بررسی اثر سیتوتوکسیسیتی نانو ذرات اکسید روی پوشش‌دار شده با کیتوزان توسط سیانوباکتریوم *Aliinostoc* sp. در مقابل سلول‌های سرطانی (Hep G-2)

بهاره نوروزی*[1]، محمد جباری[1]

[1] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱

چکیده

امروزه روش‌های سنتز سبز برای سنتز نانو ذرات به‌منظور جایگزینی روش‌های شیمیایی موردتوجه قرارگرفته است. این مطالعه باهدف بیوسنتز نانو ذرات اکسید روی از عصاره سیانوباکتری و بررسی فعالیت سیتوتوکسیسیتی آن در مقابل سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار انسانی انجام شد. ابتدا نانو ذرات اکسید روی به سه روش مختلف (سوپرناتانت، فیکوسیانین و با کمک پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی) از عصاره سیانوباکتریوم *Aliinostoc* sp. تهیه شدند و به‌منظور پایداری نانو ذرات سنتزشده با کیتوزان پوشش داده شدند. سپس اثر سیتوتوکسیتی این ذرات بر روی سلول‌های سرطانی HepG-2 بررسی شد. آنالیز آماری داده‌های حاصل با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۴) و Excel و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی انجام گردید. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات روی، میزان زنده‌مانی سلول‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که در نمونه‌های ریز پوشانی شده، کمترین میزان زنده‌مانی در ۲۰۰µg/mL و پس‌ازآن در ۱۰۰µg/mL نانو ذرات روی به ترتیب با مقادیر ۳۷/۴۰ و ۴۴/۰۳ درصد و همچنین در نمونه‌های ریز پوشانی نشده، کمترین زنده‌مانی در ۲۰۰µg/mL و پس‌ازآن در ۱۰۰µg/mL نانو ذرات روی به ترتیب با مقادیر ۴۶/۸۰ و ۵۶/۸۳ درصد ملاحظه شد. پوشش دهی نانو ذرات سنتزشده با کیتوزان اثر کشندگی را بیشتر کرد و زندمانی سلول‌های سرطانی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: سیانوباکتری، نانو ذرات اکسید روی، سیتوتوکسیسیتی، سلول سرطانی

* bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مقدمه

در قرن ۲۱، نانوتکنولوژی زمینه تحقیقاتی جدید و نوظهوری را با سنتز موادی با اندازه نانو ایجاد کرده است. نانو ذرات مواد یا ذره‌های هستند که باید حداقل در یک بعد در دامنه اندازه ۱ تا ۱۰۰ نانومتر داشته باشند. نانو ذرات کوچک‌تر نسبت سطح به حجم بالاتر را نشان می‌دهند که این‌یک ویژگی حیاتی برای واکنش‌پذیری کاتالیزوری، هدایت حرارتی، فعالیت ضدمیکروبی، ثبات شیمیایی و عملکرد نوری غیرخطی است. نانو ذرات به خاطر ویژگی‌های منحصربه‌فرد الکترونیکی، نوری، مکانیکی، مغناطیسی و شیمیایی به‌طور قابل‌توجهی متفاوت از مواد حجیم هستند. چنین ویژگی‌هایی در حال حاضر نقش مهمی در تشخیص پزشکی، سیستم‌های داروسازی، کاربردهای درمانی و ژن‌درمانی و مهندسی بافت ایفا می‌کنند (۱, ۲).

نانو ذرات ضدمیکروبی با بسیاری از گونه‌های میکروارگانیسم‌ها مقابله می‌کنند. همچنین استفاده از نانو ذرات ضدمیکروبی بسیار مقرون‌به‌صرفه است. نانو ذرات نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها ضرر کمتری دارند و در برابر شرایط سخت مقاومت بیشتری دارند. نانو ذرات به‌صورت یکنواخت در بافت هدف توزیع می‌شوند (۳). امروزه از جلبک‌ها در سنتز نانو ذرات استفاده می‌کنند. سنتز سبز نانو ذرات روزبه‌روز در حال افزایش است زیرا جلبک‌ها منبع غنی هستند. متابولیت‌های ثانویه، کشت آسان، رشد سریع و مقیاس‌پذیر هستند. در دوران اخیر سنتز سبز نانو ذرات به‌عنوان یک روش ایمن، ساده، پایدار و مقرون‌به‌صرفه توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. در میان طیف متنوع جلبک‌ها، جلبک‌هایی که به‌طور گسترده برای بیوسنتز نانو ذرات موردبررسی قرارگرفته‌اند، سیانوباکتری ها هستند. به دلیل زیست سازگاری، ایمنی و خواص فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد نانو ذرات، نانو ذرات بیوسنتز شده توسط سیانوباکتری ها برای بسیاری از کاربردهای زیست پزشکی شامل ضد باکتری، ضد قارچ، ضدسرطان، فعالیت‌های ضد رسوب، زیست پالایی و زیست حسگر مورداستفاده قرار می‌گیرند (۴).

جدول ۱- انواع توکسین های سیانوباکتری (۵)

توکسین	جنس	تأثیرات طولانی‌مدت سلامتی	تأثیرات سلامتی کوتاه‌مدت
Microcystins	Anabaena, *Aphanocapsa*, *Hapalosphon*, *Microcystis*, Nostoc, *Oscillatoria*, *Planktothrix*	تومور و نارسایی کبد که منجر به مرگ می‌شود	درد گوارشی، التهاب کبد و خونریزی، نارسایی کبد که منجر به مرگ، ذات‌الریه و درمانیت می‌شود
Nodularins	*Nodularia*	مشابه میکروسیستین ها	مشابه میکروسیستین ها
Saxitoxins	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*	ناشناخته	سوزن سوزن شدن، سوزش، بی‌حسی، خواب‌آلودگی، گفتار ناهماهنگ و فلج تنفسی منجر به مرگ می‌شود
Anatoxins	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*	آریتمی قلبی منجر به مرگ	سوزن سوزن شدن، سوزش، بی‌حسی، خواب‌آلودگی، گفتار ناهماهنگ و فلج تنفسی منجر به مرگ می‌شود
Cylindrospermopsin	*Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Umezakia*	بی‌اشتهایی و نارسایی کبد منجر به مرگ	درد گوارشی، التهاب کبد و خونریزی، ذات‌الریه و درماتیت
Lipopolysaccharide	*Aphanizomenon oscillatoria*	ناشناخته	درد گوارشی و درماتیت
Lyngbyatoxins	*Lyngbya*	تومورهای پوستی	درماتیت

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

در میان نانو ذرات، نانو مواد ZnO به دلیل مزایای بسیاری مانند: ۱- نقش اساسی روی در فرآیندهای فیزیولوژیکی ۲- استفاده طولانی‌مدت ۳- سازگاری زیستی ۴-تجزیه‌پذیری زیستی ۵- عامل دار شدن آسان‌تر به دلیل دارا بودن سطح غنی از گروه –OH ۶- سنتز آسان‌تر و ۷- هزینه کم نانو ذرات اکسید روی اغلب به‌عنوان حامل انتقال بیومولکول‌های مختلف (دارو، ژن و غیره) استفاده می‌شوند. همچنین می‌توان از آن‌ها برای درمان بیماری‌های مختلف مانند سرطان عفونت میکروبی، دیابت و بیماری‌های قلبی عروقی استفاده کرد. علاوه براین ZnO-NP ها کاربردهای عالی برای بهبود زخم و مهندسی بافت‌دارند. علاوه بر کاربردهای درمانی، ZnO-NP ها همچنین می‌توانند برای اهداف تشخیصی مفید باشند (۶, ۷).

بسیاری از ویژگی‌های خاص ZnO با این واقعیت تأیید می‌شوند که در بین تمام عناصر گروه ششم جدول تناوبی، انرژی یونیزاسیون برای اکسیژن بالاترین است که به قوی‌ترین رابطه بین Zn (3d) و O (2p) منجر می‌شود. ZnO کاربردهای متعددی دارد و معمولاً در ترکیب لوسیون های ضد آفتاب و کاتالیزورها به دلیل زیست سازگاری زیاد و سمیت کم و اقتصادی استفاده می‌شود.

ZnO همچنین به‌عنوان یک افزودنی در تعداد زیادی از محصولات صنعتی مانند رنگ، لاستیک، لوازم‌آرایشی و پوشش استفاده می‌شود. نانو ساختارهای ZnO برای سلول‌های خورشیدی و همچنین در نمایشگرهای کریستال به کار می‌روند (۸). کیتوزان یک پلی ساکارید طبیعی فراوان است که به علت خواص بسیار مفید آن به‌عنوان یک حامل نانو ذرات شناخته‌شده است. در مقایسه با پلیمرهای مصنوعی، کیتوزان به‌دست‌آمده توسط استیل زایی کیتین به دلیل زیست سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و پایداری بهتر و سمیت کمتر برای تشکیل نانو ژل‌ها مناسب است (۹).

