

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

شماره پیاپی ۹، جلد ۳، شماره ۲، بهار ۸۹، صفحه ۳۷ تا صفحه ۴۴

## تولید زیستی نانوذرات طلا توسط گونه‌ای از باکتری رودوکوکوس (*Rhodococcus sp*) جدا شده از خاک معدن مس شهر اهر

فاطمه خدیوی درخشان<sup>۱</sup>، علیرضا دهناد<sup>۲</sup>، مجتبی صلوتی<sup>۳</sup>، حسین بابایی<sup>۴</sup>، لاله پارسا<sup>۵</sup>

۱- کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان.

۲- استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب و غرب ایران. adehnad@abrii.ac.ir

۳- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان.

۴- استادیار گروه پژوهشی رادیوایزوتوپ، پژوهشکده علوم هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران.

۵- کارشناس پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب و غرب ایران.

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲

### چکیده

نانو بیوتکنولوژی علمی‌نویین در عرصه‌ی صنعت، پزشکی و بیولوژی است. نانوذرات، به ویژه نانو ذرات‌های طلا کاربرد وسیعی در تشخیص و درمان سرطان دارند. تاکنون روش‌های شیمیایی مختلفی برای سنتز نانوذرات طلا که مصرف آن‌ها روز به روز افزایش می‌یابد، ابداع و توسعه یافته است. با توجه به مشکلات این گونه روش‌ها، از جمله آلاینده‌گی محیط زیست و نیز پیچیدگی روش سنتز، استفاده از میکرواورگانیزم‌ها به عنوان ماشین تولید نانوذرات، علاوه بر کاهش هزینه‌ها، این فناوری را به فناوری سبز تبدیل می‌نماید. نانوذرات طلا به دلیل قابلیت تغییر دادن ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از جمله خواص الکتریکی، الکتروشیمیایی، نوری و مغناطیسی، کاندیدای مناسبی برای جایگزینی با دیگر مولکول‌های رنگی رایج به عنوان نشان گر در تشخیص مولکولی هستند. هدف از این پژوهش بررسی تولید نانوذرات طلا توسط رودوکوکوس‌های جدا شده از خاک معدن مس واقع در شهر اهر به منظور بومی سازی تولید زیستی نانو ذرات طلا می‌باشد. میکرواورگانیزم مورد استفاده در این تحقیق گونه‌ای از باکتری رودوکوکوس از رده اکتینومیتال‌ها بوده که از خاک معدن مس شهر اهر جدا شده است. نتایج به دست آمده از بررسی‌های انجام شده به روش اسپکتروفتومتری و روش تفرق اشعه X نشان داد که این باکتری پس از معلق شدن در محلول  $10^{-3}$  مولار تتراکلرید هیدروژن طلا ( $\text{HAuCl}_4$ ) با pH ۷ بعد از گذشت ۲۴ ساعت، قادر به احیاء یون طلا به نانوذرات طلا بوده و نانوذرات طلا ۵۰ نانومتری را به صورت داخل سلولی و خارج سلولی تولید می‌نماید.

کلید واژه: رودوکوکوس، نانوذرات طلا، تولید زیستی.

### مقدمه

از این مزیت به عنوان کاتالیست در واکنش‌های شیمیایی و کنترل آلودگی استفاده شده است (۱۳). نانوذرات طلا علاوه بر استفاده در انتقال دارو و ژن (۴،۱۲)، در درمان سرطان (۲۲) و به عنوان حس گر زیستی در تشخیص بافت‌های سرطانی (۱۰) و میکرواورگانیزم‌ها (۷) کاربرد فراوان یافته‌اند. به دلیل کاربرد رو به فزونی نانوذرات طلا، ضرورت تولید انبوه این نانو ذرات توسط سیستم‌های

