Archive of SID

Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Intra-cellular biosynthesis of gold nanoparticles by fungus *Penicillium chrysogenum*

Kianoush Khosravi-Darani[1*], Sarah Sohrabvandi[1], Alaleh Zoghi[2]

[1]Research Department of Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, School of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Department of Chemical Industries, School of Basic Science, College of Yadegar -e- Imam Khomeini (RAH) Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*Corresponding author; E-mail: kiankh@yahoo.com, k.khosravi@sbmu.ac.ir

Received: 5September 2014 Accepted: 28October 2014 First Published online: 9 July 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017August;39(3):32-38

Abstract

Background: One of the nanobiotechnology concepts is application of bio systems for production of nanoparticles. Gold nanoparticles have shown many useful applications especially in medicine. Fungi are the best candidates for the synthesis of gold nanoparticles because of their ability to produce large amount of enzymes. The aim of this study was bioproduction of gold nanoparticles using *Penicillium chrysogenum* and its antibacterial impact on four common pathogenic bacteria was determined.

Methods: *Penicillium chrysogenum* species isolated from effluent of Isfahan Foulad Mobarake factory. The biomasses of fungi were incubated with $HAuCl_4$ solution in a shaker-incubator for 72 hr, and gold nanoparticles were produced. Production of gold nanoparticles was evaluated by UV-vis spectroscopy and X-ray diffraction. Also antibacterial effect of nanoparticles and fungi extract on 4 pathogenic bacteria including *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus areus*, *Pseudomonas aeroginosa*, and *Escherichia coli* was studied. The minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of the nanoparticles against mentioned bacteria were determined by microdilution method.

Results: Synthesis of gold nanoparticles was confirmed by observing the characteristic peak at 532 nm using UV-vis spectroscopy. The XRD analysis also demonstrated that the nanoparticles are in the form of nanocrystaline. Also, it was shown that *Penicillium chrysogenum* produces intracellular gold nanoparticles in spherical and triangular shapes.

Conclusion: Fungus *Penicillium chrysogenum*is able to produce intracellular gold nanoparticles in the size range of 50-200 nm.

Keywords: Gold nanoparticles, *Penicillium chrysogenum*, Bioproduction.

How to cite this article: Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S, Zoghi A. [Intra-cellular Biosynthesis of Gold Nanoparticles by Fungus *Penicillium chrysogenum*]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017August;39(3):32-38.Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

بیوسنتز داخل سلولی نانوذرات طلا بوسیله قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم*

کیانوش خسروی دارانی[۱*]، سارا سهراب‌وندی[۱]، آلاله ذوقی[۲]

[۱]گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲]گروه صنایع شیمیایی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام خمینی، تهران، ایران
[*] نویسنده رابط؛ ایمیل:kiankh@yahoo.com, k.khosravi@sbmu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۳/۶/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۶ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۴/۱۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۶؛ ۳۹(۳): ۳۲-۳۸

چکیده

زمینه: یکی از مفاهیم نانوزیست فناوری کاربرد سیستم‌های زیستی برای تولید نانوذرات می‌باشد. نانوذرات طلا به خصوص در زمینه‌های پزشکی بسیار کاربرد سودمندی دارند. قارچ‌ها به دلیل توانایی زیاد در تولید انبوه آنزیم‌ها، گزینهٔ مناسبی برای ساخت نانوذرات طلا هستند. هدف از این تحقیق تولید زیستی نانوذرات طلا بااستفاده از قارچ*پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* و بررسی خاصیت ضدباکتریایی آن بر چهار باکتری رایج بیماریزامی‌باشد.

روش کار:گونه‌های قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* از پساب کارخانهٔ فولاد مبارکهٔ اصفهان جدا شدند. تودهٔ زیستی قارچ به همراه محلول $HAuCl_4$ در حالت چرخان به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شد و نانوذرات طلا تولید شدند. تولید نانوذرات با استفاده از اسپکتروفتومتری UV-vis و پراش اشعهٔ ایکس (XRD) بررسی گردید. همچنین اثر ضدمیکروبی نانوذرات بر چهارگونه باکتری بیماری‌زا شامل *استافیلوکوکوس آرئوس*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *باسیلوس ساتیلیس* بررسی شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات با استفاده از روش رقت‌سازی با لوله (Macrodilution) تعیین شد.

یافته‌ها: تولید نانوذرات طلا با ایجاد یک پیک مشخص در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری UV-vis اثبات شد. آنالیز XRD نانوذرات طلای به دست آمده نشان داد که این نانوذرات بصورت نانوکریستال‌های طلا می‌باشند. همچنین، مشخص گردید که قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* نانوذرات طلا را بصورت داخل سلولی و با اشکال کروی و مثلثی تولید می‌کند.

