مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم ، شماره بیست و یکم - زمستان ۱۳۹۴

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بیوسنتز نانوذرات طلا با استفاده از باکتری *Staphylococcus aureus 29213* و بررسی اثرات آنتی باکتریال و سایتوتوکسیسیته ی آن

راضیه دربهانیها[۱]، داریوش نوروزیان شام اسبی[۲]، عظیم اکبرزاده خیاوی[۳*]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی، تهران، ایران
۲- بخش پایلوت نانوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امروزه استفاده از نانوحامل ها در دارورسانی هدفمند عوامل درمانی، بسیار مورد توجه است. نانوذرات و به طور خاص نانوذرات طلا یک گزینه ی مناسب برای انتقال مواد مختلف به اهدافشان هستند. امروزه توجه زیادی به استفاده از سیستم های بیولوژیک مانند استفاده از میکروارگانیسم ها در تولید نانوذرات با کاربرد های جدید وجود دارد. بیوسنتز و اجتماع نانومواد با استفاده از سیستم های بیولوژیک پاک، سازگار با محیط زیست و غیرسمی در مقایسه با روش های سنتز شیمیایی نانوذرات به عنوان روش های سبز شناخته شده اند.

مواد و روش ها: در این تحقیق از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس[۱] جهت بیوسنتز نانوذرات طلا استفاده شد و سپس اثرات آنتی باکتریال و سیتوتوکسیسیته ی این نانوذرات سنتز شده مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: نانوذرات طلای کاملا کروی با میانگین سایز ۲۵ نانومتر سنتز شدند. با استفاده از روش MTT غلظت های مختلف نانوذرات طلا مورد بررسی قرار گرفت و در تمامی غلظت ها بیش از نیمی از سلول ها زنده باقی ماندند. هم چنین تست های میکروبی MIC[۲](حداقل غلظت مهارکنندگی) وMBC[۳](حداقل غلظت کشندگی) نانوذرات طلا برای باکتری انتروکوکوس فاسیوم[۴] مقاوم به ونکومایسین گذاشته شد که در تمامی غلظت ها نانوذرات سبب مرگ باکتری ها شدند.

نتیجه گیری: با استفاده از نانوذرات طلا مقاومت به ونکومایسین در انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین(VRE) از بین رفت.

کلمات کلیدی: نانوذرات. بیوسنتز. سیتوتوکسیسیته. MIC. MBC. روش MTT.

مقدمه

نانوتکنولوژی علمی است که امروزه به سرعت در حال رشد و توسعه است(۲۲). نانوتکنولوژی تحقیقات در زمینه تنظیم و بررسی اثر متقابل نانومواد سنتزی و سیستم های بیولوژیک را مورد بررسی قرار می دهد(۲۰). در دانش جدید نانو، میانکنش بین ذرات معدنی و ساختار های زیستی یکی از زمینه های مهم تحقیقات است(۱۷). این علم به سرعت در زمینه های درمانی و تشخیصی در تمام مراحل پزشکی در حال پیشرفت است(۱۸).

نانوذرات طلا پایدارترین نانوذرات فلزی هستند(۸). این نانوذرات به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردشان برای بارگیری و انتقال و باردهی دارو مورد توجه اند. هسته ی طلا[۵] خنثی، غیرسمی و سنتز آن آسان است و معمولا از نانوذرات طلا با طیف سایزی یکنواخت با اندازه ای حدود ۱۵۰-۱ نانومتر برای این منظور استفاده میشود(۱۱. ۲۱). از دیگر مزایای نانوذرات طلا می توان به مقاومت بسیار بالای این نانوذرات در برابر زنگ زدگی و خوردگی اشاره کرد(۲۰). با توجه به مزایای نانوذرات طلا، امروزه از این نانوذرات به عنوان بیوسنسور، بیومارکر و هم چنین در دارو رسانی هدفمند استفاده می شود(۱. ۱۰). توانایی تشخیص میکروارگانیسم ها، بافت های سرطانی و غیره در شرایط داخل بدن[۶] و شرایط آزمایشگاهی[۷] از دیگر مزایای نانوذرات طلا در پزشکی است(۱۹).