زمانی که فلز طلا در ابعاد نانو تولید می‌شود، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن دستخوش تغییرات بسیاری می‌گردد (۵). تغییر و تنظیم خواص الکتریکی، الکتروشیمیایی، نوری و مغناطیسی، کاندیدای مناسبی برای جایگزینی با دیگر مولکول‌های رنگی رایج به عنوان نشان گر در تشخیص مولکولی می‌باشد (۵،۱۱). نانوذرات طلا فعالیت خود را در دماهای پایین حفظ می‌کنند که

اگر رقت سازی انجام و با استفاده از محیط کشت افتراقی دی کلرو استیک اسید ۲ نرمال گونه های رودوکوکوس به ازای هر لیتر با pH ۷ (۱۰ گرم عصاره مخمر، ۵ گرم گلوکز، ۱/۵ گرم  $(NH_4)_2HPO_4$ ، ۱ گرم  $K_2HPO_4$ ، ۰/۷ گرم دی کلرو استیک اسید، ۰/۲ گرم  $MgSO_4$ ، ۰/۱ گرم  $5H_2O$  و  $Fe_2(SO_4)_3$ ، ۲ میلی گرم  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ، بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۲۷ درجه سانتی گراد گونه های باکتری رودوکوکوس از خاک جداسازی شدند (۱۷، ۶).

#### بررسی توانایی تولید نانوذرات طلا توسط باکتری

به منظور بررسی توانایی تولید نانوذرات طلا ابتدا باکتری های رودوکوکوس جدا شده در ارلن مایر ۱۰۰۰ میلی لیتر حاوی ۴۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع MPGY (عصاره مالت ۳ گرم، عصاره مخمر ۳ گرم، پیتون ۵ گرم، گلوکز ۱۰ گرم با pH ۷/۲ برای هر ۱ لیتر) در شرایط استریل، اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه غنی شدند تا توده سلولی لازم به دست آید. قسمتی از باکتری رشد یافته در این محیط، با سرعت ۲۰۰ rpm به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد در شیکر-انکوباتور تکان داده شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از رشد و تکثیر سلول ها در محیط کشت مایع، باکتری ها به وسیله سانتریفیوژ با دور ۷۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه، از محیط کشت مایع جدا و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل در شرایط استریل ۵ گرم وزن تر توده سلول های برداشت شده در ۵۰ میلی لیتر از محلول  $HAuCl_4$  ۰/۰۱ مولار با pH ۷ درون ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر در شرایط استریل، معلق شدند. محلول طلای حاوی باکتری در داخل شیکر-انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد با دور ۲۰۰ rpm به مدت ۲۴ ساعت تکان داده شد. بعد از این دوره بیومس باکتری رودوکوکوس توسط سانتریفیوژ با دور ۷۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه جدا و پس از ۳ بار با آب مقطر استریل در شرایط استریل (۲، ۳). رسوب حاصل به سه قسمت تقسیم شده و از آن برای آزمایش های اسپکتروفتومتری UV-

