نانوذرات بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای اتاق، انجام گردید(۱۹)، نانوذرات حاصله سه بار با آب مقطر و اتانول شسته شده و در نهایت توسط آون خشک گردیدند.

بررسی ریخت شناسی میکروسکوپی نانوذرات سنتزی: میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) با تابش پرتوهای پر انرژی الکترون سطح نمونه ها را روبش و تصاویری واضح ایجاد می کند. میکروسکوپ FESEM اطلاعاتی از جمله توپوگرافی نمونه، اندازه، خصوصیات سطح، ترکیب اجزایی نمونه و نحوه قرارگیری ذرات در سطح را مشخص می کند(۲۰). ریخت شناسی نانوذرات اکسیدروی سنتزی توسط میکروسکوپ الکترونی FESEM (MIRA 3, TESCAN) مورد بررسی قرار گرفت.

طیف سنجی فرابنفش-مرئی نانوذرات حاصله: خواص نوری نانوذرات اکسیدروی سنتزی به وسیله طیف سنجی UV-Vis (Thermo Biomate, USA) بررسی شد. به این منظور ابتدا پودر تولیدی در آب دیونیزه به وسیله دستگاه اولتراسونیک به طور یکنواخت پراکنده شد؛ سپس پودر سنتز شده برحسب میزان طیف جذب در طول موج ۸۰۰-۲۰۰ نانومتر شناسایی شد.

مطالعه فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات: فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی حاصله با استفاده از روش متداول انتشار دیسک اندازه گیری شد. جهت مطالعه فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات حاصله، از باکتری های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس(ATCC 25923) و لیستریا مونوسیتوژنز و باکتری گرم منفی اشیریشیاکلی(PTCC 1399) استفاده شد. بدین منظور، سوسپانسیون های میکروبی رشد یافته در محیط کشت نوترینت براث، به محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده و به صورت سطحی کشت شد. آن گاه دیسک های استریل روی سطح قرار داده و از نانوذرات اکسید روی به میزان های مختلف ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر دیسک، روی دیسک ها بارگذاری صورت گرفت. سپس پلیت ها را در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. قدرت ضد میکروبی نانوذرات بر اساس قطر ناحیه بازداری توسعه یافته اطراف دیسک ها محاسبه می شود.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات حاصله

بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH: جهت بررسی سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط نانوذرات حاصله، ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف(۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نانوذرات را به ۵۰۰ میکرولیتر محلول DPPH (۰/۰۲۵ مولار) اضافه شد و با ۱۰۰۰ میکرولیتر متانول به حجم دو هزار میکرولیتر رسید. پس از ۳۰ دقیقه قرار دادن نمونه ها در تاریکی، جذب آن ها را در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش شد. آنگاه میزان مهار رادیکال آزاد DPPH توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

-

$$I_{DPPH}\ (\%) = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c}\right) \times 100$$

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

که در آن A_c جذب نمونه کنترل و A_s جذب نمونه مورد بررسی است(۲۱).

تعیین قدرت احیاءکنندگی نانوذرات حاصله: آزمایش قدرت کاهندگی آهن(FRAP) برای نانوذرات به دست آمده با کمی تغییرات بر اساس روش رهایی و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد. بدین منظور، یک میلی لیتر از غلظت های مختلف(۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نانوذرات اکسیدروی، یک میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و یک میلی لیتر پتاسیم فری سیانات(یک درصد) را با هم ترکیب کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در حمام آب قرار دادیم. در ادامه پس از سرد شدن محلول، ۰/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید(۱۰ درصد) به ترکیب بالا اضافه شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر از مایع رویی را با ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آهن (۰/۱ درصد) مخلوط نموده و جذب درطول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد(۲۲).

یافته های پژوهش

بررسی ریخت شناسی نانوذرات اکسید روی حاصله: ریخت شناسی و اندازه نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی(FESEM) مورد بررسی قرار گرفت. مطابق تصاویر FESEM به دست آمده در شکل شماره ۱، نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط مواد درون سلولی مخمر، به شکل کروی بوده و متوسط اندازه قطر آن ها کمتر از ۳۰ نانومتر به دست آمد.

