مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
دوره ۱۰ شماره ۱ بهار ۱۳۹۱ ، صفحات: ۴۲-۳۳

جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک تولید کننده نانوذرات آهن از خاک معدن آهن ارجین استان زنجان

سوان آوادیس یانس: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه و پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران
مجتبی صلوتی: استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه و پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران
محمد مهدی سلطان دلال: استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران- نویسنده رابط : soltanirad34@yahoo.com
روناک بختیاری: کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۰/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات آهن کاربرد وسیعی در علم پزشکی به خصوص در ساخت شناسه گرهای زیستی فلورسانس، درمان تومورهای سرطانی به روش Hyperthermia، عامل کنتراست در تصویر برداریMRI دارند. روش‌های تولید فیزیکی و شیمیایی این نانوذرات، همراه با آلودگی‌های زیست محیطی هستند. در این میان، باکتری قادر به سنتز مقدار قابل توجهی نانوذرات آهن هستند، طوری که کاملا مطابق با اصول شیمی سبز می باشد. هدف از این تحقیق، جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک تولید کننده نانوذرات آهن از خاک معدن آهن ارجین استان زنجان می باشد.

روش کار: از خاک معدن، رقت متوالی تهیه شد و روی محیط کشت جامد ترکیبی که مخصوص جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک بود تلقیح شد و بعد از یک هفته گرماگذاری در ۳۰ درجه سانتی گراد از کلنی ها برداشت شد و به محیط مایع مخصوص منتقل شد و بعد از ۳ هفته گرماگذاری، با رنگ آمیزی گرم و کریستالوگرافی اشعه ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی SEM مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج: آنالیز گراف XRD وجود نانوذرات آهن و عکس‌های میکروسکوپ الکترونی SEM شکل باکتری ها و تجمعات خارج سلولی نانوذرات آهن تولیدی توسط باکتری‌ها را اثبات کرد.

نتیجه گیری: باکتری های جدا شده از معدن آهن ارجین زنجان قادر به تولید نانوذرات آهن هستند.

واژگان کلیدی: بیوسنتز، نانوذرات آهن، باکتری های مگنتوتاکتیک، معدن آهن

مقدمه

نانوذرات آهن کاربرد وسیعی در علم پزشکی به خصوص در ساخت شناسه گرهای زیستی فلورسانس(Silveira et al. 2007; Shamsipor et al. 2009)، درمان تومورهای سرطانی به روش Hyperthermia (Huey et al. 2008; Petri-Fink et al. 2004)، تشخیص زیستی پاتوژن‌ها، به عنوان عامل کنتراست در تصویر برداری Magnetic resonance imaging (MRI) دارند (Arakaki et al. 2008; Heyen et al. 2003).به طور کلی سه روش برای سنتز نانو ذرات آهن، شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی وجود دارد. روش‌های فیزیکی و شیمیایی همراه با آلودگی‌های زیست محیطی هستند. روش‌های زیستی شامل استفاده از قارچ‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، ویروس‌ها و هم چنین