زیستی احساس می شود. نانوذرات به دو طریق شیمیایی و زیستی تولید می شوند. معمولاً در روش های شیمیایی رشد نانوذرات سخت، گران و غیر قابل کنترل است. به علاوه روش های شیمیایی آلودگی های زیست محیطی بسیاری را با خود به همراه دارند. با توجه به نیاز روزافزون بشر به ابداع روش هایی برای ساخت نانوذرات که آلودگی های زیست محیطی در بر نداشته باشند، استفاده از میکروارگانسیم ها بسیار مناسب است (۸، ۱۴، ۱۵). در سال ۱۹۹۶ Beveridge و همکارانش دریافتند که باکتری های معلق در محلول  $HAuCl_4$  قادر به تولید نانوذرات طلا هستند (۲۱). در سال ۲۰۰۲ نیز T.Pradeep و B.Nair گزارش دادند در داخل سلول باکتری لاکتوباسیلوس قسمت اعظمی از یون های فلزی می توانند به نانوذرات فلزی احیاء شوند. از جمله این نانوذرات می توان به نانوذرات نقره، طلا و نانوذرات دو آلیاژی طلا- نقره در اندازه های ۵۰-۲۰ نانومتر و تعدادی بالای ۱۰۰ نانومتر که به صورت داخل سلولی سنتز شده اشاره کرد (۱۶). بعدها میکروارگانسیم هایی مانند اکتینومایست ها به دلیل تولید متنوع متابولیت های ثانویه مورد توجه قرار گرفته اند (۹). در همین راستا احمد و همکارانش در سال ۲۰۰۳ برای اولین بار توانایی تولید نانوذرات طلا را در اکتینومایست مقاوم به قلیا (*Rhodococcus*) و اکتینومایست گرمادوست (*Thermomonospora*) اثبات کردند. نانوذرات طلای تولید شده توسط این باکتری ها دارای اندازه های تقریباً یکسان (monodispersity) بودند (۲، ۳). برخی از باکتری هایی که در معادن قادر به زیست هستند، نسبت به سمیت فلزات سنگین در غلظت بالا مقاوم بوده و قادر به ذخیره زیستی فلزات می باشند (۲۰). هدف از این تحقیق بررسی تولید نانوذرات طلا توسط رودوکوکوس های جدا شده از خاک معادن مس واقع در شهر اهر به منظور بومی سازی تولید زیستی نانوذرات طلا بوده است.

#### مواد و روش ها

##### جداسازی باکتری رودوکوکوس

بلافاصله پس از نمونه برداری از خاک معدن مس شهر

مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد کاملاً تثبیت و مرحله آب‌گیری در دمای اتاق با اتانول ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰٪ به مدت ۱۵ دقیقه در هر کنسانتره انجام شد. سلول‌های آب‌گیری شده در اکسید پروپیلن (propylene oxide) به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و متعاقباً برای ۱ ساعت در مخلوط اکسید پروپیلن و اپوکسید رزین (epoxy resin) گذاشته شد. Embedding با استفاده از مخلوط رزین (Epon ۸۱۲) و سفت کننده DDSA (dodecyl succinic anhydride) و methyl MNA (nadid anhydride) و تسریع کننده دی متیل آمینومتیل فنل (dimethylaminomethyl phenol) انجام گردید. این ترکیب به مدت ۲ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد پلی مریزه شد. برش‌های نازک ۱۰۰ نانومتر را با اولترامیکروتوم گرفته و با روش قطره‌ای بر روی گرید مسی میکروسکوپ TEM (JEOL ۱۲۰۰CX۲) ۸۰kV سوار شد. برش‌های تهیه شده با اورانیل استات ۲٪ (uranyl acetate) در آب مقطر استریل به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ الکترونی TEM تصویربرداری گردید (۱۸، ۱۹).

### نتایج

#### جداسازی باکتری رودوکوکوس تولید کننده نانوذرات

##### طلا

باکتری‌های رودوکوکوس بر اساس ریخت شناسی و تست‌های بیوشیمیایی از خاک معدن شهر اهر جدا و بعد از بررسی باکتری‌ها، باکتری که قادر به تغییر رنگ محلول طلا به ارغوانی - بنفش بود، شناسایی شد (۲، ۳). در شکل ۱ الف سلول‌های رودوکوکوس بعد از برداشت از محیط کشت مایع MPGY و قبل از غوطه ور شدن در محلول H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>، با رنگ کرم باکتری‌ها و زرد بسیار کم‌رنگ محلول H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> کاملاً واضح هستند. (شکل ۱ الف) رنگ ارغوانی ارلن مایر حاوی سلول‌های رودوکوکوس بعد از مخلوط کردن آن‌ها با محلول H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> و گذشت ۲۴ ساعت کاملاً مشخص است (شکل ۱ ب) رنگ ارغوانی باکتری‌های رودوکوکوس و بی‌رنگی محلول

Vis، XRD و تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی TEM استفاده گردید.