طیف سنجی مرئی-فرابنفش(UV-Vis) نانوذرات اکسیدروی حاصله: نتایج آنالیز طیف سنجی UV-Vis برای نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. طیف به دست آمده برای نانوذرات حاصله نشان داد که این نانوذرات دارای پیک جذبی برجسته و مشخصی در طول موج ۳۷۰ نانومتر هستند که می تواند بیانگر تشکیل نانوذرات اکسیدروی باشد.

بررسی خواص ضد باکتریایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده: مقایسه تاثیر ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در جدول شماره ۱ آورده شده است. نتایج مطالعه نشان داد که نانوذرات سنتز شده، در برابر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی دارای فعالیت ضد باکتریایی بهتری هستند، در این میان باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله عدم رشد ۰/۵±۲۳ میلی متر حساسیت بالاتری نشان داده است. هم چنین با افزایش غلظت نانوذرات بر روی دیسک، اندازه قطر هاله عدم رشد افزایش می یابد چنان چه در میزان ۲۰۰ میکروگرم بر دیسک نانوذرات، بالاترین قطر هاله عدم رشد دیده شد. علاوه بر این، نانوذرات سنتز شده دارای فعالیت متوقف کننده رشد در برابر باکتری گرم منفی اشرشیاکلی بودند. تصاویر فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی حاصله توسط مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شکل شماره ۳ نشان داده شده است.

بررسی خواص آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتز شده

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات به روش جذب رادیکال آزاد DPPH: فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط مهار رادیکال آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش، نانوذرات اکسید روی سنتز شده، فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی برای همه غلظت های مورد آزمایش نشان دادند(شکل شماره ۴).

نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت نانوذرات، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات به ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، میزان جذب رادیکال آزاد به حدود ۷۵ درصد می رسد.

بررسی فعالیت کاهندگی آهن(FRAP) توسط نانوذرات: در این روش توانایی نانوذرات سنتز شده در احیا یون های فریک(آهن سه ظرفیتی) به فرو(آهن دو ظرفیتی) در طول موج ۷۰۰ نانومتر ارزیابی شد. توانایی نانوذرات در احیاء یون های فریک، به عنوان یک معیار تشخیصی در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها در نظر گرفته می شود.

هر چه میزان جذب بیشتر باشد در نتیجه میزان احیاء

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

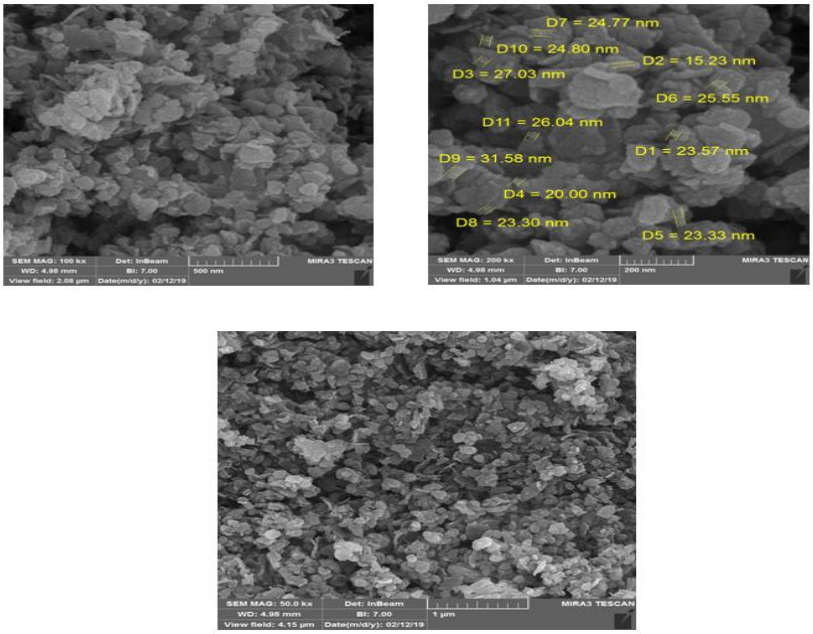
[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

و فعالیت آنتی اکسیدانی نانـــوذرات بیشتر می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیـــــدروی سنتز شـــده در شکل شماره ۵ نـــــشان داده شده اســـت.