نتیجه‌گیری: قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* قادر به تولید نانوذرات طلا بصورت داخل سلولی با اندازهٔ ۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر می‌باشد.

کلید واژه‌ها: نانوذرات طلا، قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم*، تولید زیستی

نحوه استناد به این مقاله: خسروی دارانی ک، سهراب‌وندی س، ذوقی آ. بیوسنتز داخل سلولی نانوذرات طلا بوسیله قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم*. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۳): ۳۲-۳۸

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

نانوتکنولوژی شامل تولید، ساخت و استفاده از مواد در محدوده کمتر از یک میکرون می‌باشد (۱). کاربردهای نانوذرات به طور کلی عبارتند از تولید مواد کامپوزیت و کاتالیزورها، بسته-بندی، روکش‌ها، افزودنی‌های سوخت، تولید باتری‌ها، ساینده‌ها، روان کننده‌ها، پزشکی و داروسازی، داروررسانی و تشخیص پزشکی. اخیراً به دلیل کاربردهای متنوع نانوذرات فلزی در زمینه‌های مختلف، مطالعات گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است (۳ و۲). یکی از جنبه‌های مهم در نانوفناوری توسعهٔ روش‌های آزمایشگاهی برای تولید تکرارپذیر نانوذراتی است که از نظر اندازه، ترکیب شیمیایی و شکل، قابل کنترل باشند (٤). نانوذرات فلزات مختلف به سه روش فیزیکی، شیمیایی و زیستی تولید می‌شوند (٥). روش‌های شیمیایی قادر به تولید مقادیر زیادی از نانوذرات در زمان نسبتاً کوتاه و با کنترل اندازهٔ مناسب می‌باشند (٦) اما استفاده از روش‌های شیمیایی، علاوه بر تحمیل هزینه‌های بالا، به دلیل استفاده از مواد شیمیایی سمی، آلودگی‌های زیست محیطی بسیاری را به همراه دارد (۷). مسیر فرآیند تولید نانوذرات فلزی به روش‌های فیزیکی مانند رادیولیزیز (خردایش تشعشعی) و ترمولیزیز (خردایش گرمایی) نیز بسیار مشکل بوده و نیاز به دما، فشار و زمان بالایی داشته و همچنین بازده تولیدی کمی دارند (۸). از طرف دیگر، با توجه به کاربرد رو به رشد نانوذرات طلا، و نیاز روزافزون به روش‌هایی برای ساخت نانوذراتی که آلودگی‌های زیست محیطی دربر نداشته باشند، ضرورت تولید این نانوذرات به کمک روش‌های زیستی احساس می‌گردد (۱). روش‌های زیستی معمولاً توسط فرآیندهای آنزیمی و گاهی نیز غیرآنزیمی رخ داده و به علت عدم تولید مواد سمی در محیط، به عنوان " تکنولوژی سبز" نیز خوانده می‌شوند (۹). محققان از دههٔ ۱۹۷۰ در حال تلاش برای ارائهٔ سیستم‌های قادر به انتقال هدفمند مواد به نواحی خاصی از بدن، جهت تشخیص و درمان بسیاری از بیماری‌ها به ویژه سرطان هستند. عدم سمیت سلولی نانوذرات طلا برای بافت‌های سالم، آن‌ها را به گزینهٔ مناسبی جهت کاربردهای درمانی در شرایط درون–تن تبدیل می‌نماید. نانوذرات طلا به دلیل داشتن خصوصیات منحصربفردی از قبیل اندازهٔ هسته، پایداری بسیار بالا، مقاوم بودن به گرما، توانایی بالا در جذب و انتشار نور، نسبت بالای سطح به حجم و آسان بودن عملکردی کردن آن‌ها با هر نوع مولکول زیستی، امکان هدفگیری، انتقال و تنظیم فرآیندهای تحویل دارو را ممکن می‌سازند (۱۰و۸ و٦). از دیگر کاربردهای نانوذرات طلا می‌توان به تشخیص و درمان سرطان، رساندن دارو یا ژن، تعیین پروتئین DNA، استفاده در کاتالیست‌ها و حسگرهای زیستی و حذف ریزسازواره‌های بیماریزا از آب‌های آلوده نیز اشاره کرد (۱۱). اخیراً نیز مطالعات فراوانی در مورد بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات طلا انجام شده است (۱۳ و۱۲). امروزه از ریزسازواره‌هایی مثل باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، اکتینومیست‌ها و جلبک‌ها برای تولید نانوذرات طلا استفاده می‌گردد. یکی از دلایل تولید این نانوذرات توسط ریزسازواره‌ها، کاهش اثرات سمی یون‌های فلزی موجود در محیط رشد می‌باشد. در حقیقت، اغلب ریزسازواره‌ها در غلظت بالای یون‌های فلزی زنده مانده و رشد می‌کنند، که این عمل از طریق توانایی آن‌ها در احیای یون‌های فلزی سمی (با استفاده از آنزیم‌های خاصی مانند NADH ردوکتاز و یا نیترات ردوکتاز) به عناصر فلزی دیگر، انجام می‌گردد (۱۵ و ١٤). به علاوه، حضور برخی پلی ساکاریدها و مواد آلی تولیدی توسط ریزسازواره‌ها در درون سلول و محیط کشت موجب تولید نانوذرات فلزی می‌شود، که این مواد آلی به کمک گروه‌های عملکردی خود مثل سیستئین، هیستیدین، آلدئیدها و کتون‌ها باعث احیای یون‌های فلزی به نانوذرات فلز می‌گردند (١٦). فرآیند احیای فلزات توسط ریزسازواره‌ها به دو صورت درون و برون سلولی انجام می‌شود. چنانچه آنزیم‌های احیاکنندهٔ یون‌های فلزی درون سلول قرار داشته باشند، احیا بصورت درون سلولی و چنانچه در خارج از سلول توسط ریزسازواره آزاد شوند، تولید نانوذرات فلزی برون سلولی خواهد بود. در بسیاری از مواقع هر دو دسته آنزیم‌ها در فرآیند احیای یون‌های فلزی و غیر فعال کردن اثرات سمی آن‌ها دخالت دارند. از میان ریزسازواره‌های درگیر در فرآیند ساخت نانوذرات طلا معمولاً قارچ‌ها دارای توانایی احیای قویتری نسبت به باکتری‌ها می‌باشند (۱۷). تولید نانوذرات بر اساس نوع ریزسازواره و نوع آنزیم یا آنزیم‌های درگیر در فرآیند احیاء که درون یا بیرون از سلول قرار دارند، تعیین می‌شود (۱۸). به طور کلی تولید نانوذرات خارج سلولی در مقایسه با درون سلولی مناسب‌تر است، زیرا دیگر نیازی به مرحلهٔ جداسازی نانوذرات از تودهٔ زیستی نمی‌باشد (١٦). قارچ‌ها به دلیل کشت ساده و ارزان در مقیاس آزمایشگاهی و صنعتی، سازگاری با محیط زیست، ترشح آنزیم‌های فراوان، توانایی احیای یون‌های فلزی، تولید حجم بالای نانوذرات طلا و کاهش هزینه، نسبت به باکتری‌ها ارجحیت دارند (۱۸). قارچ‌های ساپروفیت گروه بزرگی از قارچ‌ها هستند که هم در خاک و هم روی مواد آلی یافت می‌گردند. این قارچ‌ها با ترشح آنزیم‌های زیادی به بیرون از سلول، ترکیبات پیچیده را به مواد ساده و کوچک تجزیه می‌کنند. از قارچ‌های ساپروفیت می‌توان به پنی‌سیلیوم اشاره کرد (۱۹). دستکاری ژنتیکی قارچ‌های یوکاریوت کمی دشوار می‌باشد، اما مزیت آن‌ها در تولید آنزیم‌های خاصی است که در ساخت نانوذرات نقش مهمی را ایفا می‌کنند. استخراج نانوذرات طلا از قارچ‌ها به کمک امواج فراصوت یا دترجنت‌ها صورت می‌پذیرد (۲۰). Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۹ با استفاده از قارچ پنی‌سیلیوم موفق به تولید نانوذرات طلای کروی به صورت درون سلولی شدند (۲۱). در ایران نیز Ranjbar و

www.SID.ir

Archive of SID

همکـــاران در ســـال ۲۰۱۰ بـــا اســـتفاده از قـــارچ *آســـپرژیلوس فومیگاتوس*، نانوذرات نقـره را بـه صـورت خـارج سـلولی تولیـد کردند (۲۲). همچنـین Khadivi و همکـاران در سـال ۲۰۱۱ نشـان دادند که باکتری‌های رودوکوکوس جـدا شـده از معـدن مـس اهـر قادر به تولید نانوذرات طلا می‌باشند (۲۳). در این مطالعـه از قـارچ جدیدی به نام *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* جدا شـده از پسـاب کارخانـهٔ فولاد مبارکهٔ اصفهان جهت سنتز نانوذرات طـلا اسـتفاده شـد. ایـن قارچ‌ها به طور گسترده در طبیعت پخش شده و اغلـب روی مـواد غذایی و در محیط یافت می‌شوند.