سرطان کبد سومین علت مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان است. سرطان کبد تأثیر چشمگیری بر زندگی ما دارد و یک نگرانی مهم برای سلامت عمومی است. HepG-2 یک رده سلولی محبوب کبدی است. در طیف وسیعی از مطالعات از انکوژنز گرفته تا سمیت سلولی مواد روی کبد استفاده می‌شود (۱۰).

در این بررسی ابتدا با سه روش مختلف، نانوذره از سویه سیانوباکتری تهیه شد. سپس نانوذره سنتزشده، توسط چهار تکنیک مختلف نشان ویژه سازی انجام گرفت و درنهایت باهدف بررسی فعالیت ضد سیتوتوکسیسیتی، فعالیت زیستی نانو ذرات سنتزشده در مقابل سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار انسانی Hep G-2 بررسی شد. در این بررسی هر روشی که دارای بیشترین کارایی جهت سنتز نانوذره بود انتخاب و در مراحل بعدی موردبررسی گرفت. با توجه به خواص نانو ذرات سنتزشده، هدف از این تحقیق تولید سبز نانو ذرات اکسید روی توسط سویه سیانوباکتری های بومی ایران است و کاربرد نانو بیوتکنولوژی ذرات سنتزشده برای از بین بردن سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار انسانی Hep G-2 است. استفاده از این فنّاوری در ایران توسط سویه *Aliinostoc* sp. برای اولین بار می‌تواند گامی مهم در معرفی اهمیت تولید و سنتز سبز نانو ذرات سیانوباکتری ها قلمداد گردد.

مواد و روش‌ها

کشت سویه سیانوباکتری *Aliinostoc* sp.

ابتدا سویه سیانوباکتری *Aliinostoc* sp. از مجموعه کشت سیانوباکتری های Cyanobacteria culture collection (CCC) کشت و از خالص و آکزنیک بودن کشت‌ها اطمینان حاصل شد. کشت نمونه‌های خالص‌شده در محیط کشت مایع $BG11_0$ در اتاقک رشد با دمای ۲ ± ۲۸ °C و روشنایی ممتد فلورسنت با شدت ۳۰۰ میکروانشتین در مترمربع در ثانیه برای ۳۰ روز انجام شد (۱۱) (۱۲, ۱۳).

بیوسنتز نانو ذرات اکسید روی

روش اول: استفاده از سوپرناتانت

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

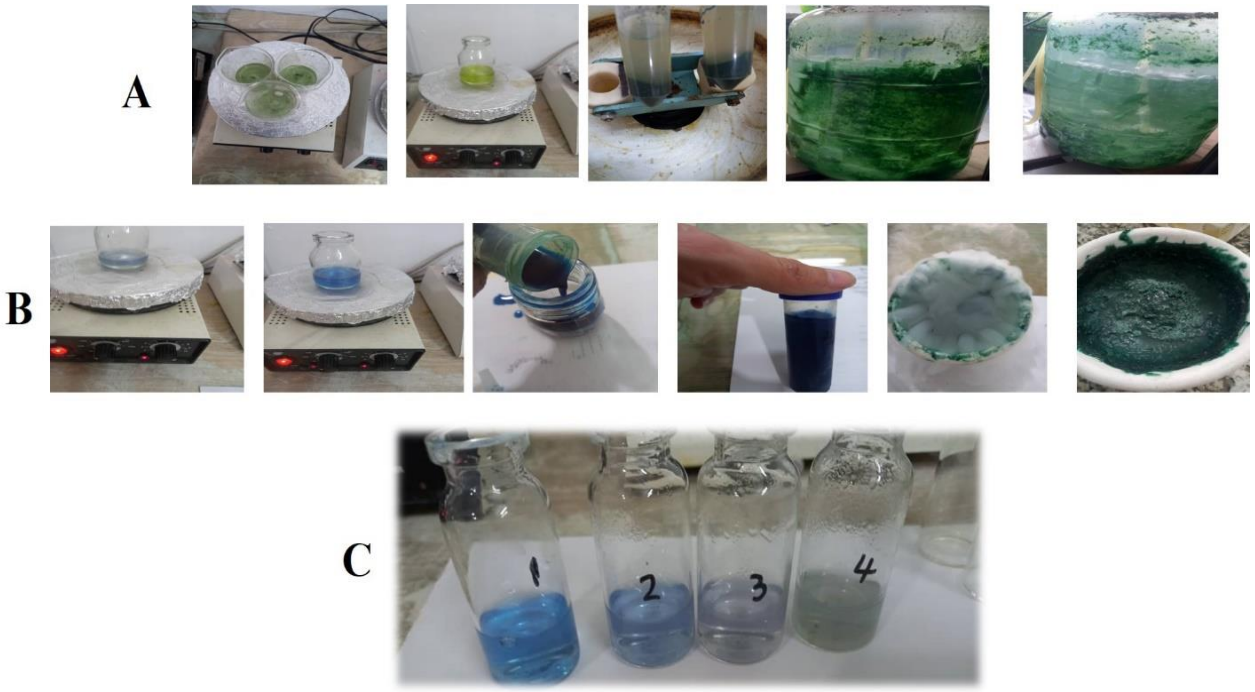
از کشت‌های فاز لگاریتمی ۱۰۰ سی‌سی برداشته شد و داخل دو عدد فالکن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس با دور rpm ۵۰۰۰ و ۵ دقیقه، سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به‌دست‌آمده (۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) به یک میلی مولار محلول نیترات روی هگزا هیدرات [$Zn(NO_3)2.6H_2O$] در غلظت‌های مختلف اضافه شد (۱۴).

روش دوم: بیوسنتز نانوذره اکسید روی با استفاده از رنگدانه فیکوسیانین

برای جداسازی فیکوسیانین، ۵۰۰ml از محیط کشت ۱۴ روزه در rpm ۴۰۰۰ سانتریفیوژ و رسوب حاصله با بافر فسفات ۷/۲ pH شسته و لیوفیلیزه شد. دو گرم از بیومس فریزدرای شده در ۵۰۰ml بافر سدیم فسفات (۰/۱ مولار، ۷/۲ pH) معلق شد. فیکوبیلی‌پروتئین‌ها با تکرار روش فریز کردن در C° ۲۰- و دوباره ذوب کردن در دمای اتاق و تاریکی استخراج شد. مخلوط در g× ۱۰۰۰۰ برای سی دقیقه در C°۵ سانتریفیوژ شد و محتوای فیکوسیانین جمع‌آوری شد. خلوص رنگدانه با استفاده از نسبت ۶۲۰/۲۸۰ سنجیده و مخلوط حاصل فریزدرای گردید. بیوسنتز نانو ذرات اکسید روی با حل کردن ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اکسید روی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول نیترات روی هگزا هیدرات [$Zn(NO_3)2.6H_2O$] یک میلی مولار و pH ۷ انجام شد. سپس مخلوط حاصل در C°۲۵ نور فلورسنت قرار گرفت و طیف‌سنجی در فواصل ۱۲ ساعت انجام شد (۱۵).

روش سوم: بیوسنتز نانوذره اکسید روی با استفاده از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی

بیومس سویه در فاز لگاریتمی، به کمک سانتریفیوژ در rpm ۳۰۰۰ جداسازی شد سوپرناتانت برای جداسازی پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی استفاده گردید. حجم مساوی با سوپرناتانت، اتانول ۹۵٪ اضافه شد و در فریزر C° ۲۰- در کل شب قرار گرفت. پلی‌ساکاریدها رسوب شده و به کمک سانتریفیوژ در سرعت rpm ۱۰۰۰۰ جداسازی شد. رسوب حاصل فریزدرای گردید و کل وزن آن محاسبه شد. سپس ۱/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پلی ساکارید خشک‌شده در ۳ml محلول نیترات روی هگزا هیدرات [$Zn(NO_3)2.6H_2O$] یک میلی مولار و pH ۷ معلق شد و سپس در دو لوله‌آزمایش تقسیم و محلول به‌دست‌آمده در C°۲۵ و نور فلورسنت قرار گرفت. سپس طیف‌سنجی در فواصل ۱۲ ساعت انجام شد (۱۶).



[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل ۱- سنتز نانوذره نقره با سه روش مختلف A: با استفاده از سوپرناتانت، B: با استفاده از رنگدانه فیکوسیانین، C: با استفاده از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی.

