www.nm.iau-shahrood.ac.ir
نانومواد: ۳۵:۱۰ (۱۳۹۷) ۱۸۷- ۱۷۵

تولید و بررسی خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره توسط قارچ Fusarium oxysporum در شرایط مختلف محیطی

فاطمه اعظمی[۱]، صاحبعلی منافی*[۲] و پرستو پورعلی[۳]

۱- دانشکده علوم پایه، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران
۲- دانشکده فنی و مهندسی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران
۳- دانشکده علوم پزشکی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۷/۰۱/۲۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۷/۰۴/۲۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۷/۰۶/۱۲

چکیده

در مطالعه حاضر، از قارچ Fusarium oxysporum جهت تولید نانوذرات نقره استفاده گردید که ابتدا قارچ در شرایط مختلف محیطی (اتوکلاو، فور، یخچال) کشت داده شد، سپس با افزودن نیترات نقره به محلول روئی قارچ‌ها نانوذرات نقره تولید شد. خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات گوناگون بدست آمده روی باکتری‌های Escherichia coli، Staphylococcus aureus و Pseudomonas aeruginosa با یکدیگر مقایسه گردید. در نهایت توسط اسپکتروفتومتر، میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراش اشعه ایکس ویژگی‌ها و اندازه نانوذرات تولید شده بررسی و تایید شد. نتایج اسپکتروفتومتری بدین صورت بود که نانوذرات نقره دارای حداکثر پیک جذب در حدود طول موج ۴۵۰- ۴۰۰ nm می‌باشند و حداکثر پیک جذب نانوذرات نقره‌ای که توسط قارچ قرار داده شده در اتوکلاو تولید شد، در طول موج پایین‌تری نسبت به بقیه نانوذرات مشاهده شد. نتایج XRD حضور نانوذرات را در محلول نشان داد و عکس‌های TEM حاکی از شکل کروی، مثلثی و چندضلعی نانوذرات بودند. پیشگیری از آلودگی زخم بیماران با میکروارگانیسم‌ها به ویژه باکتری Staphylococcus aureus از مسائل بسیار مهم می‌باشد که اگر توسط این نانوذرات روی وسایل بیمارستانی پوشش‌دهی شود از آلودگی‌ها جلوگیری می‌گردد.

***واژه‌های کلیدی:* تولید زیستی، نانوذرات نقره، Fusarium Oxypsorum، آنتی‌باکتریال.**

۱- مقدمه

می‌توان گفت نقره با داشتن خواص ضد باکتریایی خود شهرت یافته است. نانوذرات نقره با رهاسازی یون‌های نقره علیه باکتری‌های متفاوت عملکرد دارند. اینکه باکتری‌ها نسبت به نانوذرات مقاومت پیدا نمی‌کنند بسیار مهم می‌باشد و به همین علت بر طیف وسیعی از باکتری‌ها اثرگذار خواهند بود [۱]. از اساسی‌ترین ویژگی نانوذرات نقره خواص ضدباکتریایی این ذرات است که از این ویژگی در زخم‌پوش‌ها، پانسمان زخم، پمادهای زخم‌های پوستی،

* **عهده‌دار مکاتبات:** صاحبعلی منافی
نشانی: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، گروه مهندسی مواد
تلفن: ۳۲۳۹۴۲۸۳-۰۲۳، **دورنگار:** ۳۲۳۹۴۲۸۳-۰۲۳، **پست الکترونیکی:** a_manafi@iau-shahrood.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

ضدعفونی کننده‌ها و پوشش‌های ابزار پزشکی استفاده می‌شود [۲]. کاربرد دیگر نانوذرات نقره در بیوسنسورها می‌باشد که امکان تشخیص بیماری‌هایی مانند سرطان را فراهم می‌سازد. نانوذرات نقره در تصویربرداری‌های پزشکی نیز استفاده می‌شوند [۳]. نانوذرات نقره به منظور پوشش‌دهی پروتزهای عروقی و کاترهای درون وریدی کاربرد دارند. می‌توان از کامپوزیت سیمان استخوان و نانوذرات نقره استفاده نمود بدین منظور که پس از تزریق سیمان استخوانی به محل ضایعه احتمال انقباض حجمی و ایجاد فضای خالی و تجمع باکتریایی از بین برود [۴]. نانوذرات نقره می‌توانند به عنوان سوبسترای روش‌هایی که جهت پی بردن به ویژگی‌های مختلف مولکول‌ها و مواد می‌باشد کاربرد داشته باشند. علاوه بر موارد بالا از کاربردهای دیگر نانوذرات نقره می‌توان به نقش این ذرات به عنوان حامل دارو و ژن اشاره کرد زیرا نانوذرات علاوه بر افزایش ورود این ترکیبات به بدن، اثرات هم‌افزایی علیه میکروارگانیسم‌ها داشته و سبب بالا رفتن کارایی آنها می‌شوند. گزارش شده است که نانوذرات قابلیت عبور از سدخونی- مغزی دارند و از این قابلیت می‌توان برای اهداف درمانی مثل دارورسانی در تومورهای مغزی استفاده کرد. نانوذرات را می‌توان به صورت خوراکی برای رساندن پپتیدها و پروتئین‌ها استفاده کرد. نانوذرات پلیمری می‌توانند به عنوان کپسول برای محافظت از این پپتیدها و پروتئین‌ها در برابر آنزیم‌های گوارشی مفید باشند، برای مثال می‌توان انسولین را بدین صورت تهیه نموده و با نانوذرات پلیمری کپسول‌دار کرد و سپس به صورت خوراکی می‌توان مصرف نمود، اصطلاحا به این روش Colloidal Carrier System گفته می‌شود [۵].

