

## Original Article

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

Kianoush Khosravi-Darani<sup>1\*</sup>, Sarah Sohrabvandi<sup>1</sup>, Alaleh Zoghi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>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@sbm.ac.ir

Received: 5 September 2014      Accepted: 28 October 2014      First Published online: 9 July 2017  
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 August;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<sub>4</sub> 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 aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, 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 nanocrystalline. 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. 2017 August;39(3):32-38. Persian.

## مقاله پژوهشی

### بیوسنتز داخل سلولی نانوذرات طلا بوسیله قارچ پنی‌سیلیوم کرایزونیوم

کیانوش خسروی دارانی<sup>۱\*</sup>، سارا سهراب‌وندی<sup>۱</sup>، آلاله ذوقی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>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

<sup>۲</sup>گروه صنایع شیمیایی، دانشکده 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 - 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، گزینه مناسبی برای ساخت نانوذرات طلا هستند. هدف از این تحقیق تولید زیستی نانوذرات طلا با استفاده از قارچ پنی‌سیلیوم کرایزونیوم و بررسی خاصیت ضدباکتریایی آن بر چهار باکتری رایج بیمارستانی باشد.

**روش کار:** گونه‌های قارچ پنی‌سیلیوم کرایزونیوم از پساب کارخانه فولاد مبارکه اصفهان جدا شدند. توده زیستی قارچ به همراه محلول  $\text{HAuCl}_4$  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 اشعه ایکس (XRD) بررسی گردید. همچنین اثر ضد میکروبی نانوذرات بر چهار گونه باکتری بیماری‌زا شامل استافیلوکوکوس آئروس، سودوموناس آئروژینوزا، شرشیا کلی و باسیلوس سابتیلیس 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 کرایزونیوم نانوذرات طلا را بصورت داخل سلولی و با اشکال کروی و مثلثی تولید می‌کند.

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

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

**نحوه استناد به این مقاله:** خسروی دارانی ک، سهراب‌وندی س، ذوقی آ. بیوسنتز داخل سلولی نانوذرات طلا بوسیله قارچ پنی‌سیلیوم کرایزونیوم. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - 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 - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت 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.

## 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، بسته‌بندی، روکش‌ها، افزودنی‌های سوخت، تولید باتری‌ها، ساینده‌ها، روان‌کننده‌ها، پزشکی و داروسازی، دارورسانی و تشخیص پزشکی. اخیراً به دلیل کاربردهای متنوع نانوذرات فلزی در زمینه‌های مختلف، مطالعات گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است (۲ و ۳). یکی از جنبه‌های مهم در نانوفناوری توسعه روش‌های آزمایشگاهی برای تولید تکرارپذیر نانوذراتی است که از نظر اندازه، ترکیب شیمیایی و شکل، قابل کنترل باشند (۴). نانوذرات فلزات مختلف به سه روش فیزیکی، شیمیایی و زیستی تولید می‌شوند (۵). روش‌های شیمیایی قادر به تولید مقادیر زیادی از نانوذرات در زمان نسبتاً کوتاه و با کنترل اندازه مناسب می‌باشند (۶) 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 رادیولیز (خردایش تشعشعی) و ترمولیز (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 دهه ۱۹۷۰ در حال تلاش برای ارائه 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 گزینه مناسبی جهت کاربردهای درمانی در شرایط درون-تن تبدیل می‌نماید. نانوذرات طلا به دلیل داشتن خصوصیات منحصر بفردی از قبیل اندازه 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 (۱۰ و ۱۱). 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 (۱۲ و ۱۳). امروزه از

ریزسازواره‌هایی مثل باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، اکتینومیسیت‌ها 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 (۱۴). 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 سیستین، هیستیدین، آلدئیدها و کتون‌ها باعث احیای یون‌های فلزی به نانوذرات فلز می‌گردند (۱۶). فرآیند احیای فلزات توسط ریزسازواره‌ها به دو صورت درون و برون سلولی انجام می‌شود. چنانچه آنزیم‌های احیاکننده 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 مرحله جداسازی نانوذرات از توده زیستی نمی‌باشد (۱۶). 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 پنی سیلیوم 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 پنی سیلیوم موفق به تولید نانوذرات طلائی کروی به صورت درون سلولی شدند (۲۱). در ایران نیز Ranjbar و