روش‌کار

محیط‌های کشت و عوامل شیمیایی مورد استفاده شامل گلـوکز، عصاره مخمر، پپتون، عصاره مالت و محیط کشـت سابرودکسـتروز آگـار(SDA) و محلـول کلریـد طـلا ($HAuCl_4.3H_2O$) از شـرکت سیگما خریداری شدند. گونه‌های *پنی‌سیلیوم کرایزوژنـوم* از پسـاب کارخانـه فـولاد مبارکـه اصـفهان جـدا شـدند و مطـابق بـا شـکل مورفولوژیکی و پارامترهای رشد روی محیط کشت حاوی عصـاره مالت یا محیط کشت حاوی جو آسـیاب شـده کشـت داده شـدند. قارچ‌ها در محیط کشت سـابرو دکسـتروزآگار (SDA) در بشـقابک کشت داده شـد و در ۲۷°C بـه مـدت ۷-۳ روز گرمخانـه‌گـذاری گردیدند. توده قارچ‌ها در شرایط هوازی در ۱۰۰ میلـی لیتـر محـیط براثMYPG که از عصاره مالت ۰/۳٪، عصاره مخمر ۰/۳٪، پپتـون ۰/۵٪ و گلوکز ۱٪ در pH: ۵/۵-۶ تشکیل شده بـود، رشـد کردنـد. محیط کشت‌ها در یک شیکر چرخـان بـا دور همـزن ۱۶۰rpm در دمای ۲۹-۲۷ °C برای ۹۶ ساعت قرار داده شـدند. تـوده قـارچ از هر دو محیط کشـت بـه وسـیله سـانتریفوژ بـا دور (۵۰۰ rpm) در دمای ۱۰ درجهٔ سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه جدا شـد. سـپس تـوده قارچ به طور کامل با آب مقطر شسته شد تا ترکیبات محـیط کشـت حذف شود. ۵ گرم از تودهٔ زیستی تمیز و تـازه بـه ارلـن مـایر ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محلول آبی $HAuCl_4$ بـا pH=۲/۵ و غلظت یک میلی مولار، اضـافه شـد و بـه مـدت ۷۲ سـاعت در دمای ۲۹-۲۷ درجهٔ سانتیگراد با ۱۶۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گـذاری در تاریکی شد (۱۴ و ۴ و ۱).

مشخصه نانوذرات طلا به وسیله اسـپکتروفوتومتر UV- vis و XRD بررسی شـد. اسـپکتروفوتومتر UV-vis بـرای انـدازه‌گیـری طیـف جذبی برای نانوذرات ساخته شده در رنج ۸۰۰- ۴۰۰ نانومتر به کـار گرفته شد (۲۳). جهت تأیید کریستالی بودن نوع فلز تولیـد شـده از روش پـراش اشـعهٔ ایکـس (XRD, Philips PW 1800) اسـتفاده گردید. برای این منظور، تودهٔ زیسـتی در آون بـا دمـای ۵۰ درجـهٔ سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قبـل از آنـالیز خشـک شـد و سـپس پودر حاصل مورد بررسی قرار گرفت. همچنین روش اندازه گیـری حـــداقل غلظـــت مهارکننـــدگی (Minimum Inhibitory Concentration) و کشـــندگی (Minimum Bactericidal Concentration) محلول عصـاره قـارچی و محلـول نـانوذرات بـه طریق ذیل می باشد: برای انجام این بخش از روش رقت‌سـازی بـا لوله استفاده شد. این روش یکی از دقیق‌ترین روش‌هایی اسـت کـه برای تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به مـواد ضـدمیکروبی مـورد استفاده قرار می‌گیرد. در حالت آزاد غلظت‌های متوالی نـانوذرات در محیط کشت براث عصاره گوشت تهیه شد. به هریک از رقت‌هـای تهیه شده، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده (به غلظـت نهایی 10^5 cfu/ml) اضافه شد. سپس لوله‌ها به مـدت ۲۴ سـاعت در ۳۷ درجه سانتی‌گـراد گرمخانـه‌گـذاری شـدند و کـدورت و عـدم کدورت در لوله‌ها بررسی شد. اولـین لولـه ای کـه کـدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. بـرای تعیـینMBC، از رقت‌هایی که در آن‌ها کدورت مشخصی ایجـاد نشـده باشـد بـه میزان ۰/۱ میلی لیتر با روش پخـش یکنواخـت در محـیط ائـوزین متیلن بلو کشت داده شده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانـه‌گـذاری در صورت عدم رشد، نتیجه به صورتMBC گزارش مـی‌شـود (۲۵و ۲۴).