جهت ساخت نانوذرات طلا از روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک استفاده می شود. بیوسنتز به معنی سنتز و تجمع نانوذرات

نویسنده مسئول :
بخش پایلوت نانوبیوتکنولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران
پست الکترونیک: azimakbarzadeh1326@gmail.com

تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۰۶/۲۱
تاریخ پذیرش : ۱۳۹۳/۰۴/۲۳

1 *staphylococcus aureus*
2 Minimum Inhibitory concentration
3 Minimum Bactericidal Concentration
4 *Enterococcus faecium*
5 in vivo
6 Gold core
7 in vitro

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

با استفاده از تولیدکنندگان بیولوژیک از قبیل باکتری ها، قارچ ها و گیاهان است که از آن با عنوان شیمی سبز نیز یاد می شود(۱۱). در سال ۲۰۰۲ نیر و پرادیپ موفق به بیوسنتز نانوذرات طلا و نقره از لاکتوباسیل های موجود در شیر کره ای شدند(۲. ۷. ۲۲). باکتری احیاکنندهی Fe^{+3}، شیونلا آلگی[۸]، نیز توانایی احیای یون های Au^{+3} را در محیط بی هوازی دارد. در حضور. شیونلا آلگی و گاز هیدروژن، یون های Au به طور کامل احیا شده و نانوذرات ۲۰-۱۰ نانومتری را تولید می کنند(۱۶). گزارش های دیگری نیز مبنی بر سنتز نانوذرات طلا و نقره از باکتری هایی مثل اشرشیاکلی[۹] و باسیلوس سوبتیلیس[۱۰] توسط یون و بیون در سال ۲۰۰۷ ارائه شده است. در سال ۲۰۰۷ دو و ژیانگ نانوذرات طلا را با استفاده از اشرشیاکلی سویه ی دی اچ فایو آلفا سنتز کردند(۲۳). سنتز نانوذرات با استفاده از سیستم های بیولوژیک به علت مزایایی از قبیل پاکی، غیرسمی و سازگار با محیط زیست بودن بیش تر مورد توجه هستند(۴).

امروزه، مقاومت میکروبی به آنتی بیوتیک ها به ویژه مقاومت به ونکومایسین در اماکن بهداشتی و درمانی به خصوص در رابطه با عفونت های بیمارستانی یک مشکل عمده و خطر جدی محسوب می شود. در این پژوهش سعی بر این بوده است که اثر نانوذرات طلای بیوسنتز شده به وسیله ی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۲۹۲۱۳ بر روی انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین بررسی شود.

مواد و روش ها

بیوسنتز نانوذرات طلا توسط باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۲۹۲۱۳

ابتدا باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۲۹۲۱۳در محیط کشت LB مایع تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه ی سانتی گراد شیک شد. پس از ۲۴ ساعت سوسپانسیون میکروبی حاصل سانتریفیوژ(۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) شده و سپس محلول رویی از رسوب جدا گشته و تمام نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه قرار گرفتند. در مرحله ی بعد رسوب به دو بخش تقسیم شده و بخشی از آن تحت سونیکاسیون(فرکانس ۷۰ هرتز و قدرت ۳۵ ژول و پالس های ۵ ثانیه) قرار گرفت. در نهایت به تمام نمونه ها محلول نمک طلا اضافه شد و تمامی نمونه های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه ی سانتی گراد قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت تمامی نمونه های رسوبی به رنگ بنفش درآمده و به نانوذرات طلا تبدیل شده بودند ولی نمونه ی مربوط به مایع رویی هیچ تغییر رنگی را نشان نمی داد. جهت اطمینان از تشکیل نانوذرات طلا تست های UV_spectrophotometer وDLS و XRD و TEM انجام شد.

بررسی اثر سایتوتوکسیسیته

رده های سلولی و کشت سلول

در این تحقیق از دو رده ی سلول سرطانی شامل MCF-7 (NCBI C135) و T47D (NCBI C203)(رده سلولی سرطان کارسینوم مجرای سینه) استفاده شد. محیط کشت مورد استفاده در این تحقیق محیط کشت RPMI 1640(Gibco) به همراه آنتی بیوتیک پنی سیلین(Sigma) و استرپتومایسین(Sigma) و ۱۰٪ FBS(Gibco) بود.