طیف‌سنجی نانو ذرات

مخلوط‌های تلقیح شده روی شیکر بین ۲۸°C-۳۰ به‌طور ممتد شیک شد و نمونه‌برداری در دوره‌های زمانی مختلف (۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) انجام گرفت. یک میلی‌لیتر محلول مایع در هر دوازده ساعت برداشت شد. بعد از انجام سانتریفیوژ، طیف‌سنجی در طول‌موج‌های ۳۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر انجام شد. پیک‌های موجود بین طیف‌های ۴۰۰ و ۴۵۰ نانومتر به‌عنوان نانوذره تولیدشده محسوب شدند (۱۵).

پایدارسازی و پوشش‌دار کردن نانوذره تولیدشده

نانو ذرات اکسید روی پایدار شده با کیتوزان با جرم مولکولی بالا از طریق احیای شیمیایی محلول نیترات روی هگزا هیدرات [$Zn(NO_3)2.6H_2O$] تولید شد. به‌این‌ترتیب که دو میلی‌لیتر محلول اسیدی کیتوزان ۰/۷ درصد وزنی حجمی (با حل کردن ۳۵ میلی‌گرم پلی ساکارید در ۵ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۰/۵ درصد حجمی) به یک میلی‌لیتر نانوذره تولیدشده اضافه و برای یک ساعت مخلوط شد. نیم ساعت بعد محلول آبی سه‌ساعته $NaBH_4$ (دو میلی‌لیتر، ۵۰ میلی مول بر لیتر) قطره‌قطره اضافه گردید. هم زدن تقریباً دو ساعت ادامه یافت تا واکنش به‌طور کامل انجام شود و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (۱۷).

تخمین و نشان ویژه سازی نانوذره اکسید روی آنالیز میکروسکوپ الکترونی ترنسمیژن (TEM)

تجزیه‌وتحلیل TEM با استفاده از ۳ میکرولیتر از محلول نمونه قرار داده‌شده بر روی شبکه‌های مسی با پوشش کربن انجام شد. یک‌لایه نازک از نمونه روی شبکه ساخته شد و نمونه‌های اضافی با استفاده از یک مخروط کاغذ لکه‌برداری برداشته شد. به‌طور متوالی در یک جعبه توری نگهداری و تصاویر TEM تهیه گردید. ولتاژ ۲۰۰ Kv مورداستفاده قرار گرفت. اندازه میانگین نانو ذرات اکسید روی با اندازه‌گیری حداقل ۱۰۰ ذره تعیین شد (۱۸).

طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FT-IR)

تغییرات گروه‌های عاملی متصل به سطح نانو ذرات روی با یک طیف‌سنج FTIR شناسایی شدند. نانو ذرات خشک‌شده با بروماید پتاسیم به نسبت ۱:۱۰۰ مخلوط شدند. نمونه ۱۰۰ میکرو لیتری در آنالایزر بازتاب کلی ضعیف قرار داده شد. محلول نانو ذرات اکسید روی توسط ATR-FTIR آنالیز شد. طیف پرتوهای IR در طول ۴۰۰۰-۴۰۰ سانتی‌متر باحالت بازتاب منتشر در وضوح $4\ cm^{-1}$ اسکن شد (۱۲, ۱۹).

آزمون توزیع اندازه ذرات (DLS)

DLS برای بررسی اندازه هیدرودینامیکی، پراکندگی چندگانه و تجمع نانو ذرات روی استفاده شد. برای اندازه‌گیری توزیع اندازه نانو ذرات روی سنتزشده از یک سیستم نانو زتاسایزر (Malvern Instruments) استفاده گردید(۲۰, ۲۱).

آزمون پتانسیل زتا

پتانسیل زتا نانو ذرات روی بیوسنتز شده با قرار دادن ۲ میلی‌لیتر از نمونه‌ها در یک کووت پلاستیکی شفاف چهاروجهی در دستگاه زتا سایزر در دمای ۲۵°C تعیین شد. اندازه‌گیری مستقیماً در سلول زتا یک‌بارمصرف شفاف انجام گرفت (۲۲).

آزمون سیتوتوکسیسیتی در مقابل Hep G-2 (سلول‌های سرطانی هپاتوسلولار انسانی Hep G-2)

برای تعیین سیتوتوکسیتی سلول‌های سرطانی Hep G-2 کشت داده شد. سپس به‌وسیله سمپلر سلولی داخل باکس‌های ۹۶ تایی ریخته شد. سپس نانو ذرات اکسید روی پوشش‌دار شده را داخل آن‌ها ریخته و رقت سازی انجام گرفت و داخل انکوباتور CO_2 دار به مدت دو روز قرار گرفت. بعد از دو

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

روز داخل پلیت ریدر گذاشته شد که بر اساس جذب نور سلولی آنالیزها انجام شد (۲۳).

روش‌های آماری

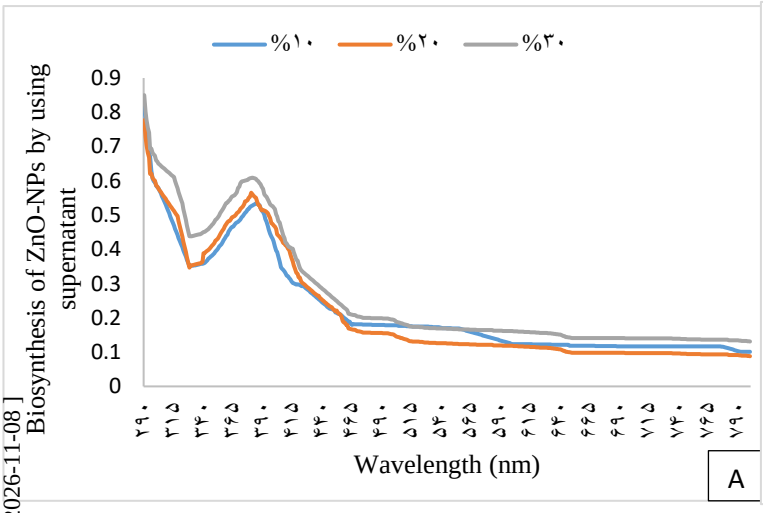
آنالیزهای آماری داده‌های حاصل از هر آزمایش با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۴) و Excel انجام شد. تمام داده‌ها حاصل از نتایج سه تکرار بود. تفاوت معنی‌دار بین عوامل اندازه‌گیری شده با آنالیز واریانس یک‌طرفه با حدود اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام گردید و نتایج مربوط به مقایسه‌ها به‌صورت نمودار با برنامه Excel نشان داده شد.

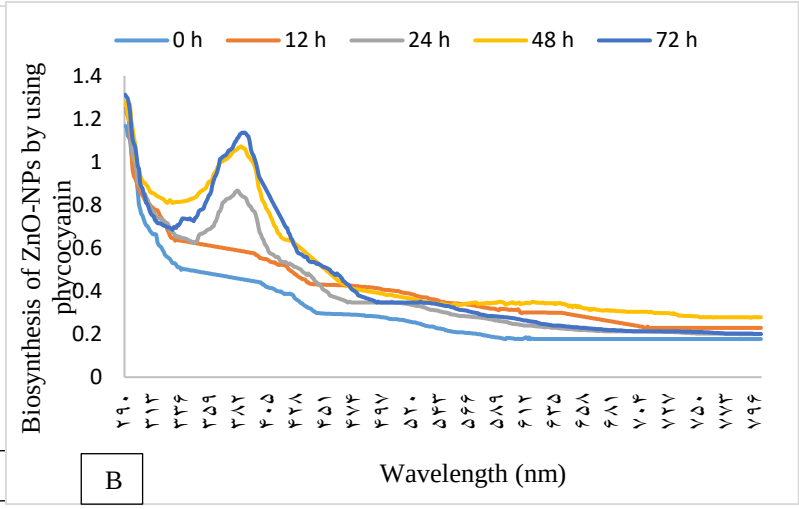
نتایج

نتایج مقایسه طیف‌های جذبی نانو ذرات روی بیوسنتز شده توسط Aliinostoc sp. با روش‌های سوپرناتانت، فیکوسیانین و پلی ساکارید خارج سلولی به ترتیب در شکل ۲ ارائه‌شده است. مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش سوپرناتانت در مولاریته های مختلف نشان داد که برای هر سه نمونه مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر برای نانو ذرات اکسید روی رخ‌داده است.

مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش فیکوسیانین در زمان‌های مختلف نشان داد که برای تمامی نمونه‌ها، مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر برای نانو ذرات اکسید روی رخ‌داده است. با توجه به اینکه نانو ذرات اکسید روی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر جذب نور دارند، در مطالعه حاضر با استناد بر میزان جذب‌های به‌دست‌آمده، تولید نانو ذرات اکسید روی توسط فیکوسیانین تأیید شد.

مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش پلی ساکارید خارج سلولی در زمان‌های مختلف نشان داد که برای تمامی نمونه‌ها، مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر برای نانو ذرات اکسید روی رخ‌داده است. با توجه به اینکه نانو ذرات اکسید روی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر جذب نور دارند، در مطالعه حاضر با استناد بر میزان جذب‌های به‌دست‌آمده، تولید نانو ذرات اکسید روی توسط پلی ساکارید خارج سلولی تأیید شد.