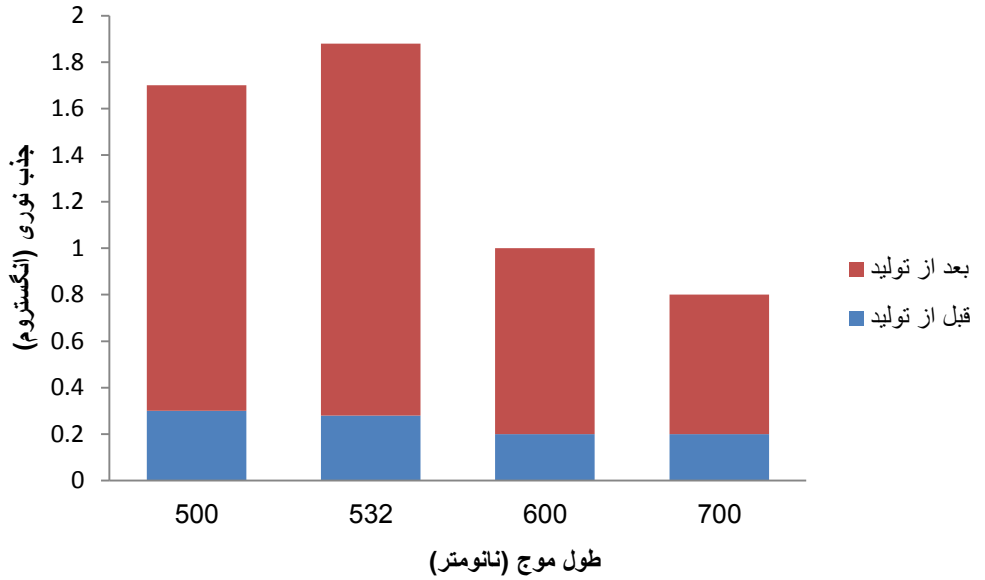
یافته‌ها

با مخلوط کردن *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* با محلول آبی یـون‌هـای طلا بعد از ۱۲ ساعت رنگ توده از زرد به خاکستری تغییـر یافـت که این تغییر رنگ نشـانه تشـکیل نـانوذرات طلاسـت. طیـف UV محیط کشت نهایی نشان داد که باندهای جذبی قوی در طول مـوج ۵۳۲ نانومتر متمرکز شده‌اند که تأیید کنندهٔ حضـور نـانوذرات طـلا در محلول می‌باشد (نمودار ۱).

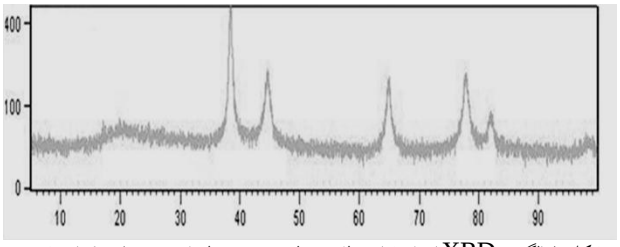
یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای مشخص ساختن نانوذرات، ارزیـابی طیف XRD نمونه است. به کمـک ایـن آزمـون مـی‌تـوان حضـور حالت عنصر از یک فلز را از سایر ظرفیـت‌هـای آن تشـخیص داد. الگوی XRD به طور واضح نشان مـی دهـد کـه نـانوذرات طلابـه وسیله کاهش زیستی یون‌های طلا توسط قارچ تشکیل یافته‌انـد. بـا مقایسهٔ منحنی XRD (شکل ۱) با نمونهٔ استاندارد، معلـوم شـد کـه ذرات طلای تشکیل شده در این بررسـی بـه شـکل نانوکریسـتالی بودند. همانگونه که در شکل ۲ نشان داده می‌شود، ۴ پیـک ضـخیم در طیـــف‌هـــای ۷۷/۵۴۹ و ۶۴/۶۷۸ ، ۴۴/۶ ، ۳۸/۲۶۹ ، ۳۵۲ /۸۲ وجود دارد که موافق با انعکاس BRAGGES نانوذرات طـلا مـی-باشد (۲۹-۲۴). جدول ۱ نشان مـی‌دهـد کـه نـانوذرات و عصـاره قارچی بر چهار نوع باکتری بیماریزا اثر ضـدباکتریایی اعمـال نمـود. این مهار در مورد نانوذرات بیشتر از عصاره قارچی بود.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱: طیف نوری گزارش شده به عنوان تابعی از واکنش محلول $HAuCl_4$ یک میلی‌مولار با توده زیستی قارچ قبل و بعد از تولید نانوذرات طلا