روش MTT

در روش MTT سوسپانسیون سلول ها طوری رقیق گشت که در هر خانه از خانه های پلیت ۹۶ خانه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت پنج درصد FBS که حاوی ۱۰۰۰۰ سلول است ریخته شد. پلیت حاصل به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه ی سانتی گراد انکوبه شد. غلظت های مختلف از نانوذره ی طلای سنتز شده(۲_۰/۰۰۳ میکرومولار) تهیه شد. پس از ۲۴ ساعت محیط کشت تخلیه شده و به جای آن ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف تهیه شده اضافه گشت و مجددا به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد.

پس از ۲۴ساعت زمان خواندن پلیت ها فرا رسید جهت خواندن پلیت ها ابتدا به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT(Sigma) اضافه شد. پلیت به مدت سه ساعت در انکوباتور باقی ماند. سپس از انکوباتور خارج گشته، محیط سلول ها تخلیه شد و سپس برای حل نمودن فرمازان تولید شده به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول(Merck) اضافه نموده و پلیت به مدت سی دقیقه در دمای اتاق نگه داری شد تا فرمازان به خوبی حل گردد. در مرحله ی بعد جذب به کمک دستگاه Elisa reader و در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.

بررسی اثر آنتی باکتریال نانوذرات طلا

باکتری مورد استفاده در این پژوهش انتروکوکوس فاسیوم مقاوم به ونکومایسین بود که از نمونه های بالینی بیماران جدا شده بود. اثر آنتی باکتریال غلظت های متفاوت نانوذرات طلا(۲_۰/۰۰۳ میکرومولار) با انجام تست های MIC(حداقل غلظت مهارکنندگی) و MBC(حداقل غلظت کشندگی) بر روی انتروکوک فاسیوم مقاوم به ونکومایسین بررسی شد.

یافته ها

UV_spectrophotometer

اسپکتروفتومتر یا طیف سنج، دستگاهی است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج اندازه گیری می کند. این عمل با انکسار