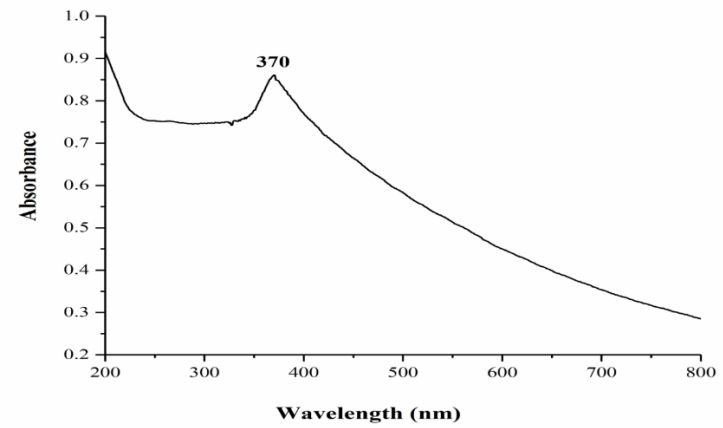
نتایج نشـــان داد که با افـــزایش غلظت نانوذرات اکســـیدروی، فعالیت کاهندگی آن ها نیز افزایـــش می یابد.

جدول شماره ۱. قطر هاله عدم رشد(بر حسب میلی متر) باکتری ها در غلظت های مختلف نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک مواد درون سلولی مخمر

باکتری	غلظت نانوذرات اکسیدروی(میکروگرم بر دیسک)			آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم/ دیسک)
	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	
L. monocytogenes	---	---	---	---
E.coli (PTCC 1399)	---	---	---	۳۰
S. aureus	۱۹±۰/۱	۲۱±۱/۲	۲۳±۰/۵	۳۲
S. aureus (ATCC 25923)	۱۷±۱/۱	۱۹±۰/۸	۲۱±۱/۵	۲۷



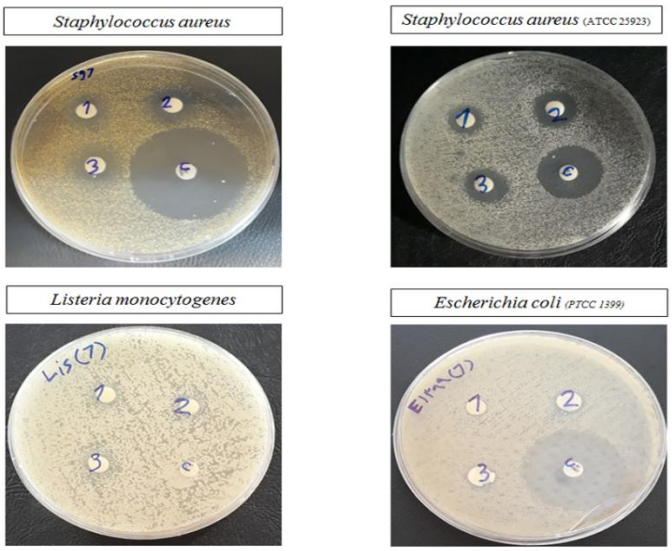
شکل شماره ۱. تصاویر میکروسکوپی(FESEM) نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط مواد درون سلولی مخمر



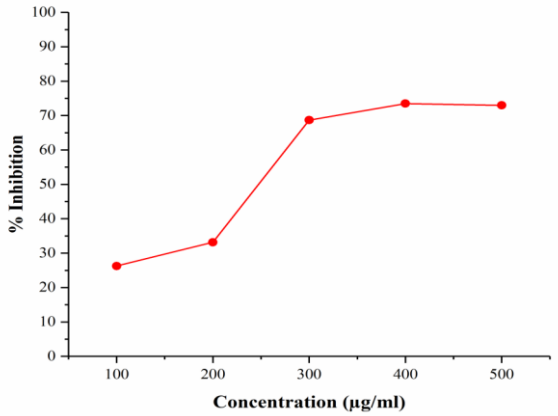
شکل شماره ۲. طیف UV-Vis به دست آمده برای نانوذرات اکسیدروی سنتزی به کمک مواد درون سلولی مخمر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