#### اسپکتروفتومتری UV-Vis

نانوذرات طلا امواج الکترومغناطیس را در ناحیه مرئی طیف (نانومتر ۵۴۰) electromagnetic جذب می‌کنند (۱۸). به منظور آماده‌سازی نمونه جهت اسپکتروفتومتری UV-Vis، ۰/۱ گرم وزن تر باکتری در تیوپ ۱/۵ میلی لیتری ریخته و دیواره باکتری با شوک سرمایی گرمایی کاملاً متلاشی شد. ۵۰ میکرولیتر از باکتری‌های متلاشی شده در کووت ریخته و به آن ۲۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و طیف سنجی UV-Vis (Bio Cary ۵۰ - Varian USA) صورت پذیرفت.

#### آنالیز X-Ray Diffraction (XRD) بیومس باکتری

در آنالیز XRD، ۰/۱ گرم از توده سلولی در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شد. نمونه‌های خشک شده به آزمایشگاه XRD آزمایشگاه جابر ابن حیان سازمان انرژی اتمی ایران منتقل و در محل قرارگیری نمونه، در دستگاه XRD مدل Shimadzu PHI-۵۳۰۰ ESCA X-ray قرار داده شد و پس از آزمایش بانرم افزار تفسیر X' Pert Highscore مورد بررسی قرار گرفت.

#### تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی TEM

برای آماده سازی توده سلولی به منظور تصویربرداری نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی TEM مراحل زیر انجام گردید. بعد از واکنش باکتری با H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>، ابتدا توده سلولی توسط سانتریفیوژ با دور ۷۰۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه از محلول H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> جدا و ۱ گرم از وزن تر باکتری به دست آمده را ۳ بار با آب مقطر استریل شسته و توده سلولی در گلو تار آلدئید ۲٪ به مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد درون بافر کاکودی لیت (cacodylate) ۰/۱ میلی مول پیش تثبیت شد. توده سلولی بعد از شستشو با بافر به همراه تترا اکسید اسمیوم (tetraoxide osmium) درون آب مقطر استریل به

جذب را در طول موج ۵۴۰ نانومتر دارا می‌شوند. این پهنا تجمع نانوذرات را در سلول‌ها اثبات می‌کند. پیک B نشان‌گر وجود نانوذرات طلا در محلول طلا و باکتری است (نمودار ۱).

#### آنالیز X-Ray Diffraction (XRD) بیومس باکتری

آنالیز XRD از سلول‌های رودوکوکوس اثبات‌کننده وجود نانوذرات طلا در سلول‌های باکتری است. بر اساس نرم افزار تفسیر Pert Highscore X' حضور حداکثر پیک‌ها در طول موج‌های (۳۸/۲۶۹)، (۴۴/۶۰۰)، (۶۴/۶۷۸)، (۷۷/۵۴۹) و (۸۲/۳۵۲) نشان دهنده طلای زرد

رویی پس از ۲۴ ساعت ثابت و بی‌تحرك ماندن ارلن مایر و رسوب کامل باکتری قابل مشاهده است (شکل ۱ج) که نمایان‌گر تولید نانوذرات طلا توسط باکتری‌هاست. کشت  $\text{HAuCl}_4$  رنگ خود را از دست داده است در نتیجه آشکارا احیاء یون  $\text{AuCl}_4^-$  مشاهده می‌شود.

#### اسپکتروفتومتری UV-Vis

طیف‌های UV-Vis به دست آمده نشان دهنده این مسأله‌اند که سلول‌های برداشت شده قبل از معلق شدن در یون  $\text{AuCl}_4^-$  هیچ جذبی را در طیف‌های ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر ندارند. در حالی که بعد از معلق شدن بیشترین