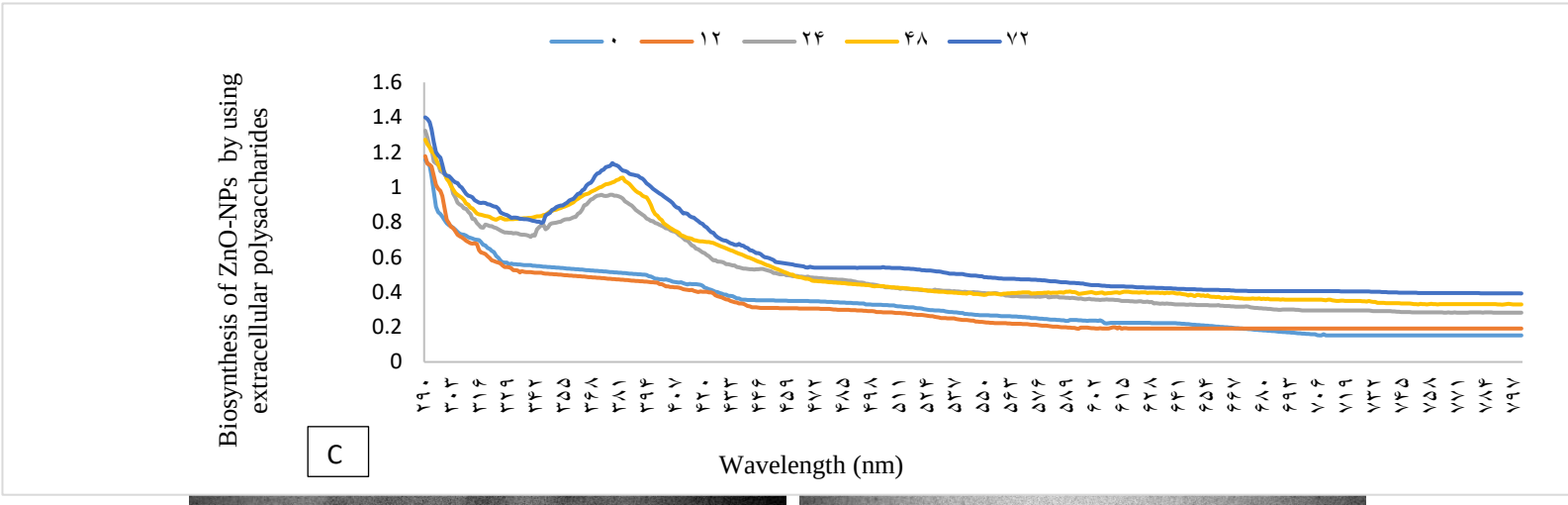


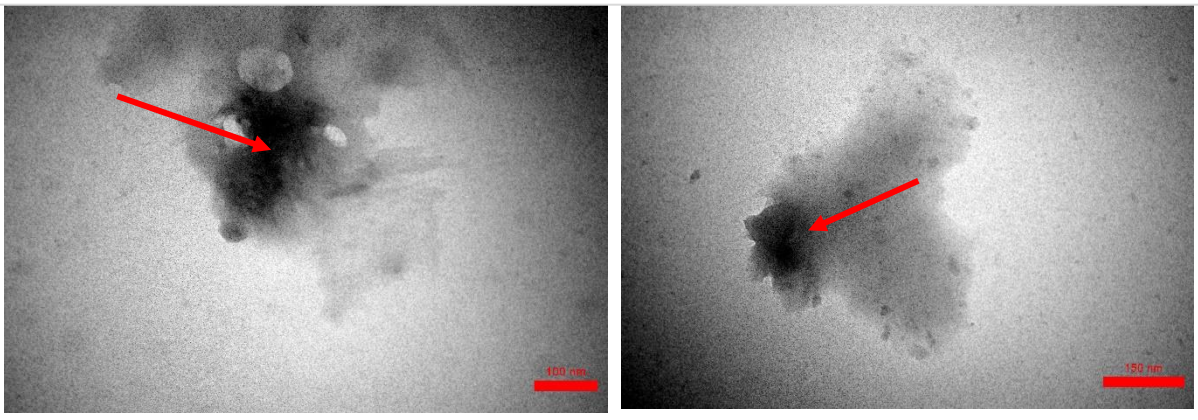
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل ۲-A. مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش سوپرناتانت در درصدهای مختلف B. مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش فیکوسیانین در ساعت‌های مختلف C. مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش پلی ساکارید خارج سلولی در ساعت‌های مختلف.

نتایج بررسی نانو ذرات اکسید روی ریز پوشانی شده با کیتوزان توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

نتایج بررسی نانو ذرات اکسید روی ریز پوشانی شده با کیتوزان توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری در شکل‌های زیر نشان داده‌شده است. نانو ذرات اکسید روی پوشش دهی شده به‌صورت کره‌های به هم چسبیده با ابعاد حدودی ۶۰۰-۷۰۰ نانومتر ملاحظه شدند.





(a) (b)

شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه‌های نانو ذرات اکسید روی (a) و (b): نانوذره‌های به هم چسبیده با پوشش کیتوزان با ابعاد حدود ۵۰۰-۶۰۰ نانومتر

نتایج اندازه ذرات و پتانسیل زتا

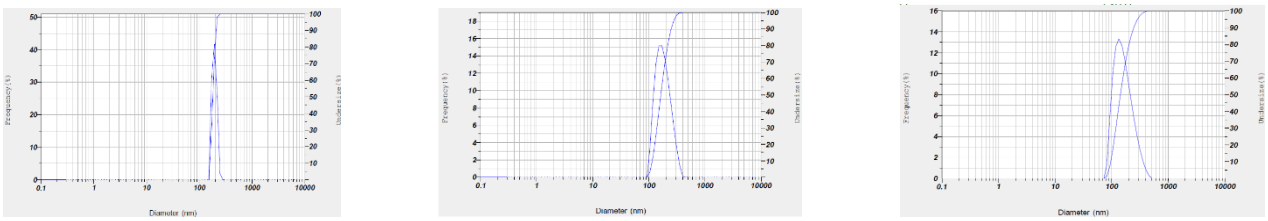
میانگین اندازه نانو ذرات اکسید روی تولیدشده با روش‌های مختلف برحسب نانومتر و شاخص چند پراکندگی (PI) آن‌ها در جداول ۲ و ۳ و شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که نمونه‌های سوپرناتانت و پلی ساکارید خارج سلولی، به ترتیب با مقادیر ۱۵۹/۹ و ۲۰۶/۲ نانومتر دارای

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین میانگین اندازه ذرات بودند. همچنین نمونه‌های سوپرناتانت و فیکوسیانین، به ترتیب با مقادیر ۰/۴۴۴ و ۰/۳۷۵ دارای بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین PI بودند.

جدول ۲- نتایج اندازه نانو ذرات اکسید روی تولیدشده با روش‌های مختلف

نمونه	میانگین اندازه نانو ذرات (نانومتر)	PI
سوپرناتانت	۱۵۹/۹c	۰/۴۴۴a
فیکوسیانین c	۱۸۹/۹b	۰/۳۷۵c
پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی	۲۰۶/۲a	۰/۴۳۰b



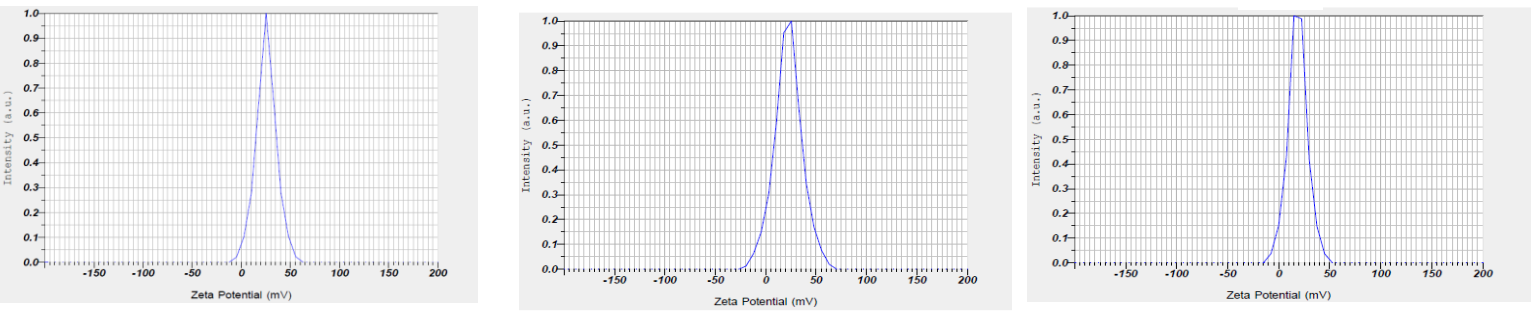
C B A

شکل ٤-A-اندازه ذرات نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش سوپرناتانت؛ B - اندازه ذرات نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش فیکوسیانین؛ C - اندازه ذرات نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش پلی ساکارید خارج سلولی.