گیاهان می‌باشند. استفاده از باکتری‌ها به عنوان منبع تولید ارزان قیمت نانوذرات آهن، کاملا مطابق با اصول شیمی سبز می‌باشد (Love Lonnie et al. 2005; Narayanan and Sakthivel 2010). در این میان، باکتری‌های مگنتوتاکتیک قادر به سنتز مقدار قابل توجهی نانو ذرات آهن هستند. باکتری‌های مگنتوتاکتیک اکثراً باکتری‌های گرم منفی محیط‌های آبی هستند که دارای اشکال مختلف اعم از کوکسی (Coccoid)، رودو(Rode)، ویبریو (Vibrioid) و اسپریلی(Spirillum) هستند. این باکتری‌ها معمولاً متحرک می‌باشند و معمولاً میکروآیروفیل یا بی‌هوازی می‌باشند و در دمای حدود۲۸ درجه سانتی‌گراد و pH حدود ۷ دارای رشد بهینه می‌باشند. این باکتری‌ها در حضور میدان مغناطیسی به سمت قطب شمال حرکت می‌کنند، که به این پدیده مگنتوتاکسی می‌گویند. باکتری‌های مگنتوتاکتیک، دارای تعدادی کریستال درون سلولی از جنس مواد مغناطیسی معدنی هستند که مگنتوزوم (Magnetosomes) نامیده می‌شوند (Prashant et al. 2008). این باکتری‌ها قادر به سنتز مقدار قابل ملاحظه‌ای کریستال‌های مگنتیت (Fe_3O_4) در درون مگنتوزوم های خود هستند. باکتری‌های مگنتوتاکتیک دارای جایگاه وسیع زیستی در طبیعت اعم از دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، مرداب‌ها، باتلاق‌ها، تالاب‌ها و معادن آهن می‌باشند. ولی فقط چندین گونه‌ی محدود شامل گونه‌های *M.magnetotacticum*، *Magnetospirillum* و *M.gryphiswaldense* تا به حال ایزوله و کشت داده شده‌اند. تنها سویه کوکسی قابل کشت، کوکسی *Magnetotactic* سویه MC-1 می‌باشد و از باکتری‌های مگنتوتاکتیک غیرقابل کشت می‌توان *Magnetobacterium bavaricum* را نام برد (Yanli et al. 2006). بهینه رشد این باکتری ها در غلظت های پایین اکسیژن می‌باشد. این باکتری‌ها می توانند در محیط های کاملا مهر و موم و درزگیری شده، در صورتی که بین ۰/۱ درصد تا ۲۱ درصد اکسیژن وارد محیط کشت شود، رشد کنند و حداکثر تولید مگنتیت در غلظت اکسیژن ۱درصد اتفاق می افتد، در حالی که در اکثر سویه ها، غلظت های بالاتر از ۵درصد نقش مهاری دارند. باکتری‌های مگنتوتاکتیک از طریق بیومینرالیزاسیون مگنتیت (Fe_3O_4)، در ساختارهای درون سلولی خود که متصل به سطح داخلی غشاء سیتوپلاسمی شان هستند(مگنتوزوم)، کریستال‌های مگنتیت تولید می‌کنند (Gao jian et al. 2006; Schuler1999; Schuler 2002; Frankel and Buseck 2000).

مگنتیت (Fe_3O_4)، دارای یک ساختار داربستی شکل (Spinel) می‌باشد که شامل سایت‌های ۸ وجهی و ٤ وجهی است که به ترتیب محل قرارگیری یون‌های سه ظرفیتی و دو ظرفیتی آهن می‌باشد و هنگامی که هر دو سایت در مجاورت هم قرار بگیرند ساختار فرومغناطیسی تولید می‌شود وهمین امر باعث به وجود آمدن خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک جدید در ماده می‌شود (Narayanan and Sakthivel 2010; Brazylinski and Frankel 2004). مطالعات اولیه توسط میکروبیولوژیست آمریکایی Richard Blakemore درسال ۱۹۷۹ نشان داد که انواع مختلفی از باکتری‌های مگنتوتاکتیک در محیط‌های آب شیرین و لایه‌های رسوبی وجود دارند که قادر به سنتز نانو ذرات آهن به صورت درون سلولی یا خارج سلولی می‌باشند. این باکتری‌ها درمجاورت میدان مغناطیسی دارای مگنتوتاکسی بوده و به سمت قطب شمال حرکت می‌کنند (Love Lonnie et al. 2005; Schuler 2002). باکتری M. magnetotacticum سویه MS-1 اولین عضو از خانواده‌ی باکتری‌های مگنتوتاکتیک است که توسط Blakemore ایزوله و

شناسایی شد. این باکتری میکروآیروفیل بوده و تشکیل مگنتوزوم در آن فقط در فشار پایین اکسیژن میسر می‌باشد (Arakaki et al. 2008; Heyen and Schuler 2003).

محققان، محیط کشتی به نام MSGM که حاوی مواد شیمیایی مورد نیاز برای رشد و جداسازی باکتری M. Magnetotacticum سویه MS-1 بود معرفی کردند(Blakemore et al. 1979). در سال ۲۰۱۰ از آب دریای خزر و رودخانه کرخه باکتری‌های مگنتوتاکتیک جدا سازی شد. باکتری های به دست آمده گرم منفی و حاوی ذرات مغناطیسی بودند (Farzan et al. 2010). تاکنون هیچ‌گونه تحقیقی در مورد جداسازی باکتری‌های مگنتوتاکتیک از خاک معادن، به خصوص معدن آهن در ایران انجام نگرفته است. هدف از این تحقیق، جداسازی باکتری‌های مگنتوتاکتیک تولیدکننده نانوذرات آهن از خاک معدن آهن ارجین استان زنجان بود.