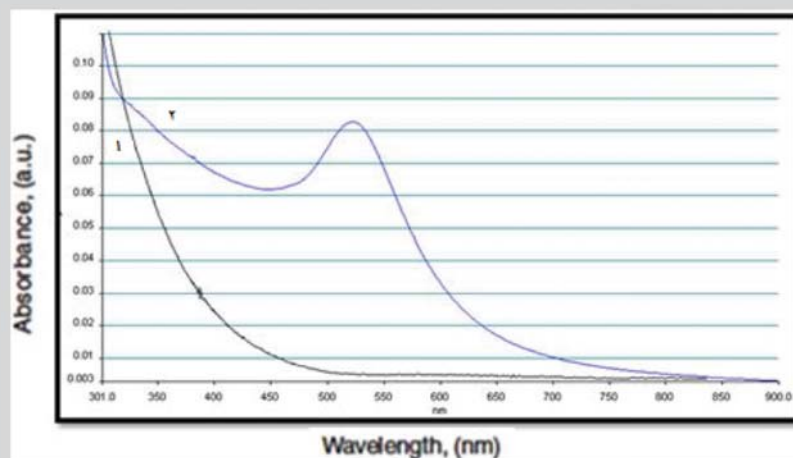


شکل ۱- تولید نانوذرات طلا توسط رودوکوکوس جدا شده از خاک معدن مس شهر اهر

الف- سلول‌های رودوکوکوس قبل از غوطه‌ور شدن در محلول  $\text{HAuCl}_4$ .

ب- ارلن مایر حاوی سلول‌های رودوکوکوس بعد از مخلوط کردن با محلول  $\text{HAuCl}_4$  پس از گذشت ۲۴ ساعت

ج- باکتری‌های کاملاً رسوب شده



نمودار ۱- اسپکتروفتومتری سلول‌های رودوکوکوس

۱- قبل از غوطه‌ور شدن در محلول طلا.

۲- بعد از غوطه‌ور شدن در محلول طلا

است (نمودار ۲).

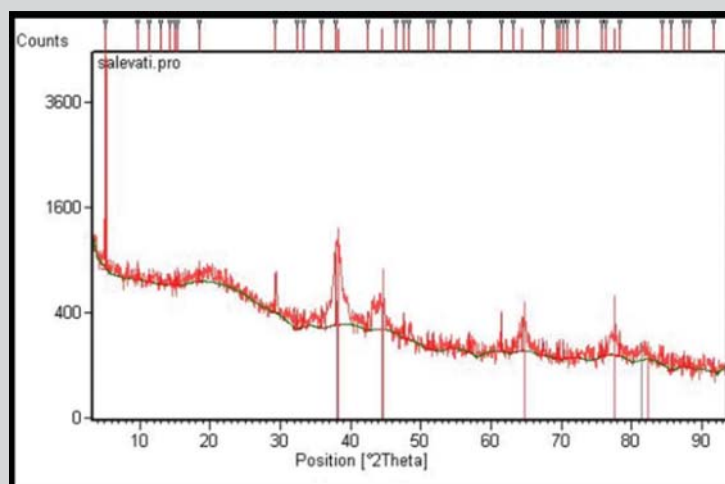
### میکروسکوپ الکترونی TEM

تصاویر میکروسکوپ الکترونی TEM وجود نانوذرات را در داخل و خارج سلول اثبات کرد (شکل ۲). مقایسه وجود نانوذرات طلا در درون و خارج سلول رودو کوکوس مشخص می‌کند که نانوذرات داخل سلولی در اندازه‌های کوچک‌تر نسبت به ذرات خارج سلولی تولید شده‌اند. میانگین اندازه نانوذرات به دست آمده ۵۰ نانومتر بوده و درصد کمی با اندازه ۱۵۰ نانومتر وجود دارد.