تولید نانوذرات با روش‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی صورت می‌گیرد که استفاده از میکروارگانیسم‌ها همان سنتز بیولوژیکی محسوب می‌شود. در روش بیولوژیکی یا زیستی نیازی به هزینه‌های گزاف روش شیمیایی نمی‌باشد و برای محیط زیست نیز بدون خطر خواهد بود [۶]. سنتز نانوذرات به عنوان یکی از مهمترین بخش‌های تحقیقات نانوتکنولوژی معرفی شده است و نیاز روز افزونی به پیشرفت و توسعه فرآیند سنتز نانوذرات قابل درک می‌باشد. در این راستا محققین در پی تولید نانوذرات توسط سیستم‌های بیولوژیکی می‌باشند و دریافته‌اند که بسیاری از ارگانیسم‌های تک سلولی یا پر سلولی قادر به تولید داخل سلولی یا خارج سلولی نانوذرات خواهند بود. از آنجائیکه میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ با احیای یون‌های فلزی قادر به حذف فلزات سمی خواهند بود در علم مواد به آنها به عنوان دوستداران محیط زیست نگاه می‌شود [۹-۷]. حتی در پژوهشی عنوان شده است که به راحتی می‌توان توسط ضایعات گیاهانی مانند زعفران نانوذرات را با روش زیستی تولید نمود که دارای خواص آنتی‌باکتریال در برابر انواع باکتری‌ها می‌باشند [۱۰].

مکانیسم دقیق فعالیت آنتی‌باکتریال نقره روی میکروارگانیسم‌ها کاملا شناخته نشده است ولی حدس زده می‌شود که نانوذرات نقره باعث تغییرات مورفولوژی و ساختاری در سلول‌های باکتری‌ها می‌شوند. بر اساس برخی گزارش‌ها مکانیسم اصلی نانوذرات نقره علیه باکتری‌ها با نفوذ آنها به دیواره سلولی باکتری‌ها و اختلال در سیگنالینگ سلولی باکتری‌ها صورت می‌گیرد. در باکتری Escherichia coli یون‌های نقره بر زنجیره تنفسی سلول‌های باکتری اثر می‌گذارند و زمانی که در سوسپانسیون حاوی سلول‌های Escherichia coli قرار گیرند باعث مهار اکسیداسیون گلوکز، گلیسرول، فومارات، سوکسینات، دلاکتات و سوبستراهای اندوژن خواهند شد [۱۱].

سایز و شکل نانوذرات نقره روی فعالیت آنتی‌باکتریال آنها موثر می‌باشد، فعل و انفعالات ایجاد شده روی باکتری‌ها توسط نانوذرات نقره با سایز کمتر از ۱۰ nm افزایش دهنده فعالیت آنتی‌باکتریال نانوذرات می‌باشد و با کوچکتر شدن سایز نانوذرات نسبت سطح به حجم آنها بیشتر می‌شود تا با سلول باکتری تماس داشته باشند. خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره وابسته به شکل آنها نیز می‌باشد. مشخص گردیده که نانوذرات مثلثی از کروی و میله‌ای بر علیه Escherichia coli فعال‌تر است [۱۲،۱۳].

Archive of SID

www.SID.ir

از قارچ‌ها به عنوان میکروارگانیسم مورد استفاده در تولید نانوذرات بسیار استفاده شده است، زیرا قارچ‌ها بدلیل داشتن مقادیر قابل ملاحظه‌ای آنزیم‌های ویژه و سهولت کار در آزمایشگاه، برای تولید نانوذرات مناسب می‌باشند [۱۴].

در سال ۲۰۱۷، Gudikandula و همکارانش مقاله‌ای با عنوان سنتز نانوذرات نقره توسط قارچ‌های ریسه سفید و بررسی مشخصات و مطالعه خواص آنتی‌باکتریال آنها ارائه نمودند. قارچ‌های Ganoderma enigmaticum و Trametes ljubarskyi در محیطی با pH برابر ۶ و انکوباتور شیکردار با دمای ۳۲ °C کشت داده شده‌اند. در نتایج بیان شده که نانوذرات نقره تولید شده دارای اثرات آنتی‌باکتریال می‌باشند و این روش تولید نانوذرات روشی بسیار کم هزینه و بی‌خطر برای محیط زیست می‌باشد [۱۵].

قارچی مانند Fusarium oxysporum قادر به تولید خارج سلولی نانوذرات نقره با اندازه ۵-۵۰ nm می‌باشد و مکانیسم‌های ترشحی کارآمدی دارد. تولید نانوذرات نقره توسط این قارچ به گونه‌ای است که احتمال ایجاد فلوکوله شدن نانوذرات حتی پس از یک ماه از انجام واکنش نیز وجود نخواهد داشت و پایداری بالای این نانوذرات مربوط به پروتئین‌های قارچ می‌باشد که به صورت پوششی روی ذرات نقره را فرا می‌گیرند [۱۶،۱۷].