میانگین پتانسیل زتای نانو ذرات اکسید روی تولیدشده با روش‌های مختلف برحسب میلی ولت در جدول ۳ و شکل ۵ ارائه‌شده است. نتایج نشان داد که نمونه‌های سوپرناتانت و پلی ساکارید خارج سلولی، به ترتیب با مقادیر ۲۵/۴ و ۱۸/۷ میلی ولت دارای بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین پتانسیل زتا بودند.

جدول ۳ - نتایج اندازه نانو ذرات اکسید روی تولیدشده با روش‌های مختلف

نمونه	پتانسیل زتا (mV)
سوپرناتانت	۲۵/۴ a
فیکوسیانین c	۲۲/۴ b
پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی	۱۸/۷ c



C B A

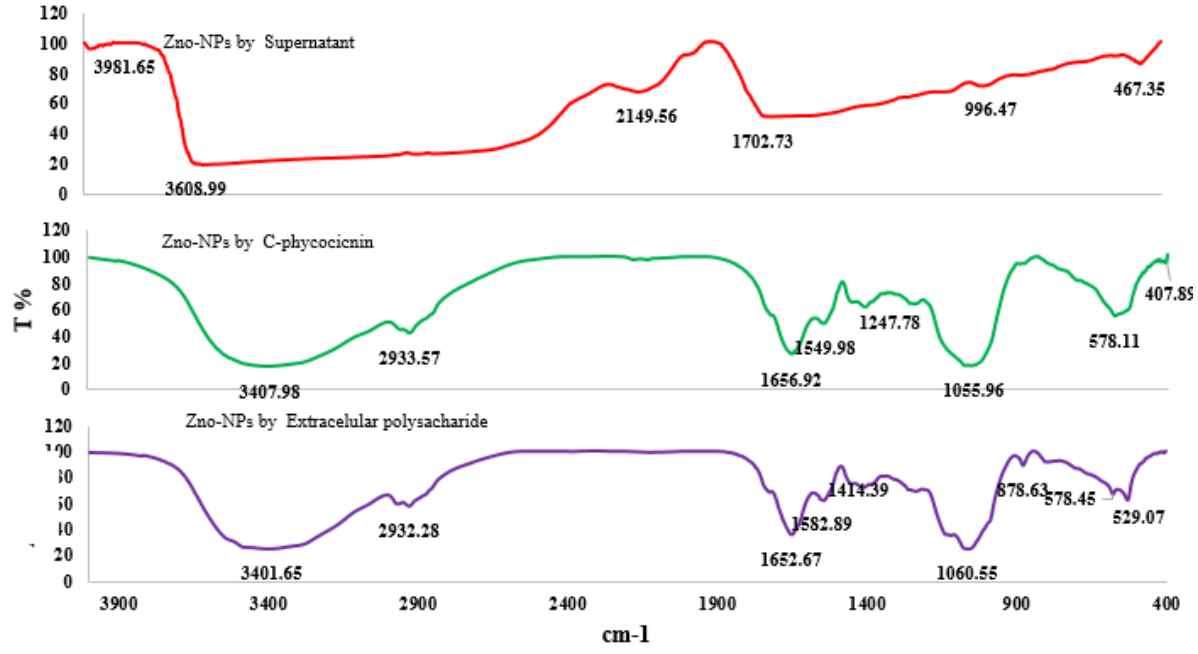
.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل ۵-A: پتانسیل زتای نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش پلی ساکارید خارج سلولی B:پتانسیل زتای نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش فیکوسیانین C :پتانسیل زتای نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش سوپرناتانت

نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FT-IR)

طیف FT-IR نانو ذرات اکسید روی در شکل ۶ ارائه‌شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود پیک در محدوده ۳۲۰۰ تا ۳۷۰۰ مربوط به ارتعاش کششی پیوند OH است که در نمونه‌های سوپرناتانت، فیکوسیانین و پلی ساکارید خارج سلولی به ترتیب در اعداد موجی ۳۶۰۸/۹۹، ۳۴۰۷/۹۸ و ۳۴۰۱/۶۵ سانتی‌متر معکوس خود را نشان داده است که ناشی از حضور رطوبت در سامانه از پیش یا به هنگام گرفتن طیف است. پیک دوم در عدد موجی ۴۶۵/۳۷ سانتی‌متر معکوس در نمونه سوپرناتانت، عدد موجی ۵۷۸/۱۱ و ۴۰۷/۸۹ سانتی‌متر معکوس در نمونه فیکوسیانین و پیک دوم در عدد موجی ۵۲۹/۰۷ و ۵۷۸/۴۵ سانتی‌متر معکوس در نمونه پلی ساکارید خارج سلولی ناشی از ارتعاش کششی لاتیس اکسید روی است. در نمونه سوپرناتانت پیک‌های دیگر در عدد موجی ۲۱۴۹/۵۶ و ۱۷۰۲/۷۳ سانتی‌متر معکوس در نمونه فیکوسیانین، در عدد موجی ۱۶۵۶/۹۲، ۱۵۴۹/۹۸، ۱۲۴۷/۷۸ و ۱۰۵۵/۹۶ سانتی‌متر معکوس در نمونه‌های پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی و در عدد موجی ۱۰۶۰/۵۵، ۱۴۱۴/۳۹، ۱۶۵۲/۶۷ و ۱۵۸۲/۸۹ سانتی‌متر معکوس همگی مربوط به مواد سازنده اکسید روی هستند (به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی حلقه آروماتیک، ارتعاش کششی گروه C-O، ارتعاش خمشی پیوند CH_2 و CH هستند) و می‌توان به پروتئین نسبت داده شوند.



شکل ٦- مقایسه طیف FT-IR نانو ذرات اکسید روی تولیدشده با روش‌های سوپرناتانت، فیکوسیانین c و پلی ساکارید خارج سلولی

جدول ۵- نتایج حاصل از گروه‌های عاملی حاصل از طیف FTIR

سوپرناتانت	فیکوسیانین	پلی ساکارید خارج سلولی

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

گروه عاملی	عدد موجی (cm^{-1})	گروه عاملی	عدد موجی (cm^{-1})	گروه عاملی	عدد موجی (cm^{-1})
ارتعاش کششی پیوند OH ناشی از حضور رطوبت در سامانه از پیش یا به هنگام گرفتن طیف	۳۶۰۸/۹۹	ارتعاش کششی پیوند OH ناشی از حضور رطوبت در سامانه از پیش یا به هنگام گرفتن طیف	۳۴۰۷/۹۸	ارتعاش کششی پیوند OH ناشی از حضور رطوبت در سامانه از پیش یا به هنگام گرفتن طیف	۳۴۰۱/۶۵
ارتعاش کششی لاتیس اکسید روی	۴۶۵/۳۷	ارتعاش کششی لاتیس اکسید روی	۴۰۷/۸۹، ۵۷۸/۱۱	ارتعاش کششی لاتیس اکسید روی	۵۷۸/۴۵، ۵۲۹/۰۷
ارتعاش کششی حلقه آروماتیک، ارتعاش کششی گروه C-O، ارتعاش خمشی پیوند CH_2 و CH_3 هستند	۲۱۴۹/۵۶، ۱۷۰۲/۷۳	ارتعاش کششی حلقه آروماتیک، ارتعاش کششی گروه C-O، ارتعاش خمشی پیوند CH_2 و CH_3 هستند	۱۶۵۶/۹۲، ۱۵۴۹/۹۸، ۱۲۴۷/۷۸ و ۱۰۵۵/۹۶	ارتعاش کششی حلقه آروماتیک، ارتعاش کششی گروه C-O، ارتعاش خمشی پیوند CH_2 و CH_3 هستند	۱۰۶۰/۵۵، ۱۴۱۴/۳۹، ۱۶۵۲/۶۷ و ۱۵۸۲/۸۹

نتایج آزمایش‌های سیتوتوکسیتی

نتایج آزمایش‌های سیتوتوکسیتی نانو ذرات اکسید روی ریز پوشانی شده و ریز پوشانی نشده در جدول ۶ ارائه‌شده است. نتایج بیانگر این مطلب است که با افزایش غلظت نانو ذرات روی، میزان زنده‌مانی سلول‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

در نمونه‌های ریز پوشانی شده، کمترین میزان زنده‌مانی در ۲۰۰ µg/mL و پس‌ازآن در ۱۰۰ µg/mL نانو ذرات روی به ترتیب با مقادیر ۳۷/۴۰ و ۴۴/۰۳ درصد و همچنین در نمونه‌های ریز پوشانی نشده، کمترین میزان زنده‌مانی در ۲۰۰ µg/mL و پس‌ازآن در ۱۰۰ µg/mL نانو ذرات روی به ترتیب با مقادیر ۴۶/۸۰ و ۵۶/۸۳ درصد ملاحظه شد. از طرفی می‌توان بیان نمود که در تمامی غلظت‌های موردبررسی، سیتوتوکسیتی نمونه‌های ریز پوشانی شده بیشتر از نمونه‌های ریز پوشانی نشده بود.