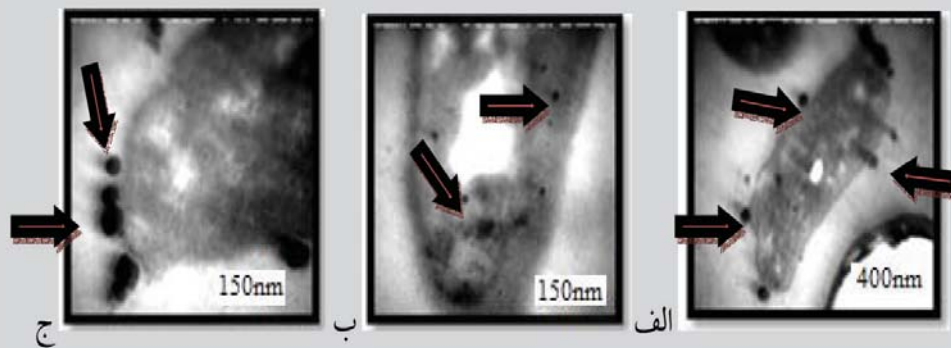
### بحث و نتیجه‌گیری

تولید نانوذرات طلا از طریق سیستم‌های زیستی

مخصوصاً باکتریایی، از بهترین روش‌های تولید سازگار با طبیعت، به شمار می‌روند (۱۴، ۱۵). میکروارگانیسم‌ها از جمله برخی از قارچ‌ها، جلبک‌ها و باکتری‌ها قادر به احیاء یون طلا بوده و نانوذرات طلا را تولید می‌نمایند. در قارچ‌ها و جلبک‌ها به دلیل وجود هسته، دستکاری ژنتیکی بسیار سخت می‌باشد، در حالی که در باکتری دستکاری ژنتیکی به سهولت امکان پذیر و تولید سویه صنعتی با ویژگی‌های دلخواه آسان به نظر می‌آید. در این میان، باکتری‌هایی که قادر به انجام فرآیند تولید به صورت سریع و خارج سلولی هستند، بیشتر مورد توجه محققان می‌باشند (۱). در تحقیق حاضر سعی شده است با بهره‌گیری از اکتینوما ایست‌های معادن مس اهر ایران، یک



نمودار ۲- آنالیز XRD از سلول‌های رودو کوکوس



شکل ۲- تولید نانوذرات در رودو کوکوس به صورت خارج و داخل سلولی

الف- وجود نانوذرات طلا در درون و خارج سلول رودو کوکوس.

ب- نانوذرات تولید شده در درون سلول رودو کوکوس.

ج- تجمع نانوذرات طلا روی دیواره سلولی رودو کوکوس.

سویه از اکتینومیست های بومی برای تولید نانوذرات طلا استخراج شود. اکتینومیست ها باکتری های فعالی بوده و قادر به تولید بیش از ده نوع متابولیت ثانویه می باشند. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که رودوکوکوس به دست آمده قادر است در مدت ۲۴ ساعت یون طلا را به طلای فلزی تبدیل نموده و نانوذرات طلا را به صورت داخل و خارج سلولی تولید کند. زمانی که باکتری در محلول طلا معلق شد دارای رنگ سفید بوده و رنگ محلول طلا نیز زرد کم رنگ بود اما با گذشت زمان ۲۴ ساعت، رنگ باکتری به ارغوانی تغییر پیدا کرده و رنگ محلول طلا نیز از بین رفته است (۲۱، ۱۹، ۳، ۲). با تکیه بر طیف های به دست آمده از طیف سنجی UV-Vis بعد از معلق شدن در  $\text{HAuCl}_4$  و تطابق آن با نتایج به دست آمده از تولید زیستی نانوذرات طلا توسط باکتری های ترمومونوسپورا، رودوپسودوموناس کپسولاتا، رودوکوکوس و باسیلوس سوبتیلیس (۲۱، ۱۹، ۳، ۲)، تولید نانوذرات طلا در باکتری مورد بررسی اثبات می شود. وجود یک پیک جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر نشان دهنده تولید نانوذرات طلا است. آنالیز XRD انجام شده نیز در تمام باکتری های مورد بررسی از طیف مشخصی که مخصوص فلز طلا است تبعیت می کند. در آنالیز XRD باکتری رودوکوکوس جدا شده از خاک معدن مس اهر، پیک های ایجاد شده با پیک های فلز طلا ی زرد هماهنگی دارد. از دیگر موارد مورد نظر پژوهش گران برای تولید صنعتی نانوذرات طلا توسط میکروارگانسیم ها، آماده سازی سریع توده سلولی و سرعت باکتری در احیاء یون طلا است. باکتری ترمومونوسپورا (*Thermomonospora*) در مدت ۱۲۰ ساعت قادر است یون طلا را احیاء کند که زمانی طولانی بوده و مناسب تولید صنعتی نمی باشد (۳). باکتری رودوکوکوس یافت شده توسط احمد و همکاران نیز گرچه سرعت عمل داشته و می توانست یون طلا را در ۲۴ ساعت احیاء کند اما تولید نانوذرات طلا به صورت درون سلولی بوده و پروسه استخراج نانوذرات از درون سلول پر هزینه می باشد (۲). باکتری *R. capsulata* نیز توانایی تولید نانوذرات طلا را