جذابیت استفاده از قارچ‌ها در تولید نانوذرات، بدلیل کشت آسان و محیط کشت ساده قارچ‌ها و وجود مقادیر قابل توجهی آنزیم‌های ویژه در این میکروارگانیسم‌ها و سهولت کار در آزمایشگاه می‌باشد. همچنین چون مقادیر بالایی نانوذره تولید می‌کنند از لحاظ اقتصادی به صرفه می‌باشند [۱۸].

در این پژوهش نانوذرات نقره توسط قارچ F. oxysporum قرار داده شده در شرایط مختلف محیطی تولید شد، اندازه و شکل آنها با یکدیگر مقایسه گردید و خواص آنتی‌باکتریال آنها در برابر باکتری‌های گرم منفی از قبیل E. coli و گرم مثبت S. aureus مطالعه شد.

۲- فعالیت‌های تجربی

۲-۱- مواد

در این پژوهش، قارچ Fusarium oxysporum، باکتری‌های E. coli، Pseudomonas aeruginosa و S. aureus را از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی ایران خریداری و محیط کشت Sabaro Dextrose Broth، Muller Hinton Agar و نیترات نقره با مارک تجاری Merck تهیه گردیده است.

۲-۲- کشت نمونه قارچ

نمونه تازه قارچ Fusarium oxysporum را از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی ایران خریداری نموده و در محیط کشت Sabaro Dextrose Broth به مدت ۴ روز در دمای ۲۶ °C کشت داده شد [۷].

۲-۳- ایجاد شرایط مختلف محیطی جهت تولید نانوذرات نقره

پس از بدست آوردن توده سلولی از مرحله قبل، توده سلولی قارچ Fusarium oxysporum توسط سانتریفیوژ از محیط کشت جدا شد، سپس جهت قرار دادن قارچ در شرایط مختلف محیطی توده سلولی قارچ توزین شده و ۴ g از توده سلولی قارچ درون هرکدام از سه عدد ارلن استریل خالی که از قبل اتوکلاو شده بودند، قرار داده شد. به هر کدام از ارلن‌ها آب مقطر افزوده و ۵ min با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و جدا جدا شستشو داده و محلول روئی دور ریخته شد تا فقط میسلیوم‌های قارچ درون ارلن‌ها باقی بمانند. یک ارلن را به مدت سه ساعت با درب باز درون فور ۱۱۰ °C قرار داده تا قارچ کاملا خشک شد و سپس ۱۰۰ ml آب مقطر به آن افزوده شد. به ارلن دوم ۱۰۰ ml آب مقطر افزوده شد و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱/۵ °C به مدت ۱۵ min در فشار بخار ۱۵ psi قرار داده شد و به ارلن سوم ۱۰۰ ml آب مقطر افزوده و در یخچال قرار داده شد. جهت تولید نانوذرات نقره به هر

Archive of SID

www.SID.ir

کدام از ارلن‌ها ۱۰۰ µL از نیترات نقره ۱ M افزوده شد و از تکنیک حرارت‌دهی برای تولید نانوذرات نقره توسط قارچ استفاده گردید، که ارلن‌های حاوی قارچ و آب مقطر و نیترات نقره روی شعله به مدت ۵ min قرار گرفتند تا به جوش آمده و چند ثانیه جوشید. در ادامه تغییر رنگ محلول حاوی قارچ و نیترات نقره بر اثر حرارت نشانگر تولید و تجمع خارج سلولی نانوذرات نقره توسط قارچ بود [۱۹].

۲-٤- تهیه غلظت نیم مک فارلند از باکتری‌ها

برای انجام این کار ۳ ml آب مقطر استریل را جداگانه درون سه لوله فالکون استریل ریخته و توسط لوپ استریل و درکنار شعله از کلنی‌های خریداری شده سه نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی Staphylococcus aureus، Escherichia coli و Pseudomonas aeruginosa توسط آنس برداشته و درون لوله فالکون‌های حاوی آب مقطر استریل به طور مجزا حل نموده تا جایی که کدورت هر کدام مشابه کدورت غلظت نیم مک فارلند شد. برای تایید کدورت و غلظت هر سه سوسپانسیون باکتری نیز از اسپکتروفتومتری نور مرئی استفاده شد [۲۰].