جدول ٦- نتایج آزمایش‌های سیتوتوکسیتی نانو ذرات اکسید روی ریز پوشانی شده و ریز پوشانی نشده

غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید روی (µg/mL)	درصد زنده‌مانی (٪)	
	پوشش‌دار نشده	پوشش‌دار شده
۲۰۰	۴۶/۸ ±۰/۱ (a)	۳۷/۴۰± ۵/۱ (a)
۱۰۰	۵۶/۸۳± ۴/۲(b)	۴۴/۰۳ ±۳/۲ (b)
۵۰	۷۷/۷۳± ۲/۱(c)	۵۵/۳۸ ±۵/۱(c)
۲۵	۷۹/۹۰±۲/۷ (d)	۶۱/۵۴±۴/۲(d)
۱۲/۵	۸۳/۵۰±۳ (d)	۶۵/۵۸±۷/۵(d)
۶/۲۵	۹۰/۲۳±۳/۲ (e)	۶۹/۶۸±۳/۱۰(d)
۳/۱۲۵	۹۲/۰۳±۵/۴ (e)	۷۲/۰۸±۸/۱۱(e)
۱/۵۶	۹۳/۷۷±۹/۸ (e)	۷۴/۳۱±۷/۱۲(e)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

۸۱/۹۱±۴/۷۸(f)	۹۶/۸۳±۱۰ (e)	۰/۷۸
۸۹/۱۴±۹/۱۱(f)	۱۰۰±۱ (e)	۰/۳۹
۹۶/۸۷±۶/۱۱(g)	۱۰۰±۱۱/۰۸(e)	۰/۱۹
۱۰۰±۲/۴(g)	۱۰۰±۱۳/۲(e)	۰

بحث

سنتز سبز نانو ذرات یک روش سازگاربامحیط‌زیست برای تولید نانو ذرات با خواص بیولوژیک، فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد است. امروزه روش‌های سنتز بیولوژیک دارای معایب سنتز فیزیکی و شیمیایی شامل بازده سمی، زمان و مصرف انرژی و هزینه بالا است. در میان میکروارگانیسم‌های مختلف، سیانوباکتری ها به دلیل توانایی در انباشت فلزات سنگین از محیط‌زیست و همچنین تولید انواع ترکیبات زیست فعال مانند رنگدانه ها و آنزیم‌ها، کاندیدای مناسبی به‌عنوان عوامل احیاکننده و تثبیت‌کننده هستند. درواقع سنتز سبز نانو ذرات توسط سیانوباکتری ها به‌عنوان یک پروتکل ایمن، ساده، پایدار، مقرون‌به‌صرفه و سازگاربامحیط‌زیست برای کاربردهای زیست پزشکی توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. استفاده از روش‌های شیمیایی برای تولید نانو ذرات به دلیل مضرات بالا توجه دانشمندان را به روش‌های مقرون به‌صرفه‌تر، زیست سازگار و ایمن برای سنتز نانو مواد معطوف کرده است. روش‌های سنتز سبز امکان ساخت نانو ذرات با اشکال مختلف و گوناگون را می‌دهد. در این روش برای تولید نانو ذات از باکتری‌ها، قارچ‌ها و آنزیم‌ها استفاده می‌شود. از سیانوباکتری‌ها به دلیل سرعت رشد برای سنتز ذرات در مقیاس نانو استفاده می‌شود. در این میان متابولیت‌های ثانویه سنتزشده توسط سیانوباکتری ها باقابلیت احیای فلزات و اکسید فلزات به‌صورت داخل و خارج سلولی بسیار قابل‌توجه هستند و دارای پتانسیل ضد باکتری، ضد قارچ، ضد جلبک، ضدسرطان و فعالیت‌های فتوکاتالیستی هستند.(۲۴)

در یک تحقیق از LSPR (طیف‌سنجی رزونانس پلاسمون سطحی موضعی) برای تشخیص مولکول‌های شیمیایی استفاده شد که در آن پلاسمون سطحی فلزات اندازه‌گیری می‌شود. در مطالعه حاضر، با استناد بر میزان جذب‌های به‌دست‌آمده، تولید نانو ذرات اکسید روی توسط سوپرناتانت تأیید شد در تحقیق حاضر میزان جذب در نمونه با غلظت ۳ میلی مولار به‌طور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های دیگر بود. طبق نظریه‌هایی که وجود دارد تنها یک باند SPR در طیف جذب نانو ذرات کروی انتظار می‌رود درحالی‌که ذرات ناهمسان گرد می‌توانند دو یا چند باند SPR ایجاد کنند و این باند همچنین به دیگر مولکول‌های روی سطح نیز بستگی دارد و هرچقدر ذرات بزرگ‌تری تشکیل شود طول‌موج‌های بلندتری نیز تشکیل می‌شود (۲۵).

مقایسه طیف جذبی نانو ذرات اکسید روی تهیه‌شده به روش فیکوسیانین در زمان‌های مختلف نشان داد که برای تمامی نمونه‌ها، مشخصه باند جذب تشدید پلاسمون سطحی در طول‌موج حدوداً ۳۸۰ نانومتر برای نانو ذرات اکسید روی رخ‌داده است که نشان می‌دهد عصاره سیانوباکتریایی *Aliinostoc* sp. مسئول سنتز نانو ذرات اکسید روی هست. در تحقیق حاضر میزان جذب با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که میزان جذب در ۷۲ ساعت به‌طور معنی‌داری بالاتر از زمان‌های دیگر بود.

در مطالعه حاضر، با استناد بر میزان جذب‌های به‌دست‌آمده تولید نانو ذرات اکسید روی توسط پلی ساکارید خارج سلولی تأیید شد. تحقیق حاضر میزان جذب با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که میزان جذب در ۷۲ ساعت به‌طور معنی‌داری بالاتر از زمان‌های دیگر بود. تفاوت در پتانسیل سنتز نانو ذرات سیانوباکتری ها ممکن است به دلیل تفاوت‌های کمی و کیفی در مواد پروتئینی در عصاره‌های سلولی باشد. از نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌توان گفت نانو ذرات به‌دست‌آمده کروی بودند و با افزایش زمان و غلظت عصاره اندازه بزرگ‌تری داشتند که مطابق با نتایج به‌دست‌آمده از مورفولوژی نانو ذرات حاصل از SEM بود.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

آنالیز DLS روشی فیزیکی برای تعیین توزیع ذرات است. در این روش پس از برهمکنش نور لیزر با ذره، پراکندگی و تغییرات شدت نور برحسب حرکات براونی ذرات، ارزیابی‌شده و بر اساس آن توزیع ابعاد ذرات محاسبه می‌گردد. PDI نشان‌دهنده همگنی اندازه ذرات است هرچه مقدار پراکندگی بالاتر باشد، نشان‌دهنده یکنواختی کمتر اندازه ذرات است که علاوه براین، یک نمونه با توزیع اندازه بسیار گسترده دارای مقدار PDI بالاتر از ۰/۷ برای تجزیه‌وتحلیل DLS مناسب نیست. در مطالعه ما میزان PDI تمامی نمونه‌ها مقدار پایینی داشت که نشان‌دهنده پایداری کلی و همگنی خوب است.

نتایج نشان داد که نمونه‌های سوپرناتانت و Ex پلی ساکارید خارج سلولی، به ترتیب دارای کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین میانگین اندازه ذرات بودند. همچنین نمونه‌های سوپرناتانت و فیکوسیانین به ترتیب دارای بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین PI بودند. نتایج نشان داد که نمونه‌های سوپرناتانت و پلی ساکارید خارج سلولی، به ترتیب دارای بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین پتانسیل زتا بودند.