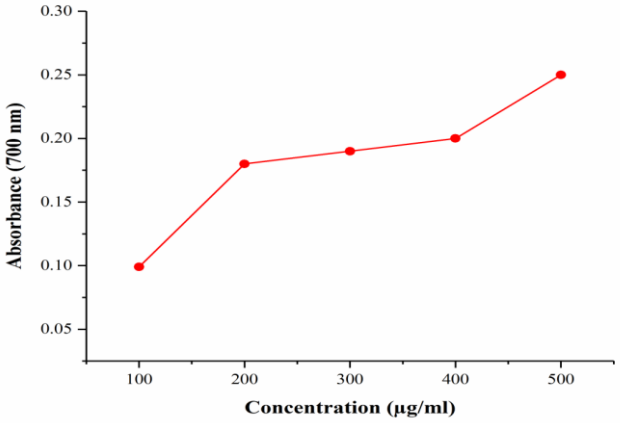
[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]



شکل شماره ۳. تصاویر فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی سنتز شده به کمک مواد درون سلولی در برابر باکتری های مختلف (۱: ۱۰۰µg/disc ; ۲: ۱۵۰ µg/disc ;۳: ۲۰۰ µg/disc و c: آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین)



شکل شماره ۴. بررسی جذب رادیکال آزاد DPPH توسط نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک مواد درون سلولی مخمر



شکل شماره ۵. بررسی قدرت احیاکنندگی آهن(FRAP) توسط نانوذرات اکسیدروی سنتز شده به کمک مواد درون سلولی مخمر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

بحث و نتیجه گیری

مخمرها توانایی انباشت تجمع فلزات سنگین را دارند بدین ترتیب که توسط آنزیم های مختلف ردوکتاز، می توانند نمک های فلزی را به نانوذرات فلزی با ابعاد و اشکال مختلف احیاء کنند. در این مطالعه مشخص شد که مواد درون سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه با دارا بودن ترکیبات زیست فعال مختلف می توانند به عنوان مواد پایدارکننده و احیـــاکننده عمل کرده و نانوذرات اکسیدروی را سنتز نمایند. اندازه و مورفولوژی نانوذرات فاکتور مهمی است که بر خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی نانوذرات تاثیر بارزی دارد. نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای مورفولوژی کروی و متوسط اندازه قطر کـــمتر از ۳۰ نانومتر بودند. نتایج آنالیز FESEM نشان داد که نانوذرات تجـــمع یافته اند که می تواند ناشی از کاربرد فرآیند خشک کردن آن ها در آون باشد. علاوه بر این، نانوذرات اکسیدروی می توانند به دلیل انرژی سطحی زیاد نانوذرات ناشی از تعامل با رطوبت و نیز ارتبـــاطات درونی بین ذرات(نیروهای واندروالسی، الکتروستاتیکی و نیروی مغناطیسی) تجمع پیدا کنند(۲۳).

جامدانگی و همکاران(۲۰۱۸)، بیان کردند که طیف جذبی نانوذرات اکسیدروی در مـــحدوده ۳۲۰ تا ۳۹۰ نانومتر اتفاق می افتد(۲۴). طیف UV-Vis حاصل از نانوذرات اکسیدروی سنتز شده در این مطالعه، پیک جذبی برجسته و مشخصی در طول موج ۳۷۰ نانومتر نشان داد که بیانگر تشکیل نانوذرات اکسیدروی است. طی پژوهشی که توسط عبادی و همکاران(۲۰۱۹) انجام گرفت، نانوذرات اکسیدروی سنتز شده توسط مواد درون سلولی Cyanobacterium Nostoc sp دارای پیک جذبی در۳۷۰ نانومتر ولی دارای میانگین اندازه ۶۰ نانومتر بودند(۱۹) که از لحاظ پیک جذبی با مطالعه ما هم خوانی دارد. نتایج فعالیت ضدباکتریایی نشان داد که نانوذرات اکسیـــدروی سنـــتز شده، دارای فعالیت ضدباکتریـــایی خوبی علیـــه باکـــتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و نیز فعالیت متوقف کننده رشد علیه باکتری گرم منفی اشرشیاکلی هستند. هم چنین نتایج فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده نشان داد که فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات وابسته به غلظت است به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، قطر هـــاله عدم رشـــد افـــزایش یافت. ردی و همکاران(۲۰۰۷) گزارش که باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساسیت بیشتری به نانوذرات اکسیدروی دارند و با نتایج حاصل از مطالعه ما هم خوانی داشت. احتمالاً حساسیت بالاتر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی می تواند ناشی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی، فیزیولوژی سلول، متابولیسم سلولی و یا میزان تماس باکتری با نانوذرات باشد(۲۵). به طور کلی، فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسیدروی به دلیل ایجاد گونه های اکسیژن فعال بوده که می توانند به دیواره و غشای سلولی باکتری ها آسیب رسانند(۲۶). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات از جمله اندازه، شکل و ترکیب شیمیایی نقش تعیین کننده ای در فعالیت های بیولوژیکی آن ها دارد. هم چنین، در میان نانوذرات اکســـید فلـــزی MgO، TiO_2، Al_2O_3، CuO، اکســـیدروی دارای بیشترین فعالیت مهار رشد علیه استافیلوکوکوس اورئـــوس است(۶). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین باکتری های بیماری زا است که گستره وسیعـــی از عفونت ها را ایجاد می کند. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از عوامل شایع ایجادکننده عفونت های بیمارســـتانی و مقـــاوم به آنتی بیوتیک ها است. لذا با توجه به این که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای متوسط قطر کمتر از ۳۰ نانومتر بوده و نسبت به حجم شان، سطح بالایی دارند بـــنا بـــر این می تـــوان از آن ها به عنوان نانو آنتی بیوتیک های موثر به خصوص در مقابل گونه های مقاوم بیمارستانی از جمله استافیلوکوکوس اورئوس بهره جست.