۲-۵- کشت باکتری‌ها

برای انجام آزمون‌های ضدباکتریایی، از روش ایجاد چاهک در آگار استفاده شد. توسط سوآپ استریل از غلظت معادل نیم مک فارلند باکتری‌ها، اصطلاحا به صورت کشت چمنی در سه عدد پلیت حاوی محیط کشت Muller Hinton Agar کشت داده شد. سپس درون هر محیط کشت ۵ چاهک ایجاد شد. در چاهک اول محلول نیترات نقره ۰/۰۱ M به عنوان کنترل مثبت، در چاهک دوم محلول حاوی نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در یخچال، در چاهک سوم محلول حاوی نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در فور، در چاهک چهارم محلول حاوی نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در اتوکلاو و در چاهک پنجم کنترل منفی که همان محیط کشت قارچ فاقد نانوذرات نقره بود ریخته شد. سپس پلیت‌ها درون انکوباتور ۳۷ °C درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و پس از این مدت هاله عدم رشد باکتری‌ها توسط خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و بررسی شد تا میزان مقاومت و حساسیت باکتری‌ها نسبت به انواع نانوذرات تولید شده سنجیده شود. ضمنا جهت بالا بردن دقت آزمایشات، روش انجام تست برای باکتری‌ها چهار بار و در چهار روز متوالی تکرار شد [۲۰].

۳- نتایج و بحث

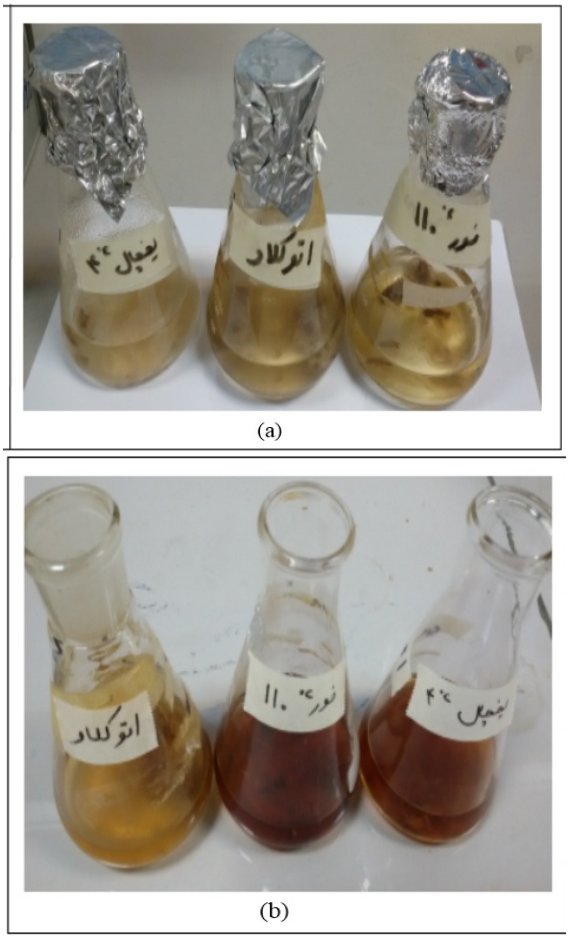
در پژوهش حاضر سعی بر تولید نانوذرات به کمک حرارت شده است. با استفاده از حرارت سرعت واکنش‌ها افزایش می‌یابد و حرارت‌دهی سبب فعالیت بیشتر آنزیم‌های درگیر در تولید نانوذرات خواهد شد. به طوری که حرارت حدود ۸۰ °C سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها و کاهش زمان تولید نانوذرات از ۲۴ ساعت به ۵ min شد.

پس از اضافه نمودن نیترات نقره در سه ارلن حاوی قارچ Fusarium oxysporum در شرایط مختلف محیطی طبق شکل ۱، با حرارت دادن هر کدام از ارلن‌ها به مدت ۵ min رنگ محلول از زرد به قهوه‌ای تغییر نمود. نتایج حاصل از این تغییر نشان دهنده تولید نانوذرات نقره بدلیل تغییر در پلاسمون سطحی ذرات بوده است.

در سال ۲۰۱۲، Vanmathi و همکارانش مقاله‌ای با عنوان جداسازی و شناسائی نانوذرات نقره تولید شده توسط Fusarium oxysporum ارائه نمودند. آنها تعداد ۲۱ نمونه از قارچ را از خاک جداسازی کرده و سپس با افزودن نیترات نقره به محلول حاوی قارچ نانوذرات نقره به صورت خارج سلولی تولید شد. در اثر افزودن نیترات نقره رنگ محلول زرد مایل به قهوه‌ای شد که علت آن خاصیت پلاسمون سطحی در نانوذرات می‌باشد. سایز این نانوذرات ۶۰-۵ nm گزارش و بیان شده که نانوذرات مذکور بسیار سریع تولید شدند و تا ماه‌ها در مکان تاریک پایدار می‌باشند [۲۱].

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: ارلن‌های حاوی قارچ، a) قبل از افزودن نیترات نقره و b) پس از افزودن نیترات نقره.

یون‌های فلزی زمانی که درتماس با زیست توده قارچی قرار گیرند یا به طور مستقیم احیا می‌شوند، یا به گروه‌های عاملی که بار مثبت دارند مانند آمین‌ها و کیتین و کیتوزان موجود در دیواره سلولی قارچ متصل شده و توسط این گروه‌های عاملی احیا شده و سپس یون‌های احیاشده با دفع الکترونی بین گروه‌های با بار مثبت و کاتیون‌ها در محلول رها می‌شوند [۱۴].