نتایج طیف‌سنجی FTIR به‌دست‌آمده به سه روش سوپرناتانت، فیکوسیانین و با استفاده از پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی به دست آمد. داده‌های FTIR بر اساس Kanipandian و همکاران (۲۰۱۴) آنالیز شدند. تفاوت اندکی درشدت پیک وجود دارد که به دلیل تفاوت در تعداد گروه‌های عاملی و اتم‌های تشکیل‌دهنده هر طیف است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیک در محدوده ۳۲۰۰ تا ۳۷۰۰ مربوط به ارتعاش کششی پیوند OH است که در نمونه‌های سوپرناتانت، فیکوسیانین و پلی ساکارید خارج سلولی به ترتیب در اعداد موجی ۳۶۰۸/۹۹، ۳۴۰۷/۹۸ و ۳۴۰۱/۶۵ سانتی‌متر معکوس خود را نشان داده است که ناشی از حضور رطوبت در سامانه از پیش یا به هنگام گرفتن طیف است(۲۶). پیک دوم در عدد موجی ۴۶۵/۳۷ سانتی‌متر معکوس در نمونه سوپرناتانت، عدد موجی ۵۷۸/۱۱ و ۴۰۷/۸۹ سانتی‌متر معکوس در نمونه فیکوسیانین و پیک دوم در عدد موجی ۵۲۹/۰۷ و ۵۷۸/۴۵ سانتی‌متر معکوس در نمونه پلی ساکارید خارج سلولی، ناشی از ارتعاش کششی لاتیس اکسید روی است. در نمونه سوپرناتانت، پیک‌های دیگر در عدد موجی ۲۱۴۹/۵۶، ۱۷۰۲/۷۳ سانتی‌متر معکوس، در نمونه فیکوسیانین، پیک‌های دیگر در عدد موجی ۱۶۵۶/۹۲، ۱۵۴۹/۹۸، ۱۲۴۷/۷۸ و ۱۰۵۵/۹۶ سانتی‌متر معکوس، در نمونه‌های پلی ساکارید خارج سلولی، پیک‌های دیگر در عدد موجی ۱۰۶۰/۵۵، ۱۴۱۴/۳۹، ۱۶۵۲/۶۷ و ۱۵۸۲/۸۹ سانتی‌متر معکوس همگی مربوط به مواد سازنده اکسید روی هستند (به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی حلقه آروماتیک، ارتعاش کششی گروه C-O، ارتعاش خمشی پیوند CH_2 و CH_3 هستند) و می‌توان به پروتئین نسبت داده شوند. چندین گزارش رویکرد سنتز نانو ذرات را از زیست‌توده سلولی فیلتر شده را توصیف نموده‌اند که در این روش، زیست‌توده‌های فعال نظیر پروتئین‌ها و آنزیم‌های موجود در فیلتراسیون سلول‌ها، نقش مهمی در ساخت بیولوژیک و تثبیت نانو ذرات دارند.

در مطالعه Minhas و همکاران (۲۰۲۳) بیوسنتز نانو ذرات اکسید روی باواسطه سیانوباکتری ها با استفاده از *Nostoc* sp. انجام شد. نتایج طیف‌سنجی FTIR نشان داد که عصاره *Nostoc* sp. حاوی ترکیبات آلی است که به‌عنوان عوامل تثبیت‌کننده، پوشاننده و کاهش‌دهنده برای نانو ذرات اکسید روی عمل می‌کنند(۲۷). بر اساس مطالعه Azizi و همکاران(۲۰۱۴) برهمکنش بین مولکول‌های روی در پیش سازهای نمکی و گروه‌های عاملی حاوی اکسیژن در عصاره سلولی *Sargassum muticum* منجر به بیوسنتز نانو ذرات اکسید روی می‌شود(28).

تجزیه‌وتحلیل داده‌های FT-IR در مطالعه El-Belely و همکاران (۲۰۲۱) نقش مواد آلی موجود در عصاره *A. platensis* را در کاهش، پوشاندن و تثبیت نانو ذرات اکسید روی بیوسنتز شده نشان داد (۲۹). طبق نتایج بررسی نانو ذرات اکسید روی ریز پوشانی شده با کیتوزان توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری، بیانگر نانو ذرات اکسید روی پوشش دهی شده به‌صورت کره‌های به هم چسبیده با ابعاد حدودی ۶۰۰-۷۰۰ نانومتر بود. AbdElhady و همکاران (۲۰۱۲) طی تهیه و

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شناسایی نانو ذرات کیتوزان/اکسید جهت ایجاد اثرات ضدمیکروبی، بیان نمودند که در غلظت ۰/۵ درصد، نانوذره‌های ZnO با اندازه‌های متوسط ۱۰ تا ۲۰ نانومتر تشکیل شدند. درحالی‌که با افزایش غلظت ZnO تا ۰/۷۵ درصد، میانگین طول نانو میله‌های ZnO به ۶۰ نانومتر افزایش یافت و میانگین عرض ۵ تا ۱۵ نانومتر حفظ شد که علت این امر به غلظت کمتر ZnO (۰.۵٪ در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) نسبت داده شد که منجر به رشد ناقص نانو ذرات کمپلکس کیتوزان/ZnO شده است. از سوی دیگر غلظت اکسید روی تا ۰.۷۵ درصد رشد کامل نانو میله‌ها را به همراه داشت. همچنین افزایش دما از ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ۸۰ درجه سانتی‌گراد با تجزیه نانو میله‌ها به نانوذره‌ها با تجمع بیشتر نانو ذرات اندازه کوچک‌تر با ۵ تا ۱۰ نانومتر همراه بود (۳۰).

نتایج بیانگر این مطلب است که هر دو مورد با افزایش غلظت نانو ذرات روی، میزان زنده‌مانی سلول‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. از طرفی می‌توان بیان نمود که در تمامی غلظت‌های موردبررسی، سیتوتوکسیتی نمونه‌های ریز پوشانی شده بیشتر از نمونه‌های ریز پوشانی نشده بود. Liu و همکاران (۲۰۱۷) سمیت سلولی دو نوع نانو ذرات ZnO با اندازه‌های مختلف را بررسی کردند و نشان دادند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش اساسی را در سمیت سلولی ناشی از نانو ذرات اکسید روی ایفا می‌کنند. آن‌ها نشان دادند که نانو ذرات ZnO باعث القا پاسخ‌های توکسیک در رده سلولی SHSY5Y نوروبلاستومای انسانی دریک روش وابسته به‌اندازه می‌شود که ممکن است به توانایی یون ریزش آن‌ها مرتبط باشد (۳۱).

Malaikozhundan و همکاران (۲۰۱۷) اثرات سیتوتوکسیک نانو ذرات Pp-ZnO بر روی سلول‌های سرطان سینه MCF-7 بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که درمان با Pp-ZnO در غلظت‌های بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر زنده ماندن سلول را کاهش می‌دهد. اثر سمی نانو ذرات CEN-ZnO بیوسنتز شده روی سلول‌های سرطانی ریه A549 از ۲۵ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر شروع می‌شود که اثر سمی بیشتری نسبت به ZnONP های بیوسنتز شده توسط عصاره دانه *P. pinnata* دارد. نانو ذرات CEN-ZnO بیوسنتز شده در ۵۰ میلی‌گرم، ۷۷ درصد از سلول‌های سرطانی (A549) (۲۳ درصد از سلول‌ها زنده بودند) را از بین برد اما ۵۹ درصد از سلول‌ها پس از درمان سلول‌های سالم ریه (MRC-5) با غلظت مشابه زنده ماندند این بدان معنی است که نانو ذرات CEN-ZnO در یک غلظت مشابه، سلول‌های سرطانی را دو برابر بیشتر از سلول‌های سالم از بین می‌برد (۳۲).

نتیجه‌گیری

این مطالعه باهدف سنتز نانو ذرات اکسید روی با استفاده از سویه *Aliinostoc* sp. به سه روش مختلف (استفاده از غلظت‌های مختلف نیترات روی هگزا هیدرات ۱، ۲ و ۳ میلی مولار) با کمک سوپرناتانت، فیکوسیانین و پلی ساکارید خارج سلولی انجام شد. از پوشش کیتوزان برای پایدار کردن نانو ذرات سنتزشده استفاده شد. نتایج طیف‌سنجی سنتز نانو ذرات توسط هر سه روش را تأیید کرد. بررسی‌های انجام‌شده نشان داد که سنتز نانو ذرات به‌صورت کروی بود. در نتایج طیف‌سنجی FTIR تفاوت اندکی درشدت پیک وجود داشت که به دلیل تفاوت در تعداد گروه‌های عاملی و اتم‌های تشکیل‌دهنده هر طیف است. بررسی اثر سیتوتوکسیتی نشان داد که پوشش دهی با کیتوزان اثر کشندگی را بیشتر کرد و زندمانی سلول‌های سرطانی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. پتانسیل زتا نانو ذرات سنتزشده در هر سه روش مثبت بود که نشان‌دهنده بار مثبت ذرات پراکنده در سوسپانسیون هست.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

منابع

.1 Bin-Meferij MM, Hamida RS. Biofabrication and antitumor activity of silver nanoparticles utilizing novel nostoc sp. Bahar M. International Journal of Nanomedicine. 2019:9019-29.