روش کار

نمونه برداری: نمونه‌برداری از خاک معدن آهن ارجین استان زنجان انجام شد.(موقعیت جغرافیایی با طول ٤٨.٤٢.١٩ و عرض ٣٦.٢٣.٥١). نمونه‌های خاک را از عمق ۳۰ سانتی‌متری سطح خاک که رگه‌ی آهن از آنجا می‌گذشت برداشت شد و به ظرف نمونه‌گیری استریل منتقل شد(Yanli et al. 2006).

بررسی pH نمونه‌های خاک: بررسی pH در یکی از دو رقت اول و یا دوم نمونه‌های خاک انجام گرفت. تمامی نمونه‌های خاک جمع آوری شذه از معدن آهن ارجین زنجان pH برابر ۷ داشتند.

تهیه رقت متوالی: از خاک معدن رقت متوالی تهیه شد و تا رقت ۰/۰۱ رقیق شد و برای مدت یک هفته در دمای آزمایشگاه و در تاریکی و در حالت سکون نگهداری گردید(Yanli et al. 2006).

جداسازی باکتری‌ها از سایر ارگانیسم‌ها: بعد از یک ماه با قرار دادن یک مغناطیس، در بالای محلول حاوی نمونه، با پی‌پت مقداری از آب موجود در زیر مغناطیس کشیده شد تا باکتری‌های مگنتوتاکتیک از سایر ارگانیسم‌های ساکن در آب جدا شود و در محیط کشت جامد تلقیح شد اکسیژن توسط جریان گاز نیتروژن حذف گردید و با قرار دادن گازپک تولیدکننده شرایط میکروآیروفیل (Anaerocult C, Merck) درب پلیت‌ها بسته شده در جار بی‌هوای تحت شرایط میکروآیروفیل برای مدت یک هفته انکوبه شد.

جداسازی کلنی ها و کشت در محیط مایع : بعد از یک هفته از کلنی‌های رشد کرده روی محیط کشت جامد برداشت و به محیط کشت مایع انتقال داده شد و برای مدت ۳ هفته در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به صورت میکروآیروفیل انکوبه شد. بعد از سه هفته با قرار دادن یک مگنت در بالای ظرف‌های حاوی نمونه و با کمک پی‌پت از مایع زیر مگنت کشیده شده و بدین وسیله باکتری‌های مگنتوتاکتیک جمع‌آوری شدند. در ظروف حاوی محیط کشت مایع ذرات مگنتیت به وضوح قابل مشاهده بودند.

مواد و ترکیبات و نحوه ساخت محیط کشت: محیط کشت جامد حاوی ۵ میلی‌لیتر از محلول استریل یک لیتری مواد معدنی و ۱۰ میلی لیتر از محلول استریل یک لیتری ویتامین‌ها و ۲ میلی لیتر از محلول استریل ۰/۰۱ مولار فریک کوینات(Ferric quinate) استریل بود. برای آماده سازی محط کشت به صورت جامد ۱۲ گرم پودر آگار(Agar-agar) به ازای یک لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه برای ۱۵ دقیقه و پس از سرد شدن به محیط استریل حاوی ویتامین‌ها فیلتر و مواد معدنی و فریک کوینات استریل اضافه شد و pH با NaOH روی ٦.٨ تثبیت شد.

محلول تهیه شده از مواد معدنی شامل ۰/٦۸ گرم KH_2PO_4و ۰/۱۲ گرم $NaNO_3$ و ۰/۳۷ گرم تار تاریک اسید (Tartaric acid)و ۰/۳۷ گرم سوکسینگ اسید(Succinic acid) و ۰/۰۵ گرم استات سدیم (Sodium acetate)و ۱/۵ گرم نیتریلوتری استیک اسید(Nitrilotriacetic acid) و ۳ گرم $7H_2O$. $MgSO_4.7H_2O$ و ۰/۵ گرم (Manganese II sulfate) $MnSO_4.H_2O$و ۱ گرم NaCl و ۰/۱ گرم $FeSO_4.7H_2O$ (Iron II sulfate heptahydrate)و ۰/۱ گرم (Cobalt II chloride $CoCl_2.6H_2O$ hexahydrate)و ۰/۱ گرم $CaCl_2$ (Calcium chloride)و ۰/۱ گرم $ZnSO_4.7H_2O$ (Zinc sulfate heptahydrate)و ۰/۰۱ گرم (Cupric Sulfate) $CuSO_4.5H_2O$و ۰/۰۱ گرم $ALK(SO_4)_2.12H_2O$و ۰/۰۱ گرم H_3BO_3 (Boric acid)و ۰/۰۱ گرم $Na_2MoO_4.2H_2O$ (Sodium molybdate dihydrate)حل شده در یک لیتر آب مقطر استریل بود.