جهت تایید تولید نانوذرات نقره توسط قارچ Fusarium oxysporum از اسپکتروفتومتری استفاده شد. در این روش بدلیل رزونانس پلاسمون سطحی ذرات می‌توان تولید نانوذرات را پیگیری نمود. نوسان الکترون‌های آزاد در اطراف اتم‌های فلز، رزونانس پلاسمون سطحی نامیده می‌شود. پلاسمون، نوسانات الکترون‌های رسانش فلز در هنگام عبور الکترون پر انرژی است. دلیل افت سریع انرژی الکترون‌ها در عبور از فلزات، صرف این انرژی برای حرکت تجمعی و نوسان گونه الکترون‌های آزاد فلز می‌باشد که آن را پلاسمون می‌گویند و دلیل این نامگذاری شباهت نوسانات الکترون‌ها با نوسان‌های ذرات محیط پلاسما می‌باشد. به نوسانی که یک جذب قوی در ناحیه مرئی دارد، جذب پلاسمون سطح گفته می‌شود. هر نوع نانوذره بسته به جنس آن رزونانس پلاسمون سطحی مخصوصی در ناحیه فرابنفش- مرئی دارد که با دستگاه اسپکتروفتومتر قابل مشاهده است. بدلیل این خاصیت، نانوذرات فلزی بسته به اندازه و شکل خود می‌توانند رنگ‌های متفاوتی را ساطع نمایند. پس می‌توان گفت تغییر رنگ محلول حاوی نانوذره نشان دهنده ایجاد تغییرات در رزونانس سطحی ذرات بوده و چنانچه محلول حاوی نانوذرات یک فلز بتواند به مدت طولانی‌تری به صورت ثابت در همان دامنه رنگی اولیه خود باقی بماند، نشان دهنده یکنواخت بودن پراکندگی نانوذرات و عدم ایجاد توده نانوذرات در آن محلول است. رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره در ناحیه مرئی و در طول موج حدود ۴۵۰-۴۰۰ nm قابل رویت می‌باشد. محلول کلوئیدی از نانوذرات نقره بدلیل جذب پلاسمون سطحی، رنگ قهوه‌ای از خود نشان می‌دهد.

جذب نوری بیشتر نشان دهنده تولید بیشتر نانوذرات می‌باشد، پس تولید نانوذرات نقره توسط قارچی که در اتوکلاو قرار داشته کمتر از یخچال بوده و تولید نانوذرات نقره توسط قارچی که در یخچال قرار داشته کمتر از فور بوده است.

طبق نتایج اسپکتروفتومتر، نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچی که در اتوکلاو قرار داشت دارای حداکثر پیک جذب در طول موج ۴۱۰ nm، نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچی که در فور قرار داشت دارای حداکثر پیک جذب در طول موج ۴۳۵ nm و نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچی که در یخچال قرار داشت دارای حداکثر پیک جذب در طول موج ۴۴۰ nm بوده است. طبق مطالعات صورت گرفته هر چه نانوذرات میانگین اندازه کوچکتری داشته باشند،

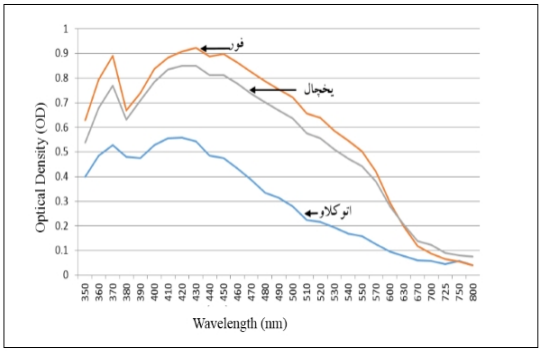
Archive

www.SID.ir

حداکثر پیک جذب‌شان به سمت ۴۰۰ nm می‌رود و هر چه به سمت ۴۵۰ nm برود اندازه نانوذرات درشت‌تر است پس می‌توان گفت نانوذراتی که توسط قارچ قرار داده شده در اتوکلاو تولید شدند میانگین اندازه کوچکتری دارند در نتیجه خواص آنتی‌باکتریال قوی‌تری خواهند داشت، که تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی و محاسبات آماری نیز این موضوع را تایید می‌کند. پس با وجود اینکه نانوذرات تولید شده توسط قارچ قرار گرفته در اتوکلاو، جذب نور کمتر و در نتیجه مقدار کمتری تولید شده است ولی چون در مجموع سایز کوچکتری دارند، خواص آنتی‌باکتریال قوی‌تری از خود نشان داده‌اند.

در سال ۲۰۱۱ غلامی شعبانی و همکارانش، مقاله‌ای با عنوان تولید خارج سلولی نانوذرات نقره توسط قارچ Fusarium oxysporum در مقیاس آزمایشگاهی ارائه نمودند. پس از بهینه‌سازی شرایط رشد قارچ، توده سلولی قارچ رشد کرده و سپس با افزودن نیترات نقره نانوذرات نقره تولید شده و جهت بررسی روند کار از اسپکتروفتومتر استفاده شده است. پیک جذبی حاوی این نانوذرات در طول موج ۴۰۰ nm گزارش شده است که نشان دهنده احیای یون‌های نقره به نانوذرات نقره توسط قارچ می‌باشد [۲۲].