8 *Shewanella algae*

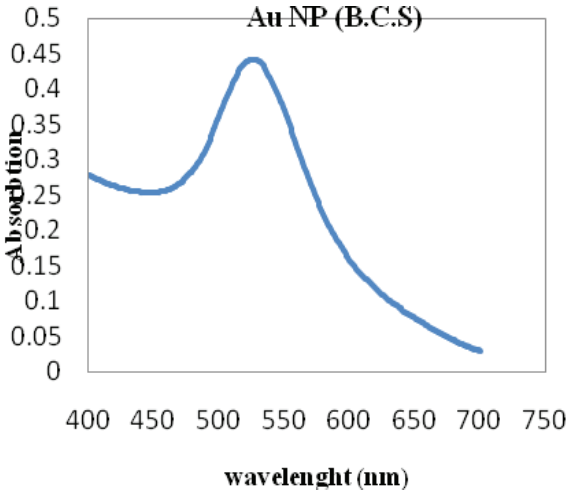
۹ *E.coli*

10 *Bacillus subtilis*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

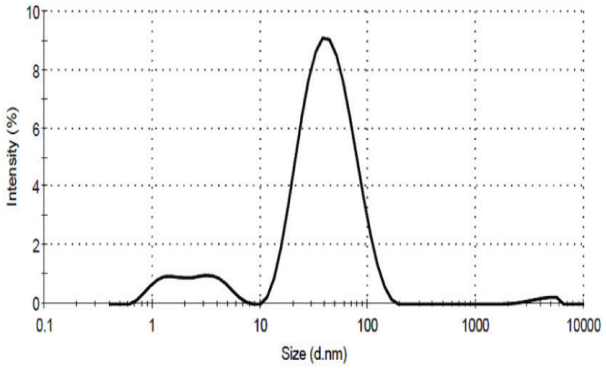
پرتو نور به طیف طول موج ها و آشکارسازی شدت ها با دستگاه باردار و نمایش نتایج به صورت گراف انجام می شود. در حقیقت این روش با استفاده از میزان جذب نور، تعیین غلظت می کند. در این روش نور از بسته های بسیار کوچکی به نام فوتون تشکیل شده است که انرژی هر یک از آن ها به محض برخورد به یک الکترون منتقل می شود. تنها هنگامی انتقال رخ می دهد که انرژی فوتون ها برابر با انرژی مورد نیاز برای انتقال الکترون به لایه انرژی بعدی باشد. به طور کلی نور با طول موج و انرژی خاص به نمونه تابانده شده و مقدار مشخصی از انرژی آن جذب می شود. سپس با اندازه گیری انرژی عبوری از نمونه توسط یک فوتودتکتور، مقدار جذب تعیین می شود. اسپکتروفتومتر دستگاه پیچیده ای است که شدت نور را به صورت تابعی از طول موج است اندازه گیری می کند. در این دستگاه نور توسط یک منبع نور تولید شده و پس از گذشتن از میان نمونه مورد نظر نور، به صورت طیفی منتشر می شود سپس به وسیله سنسورها آشکارسازی شده و به صورت نتایج قابل کاربردی ترجمه می شود. خروجی اسپکتروفتومتر همیشه نموداری از شدت نور نسبت به طول موج است. مقدار گراف بیان کننده مقدار عبور یا مقدار جذب است. روش UV_spectrophotometer قابلیت اندازه گیری نمونه های فوق العاده کوچک را دارد لذا این روش یکی از روش های متداول در شناسایی و بررسی ویژگی های نانوذرات کلوییدی(از جمله نانوذرات طلا) به شمار می آید؛ علت این موضوع، در دسترس بودن این تکنیک، ارزان بودن آن و نتایج قابل قبولی است که می توان به آن استناد کرد؛ طیف UV-Vis حاصل از کلوییدنانوذرات طلای تهیه شده در شکل۱ نشان داده شده است. نانوذرات تهیه شده دارای طول موج ۵۳۲ نانومتر هستند.



شکل ۱. نتایج طیف سنجی فرابنفش مرئی نانوذرات طلا

DLS

دستگاه DLS یا Zetasizer دستگاهی است که با استفاده از تابش نور مرئی با طول موج ۶۳۳ نانومتر به نمونه سوسپانسیون می تواند برخی از خواص نمونه از جمله پتانسیل زتا و وزن مولکولی آن را اندازه گیری کند. در این دستگاه غلظت سوسپانسیون با شدت پراکندگی نور رابطه مستقیم دارد و با افزایش غلظت، شدت پراکندگی نور در نمونه آزمایشی نیز زیاد می شود. لازم به ذکر است که به طور معمول از DLS برای اندازه گیری اندازه ی ذرات استفاده می شود، قطر گزارش شده توسط این تکنیک که در شکل ۲ نشان داده شده است قطر هیدرودینامیکی نانوذرات می باشد. نتایج حاصل نشان داد که میانگین اندازه ی نانوذرات طلای بیوسنتز شده ۲۵ نانومتر است.