شکل ۱: الگوی XRD از نانوذرات طلای تولید شده توسط قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم*

جدول ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات و عصاره قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* بر *استافیلوکوکوس آرئوس*، *سودوموناس انروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *باسیلوس سابتیلیس*.

نام ریزسازواره	*سودوموناس انروژینوزا*		*باسیلوس سابتیلیس*		*استافیلوکوکوس آرئوس*		*اشرشیا کلی*	
حد مهار	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
عصاره قارچ (میکروگرم بر لیتر)	۷/۳۰	–	۱۳/۶۳	۱۳/۴۸	–	–	۲/۶	٤/۳۱
غلظت نانوذرات(میکروگرم بر لیتر)	۲/۶۱	۲/۶۶	–	۷/٤۳	٤/٤٥	۲/۷۱	–	۷/۳۱

بحث

امروزه یک نیاز مهم در فناوری نانو دسترسی به روش‌های بی‌ضرر برای تولید نانوذرات طلا می‌باشد. همانطور که در مقدمه اشاره شد، ساخت نانوذرات طلا به روش‌های زیستی نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی کارایی بهتری دارند، زیرا معمولاً تولید نانوذرات در مقیاس صنعتی به روش‌های فیزیکی و شیمیایی باعث افزایش اندازه ذرات شده که از میکرومتر تجاوز می‌کند درحالیکه در روش زیستی می‌توان نانوذرات با اندازه کوچک ولی در حجم بزرگ تولید نمود (۱۲). تولید نانوذرات طلا به روش‌های زیستی، از بهترین روش‌های تولیدی زیست سازگار به شمار می‌آید (۱). از بین ریزسازواره‌هایی که قادر به تولید نانوذرات طلا هستند، قارچ‌ها به دلیل توانایی‌شان در تولید آنزیم‌های فراوان و همچنین ساخت نانوذرات بی‌خطر و پربازده، گزینهٔ مناسبی جهت ساخت نانوذرات طلا هستند (۲۲). در بررسی حاضر، سعی شده است با بهره‌گیری از قارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* جدا شده از پساب کارخانهٔ فولاد مبارکهٔ اصفهان، یک سویهٔ بومی برای تولید نانوذرات طلا عرضه گردد. در این تحقیق، مخلوط تودهٔ زیستی و محلول طلا که در ابتدا زرد رنگ بود، بعد از ۱۲ ساعت به رنگ خاکستری تغییر پیدا کرد. نتایج گزارشات Mandal و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز نشان می‌دهد که یون‌های طلا توسط تودهٔ زیستی

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری *باسیلوس سابتیلیس* در مدت ۴۸ ساعت بـه نـانوذرات طـلا احیا می‌شوند و سپس باکتری‌هـا آن‌هـا را در دیـوارهٔ سـلولی خـود انباشته می‌سـازند (۹). *ریزوپـوس اسـتولونیفر* نیـز در محلـول آبـی $HAuCl_4$، قادر به تشکیل عصارهٔ خارج سلولی نانوذرات طلا مـی‌شود (۲۸–۲۶). درنتیجه سرعت تولید نانوذرات طـلا توسـط قـارچ بسیار بالاتر می‌باشد. در گزارش دیگـری نـانوذرات طـلا در مـدت ۴۸ ساعت تولید شد، اما قارچ مورد بررسـی در مـدت ۱۲ سـاعت نانوذرات طلا را تولید می‌کند (۲۹). در تحقیق دیگـری Sheikhlou و همکاران دریافتند که در شرایط اسیدی توانایی قـارچ *رایزوپـوس اوریزا* برای ساخت نانوذرات طلا افزایش یافته و با افزایش غلظـت محلول کلرید طلا سرعت تولید نانوذرات طلا توسط این قارچ نیـز افـزایش مـی‌یابـد. همچنـین در سـال ۲۰۰۳ توانسـتند بـه کمـک اکتینومیست گرمادوست ترمونوسپورا بعد از ۱۲۰ سـاعت گرمخانـه گذاری، نانوذرات طلا تولید کنند، که این مدت زمان طولانی نشـان دهندهٔ آهستگی فرآیند ساخت نانوذرات طـلا توسـط ایـن بـاکتری است (۳۰). با توجه به طیف‌های به دست آمده از اسـپکتروفتومتری و ایجـاد پیـک جـذبی در طـول مـوج ۵۳۲ نـانومتر (طـول مـوج اختصاصی نانوذرات طلا) تولید این نانوذرات توسـط قـارچ *پنـی‌سیلیوم کرایزوژنوم* تأیید شد. تشـکیل ایـن پیـک جـذبی در مـورد باکتری‌ها و قارچ‌های دیگر تولید کنندهٔ نانوذرات طـلا نیـز گـزارش شده است (۳۰ و ۲۹). در آنالیز XRD نمونه‌هـا نیـز پیـک‌هـای بـه دست آمده با پیک‌های مربوط به نانوکریستال‌هـای طـلا همـاهنگی داشت، همانگونه که در تحقیقات دیگری نیز این موضـوع گـزارش شده است (۳۰ و۲۹ و۱۲).