نانوذرات در مهار رادیکال های آزاد نقش مهمی دارند زیرا دارای نسبت سطح به حجم بالایی بوده و در نتیجه تعامل این مواد با محیط اطراف بیشتر است(۲۷). فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده در این مطالعه، توسط دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که این نانوذرات فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی در مهار رادیکـــال آزاد DPPH برای همه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

غلظت های آزمایش شده نشان دادند، هم چنین مشاهده شد که فعالیت آنتی اکسیدانی این نانوذرات وابسته به غلظت است، به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات به ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، میزان جذب رادیکال آزاد به حدود ۷۵ درصد افزایش یافت. فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی به اندازه ساختار کریستالی، مورفولوژی و هم چنین انتقال الکترون از لایه متراکم اکسیژن به الکترون اتم نیتروژن واقع در DPPH بستگی دارد. مشابه با نتایج مطالعات این مطالعه، مادان و همکاران(۲۰۱۵) بیان کردند که با افزایش غلظت نانوذرات، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته، به طوری که در غلظت ۸۳۵۵ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات اکسیدروی، ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH مهار شد(۲۸). علاوه بر این، با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی سنتز شده، فعالیت کاهندگی آن ها نیز افزایش یافت. فعالیت آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسیدروی سنتز شده، می تواند در کاهش یا جلوگیری از تنش های اکسیداتیو نقش موثری داشته باشد لذا می توان از این نانوذرات در ترکیبات دارویی یا آرایشی استفاده نمود.

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بوده و می توانند به عنوان یک جایگزین مناسب آنتی بیوتیک های سنتزی به کار روند و یا به عنوان یک ماده ضدمیکروبی ایمن جهت بسته بندی مواد غذایی استفاده شوند. علاوه بر این، نانوذرات اکسیدروی سنتزی دارای خواص آنتی اکسیدانی بالایی بوده و پتانسیل بالقوه آن ها را جهت کاربردشان در محصولات آرایشی به عنوان یک ترکیب ضدچروک و محافظت کننده در مقابل اشعه ماوراء بنفش نشان می دهد. به هر حال، در این زمینه مطالعات بیشتری مورد نیاز است که در تحقیقات آینده مورد توجه قرار می گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجو بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