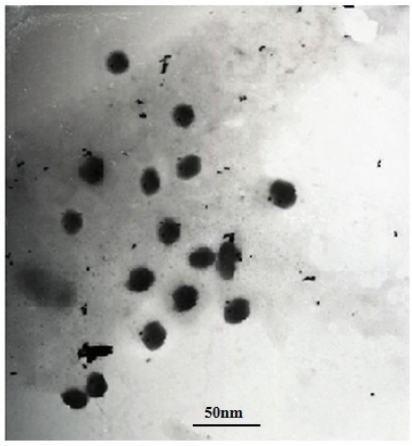
شکل۲ . نتیجه ی DLS نانوذرات طلا

TEM

میکروسکوپ انتقال الکترونی(Transmission Electron Microscope) مشابه میکروسکوپ های نوری است با این تفاوت که به جای پرتوی نور در آن از پرتوی الکترون استفاده می شود. در واقع TEM نوعی پروژکتور نمایش اسلاید در مقیاس نانو است که در آن پرتویی از الکترون ها از تصویر عبور داده می شود. الکترون هایی که از جسم عبور می کنند به پرده فسفرسانس برخورد کرده سبب ایجاد تصویر از جسم بر روی پرده می شوند. قسمت های تاریک تر بیانگر این امر هستند که الکترون های کمتری از این قسمت جسم عبور کرده اند(این بخش از نمونه چگالی بیشتری دارد) و نواحی روشن تر مکانهایی هستند که الکترون از آنها عبور کرده است(بخش های کم چگال تر). تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات طلای بیوسنتز شده در شکل ۳ آورده شده است. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری میانگین اندازه ی نانوذرات طلای تهیه شده را ۵±۲۰ نانومتر نشان داد. هم چنین با توجه به تصاویر، نانوذرات طلای تهیه شده ساختار به طور کامل کروی داشتند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

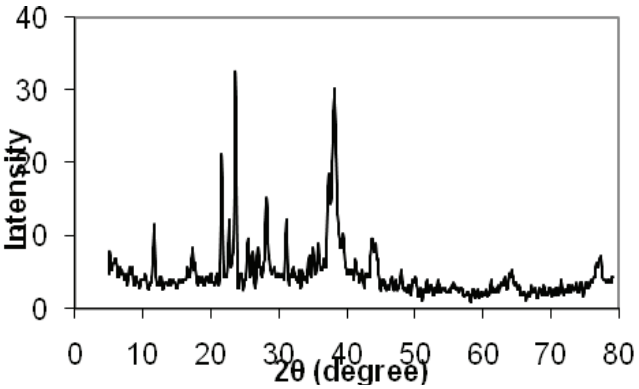
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]



شکل ۳. تصویر TEM نانوذرات طلا

XRD

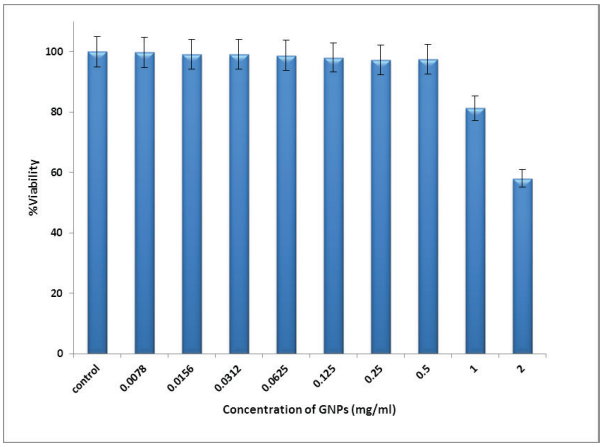
پراش اشعه ایکس برای مطالعه‌ی ساختار مواد بلوری استفاده می‌شود. ناحیه پرتو ایکس در طیف الکترومغناطیس در محدوده‌ی بین پرتو گاما و فرابنفش قرار دارد. با استفاده از این ناحیه ی طیفی می‌توان اطلاعاتی در خصوص ساختار، جنس ماده و نیز تعیین مقادیر عناصر به دست آورد. برای یک ماده خالص، الگوی پراش پرتو ایکس، همانند اثر انگشت برای آن ماده است. پراش اشعه ایکس در مشخصه یابی ساختار بلوری مواد، از جمله در اندازه گیری میانگین فواصل بین لایه ها و سری های اتمی، تعیین موقعیت تک بلور و ترکیب اتم ها و ...، بررسی ساختار کریستالی مواد ناشناخته، تعیین مشخصات ساختاری مانند شکل و اندازه دانه را تعیین کرد. با توجه به شکل ۴ طیف به دست آمده از آنالیز اشعه ی ایکس با طیف استاندارد مربوط به نانوذرات طلا مطابقت دارد و حضور نانوذرات طلا را تائید می کند.



شکل۴. نتایج XRD نانوذرات طلا

روش MTT

غلظت های ۱ و ۲ میکرومولار نانوذرات طلا کشندگی کمی برای سلول های سرطانی دارند و بهتر است جهت درمان عفونت ها از این غلظت ها استفاده نشود، اما غلظت های کم تر از ۱ میکرومولار نانوذرات طلا هیچ گونه کشندگی برای سلول های سرطانی نداشتند پس بهترین گزینه برای درمان عفونت های باکتریایی هستند.