محلول ویتامین‌ها شامل ۲ میلی گرم بیوتین(Biotin)، ۲ میلی‌گرم فولیک اسید (Folic acid)، ۱۰ میلی‌گرم پیرودوکسین هیدروکلراید، ۵ میلی‌گرم تیامین هیدروکلراید (Thiamine Hydrochloride)، ۵ میلی‌گرم ریبوفلاووین (Riboflavin)، ۵ میلی‌گرم نیکوتینیک اسید (Nicothinic acid)، ۵ میلی‌گرم کلسیم D– پانتوتنات(Chalecium D-panthotenate)، ۰/۱ میلی‌گرم ویتامین B_{12} و ۵ میلی‌گرم پاراآمینوبنزوییک اسید(PABA) حل شده در یک لیتر آب مقطر استریل بود و در نهایت ۱۰ میلی لیتر از محلول یک لیتری ویتامین‌ها توسط سیستم فیلترینگ استریل و به محیط کشت اصلی اضافه شد.

محلول فریک کوینات حاوی ۰/۲۷ گرم $FeCl_3$ و ۰/۱۹ گرم Quinic acid در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود مواد تشکیل دهنده محیط مایع، در حقیقت همان مواد به کار رفته برای ساخت محیط کشت جامد، بدون داشتن آگار می باشد. (Farzan et al. 2010).

ویتامین ها و بوریک اسید از شرکت SIGMA و فریک کوینات از شرکت FLUKA و سایر مواد شیمیایی به کار رفته از شرکت Merck تهیه شد.

رنگ آمیزی گرم و آنالیز توسط میکروسکوپ نوری از باکتری‌های ایزوله شده توسط لوپ گسترش روی لام تهیه شد و رنگ آمیزی با کریستال ویوله به مدت یک دقیقه صورت گرفت، و سپس با آب مقطر شسته شد و سپس محلول لوگل به مدت ۱ دقیقه اضافه گردید و سپس با استفاده از الکل استن رنگبری صورت گرفت و بلافاصله شستشو با آب مقطر صورت گرفت. سپس با سافرانین به مدت ۳۰ ثانیه رنگ‌آمیزی صورت گرفت و پس از خشک شدن لام توسط میکروسکوپ نوری Carl Zeiss Axiostar مورد مطالعه قرار گرفت.

آماده سازی نمونه برای شناسایی نوع نانوذرات تولیدی توسط XRD: آنالیز XRD جهت اثبات نوع فلز، به کار می‌رود. برای تهیه‌ی نمونه برای آنالیز XRD از توده‌ی سلولی حاصل از متابولیت باکتری‌ها برداشت شد و سانتریفوژ با دور ۷۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ min شد سپس رسوب به دست آمده با آب مقطر چند بار شسته شد و نمونه را در داخل پلیت شیشه‌ای ریخته شد و داخل فور در دمای۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شود (Weijia et al. 2009). سپس نمونه توسط دستگاه PHlLlPS Pw 1800 XRD مورد آنالیز قرار گرفت و سپس با نرم‌افزار X`pert Data Collector گراف‌های حاصل از آنالیز مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

آماده سازی نمونه‌ها برای میکروسکوپ الکترونی SEM: از نمونه محیط کشت حاوی باکتری‌های

ایزوله شده مقداری برداشته و روی گرید مخصوص SEM که با هوای تمیز، پاک شده بود قرار داده شد و در آون ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه فیکس شد و سپس با لایه‌ی نازکی از طلا روکش شد و توسط دستگاه S-4160 HITACHI مورد بررسی قرار داده شد.

نتایج

بررسی‌های میکروسکوپ نوری و رنگ‌آمیزی گرم از باکتری‌های ایزوله شده نشان داد که همه این باکتری‌ها گرم منفی هستند(شکل ۱). جدول حاصل از آنالیز کریستالوگرافی اشعه X (XRD) نشان داد که ذرات تولیدی Fe_3O_4 هستند (شکل۲). در تصاویر شکل ۳ (الف، ب، ج و د)، عکس‌های میکروسکوپ الکترونی SEM نشان داد که همه این باکتری‌ها رودو شکل (Rode form) هستند و همچنین تجمعات نانوذرات مگنتیت خارج سلولی در اطراف این باکتری ها قابل مشاهده می باشند در نهایت اندازه و شکل ظاهری نانوذرات را مشخص کردند. نانوذرات آهن به طور واضح قابل مشاهده اند. و گرافهای SEM تشکیل نانو ذرات آهن در اندازه حدود ۱۰ نانو متر را بیان می دارند (شکل ۳).