به صورت خارج سلولی در مدت زمان ۴۸ ساعت دارد. اما برای آماده سازی توده سلولی، قبل از معلق کردن در محلول  $\text{HuCl}_4^-$  حدود ۷۲ ساعت زمان مورد نیاز است (۱۹). اما باکتری رودوکوکوس جدا شده از معدن مس شهر اهر علاوه بر توانایی احیاء یون طلا به طلای فلزی در مدت ۲۴ ساعت، نانوذرات را به صورت داخل و خارج سلولی تولید می کند. هم چنین مرحله آماده سازی توده سلولی سریع بوده و در ۲۴ ساعت رشد می کنند. پروسه سریع بودن آماده سازی توده سلولی باکتری و احیاء سریع یون طلا مزیت قابل توجهی است. عکس های میکروسکوپ الکترونی نشان گر این نتیجه است که عمده نانوذرات در خارج سلول ذخیره گردیده اند. اندازه نانوذرات به دلیل فاصله دار بودن زمان عکس برداری و زمان تولید نانوذرات طلا به طور دقیق محاسبه نشده و امکان دارد در طول این زمان نانوذرات با یکدیگر ادغام شده باشند. اما بر اساس مشاهدات عکس های میکروسکوپ الکترونی TEM، میانگین اندازه نانوذرات به دست آمده ۵۰ نانومتر بوده و درصد کمی در اندازه ۱۵۰ نانومتر می باشند. احتمالاً نانوذرات تولید شده در خارج سلول، به دلیل وجود فاصله زمانی سه ماهه تا عکس برداری، به یکدیگر متصل شده و اندازه های بزرگ تر تا ۱۵۰ نانومتر را به وجود آورده اند. در حالی که نانوذرات درون سلولی به طور متوسط ۳۰ نانومتر هستند. به طور کلی میانگین اندازه نانوذرات طلای تولیدی توسط گونه رودوکوکوس *Rhodococcus. Sp* به دست آمده ۵۰ نانومتر است. نتایج نشان می دهند که باکتری *Rhodococcus. sp* جدا شده از خاک معدن مس شهر اهر، قادر است نانوذرات طلا را به صورت داخل و خارج سلولی تولید کند و تجمع نانوذرات بیشتر روی دیواره خارجی سلول است. پروسه آماده سازی توده سلولی باکتری و احیاء یون طلا به نانوذرات طلا سریع است. امید است با بهینه سازی pH، محیط کشت، میزان تتراکلرید هیدروژن طلا و سایر شاخص های مربوطه، در آینده بتوان از این باکتری در تولید صنعتی نانوذرات طلا بهره برداری نمود.