از دیگر آزمون‌هایی که جهت تولید نانوذرات نقره استفاده شد پراش اشعه ایکس بود. این آزمون یک روش غیرتخریبی با چند کاربرد است که اطلاعات جامعی درباره ترکیبات شیمیایی و ساختار کریستالی مواد ارائه می‌دهد. با این روش می‌توان عنصر فلزی را از سایر ترکیبات همان فلز تشخیص داد. در نتایج پیک‌های مختلفی وجود داشتند که مربوط به ترکیب محیط کشت میکروارگانیسم بوده است، اگر چه عناصر نقره در این ترکیبات قابل تشخیص بوده است. در نمونه نیترات نقره وجود داشته که به نانوذرات نقره یا نقره عنصری تبدیل شده است. همان گونه که از نتایج پراش پرتو ایکس بدست می‌آید و در شکل شماره ۳ نشان داده شده است نانوذرات نقره دارای پیک مشخص بوده اند، که نشان دهنده حضور شکل بلوری آن‌ها است.



شکل ۲: اسپکتروفتومتری نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ F. oxysporum.

در سال ۲۰۱۷ Madakka و همکارانش مقاله‌ای با عنوان تولید نانوذرات نقره توسط قارچ‌های Aspergillus niger و Fusarium semitectum ارائه نموده‌اندکه در این پژوهش آنالیز ساختار کریستالی نانوذرات تولید شده توسط پراش اشعه ایکس بررسی شده است [۲۳].

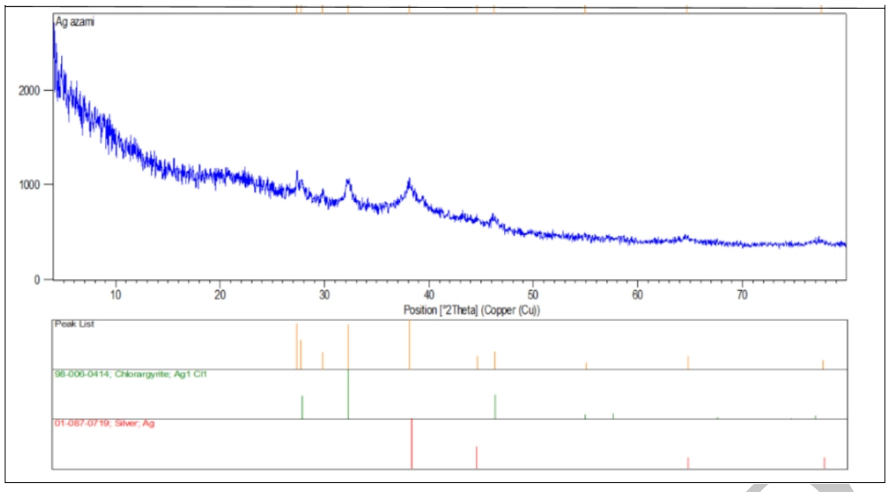
جهت بررسی دقیق شکل و ابعاد نانوذرات نقره تولید شده از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. در تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات به صورت مثلثی، چند ضلعی و کروی مشاهده شدند.

خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره به شکل و اندازه آنها بستگی دارد و اندازه نانوذره بیانگر میزان سطح تماس نانوذرات با باکتری است. به این مفهوم که با کاهش اندازه ذره نسبت مساحت سطح تماس به حجم افزایش می‌یابد و منجر به ازدیاد سطح تماس نانوذرات با سلول‌های باکتری می‌گردد، در نتیجه خواص آنتی‌باکتریال نانوذره بهبود می‌یابد [۲۴].

جهت بررسی دقیق شکل و ابعاد نانوذرات نقره تولید شده از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. در تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات به صورت مثلثی، چند ضلعی و کروی مشاهده شدند.

خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره به شکل و اندازه آنها بستگی دارد و اندازه نانوذره بیانگر میزان سطح تماس نانوذرات با باکتری است. به این مفهوم که با کاهش اندازه ذره نسبت مساحت سطح تماس به حجم افزایش می‌یابد و

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۳: پراش اشعه ایکس مربوط به نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در فور.

منجر به ازدیاد سطح تماس نانوذرات با سلول‌های باکتری می‌گردد، در نتیجه خواص آنتی‌باکتریال نانوذره بهبود می‌یابد [۲۴].

طبق شکل شماره ۴ نانوذرات تولید شده توسط زیست‌توده قارچ Fusarium oxysporum که در اتوکلاو قرار داده شد و مرده و غیرفعال محسوب می‌شود اغلب کروی و تعداد بسیار کمی چند ضلعی بوده، نانوذرات تولید شده توسط زیست‌توده مرده قارچ Fusarium oxysporum که در فور قرار داده شد اغلب کروی و تعداد بسیار کمی چند ضلعی و تعداد محدودی مثلثی بوده ولی نانوذرات تولید شده توسط زیست‌توده قارچ Fusarium oxysporum که در یخچال قرار داده شد و زنده بود دارای شکل کروی بوده و نانوذرات مثلثی و چند ضلعی بیشتری دیده شد، پس می‌توان گفت نانوذراتی که توسط قارچ غیر زنده تولید شدند اضلاع کمتری داشته‌اند.