بحث

باکتری‌های مگنتوتاکتیک قادر به سنتز مقدار قابل توجهی نانوذرات آهن هستند. این باکتری‌ها دارای تعدادی کریستال درون سلولی از جنس مواد مغناطیسی معدنی هستند که مگنتوزوم (Magnetosomes) نامیده می‌شوند (Prashant et al. 2008). این باکتری‌ها قادر به سنتز مقدار قابل ملاحظه‌ای کریستال‌های مگنتیت (Fe_3O_4) در درون مگنتوزوم‌های خود هستند(Schuler 1999). باکتری‌های مگنتوتاکنیک ایزوله شده از معدن آهن ارجین استان زنجان، گرم منفی بودند و هیچ موردی با تخمیر سوبسترا مشاهده نشد و همگی آن‌ها میکروآئیروفیل بودند، که با سایر یافته های پیشین در مورد باکتری‌های مگنتوتاکتیک کاملا مطابقت داشت. همچنین pH خاک معدن آهن معادل ۷ بود. باکتری‌های مگنتوتاکتیک میکروآیروفیل بوده و تشکیل مگنتوزوم در آن فقط در فشار پایین اکسیژن میسر می‌باشد (Arakaki et al. 2008; Heyen and Schuler 2003). در تحقیق حاضر نیز تولید نانوذرات آهن در شرایط میکروآیروفیل امکان پذیر بود. همچنین، این باکتری ها درمجاورت میدان مغناطیسی دارای مگنتوتاکسی بوده و به سمت قطب شمال حرکت می‌کنند (Love Lonnie et al. 2005). پس از تعریف گرادیان‌های مختلف دمایی از ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد ، مشخص شد که بالاترین میزان رشد در حدود ۳۰ درجه سانتی گراد می باشد. نتایج حاصل از آنالیز گراف کریستالوگرافی اشعه X (XRD) نشان داد که نانوذرات تولیدی توسط این باکتری‌ها، نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) بودند. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی SEM اثبات می‌کند که باکتری‌های ایزوله شده از معدن آهن ارجین استان زنجان، رودو شکل (Rode) هستند که یکی از انواع شکل های رایج این باکتری می باشد، در کل این باکتری‌ها دارای اشکال مختلف اعم از کوکسی (Coccoid)، رودو(Rode)، ویبریو(Vibrioid) و اسپریلی(Spirillum) هستند(Prashant et al. 2008). همچنین در عکس‌های میکروسکوپ الکترونی SEM تجمعات خارج سلولی نانوذرات آهن توسط باکتری‌ها به وضوح قابل مشاهده می‌باشد، که نشانگر توانایی ترشحی و خارج سلولی بودن نانوذرات تولیدی توسط باکتری های ایزوله شده از معدن آهن ارجین استان زنجان می باشد، که به علت نداشتن مراحل تخلیص و جداسازی، به انواع نانوذرات آهن تولیدی درون سلولی ارجعیت دارد. سایز نانوذرات آهنی که توسط این باکتری ها تولید می