پودر حاصل مورد بررسی قرار گرفت. همچنین روش اندازه گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration) و کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration) محلول عصاره قارچی و محلول نانوذرات به طریق ذیل می باشد: برای انجام این بخش از روش رقت سازی با لوله استفاده شد. این روش یکی از دقیق ترین روش هایی است که برای تعیین حساسیت باکتری ها نسبت به مواد ضد میکروبی مورد استفاده قرار می گیرد. در حالت آزاد غلظت های متوالی نانوذرات در محیط کشت برات عصاره گوشت تهیه شد. به هریک از رقت های تهیه شده، یک میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی تهیه شده (به غلظت نهایی  $10^6$  cfu/ml) اضافه شد. سپس لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند و کدورت و عدم کدورت در لوله ها بررسی شد. اولین لوله ای که کدورتی در آن مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC، از رقت هایی که در آن ها کدورت مشخصی ایجاد نشده باشد به میزان ۰/۱ میلی لیتر با روش پخش یکنواخت در محیط آئوزین متیلن بلو کشت داده شده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در صورت عدم رشد، نتیجه به صورت MBC گزارش می شود (۲۵ و ۲۴).

### یافته ها

با مخلوط کردن پنی سیلیموم/کریزوترونوم با محلول آبی یون های طلا بعد از ۱۲ ساعت رنگ توده از زرد به خاکستری تغییر یافت که این تغییر رنگ نشانه تشکیل نانوذرات طلاست. طیف UV محیط کشت نهایی نشان داد که باندهای جذبی قوی در طول موج ۵۳۲ نانومتر متمرکز شده اند که تأیید کننده حضور نانوذرات طلا در محلول می باشد (نمودار ۱).

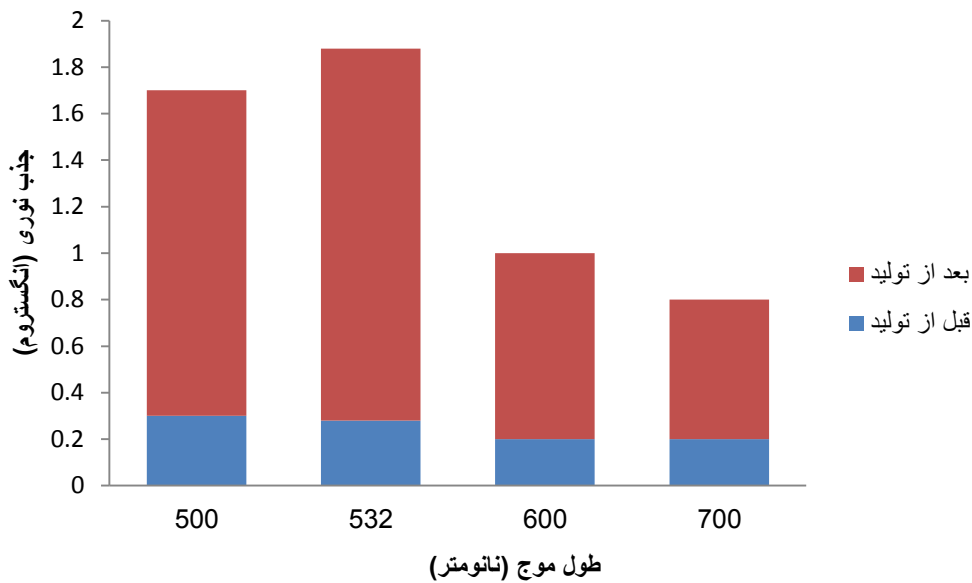
یکی از مهم ترین روش ها برای مشخص ساختن نانوذرات، ارزیابی طیف XRD نمونه است. به کمک این آزمون می توان حضور حالت عنصر از یک فلز را از سایر ظرفیت های آن تشخیص داد. الگوی XRD به طور واضح نشان می دهد که نانوذرات طلا به وسیله کاهش زیستی یون های طلا توسط قارچ تشکیل یافته اند. با مقایسه منحنی XRD (شکل ۱) با نمونه استاندارد، معلوم شد که ذرات طلای تشکیل شده در این بررسی به شکل نانو کریستالی بودند. همانگونه که در شکل ۲ نشان داده می شود، ۴ پیک ضعیف در طیف های ۷۷/۵۴۹ و ۶۴/۶۷۸، ۴۴/۶، ۳۸/۲۶۹، ۸۲/۳۵۲ وجود دارد که موافق با انعکاس BRAGGES نانوذرات طلا می باشد (۲۹-۲۴). جدول ۱ نشان می دهد که نانوذرات و عصاره قارچی بر چهار نوع باکتری بیماریزا اثر ضد باکتریایی اعمال نمود. این مهار در مورد نانوذرات بیشتر از عصاره قارچی بود.