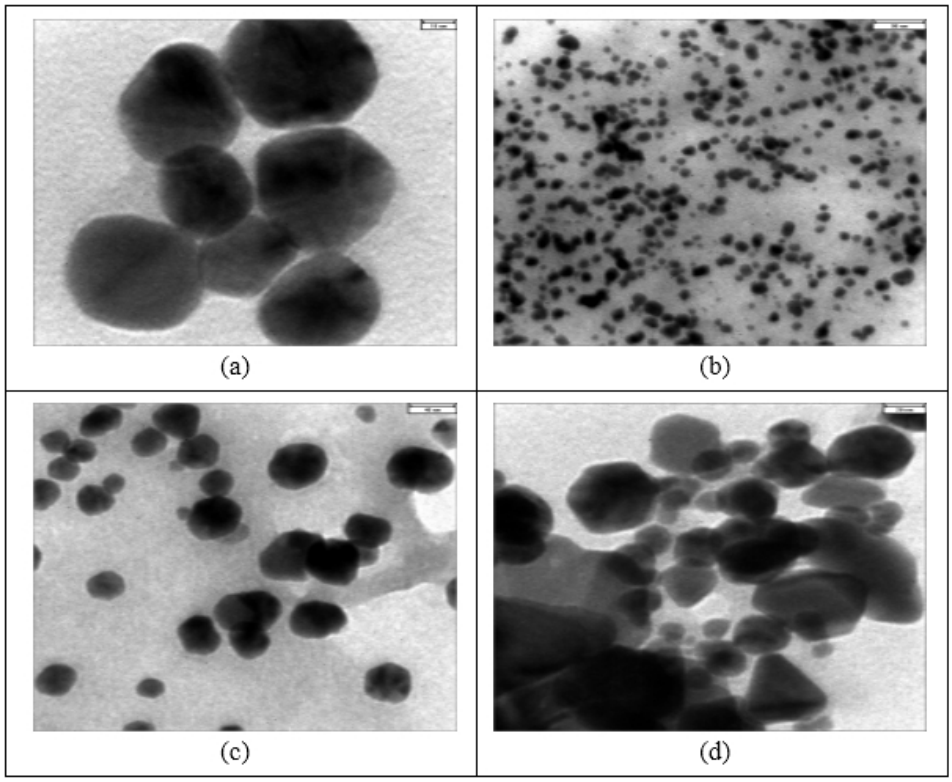
از لحاظ ابعاد نانوذرات تولید شده نیز نتایج بدین صورت بود که نانوذرات تولید شده توسط قارچی که در اتوکلاو قرار داده شد محدوده اندازه ۸-۱۰۰ nm، نانوذرات تولید شده یخچال قرار داده شد محدوده اندازه ۷-۷۸ nm داشته‌اند. از لحاظ میانگین اندازه که فاکتور مهمی در خاصیت آنتی‌باکتریال آنها محسوب می‌شود، میانگین اندازه نانوذرات توسط قارچی که در فور قرار داده شد محدوده اندازه آن‌ها ۴-۶۰ nm و نانوذرات تولید شده توسط قارچی که در تولید شده توسط قارچی که در اتوکلاو قرار داده شد حدود ۳۴ nm، میانگین اندازه نانوذرات تولید شده توسط قارچی که در فور قرار داده شد حدود ۳۶ nm بوده و میانگین اندازه نانوذرات تولید شده توسط قارچی که در یخچال قرار داده شد، حدود ۳۹ nm بوده است. طبق مطالعات انجام شده هر چه نانوذرات اندازه کوچکتری داشته باشند خاصیت آنتی‌باکتریال قوی‌تری از خود نشان می‌دهند، پس می‌توان گفت نانوذراتی که توسط قارچ قرار گرفته در اتوکلاو تولید شده‌اند خواص آنتی‌باکتریال شدیدتری از خود نشان می‌دهند.

در سال ۲۰۱۵، Sherif Moussa Husseiny و همکارانش مقاله‌ای با عنوان سنتز زیستی نانوذرات نقره، به شرط کنترل سایز آنها توسط قارچ Fusarium oxysporum و بررسی خواص آنتی‌باکتریال و آنتی‌تومور آنها ارائه نموده‌اند.