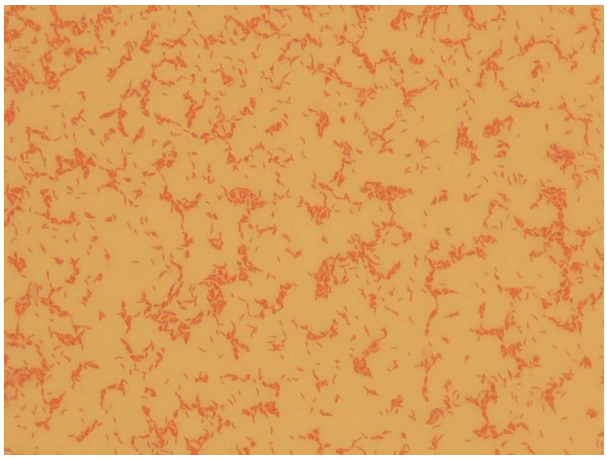
شود در حدود ۱۰ نانومتر بود. توزیع اندازه ها و همچنین شکل تمام نانوذرات سنتز شده توسط باکتری ها یکسان بود که نشانگر سیستم کنترلی بسیار دقیق باکتری برای تولید نانوذرات آهن می باشد(Schuler 2002). شایان ذکر است که اولین بار جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک از خاک معدن آهن در چین از معدن آهن Tieshan در سال ۲۰۰۶ صورت پذیرفت (Yanli et al. 2006). در ایران تاکنون تحقیقی دال بر جداسازی باکتری‌های مگنتوتاکتیک از خاک معادن آهن صورت نگرفته است. از مهم‌ترین تحقیقات می‌توان به جداسازی باکتری‌های مگنتوتاکتیک در سال ۲۰۱۰ از آب دریای خزر و رودخانه کرخه اشاره کرد که باکتری-های به دست آمده گرم منفی و حاوی ذرات مگنتیت بودند (Farzan et al. 2010). از محدودیت‌های جداسازی این باکتری‌ها می‌توان به دیر رشد و سخت رشد بودنشان اشاره کرد و همچنین نیازمند محیط غنی شده و ترکیبی مخصوص باکتری های مگنتوتاکتیک می باشد که حتما باید حاوی آهن III و II ظرفیتی و فریک کوینات (Ferric quinate) باشد(Blakemore et al 1979). از دیگر محدودیت های کار با این باکتری ها، می توان به احتمال بالای آلودگی نمونه ها با قارچ‌های ساپروفیت خاک اشاره کرد، چون نمونه خاک معمولا حاوی اسپور قارچ‌ها و ساپروفیت‌ها می باشد و شاید استفاده از قارچ کش هایی نظیر سیکلوهگزامید، در جلوگیری از آلودگی‌های قارچی موثر واقع شود. همچنین مشخص گردید که بهترین pH برای رشد این باکتری‌ها معادل ۶,۸ می باشد. از دیگر محدودیت‌های کار با باکتری‌های مگنتوتاکتیک، غیر قابل کشت بودن خیلی از سویه‌های شناسایی شده می‌باشد که با توجه به امکانات آزمایشگاهی و محیط‌های کشت موجود، کشت امکان پذیر نمی باشد (Yanli et al. 2006).

نتیجه‌گیری

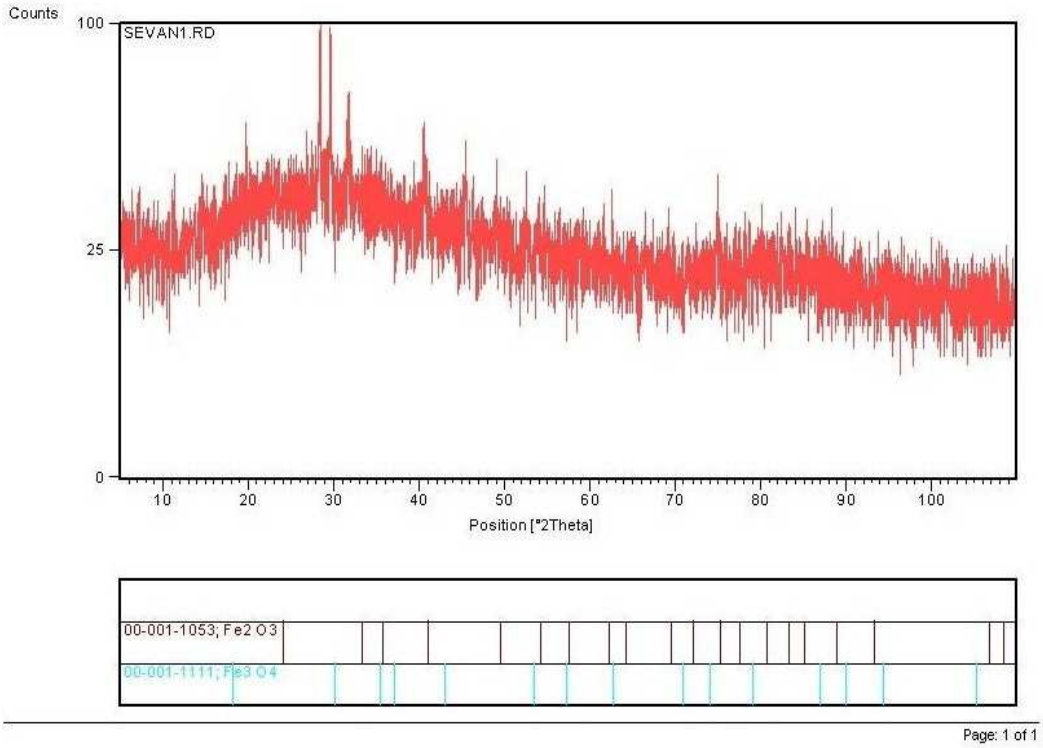
هدف از پژوهش حاضر، جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک تولید کننده نانوذرات آهن بود که برای اولین بار در ایران، از خاک معدن آهن با موفقیت انجام گرفت و با کمک کریستالوگرافی اشعه X (XRD) نوع نانوذرات سنتز شده توسط باکتری ها و با کمک میکروسکوپ الکترونی SEM وجود این باکتری ها، (Rode form و همچنین اندازه نانوذرات آهن تولیدی توسط این باکتری ها اثبات شد. با توجه به اینکه در کشورمان، ایران تا به حال جداسازی باکتری های مگنتوتاکتیک تولید کننده نانوذرات آهن از خاک معادن آهن صورت نگرفته است، امید است که این تحقیق به عنوان سر آغازی برای بومی سازی تولید بیولوژیک نانوذرات آهن باشد و با شناسایی سویه و بهینه سازی آن بتوان به حجم صنعتی تولید این نانوذرات رسید.