همکاران در سال ۲۰۱۰ با استفاده از قارچ اسپیریلیوس فومیگاتوس، نانوذرات نقره را به صورت خارج سلولی تولید کردند (۲۲). همچنین Khadivi و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که باکتری های رودوکوکوس جدا شده از معدن مس اهر قادر به تولید نانوذرات طلا می باشند (۲۳). در این مطالعه از قارچ جدیدی به نام پنی سیلیموم/کریزوترونوم جدا شده از پساب کارخانه فولاد مبارکه اصفهان جهت سنتز نانوذرات طلا استفاده شد. این قارچ ها به طور گسترده در طبیعت پخش شده و اغلب روی مواد غذایی و در محیط یافت می شوند.

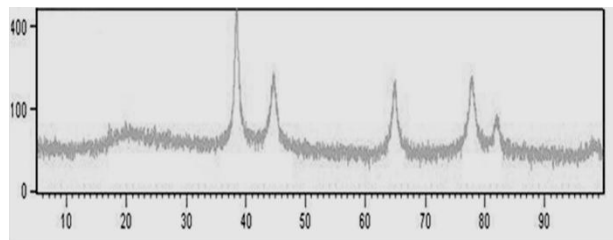
### روش کار

محیط های کشت و عوامل شیمیایی مورد استفاده شامل گلوکز، عصاره مخمر، پپتون، عصاره مالت و محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) و محلول کلرید طلا ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) از شرکت سیگما خریداری شدند. گونه های پنی سیلیموم/کریزوترونوم از پساب کارخانه فولاد مبارکه اصفهان جدا شدند و مطابق با شکل مورفولوژیکی و پارامترهای رشد روی محیط کشت حاوی عصاره مالت یا محیط کشت حاوی جو آسیاب شده کشت داده شدند. قارچ ها در محیط کشت سابرو دکستروز آگار (SDA) در بشقابک کشت داده شد و در  $27^\circ\text{C}$  به مدت ۷-۳ روز گرمخانه گذاری گردیدند. توده قارچ ها در شرایط هوازی در ۱۰۰ میلی لیتر محیط برات MYPG که از عصاره مالت ۰/۳٪، عصاره مخمر ۰/۳٪، پپتون ۰/۵٪ و گلوکز ۱٪ در  $\text{pH}: 5/5-6$  تشکیل شده بود، رشد کردند. محیط کشت ها در یک شیکر چرخان با دور همزن ۱۶۰ rpm در دمای  $29-27^\circ\text{C}$  برای ۹۶ ساعت قرار داده شدند. توده قارچ از هر دو محیط کشت به وسیله سانتریفوژ با دور (۵۰۰ rpm) در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه جدا شد. سپس توده قارچ به طور کامل با آب مقطر شسته شد تا ترکیبات محیط کشت حذف شود. ۵ گرم از توده زیستی تمیز و تازه به ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محلول آبی  $\text{HAuCl}_4$  با  $\text{pH}=2/5$  و غلظت یک میلی مولار، اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای  $29-27^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد با ۱۶۰ دور در دقیقه گرمخانه گذاری در تاریکی شد (۱۴ و ۴ و ۱).

مشخصه نانوذرات طلا به وسیله اسپکتروفوتومتر UV-vis و XRD بررسی شد. اسپکتروفوتومتر UV-vis برای اندازه گیری طیف جذبی برای نانوذرات ساخته شده در رنج ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر به کار گرفته شد (۲۳). جهت تأیید کریستالی بودن نوع فلز تولید شده از روش پراش اشعه ایکس (XRD, Philips PW 1800) استفاده گردید. برای این منظور، توده زیستی در آون با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قبل از آنالیز خشک شد و سپس



نمودار ۱: طیف نوری گزارش شده به عنوان تابعی از واکنش محلول  $\text{HAuCl}_4$  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 کرایزوزنوم

جدول ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات و عصاره قارچ پنی‌سیلیوم کرایزوزنوم بر استافیلوکوکوس آرنوس، سودوموناس اثرزینوزا، اشرشیا کلی و باسیلوس سابیلیس

اشرشیا کلی		استافیلوکوکوس آرنوس		باسیلوس سابیلیس		سودوموناس اثرزینوزا		نام ریزسازواره
MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	حد مهار
۴/۳۱	۲/۶	-	-	۱۳/۴۸	۱۳/۶۳	-	۷/۳۰	عصاره قارچ
۷/۳۱	-	۲/۷۱	۴/۴۵	۷/۴۳	-	۲/۶۶	۲/۶۱	(میکروگرم بر لیتر) غلظت نانوذرات (میکروگرم بر لیتر)