نتیجه‌گیری

همانطور که از نتایج این تحقیق برمی آید، بـا اسـتفاده از قـارچ *پنی‌سیلیوم کرایزوژنوم* تولید سریع و داخل سلولی نانوذرات طلا بـا قدرت ضـدمیکربی بهبـود یافتـه امکـان‌پـذیر مـی‌باشـد. بـا انجـام پژوهش‌های بعدی با اعمال تغییرات در شرایط کشت تودهٔ زیسـتی و محلول کلرید طلا می‌توان به بازده بیشتر و بهتری نیز دسـت پیـدا کرد.

قدردانی

با تشکر از گروه تحقیقـات صـنایع غـذایی انسـتیتو تحقیقـات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشـور، دانشـکده علـوم تغذیـه و صـنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف و یا انتشار ایـن مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

ک خسروی، س سهراب وندی طراحی، اجرا و تحلیـل نتـایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین آ ذوقی مقاله را تـالیف نمـوده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

References

1. Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK.Biosynthesis of nanoparticles: technologicalconcepts and future applications. *Nanopart Res* 2008; **10**(3): 507-517. doi: 10.1007/s11051-007-9275-x
2. Bruins MR, Kapil S, Oehme FW. Microbial resistance to metal in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000; **45**(3): 198-207. doi: 10.1006/eesa.1999.1860
3. Beveridge TJ, Hughes MN, Lee H, Leung KT, Poole RK, Savvaidis I. Metal-microbe interactions: contemporary approaches. *Adv Microb Physiol* 1996; **38**: 177-243. doi: 10.1016/S0065-2911(08)60158-7
4. Sadowski Z, Maliszewska IH, GrochowalskaB, Polowczyk I, Kozlecki T. Synthesis of silvernanoparticles using microorganisms. *Mater Sci-Poland* 2008; **26**(2): 419-432.
5. Agnihotri M, Joshi S, Ravi Kumar A, Zinjarde S, Kulkarni S. Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowialipolytica* NCIM 3589. *Mater Lett* 2009; **63**(15): 1231-1234. doi: 10.1016/j.matlet.2009.02.042
6. Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size related properties and applications toward biology, catalysis and nanotechnology. *Chem Rev* 2004; **104**(1): 293-346.doi: 10.1021/cr030698+
7. Mandal S, Phadtare S, Sastry M. Interfacingbiology with nanoparticles. *Curr Appl Phys* 2005; **5**(2): 118-127. doi: 10.1016/j.cap.2004.06.006
8. Gade A, Ingle A, WhiteleyCh, Rai M.Mycogenic metal nanoparticles: progress and applications. *Biotechnol Lett* 2010; **32**(5):593-600. doi: 10.1007/s10529-009-0197-9
9. Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, Sarkar G, Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metalnanoparticles and their application. *J Appl Microbiol Biotechnol* 2006; **69**(5): 485-492. doi:10.1007/s00253-005-0179-3
10. Jianrong C, Yuqing M, Nongyue H, Xiaohua W, Sijiao L. Nanotechnology and biosensors. *Biotechnol Adv* 2004; **22**(7): 505-518. doi: 10.1016/j.biotechadv.2004.03.004
11. Li J, Wang X, Wang Ch, Chen B, Dai Y, Zhang R. The enhancement effect of gold nanoparticles in drug delivery and as biomarkers of drug-resistant cancer