کد اخلاق: IR.ausmt.rec.1398.11.33

References

1. Mala JGS, Rose C. Facile production of ZnS quantum dot nanoparticles by Saccharomyces cerevisiae MTCC 2918. J Biotechnol 2014; 170:73-8. doi:10.1016/ j.jbiotec.2013.11.017.
2. Benelmekki M. Designing hybrid nanoparticles. 2th ed. Morgan Claypool Publishing. 2015; P.231-9.doi. 10.1088/978-1-6270-5469-0.
3. Venkatesh N, Bhowmik H, Kuila A. Metallic nanoparticle a review. BJSTR 2018; 4: 3765-75. doi.10.26717/BJSTR.2018.04.001011.
4. Umamaheswari A, Lakshmana S, Puratchikody A. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticle a review on greener approach. MOJBB 2018; 5: 151-4. doi.10.15406/ mojbb.2018.05.00096.
5. Jiang J, Pi J, Cai J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. Bioinorg Chem Appl 2018; 2018. doi.10.1155/2018/1062562.
6. Krol A, Pomastowski P, Rafinska K, Railean V, Buszewski B. Zinc oxide nanoparticles synthesis antiseptic activity and toxicity mechanism. Adv Coll Int Sci 2017; 249: 37-52. doi.10.1016/j.cis.2017.07.033.
7. Kolodziejczak A, Jesionowski T. Zinc oxide from synthesis to application a review. Materials 2014; 7: 2833-81. doi.10.3390/ma7042833.
8. Espitia PJP, Soares NDFF, Reis JS, Andrade NJ, Cruz RS, Medeiros EAA. Zinc oxide nanoparticles synthesis antimicrobial activity and food packaging applications. Food Bioproc Tech 2012; 5: 1447-64. doi.10.1007/s11947-012-0797-6.
9. Taran M, Rad M, Alavi M. Biosynthesis of TiO2 and ZnO nanoparticles by Halomonas elongata IBRC-M 10214 in different conditions of medium. Bio Impacts 2018; 8:81. doi.10.15171/bi.2018.10.
10. Das D, Nath B C, Phukon P, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. Coll Sur 2013; 111: 556-60 doi.10.1016/j.colsurfb.2013.06.041.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

11. Khatami M, Alijani HQ, Heli H, Sharifi I. Rectangular shaped zinc oxide nanoparticles green synthesis by stevia and its biomedical efficiency. Ceram Int 2018; 44:15596-602. doi.10.1016/j.ceramint.2018.05.224
12. Begum S, Ahmaruzzaman M, Adhikari PP. Ecofriendly bio synthetic route to synthesize ZnO nanoparticles using eryngium foetidum L. and their activity against pathogenic bacteria. Mater Lett 2018; 228: 37-41. doi.10.1016/j.matlet.2018.05.091.
13. Iravani S. Bacteria in nanoparticle synthesis current status and future prospects. Int Sch Res Not 2014; 2:111-6. doi.10.1155/2014/359316.
14. Moghaddam AB, Moniri M, Azizi S, Rahim RA, Ariff AB, Saad WZ, et al. Biosynthesis of ZnO nanoparticles by a new Pichia kudriavzevii yeast strain and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities. Molecules 2017; 22: 872. doi. 10.3390/molecules22060872.
15. Basnet P, Chanu TI, Samanta D, Chatterjee, S. A review on bio synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. J Photochem Photobiol Biol 2018; 183: 201-21. doi.10.1016/j.jphotobiol.2018.04.036.
16. Jha AK, Prasad K, Prasad K. A green low cost biosynthesis of Sb2O3 nanoparticles. Biochem Eng J 2009; 43: 303-6. doi.10.1016/j.bej.2008.10.016.
17. Seyidoglu N, Peker S. Effects of different doses of probiotic yeast Saccharomyces cerevisiae on the duodenal mucosa in rabbits. Indian J Anim Res 2015; 49: 602-6. doi.10.18805/ijar.5570.
18. Korbekandi H, Mohseni S, Mardanijouneghani R, Pourhossein M, Iravani S. Biosynthesis of silver nanoparticles using Saccharomyces cerevisiae. Art Cell Nanomed Biotechnol 2016; 44: 235-9. doi.10.3109/21691401.2014.937870.
19. Ebadi M, Zolfaghari MR, Aghaei SS, Zargar M, Shafiei M, Zahiri HS, et al. A bio inspired strategy for the synthesis of zinc oxide nanoparticles using the cell extract of cyanobacterium Nostoc sp. EA03 from biological function to toxicity evaluation. Rsc Adv 2019; 9: 23508-25. doi.10.1039/C9RA03962G.
20. Erlandsen SL, Frethem C, Chen Y. Field emission scanning electron microscopy entering the 21st century nanometer resolution and molecular topography of cell structure. J Histotechnol 2000; 23: 249-59. doi.10.1179/his.2000.23.3.249.
21. Khan ZUH, Sadiq HM, Shah NS, Khan AU, Muhammad N, Hassan SU, et al. Greener synthesis of zinc oxide nanoparticles using Trianthema portulacastrum extract and evaluation of its photocatalytic and biological applications. J Photochem Photobiol Biol 2019; 192: 147-57. doi.10.1016/j.jphotobiol.2019.01.013.
22. Shobha N, Nanda N, Giresha AS, Manjappa P, Sophiya P, Dharmappa KK, Nagabhushana BM. Synthesis and characterization of Zinc oxide nanoparticles utilizing seed source of Ricinus communis and study of its antioxidant, antifungal and anticancer activity. Mate Sci Eng 2019; 97:842-50. doi.10.1016/j.msec.2018.12.023.
23. Shamim A, Abid MB, Mahmood T. Biogenic synthesis of Zinc oxide nanoparticles using a fungus Aspargillus niger and their characterization. Int. J Chem 2019; 11: 119-26. doi.10.5539/ijc.v11n2p119.
24. Jamdagni P, Khatri P, Rana JS. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of Nyctanthes arbor tristis and their antifungal activity. J King Saud Uni Sci 2018; 30: 168-75. doi.10.1016/j.jksus.2016.10.00.2.
25. Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. Appl Phys Lett 2007; 90: 213902. doi.10.1063/1.2742324.
26. Rajan A, Cherian E, Baskar G. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Aspergillus fumigatus JCF and its antibacterial activity. Int J Mod Sci Technol 2016; 1: 52-7.
27. Banerjee S, Saikia JP, Kumar A, Konwar BK. Antioxidant activity and haemolysis prevention efficiency of polyaniline nanofibers. J Nanotechnol 2009; 21: 45101.doi.10.1088/0957-4484/21/4/045101.
28. Madan HR, Sharma SC, Suresh D, Vidya YS, Nagabhushana H, Rajanaik H, et al. Facile green fabrication of nanostructure ZnO plates bullets flower prismatic tip