تشکر و قدردانی

ازمعاون محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان جناب آقای دکتر مهدی رهنما و همچنین استاد گرانقدر گروه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت علوم پزشکی تهران سرکار خانم دکتر دورقی، به خاطر رهنمود های شایسته شان و از آزمایشگاه SEM لایه‌های نازک دانشکده برق و الکترونیک دانشگاه تهران، آزمایشگاه های پژوهشکده مواد و انرژی، انرژی اتمی کرج، به خاطر همکاری شایسته شان در انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می شود.

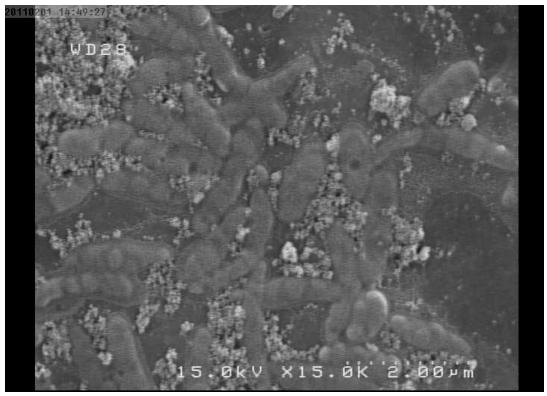


شکل۱- عکس رنگ‌آمیزی گرم از باکتری‌های مگنتوتاکتیک جدا شده از معدن آهن ارجین استان زنجان نشان می دهد که همه‌ی این باکتری‌ها گرم منفی هستند



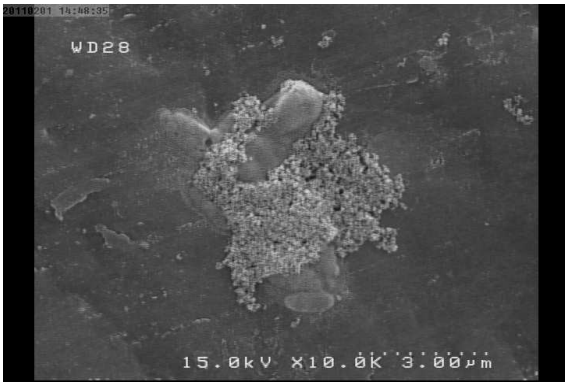
شکل۲- جدول آنالیز کریستالوگرافی اشعه‌ی X (XRD) نشان می‌دهد که نانو ذرات تولید شده توسط باکتری ها، نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) هستند.

الف

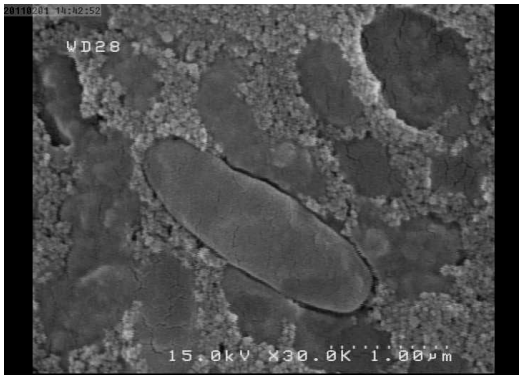


ب

ج



د



شکل۳ (الف، ب، ج و د)- تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM از باکتری های مگنتوتاکتیک جدا شده از معدن آهن ارجین زنجان نشان می‌دهد که باکتری‌های مگنتوتاکتیک جدا شده از معدن آهن ارجین استان زنجان رودو شکل (Rode form) هستند و همچنین تجمعات نانوذرات مگنتیت خارج سلولی در ابعاد ۱۰ نانومتر در اطراف این باکتری ها قابل مشاهده می باشند.