آید (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، گزینه مناسبی جهت ساخت نانوذرات طلا هستند (۲۲). در بررسی حاضر، سعی شده است با بهره‌گیری از قارچ پنی‌سیلیوم کرایزوزنوم جدا شده از پساب کارخانه فولاد مبارکه اصفهان، یک سویه بومی برای تولید نانوذرات طلا عرضه گردد. در این تحقیق، مخلوط توده 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 توده زیستی

## بحث

امروزه یک نیاز مهم در فناوری نانو دسترسی به روش‌های بی-ضرر 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 زیست‌سازگار به شمار می‌-

## نتیجه‌گیری

همانطور که از نتایج این تحقیق برمی آید، با استفاده از قارچ پنی‌سیلیوم *کرایزوژنوم* تولید سریع و داخل سلولی نانوذرات طلا با قدرت ضد میکروبی بهبود یافته امکان‌پذیر می‌باشد. با انجام پژوهش‌های بعدی با اعمال تغییرات در شرایط کشت توده زیستی و محلول کلرید طلا می‌توان به بازده بیشتر و بهتری نیز دست پیدا کرد.

## قدردانی

با تشکر از گروه تحقیقات صنایع غذایی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

## منافع متقابل

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

## مشارکت مؤلفان

ک خسروی، س سهراب وندی طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. همچنین آذوقی مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

باکتری *باسیلوس ساتیلیس* در مدت ۴۸ ساعت به نانوذرات طلا احیا می‌شوند و سپس باکتری‌ها آن‌ها را در دیواره سلولی خود انباشته می‌سازند (۹). ریزوپوس/استولونینفر نیز در محلول آبی  $\text{HAuCl}_4$  قادر به تشکیل عصاره خارج سلولی نانوذرات طلا می‌شود (۲۸-۲۶). در نتیجه سرعت تولید نانوذرات طلا توسط قارچ بسیار بالاتر می‌باشد. در گزارش دیگری نانوذرات طلا در مدت ۴۸ ساعت تولید شد، اما قارچ مورد بررسی در مدت ۱۲ ساعت نانوذرات طلا را تولید می‌کند (۲۹). در تحقیق دیگری Sheikhlou و همکاران دریافتند که در شرایط اسیدی توانایی قارچ *ریزوپوس اوریزا* برای ساخت نانوذرات طلا افزایش یافته و با افزایش غلظت محلول کلرید طلا سرعت تولید نانوذرات طلا توسط این قارچ نیز افزایش می‌یابد. همچنین در سال ۲۰۰۳ توانستند به کمک اکتینومیسست گرمادوست ترمونوسپورا بعد از ۱۲۰ ساعت گرمخانه گذاری، نانوذرات طلا تولید کنند، که این مدت زمان طولانی نشان دهنده آهستگی فرآیند ساخت نانوذرات طلا توسط این باکتری است (۳۰). با توجه به طیف‌های به دست آمده از اسپکتروفتومتری و ایجاد پیک جذبی در طول موج ۵۳۲ نانومتر (طول موج اختصاصی نانوذرات طلا) تولید این نانوذرات توسط قارچ پنی-سیلیوم *کرایزوژنوم* تأیید شد. تشکیل این پیک جذبی در مورد باکتری‌ها و قارچ‌های دیگر تولید کننده نانوذرات طلا نیز گزارش شده است (۲۹ و ۳۰). در آنالیز XRD نمونه‌ها نیز پیک‌های به دست آمده با پیک‌های مربوط به نانوکریستال‌های طلا هماهنگی داشت، همانگونه که در تحقیقات دیگری نیز این موضوع گزارش شده است (۳۰ و ۲۹ و ۱۲).

## References

- Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Nanopart Res* 2008; **10**(3): 507-517. doi: 10.1007/s11051-007-9275-x
- 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
- 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
- Sadowski Z, Maliszewska IH, Grochowalska B, Polowczyk I, Kozlecki T. Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms. *Mater Sci-Poland* 2008; **26**(2): 419-432.
- 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
- 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+
- Mandal S, Phadtare S, Sastry M. Interfacing biology with nanoparticles. *Curr Appl Phys* 2005; **5**(2): 118-127. doi: 10.1016/j.cap.2004.06.006
- Gade A, Ingle A, Whiteley Ch, Rai M. Mycogenic metal nanoparticles: progress and applications. *Biotechnol Lett* 2010; **32**(5): 593-600. doi: 10.1007/s10529-009-0197-9
- Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, Sarkar G, Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. *J Appl Microbiol Biotechnol* 2006; **69**(5): 485-492. doi: 10.1007/s00253-005-0179-3
- 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
- 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

- 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 the production 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 in aggregate stabilization. *J National Soil Erosion Res 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; **71**(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 *Zataria multiflora* 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 by inactive 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. Sheikhloou 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).