## منابع

- ۱- کسری کرمانشاهی، روحا. ۱۳۸۶. نانوبیوتکنولوژی از دیدگاه میکروبیولوژی. دانشگاه اصفهان. چاپ اول.
2. Ahmad, A., Senapati, S., Islam Khan, M., Kumar, R., Ramani, R., Srinivas, V. (2003). Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant Actinomycete, *Rhodococcus sp.* Nanotechnology, 14, 824–828.
3. Ahmad, A., Senapati, S., Islam Khan, M., Kumar, R., Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic Actinomycete, *Thermomonospora sp.* Langmuir, 19, 3550-3553.
4. Bhattarai, Sh.R., Bahadur, R., Aryal, S., Bhattarai, N., Young, Kim, S., Keun Yi, H. and et al. (2008). Hydrophobically modified chitosan/gold nanoparticles for DNA delivery. J Nanopart Res. 10:151–162.
5. Daniel, M.C., Astruc, D. (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chem. Rev, 104, 293-346.
6. Dhanasekaran, D., Rajakumar, G., Sivamani, P., Selvamani, S., Panneerselvam, A., Thajuddin, N. (2005). The screening of salt pans Actinomycetes for antibacterial agents. Int. J. of Microbio, 1 (2).
7. Dungchaia, W., Siangprohb, W., Chaicumpac, W., Tongtawed, P., Chailapakula, O. (2008). *Salmonella typhi* determination using voltammetric amplification of nanoparticles: A highly sensitive strategy for metalloimmunoassay based on a copper-enhanced gold label. Talanta, 77, 727–732.
8. Glomm, W.R. (2005). Functionalized gold nanoparticles for applications in bionanotechnology. Journal of Dispersion Science and Technology, 26, 389–414.
9. Gottlieb, D., Sykes, G., Shinner, F.A. (1973). General consideration and implication of the actinomycetales, characteristics and practical importance. Academic Press London, 1-10.
10. Jeong-Woo, Ch., Da-Yeon, Yong-Hark, J. (2008). Ultra-sensitive surface plasmon resonance based immunosensor for prostate-specific antigen using gold nanoparticle-antibody complex, Colloids and Surfaces A. Physicochem. Eng, 313–314, 655–659.
11. Jianrong, C.h., Yuqing, M., Nongyue, H., Xiaohua, W., Sijiao, L. and et al. (2004) Nanotechnology and biosensors. Biotechnology Advances, 22, 505-518.
12. Li, J., Wang, X., Wang, Ch., Chen, B., Dai, Y., Zhang, R. and et al. (2007). The enhancement effect of gold nanoparticles in drug delivery and as biomarkers of drug-resistant cancer cells. Chem Med Chem, 2, 374 – 378.
13. Liu, ZP., Hu, P., Alavi, A. (2002). Catalytic role of gold in gold-based catalysts: a density functional theory study on the CO oxidation on gold. J Am Chem Soc, 11, 124(49): 14770-14779.
14. Mandal, D., Bolander, M.E. Mukhopadhyay, D., Sarkar, G., Mukherjee, P. (2006). The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. Appl Microbiol Biotechnol, 69, 485–492.
15. Mohanpuria, P., Rana, N.K., Yadav, Su.K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. J Nanopart Res, 10, 507–517.
16. Nair, B., Pradeep, T. (2002). Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus strains*. Crystal Growth & Design, 2(4), 293-298.
17. Roland, M. (1997). Microbiological media by Roland. M. Atlas, CRC PRESS.
18. Sastry, M., Ahmad, A., Islam Khan, M., Ku-

mar, R. (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and Actinomycete. CURRENT SCIENCE, 25. 85, NO. 2.

19. Shiyong, He., Zhirui, Guo., Zhang, Yu., Ning, Gu. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulate*. Materials Letters, 61,3984–3987.

octahedral gold formed in vitro. Geochimica et Cosmochimica Acta, 60(22), 4369-4376.

20. Silver, S. (2003). Bacterial silver resistance:

molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS Microbiol Rev, 27,341–353.

21. Southamand, G., Bevreidge, T. (1996). The occurrence of sulfur and phosphorus within bacterially derived crystalline and pseudocrystalline

22. Terry B Huff , Tong L, Zhao Y , Hansen M N, Cheng J X, Wei A. (2007) Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells. Nanomedicine, 2(1),125-132.