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

closed pine cone their antibacterial antioxidant photoluminescent and photocatalytic properties. Acta Mol Biomol Spectrosc 2016; 152: 404-16. doi.10.1016/j.saa.2015.07.067.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]

Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles using Intracellular Extract of Saccharomyces cerevisiae and Evaluation of its Antibacterial and Antioxidant Activities

Motazedi R[1], Rahaiee S[1], Zare M[2]*

(Received: March 01, 2020 Accepted: July 12, 2020)

Abstract

Introduction: Attention to the biosynthesis of nanoparticles (NPs) has been increased recently since they are cost-effective, eco-friendly, and potential alternatives to chemical and physical methods. This study aimed to synthesize zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using an intracellular extract of Saccharomyces cerevisiae. Moreover, it was attempted to evaluate their antibacterial and antioxidant effects.

Materials & Methods: After the preparation and identification of the physical characteristics of the ZnO NPs, their antioxidant activity was determined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP). Moreover, the antibacterial activity of NPs was tested against Gram-positive bacteria (Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes) and Gram-negative bacteria (Escherichia coli) using a disc diffusion method. *Ethics code:* IR.ausmt.rec.1398.11.33

Findings: The results showed that the synthesized NPs had a spherical shape, and their diameter size was < 30 nm. A good absorption at 370 nm confirmed the presence of ZnO NPs. These NPs depicted an improved antibacterial activity against S. aureus. Moreover, they showed concentration-dependent antioxidant activity in both DPPH and FRAP.

Discussions & Conclusions: The results indicated that the biosynthesized ZnO NPs had antibacterial and antioxidant activities. This suggests that ZnO NPs can be used in food packaging and cosmetic products. In addition, they can be utilized as an alternative to synthetic antibiotics. However, further studies are required to be conducted in this regard.

Keywords: ZnO NPs, Biosynthesis, Saccharomyces cerevisiae, Antibacterial, Antioxidant

1. Dept of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
2. Dept of Medicinal Plant, Faculty of Medicinal Plants, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
**Corresponding author E-mail: s.rahaiee@ausmt.ac.ir; S.rahaiee@gmail.com*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-07-15]

[DOI: 10.29252/sjimu.28.4.36]