.2 Patel V, Berthold D, Puranik P, Gantar M. Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. Biotechnology Reports. 2015;5:112-9.

.3 Cruz J, Ortiz C, Guzman F, Fernández-Lafuente R, Torres R. Antimicrobial peptides: promising compounds against pathogenic microorganisms. Current medicinal chemistry. 2014;21(20):2299-321.

.4 Chaudhary R, Nawaz K, Khan AK, Hano C, Abbasi BH, Anjum S. An overview of the algae-mediated biosynthesis of nanoparticles and their biomedical applications. Biomolecules. 2020;10(11.1498:(

.5 Nowruzi B, Porzani SJ. Toxic compounds produced by cyanobacteria belonging to several species of the order Nostocales: A review. Journal of Applied Toxicology. 2021;41(4):510-48.

.6 Mocchegiani E, Romeo J, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R ,Diaz L-E, et al. Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. Age. 2013;35:839-60.

.7 Barui AK, Kotcherlakota R, Patra CR. Biomedical applications of zinc oxide nanoparticles. Inorganic frameworks as smart nanomedicines: Elsevier; 2018. p. 239-78.

.8 Sharma DK, Shukla S, Sharma KK, Kumar V. A review on ZnO: Fundamental properties and applications. Materials Today: Proceedings. 2022;49:3028-35.

.9 Chan P, Kurisawa M, Chung JE, Yang Y-Y. Synthesis and characterization of chitosan-g-poly (ethylene glycol)-folate as a non-viral carrier for tumor-targeted gene delivery. Biomaterials. 2007;28(3):540-9.

.10 Arzumanian VA, Kiseleva OI, Poverennaya EV. The curious case of the HepG2 cell line: 40 years of expertise. International journal of molecular sciences. 2021;22(23):13135.

.11 Andersen RA. Algal culturing techniques: Elsevier; 2005.

.12 فیروزآباد ذ, نوروزی, فلسفی, سروناز. مقایسه کاربرد صنعتی اگزوپلی ساکاریدهای دو سویه سیانوباکتری آبزی و خاکزی Nostoc punensis و 7Neowestiellopsis Persica A138 در تصفیه زیستی فلزات سنگین. زیست شناسی میکروارگانیسم ها. 2023.

.13 Nowruzi B, Lorenzi AS. Production of the neurotoxin homoanatoxin-a and detection of a biosynthetic gene cluster sequence (anaC) from an Iranian isolate of Anabaena. South African Journal of Botany. 2021;139:300-5.

.14 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 (ZnO NPs) using the cell extract of cyanobacterium Nostoc sp .EA03: from biological function to toxicity evaluation. RSC advances. 2019;9(41):23508-25.

.15 Mishra SK, Shrivastav A, Pancha I, Jain D, Mishra S. Effect of preservatives for food grade C-Phycoerythrin, isolated from marine cyanobacteria Pseudanabaena sp .International journal of biological macromolecules. 2010;47(5):597-602.

.16 Jain PK, Huang X, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems. Plasmonics. 2007;2:107-18.

.17 Frank L, Onzi G, Morawski A, Pohlmann A, Guterres S, Contri R. Chitosan as a coating material for nanoparticles intended for biomedical applications. Reactive and Functional Polymers. 2020;147:104459.

.18 Al-Dhafri K ,Ching CL. Phyto-synthesis of silver nanoparticles and its bioactivity response towards nosocomial bacterial pathogens. Biocatalysis and agricultural biotechnology. 2019;18:101075.

.19 Richert L, Golubic S, Guédès RL, Ratiskol J, Payri C, Guezennec J. Characterization of exopolysaccharides produced by cyanobacteria isolated from Polynesian microbial mats. Current Microbiology. 2005;51:379-84.

.20 Hoo CM, Starostin N, West P, Mecartney ML. A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions. Journal of Nanoparticle Research. 2008;10:89-96.

.21 Gebauer JS, Malissek M, Simon S, Knauer SK, Maskos M, Stauber RH, et al. Impact of the nanoparticle–protein corona on colloidal stability and protein structure. Langmuir. 2012;28(25):9673-9.

.22 Ahmadi M, Habibi A, Pourafshry P, Ayatollahi S, editors. Zeta potential investigation and mathematical modeling of nanoparticles deposited on the rock surface to reduce fine migration. SPE Middle East Oil and Gas Show and Conference; 2011: SPE.

.23 Kheirollahi A, Pordeli M, Safavi M, Mashkouri S, Naimi-Jamal MR, Ardestani SK. Cytotoxic and apoptotic effects of synthetic benzochromene derivatives on human cancer cell lines. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. 2014;387:1199-208.

.24 Hamida RS, Ali MA, Redhwan A, Bin-Meferij MM. Cyanobacteria–a promising platform in green nanotechnology: a review on nanoparticles fabrication and their prospective applications.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

International Journal of Nanomedicine. 2020:6033-66.
.25 Cepoi L, Rudi L, Chiriac T, Valuta A, Zinicovscaia I, Duca G, et al. Biochemical changes in cyanobacteria during the synthesis of silver nanoparticles. Canadian journal of microbiology. 2015;61(1):13-21.
.26 Kanipandian N ,Kannan S, Ramesh R, Subramanian P, Thirumurugan R. Characterization, antioxidant and cytotoxicity evaluation of green synthesized silver nanoparticles using Cleistanthus collinus extract as surface modifier. Materials Research Bulletin. 2014;49:494-502.
.27 Minhas LA, Mumtaz AS, Kaleem M, Farraj DA, Kamal K, Minhas MAH, et al. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Nostoc sp. and Their Multiple Biomedical Properties. Catalysts. 2023;13(3):549.
.28 Azizi S, Ahmad MB, Namvar F, Mohamad R. Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga Sargassum muticum aqueous extract. Materials Letters. 2014;116:275-7.
.29 El-Belely EF, Farag MM, Said HA, Amin AS, Azab E, Gobouri AA, et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) using Arthrospira platensis (Class: Cyanophyceae) and evaluation of their biomedical activities. Nanomaterials. 2021;11(1):95.
.30 AbdElhady M. Preparation and characterization of chitosan/zinc oxide nanoparticles for imparting antimicrobial and UV protection to cotton fabric. International journal of carbohydrate chemistry. 2012;2012.
.31 Liu J, Kang Y, Yin S, Song B, Wei L, Chen L, et al. Zinc oxide nanoparticles induce toxic responses in human neuroblastoma SHSY5Y cells in a size-dependent manner. International journal of nanomedicine. 2017:8085-99.
.32 Malaikozhundan B, Vaseeharan B, Vijayakumar S, Pandiselvi K, Kalanjiam MAR, Murugan K, et al. Biological therapeutics of Pongamia pinnata coated zinc oxide nanoparticles against clinically important pathogenic bacteria, fungi and MCF-7 breast cancer cells. Microbial pathogenesis. 2017;104:268-77.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

Evaluation of cytotoxic effect of zinc oxide nanoparticles coated with chitosan by the cyanobacterium *Aliinostoc* sp. against cancer cells (Hep G-2)

Bahareh Nowruzi [1*], Mohammad Jabari[1]

[1]Department of Biotechnology, Faculty of Converging Sciences and Technologies, Islamic Azad Science and Research Branch, Tehran, Iran University,

Abstract

Today, green synthesis methods for the synthesis of nanoparticles are being considered to replace chemical methods. This study was conducted with the aim of biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from cyanobacterial extract and its cytotoxic activity against human hepatocellular cancer cells. First, zinc oxide nanoparticles were prepared by three different methods (supernatant, phycocyanin and with the help of extracellular polysaccharides) from the extract of cyanobacterium *Aliinostoc* sp. and coated with chitosan to stabilize the synthesized nanoparticles. Then the cytotoxic effect of these particles on HepG-2 cancer cells was investigated. The statistical analysis of the obtained data was done with SPSS software (version 24) and Excel, one-way analysis of variance and Tukey's test. The results showed that with increasing concentration of zinc nanoparticles, cell viability decreased significantly. So in the microcoated samples, the lowest survival in 200 µg/mL and then in 100 µg/mL zinc nanoparticles with values of 37.40% and 44.03%, respectively, and also in non-encapsulated samples, the lowest survival was observed at 200 µg/mL and then at 100 µg/mL zinc nanoparticles with values of 46.8 and 56.83%, respectively. The coating of synthesized nanoparticles with chitosan increased the killing effect and the life of cancer cells decreased significantly.

Keywords: Cyanobacteria, zinc oxide nanoparticles, cytotoxicity, cancer cells

* bahareh.nowruzi@srbiau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]