References

Arakaki, A., Nakazawa, H., Nemoto, M., Mori, T. and Matsunaga, T., 2008. Formation of magnetite by bacteria and its application, *Journal of the Royal society Interface*, 5, pp. 977-999.

Blakemore, R.P., Maratea, D. and Wolfe, R.S., 1979. Isolation and Pure Culture of a Freshwater Magnetic Spirillum in Chemically Defined Medium, *Journal of Bacteriology*, **140**(2), pp. 720-729

Brazylinski, D.A. and Frankel, R.B., 2004. Magnetosome formation in prokaryotes, *NATURE review*, 22 microbiology, pp. 217-230

Farzan, F., Shojaosadati, S.A. and Abdul Tehrani, H., 2010 Apreliminary report on the isolation and identification of Magnetotactic bacteria from Iran environment, *Iranain Journal of Biotechnology*, 8, pp. 98-102

Frankel, R.B. and Buseck, P.R., 2000 Magnetite biomineralization and ancient life on Mars, *Chemical Biology*, 4, pp. 171-176

Gao, J., Xie, J., Ding, J., Kang, J., Cheng, H. and Qiu, G., 2006. Extraction and purification of magnetic nanoparticles from strain of Leptospirillum ferriphilum, *Transaction of Nonferrous Metals Society of China*,16, pp. 1417-1420

Heyen U. and Schuler D., 2003. Growth and magnetosome formation by microaerophilic Magnetospirillum strains in a oxygen-controlled fermentor, *Appl Microbiol Biotechnol Springer-Verlag*, 61, pp. 536-544.

Huey, A., Guandong, Z., Cullen, D. and Baker, I., 2008. Synthesis and Characterization of Iron Composite Nanoparticles for Cancertherapy, *Center for Nanomaterials research Dartmouth*, pp. 1-10.

Love Lonnie, J., Yeary Lucas, W., Moon, J.W., Phelps J. and Rondinone Adam, J., 2005. Characterization of Bio-synthesized Magnetic Nanoparticles, *DARPA Biomagnetics program for U.S. dept. of Energy under contract DE-AC05-00OR22725.*

Narayanan Kannan, B. and Sakthivel, N., 2010. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Advance in Colloid and Interface science*,156, pp. 1-13.

Petri-Fink, A., Chastellain, M., Juillerat-Jeabbret, L., Ferrari, A. and Hofmann, H., 2004. Development of functionalized super paramagnetic iron oxide nanoparticles for interaction with human cancer cells, *Biomaterials*, 26, pp. 2685-2694.

Prashant, M., Nisha, K.R. and Sudeh Kumar, Y., 2008 Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications, *Journal of nanopart Res*, 10, pp.507-517.

Schuler, D., 1999 1999. Formation of magnetosomes in Magnetotactic bacteria, *Molec. Microbiol. Biotechnol*, 1, pp79-86

Schuler, D., 2002. The biomineralization of magnetosomes in Magnetospirillum gryphiswaldense, *Springer Int Microbiology*, 5, pp. 209-214

Shamsipor, F., Zamani, A.H. and Ghodsi, R., 2009. Conjugation of Nanoparticles for Monoclonal Antibodies to Super Paramagnetic Iron oxide Detection of HER2/neu antigen on Breast cancer cell lines,*Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 1, pp. 1-31.

Silveira, T.S., Martins, J.L., Silva K.T., Abreu F. and Lins U., 2007. Microscopy studies on uncultivated magnetotactic bacteria, *Modern Research and Educational Topics in Microscopy, FORMATEX*, pp. 111-121.

Weijia, Z., Wen, H. and Xudong Z., 2009. Biosynthesis of iron phosphate nanopowders, *Powder Technology*, 194, pp. 106–108

Yanli, L. Meiying, G., Shunying, D., Kefang, P. and Rongfen, J., 2006. Characterization of magnetotactic bacteria and their magnetosomes isolated from Tieshan iron ore in Hubei provine of China, *Materials science and engineering C*, 26, pp.597-601.