شکل ۵. نمودار viability نانوذرات طلا

MIC و MBC

در این تحقیق غلظت های ۲_۰/۰۰۳ میکرومولار نانوذرات طلا مورد بررسی قرار گرفت. تمامی غلظت های نانوذرات طلا سبب مرگ انتروکوک فاسیوم های مقاوم به ونکومایسین شدند و هیچ گونه رشدی در این غلظت ها مشاهده نشد. هاله ی عدم رشد نیز در اطراف دیسک های حاوی غلظت های متفاوت نانوذرات طلا مشاهده شد.

بحث

اخیرا، میکروارگانیسم ها توجه بسیاری را در زمینه ی بیوسنتز نانوذرات به خود جلب کرده اند. در سال ۱۹۸۰ بوریگ نشان داد که به دنبال انکوباسیون سلول ها با یون های Au^{+3} در دما و فشار معمول، نانوذرات طلا به میزان بسیار زیادی در سلول های باکتریایی رسوب می کنند(۹). علاوه براین در سال ۱۹۹۴ سوتام و بوریگ و در سال ۲۰۰۰ فورتین و بوریگ توانستند از باسیلوس سوبتیلیس ۱۶۸[11]، نانوذرات طلا را سنتز کنند(۹). در کنار موارد فوق کلائوس در سال ۱۹۹۹ و جورجر در سال ۲۰۰۰ بیوسنتز نانوذرات نقره را از سودوموناس استاتزری ای جی ۲۵۹[12]انجام دادند(۳) . در سال ۲۰۰۲ نیر و پرادیپ موفق به بیوسنتز نانوذرات طلا و نقره از لاکتوباسیل های موجود در شیر کره ای شدند(۱۹. ۵. ۶). باکتری احیا کننده ی Fe^{+3}، شونلا آلگی[13]، توانایی احیای یون های Au^{+3} را در محیط بی هوازی دارد. در حضور شونلا آلگی و گاز هیدروژن، یون های Au به طور کامل احیا شده و نانوذرات ۲۰-۱۰ نانومتری را تولید می کنند(۹).گزارش های دیگری نیز مبنی بر سنتز نانوذرات طلا و نقره از باکتری هایی مثل اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس توسط یون و بیون در سال ۲۰۰۷ ارائه شده است(۲۴). در سال ۲۰۰۷ دو و جینگ

11 *Bacillus subtilis168*
12 *Pseudomonas stutzeri AG259*
13 *Shewanella algae*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

نانوذرات طلا را با استفاده از اشرشیاکلی سویه دی اچ فایو آلفا سنتز کردند(۲۳). در سال ۲۰۰۹ تامر و گوندوگدو نوعی هسته_ پوسته ، طلا-آهن را از اشرشیاکلی تولید کردند(۱۵). در ایران حسینی در ۲۰۰۷ نانوذرات طلا را از سودوموناس آئروجنز، شاهوردی و مینائیان نانوذرات نقره را با استفاده از مایع رویی کشت انتروباکتریاسه(۲۵) و شاهوردی و فخیمی نانوذرات نقره را از استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی سنتز کردند(۲۵). در سال ۲۰۰۸ مینائیان و شاهوردی و نوحی نانوذرات نقره را به صورت خارج سلولی با استفاده از کشت ترکیبی کلبسیلا نومونیه[۱۴]، انتروباکتر کلوآسه[۱۵] و اشرشیاکلی تولید کردند(۱۴). در سال ۲۰۱۰ جعفری فشارکی و نظری با استفاده از کلبسیلا نومونیه نانوذرات سلنیوم را سنتز کردند(۱۳).