www.SID.ir

Archive of SID

cells. *Chem Med Chem* 2007; **2**(3): 374-378. doi: 10.1002/cmdc.200600264
12. Pourali P, BaseriSalehi M, Afsharnejad S, Behravan J. [Biological production and assessment of the antibacterial activity of gold nanoparticles]. *J Microbial World* 2013; **6**(3): 198-211. (Persian).
13. Cho KJ, Park T, Osaka S. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochim Acta* 2005; **51**(5): 956-960. doi: 10.1016/j.electacta.2005.04.071
14. Bhambure R, Bule M, Shaligram N, Kamat M, Singhal R. Extracellular biosynthesis of gold nanoparticles using *Aspergillus niger*_ its characterization and stability. *Chem Engin Technol* 2009; **32**(7): 1036-1041. doi: 10.1002/ceat.200800647
15. Mishra AN, Bhadauria S, Mulayam SG, Pasricha R. Extracellular microbial synthesis of gold nanoparticles using fungus Hormoconisresinae. *J Min, Metal Mater Society* 2010; **62**(11): 45-48. doi: 10.1007/s11837-010-0168-6
16. Mollazadeh Moghaddam K. An introduction to microbial metal nanoparticle preparation method. *J Young Invest* 2010; **19**: 18-24.
17. Sadhasivam S, Shanmugam P, Yun K. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces hygroscopicus* and antimicrobial activity against medically important pathogenic microorganisms. *Coll Surf B Biointerf* 2010; **81**(1): 358-362. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.07.036
18. Chen JC, Lin ZH, Ma X. Evidence of theproduction of silver nanoparticles via pretreatment of Phoma sp. *Lett Appl Microbial* 2003; **37**(2): 105-108. doi: 10.1046/j.1472-765X.2003.01348.x
19. Caesar-Ton TC, Cochran VL. Role of asaprophytic basidiomycete soil fungus inaggregate stabilization. *J National Soil ErosionRes Laboratory* 2001; **14**: 575-579.
20. Kathiresan K, Manivannan S. Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus, *Penicillium fellutanum* isolated from coastal mangrove sediment. *Coll Sur B Biointerf* 2009; 7**1**(1): 133-137. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.01.016
21. Zhang X, Xiaoxiao H, Kemin W, Yonghong W, Huimin L, Weihong T. Biosynthesis of size controlled gold nanoparticles using fungus Penicillium sp. *J Nanosci Nanotechnol* 2009; **9**(10): 5738-5744. doi: 10.1166/jnn.2009.1287
22. RanjbarNavazi Z, Pazouki M, Halek FS. Investigation of culture condition for biosynthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus fumigates*. *Iranian J Biotechnol* 2010; **8**(1): 56-61.
23. Khadivi Derakhshan F, Dehnad AR, Salouti M. Biosynthesis of gold nanoparticles by Rhodococcus species is plated from Aharcopper mine. *Quarter J Biol Sci* 2010; **3**: 37-44.
24. Hosseinzade A, Mohajerfar T, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Gandomi H, Misaghi A, et al. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of lysozyme and *Zatariamultiflora* Boiss essential oil on *E. coli O157:H7*. *J Med Plants* 2011; **8**: 208-217.
25. Rukholm G, Mugabe C, Azghani AO, Omri A. Antibacterial activity of liposomal gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*: a time–kill study. *Int J Antimicrob Agent* 2006; **27**(3): 247-252. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.10.021
26. Binupriya AR, Sathishkumar M, Yun S.Bio crystallization of silver and gold ions byinactive cell filtrates of *Rhizopus stolonifer*. *Coll Surf B Biointerf* 2010; **79**(2): 531-534. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.05.021
27. Samson RA, Hadlok R, Stolk AC. A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. *Antonie van Leeuwenhoek Internat J General Molecular Microbiol* 1977; **43**(2): 169-175. doi: 10.1007/BF00395671
28. Jeffery JW. Methods in x-ray crystallography. Academic Press, New York, 1971; PP: 34-52. doi: 10.1002/crat.19720070515
29. Faghri Zenouz N, Salouti M, Dolatyari L. [Biosynthesis of gold nanoparticles using *Streptomyces* sp. ERI-3]. *Biotechnol Tarbiat Modares Univers* 2012; **3**(1): 15-22. (Persian).
30. Sheikhlou Z, Salouti M, Farahmandkia Z, Mahmazi S, Einlou A. [Intra-extra biosynthesis of gold nanoparticles by fungus *Rhizopus Oryza*]. *J Med Sci Zanjan Univers* 2012; **20**(78): 47-56. (Persian).

www.SID.ir