علاوه بر آن استفاده از قارچ ها در سنتز نانوذرات به تازگی امیدهای زیادی را در تولید نانوذرات در مقیاس بیشتر ایجاد کرده است. در حقیقت قارچ ها با ترشح مقادیر زیادی آنزیم سبب بیوسنتز نانوذرات می شوند. بسیاری از گونه های قارچی و اکتینومایست ها مثل فوزاریوم اگزوسپوریوم، ورتیسیلیوم[۱۶]، ترمومونوسپورا[۱۷] ، ردوکوکوس به عنوان سنتزکنندگان نانوذرات درون و خارج سلولی گزارش شده اند(۱۲). در سال ۲۰۰۲ موخرجی نانوذرات طلا را از فوزاریوم اگزوسپوریوم تولید کرد(۱۰). محمدیان و شجاع الساداتی نانوذرات نقره را از فوزاریوم اگزوسپوریوم سنتز کردند(۲۵). در ۲۰۰۳ ساستری با استفاده از ترمومونوسپورا نانوذرات طلا را به صورت خارج سلولی به دست آورد(۱۲).

در این طرح از رسوب و محتویات درون سلول باکتری استافیلوکوکوس اورئوس سویه ی *29213* جهت بیوسنتز نانوذرات طلا استفاده شد، چرا که باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به راحتی قابل وصول می باشد و هم چنین باکتری ها رشد سریع تری نسبت به قارچ ها داشته و شرایط رشد ساده تری دارند، نسبت به قارچ ها در دسترس تر هستند و احتمال آلودگی آزمایشگاه در استفاده از باکتری ها کم تر می باشد. با استفاده از این باکتری نانوذرات طلا با سایز خوبی(۵±۲۰ نانومتر) سنتز شدند.

براساس یافته های این پژوهش انتروکوک فاسیوم های مقاوم به ونکومایسین توسط حداقل غلظت های نانوذرات طلا به خوبی درمان شدند و مقاومتی به نانوذرات طلا نشان ندادند.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از این است که به دلیل عدم خاصیت کشندگی سلولی نانوذرات طلا و وجود خاصیت آنتی باکتریال آنها، می توان از نانوذرات طلا جهت از بین بردن عفونت های باکتریایی به ویژه عفونت های بیمارستانی استفاده کرد.

هم چنین بر اساس این نتایج می توان امیدوار بود که به وسیله ی کانژوگاسیون نانوذرات فلزی و غیرفلزی به خصوص نانوذرات طلا با انواع آنتی بیوتیک ها، دوز مصرفی آنتی بیوتیک ها کاهش پیدا کرده و مقاومت آنتی بیوتیکی از بین برود و پیرو آن عوارض جانبی حاصل از آنتی بیوتیک ها کاهش پیدا کند.

14 Klebsiella pneumoniae
15 Enterobacter cloace
16 Verticillium sp
17 Thermomonospora sp

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

منابع

1) Akbarzadeh A, Zare D, Farhangi A, Mehrabi M, Norouzian D, Tangestaninegad SH, Moghadam M, Bararpour N. Synthesis and characterization of gold nanoparticles by tryptophan. *Am J Appl Sci, 2009; 6(4):691-695.*

2) Balasubramanian R, Xu J, Kim B, Sadtler B, Wei A. Extraction and Dispersion of Large Gold Nanoparticles in Nonpolar Solvents. J *DISPER SCI TECHNOL, 2001; 22(5):485-489.*

3) Bharde Atul.A, Parikh R.Y, Baidakova M, Jouen S, Hannoyer B, Enoki T, Prasad B.L.V, Shouche Y.S, Ogale S, Sastry M. Bacteria-Mediated Precursor-Dependent Biosynthesis of Superparamagnetic Iron Oxide and Iron Sulfide Nanoparticles. *Langmuir, 2008; 24(11):5787-5794.*

4) Boisseau P, Houdy P, Lahmani M, functionalised Inorganic nanoparticles for biomedical Applications, Duguet E, Treguer-Delapierre M, Delville M-H, Nanoscience: Nanobiotechnology and nanobiology, *978-3-540-88632-7, Springer Heidelberg Dordrecht, 2009, 151.*

5) Brown K.R, Natan M.J. Hydroxylamine seeding of colloidal Au Nanoparticles in solution and on surfaces. *Langmuir, 1998; 14(4):726-728.*

6) Brust M, Walker M, Bethell D, Schiffrin DJ, Whyman RJ. Synthesis of thiol-derivatized Gold nanoparticles in a two phase liquid-liquid system. *J. Chem. Soc. Chem. Commun, 1994; 801-802.*

7) Claesson E.M, Philipse A.P. Thiol-functionalized silica colloids, grains, and membranes for irreversible adsorption of metal (oxide) nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem, 2007; 297:46-54.*

8) Daniel M.C, Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical reviews, 2004; 104(1):293-346.*

9) Fortin D, Beveridge T.J, Magnetite (Fe3O4) and Greigite (Fe3S4), Baeuerlein E, Biomineralization From biology to biotechnology and medical application, 3-527-31065-7, Germany, Wiley-VCH, 2000, 15-45.

10) Ghosh P, Han G, De M, Kim C.K, Rotello V.M. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev, 2008; 60(11):1307–1315.*

11) Gurunathan S, Kalishwaralal K, Vaidyanathan R, Deepak V, Pandian S.R.K, Muniyandi J, Hariharan N, Eom SH. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using Escherichia coli. *colloids and surfaces. Biointerfaces, 2009; 74:328–335.*

12) Husseiny M.I, El-Aziz M.A, Badr Y, Mahmoud M.A. Biosynthesis of gold nanoparticles using Pseudomonas aeruginosa. *ScienceDirect, 2007; 67(3-4):1003-1006.*

13) Jafari fesharaki P, Nazari P, Shakibaie M, Rezaie S, Banoee M, Abdollahi M, Shahverdi A.R. Biosynthesis of selenium nanoparticles using *Klebsiella pneumoniae* and their recovery by a simple sterilization process. *Braz. J. Microbiol, 2010; 41(2).*

14) Minaeian S, Shahverdi A.R, Nohi A.S, Shahverdi H.R. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by some bacteria. *J. science Islamic Azad University, 2008; 17(66):1-4.*

15) Mohammadian A, Shojaosadati S.A, Habibi Rezaee M. *Fusarium oxysporum* Mediates Photogeneration of Silver Nanoparticles. *Scientia Iranica, 2007; 14(4):323-326.*

16) Nair B, Pradeep T. Coalescence of Nanoclusters and Formation of Submicron Crystallites Assisted

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

by Lactobacillus Strains. *CRYSTAL GROWTH & DESIGN, 2002; 2(4):293-298.*

17) Prasad K, Jha A.K, Kulkarni A.R. Lactobacillus assisted synthesis of titanium nanoparticles. *NRL, 2007; 2:248–250.*

18) Saha B, Bhattacharya J, Mukherjee A, Ghosh A.K, Santra C.R, Dasgupta A.K, Karmakar P. In vitro structural and functional evaluation of gold nanoparticles conjugated antibiotics. *NRL, 2007; 2:614–622.*

19) Salavati niasar, M. nanochemical (fabrication methods, properties, and applications), Publications of knowledge, 203, 1388. (Text in Persian).

20) Sinha S.H, Pan L, Chanda P, Sen S.K. Nanoparticles fabrication using ambient biological resources. *J. Appl. Biosci, 2009; 19:1113–1130.*

21) Tzhayik O, Sawant P, Efrima S, Kovalev E, Klug J.T. Xanthate capping of silver, copper, and gold colloids. *Langmuir, 2002; 18(8):3364-3369.*

22) Vaidyanathan R, Kalishwaralal K, Gopalram S, Gurunathan S. Nanosilver—The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnol Adv, 2009; 27(6):924–937.*

23) Xie J, Pierce J.G, James R.C, Okano A, Boger D.L. A Redesigned Vancomycin Engineered for Dual D-Ala-D-Ala and D-Ala-D-Lac Binding Exhibits Potent Antimicrobial Activity Against Vancomycin-Resistant Bacteria. *JACS, 2011; 133(35): 13946-13949.*

24) Yoon, K.Y, Byeon J.H, Park J-H, Hwang J. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *ScienceDirect. 2007; 373(2-3):572-575.*

25) Zare D, Akbarzadeh A, Tangestaninezahd SH, Moghadam M, Atiabi M, Farhangi A, Rahimi R.A, Bararpour N. Application of L-Phenylalanine in synthesis of gold nanoparticles and study of their stability with SDS. *J. sciences (Islamic azad university), 2008; 18(68):19-28.*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.5.4]