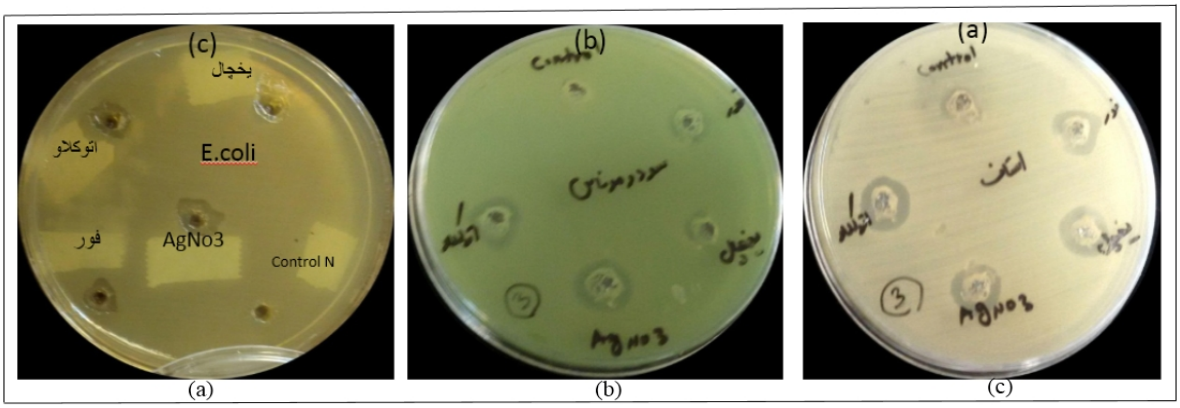
نانوذرات بدست آمده شکل کروی و سایز ۵-۱۳ nm داشته‌اند. خواص آنتی‌باکتریال این نانوذرات در برابر باکتری‌ها بدین صورت بود که هاله عدم رشد E. coli، ۲۰ mm و هاله عدم رشد باکتری Staphylococcus aureus، ۱۶ mm دیده شده است. آنها برای بدست آوردن نانوذراتی با کوچکترین اندازه، غلظت های مختلف نیترات نقره را در دماهای متفاوت و مقادیر مختلف از توده قارچی را در

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٤: بررسی توسط TEM، نانوذرات تولید شده توسط قارچ در a) اتوکلاو با بزرگنمایی ۱۰ nm، b) اتوکلاو با بزرگنمایی ۹۰nm، c) فور با بزرگنمایی ٤٠ nm و d) یخچال با بزرگنمایی ۲۰ nm.



شکل ٥: هاله عدم رشد باکتری‌ها، a) Escherichia coli، b) Pseudomonas aeroginosa و c) Staphilococ aureus.

pHهای متفاوت استفاده نمودند. نتایج بدین صورت بود که توسط قارچ‌های ۷ روزه در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت و دمای ۵۰ °C، اگر pH محیط برابر ۶ باشد، کوچکترین نانوذرات تولید می‌شوند [۲۵].

طبق مشاهدات نانوذرات نقره (Nano-Ag) تولید شده توسط قارچ Fusarium oxysporum در شرایط مختلف محیطی در مواردی متفاوت بودند ولی تفاوت چشمگیری در خواص آنتی‌باکتریال باهم نداشتند و همگی روی هر سه نوع باکتری و حتی باکتری مقاوم Pseudomonas aeroginosa خواص آنتی‌باکتریال داشته‌اند ولی از لحاظ اندازه و شکل باهم متفاوت بودند.

طبق نتایج آماری، در جداول Post Hoc Test اینکه بین اثر

www.SID.ir

کدامیک از ۵ ماده روی هر باکتری تفاوت معناداری وجود دارد بحث شد. تفاوت معناداری بودن برای باکتری Escherishia coli نشان داد، بین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات تولید شده توسط قارچی که در فور بود و محلول نیترات نقره تفاوت معناداری وجود دارد ولی بین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات دیگر باهم تفاوت معناداری وجود ندارد. تفاوت معناداری بودن برای باکتری Staphylococcus aureus نشان داد، بین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات مختلف باهم تفاوت معناداری وجود ندارد. تفاوت معناداری بودن برای باکتری Pseudomonas aeroginosa نشان داد، بین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در یخچال و محلول نیترات نقره تفاوت معناداری وجود دارد ولی بین فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات دیگر با هم تفاوت معناداری وجود ندارد.

در زمینه مکانیسم احیا و تولید نانوذرات با استفاده از میکروارگانیسم‌ها بررسی‌های کمی صورت گرفته است. طبق تحقیقاتی که انجام شده، یک سری پروتئین‌های ترشح شده از این میکروارگانیسم‌ها را عامل احیای یون‌های فلزی اعلام کرده‌اند که این مکانیسم جزو محتمل‌ترین مکانیسم‌ها محسوب می‌گردد.

دیواره سلولی توده قارچ متشکل از کیتین، کیتوزان، گلوکان، لیپید، فسفولیپید، گروه‌های کربوکسیل، گروه‌های آمین، فسفات‌ها، ملانین، سولفات، هیدروکسیداز و پلی ساکاریدها می‌باشد که پلی ساکاریدها به پروتئین‌ها باند می‌شوند. گروه‌های عاملی آنها شامل آمین، تیول، کربوکسیل، سولفیدریل و فسفات مکان جذب فلزات می‌باشند. نکته جالب این است که توده قارچی مرده و غیر فعال شده نیز ظرفیت بالایی برای تولید نانوذرات توسط جذب زیستی دارد. یون‌های فلزات فعل و انفعالاتی با اجزای سازنده سلول‌ها مانند اسیدهای آلی، نوکلئوتیدها، اسیدهای آمینه و فسفولیپیدها انجام می‌دهند [۱].

در اولین ارزیابی پروتئین‌ها در تولید نانوذرات نقره توسط قارچ Fusarium oxysporum، بیان شده که یکی از این پروتئین‌ها ردوکتاز وابسته به NADH می‌باشد. وظیفه این ردوکتاز احیای یون‌های نقره و در نتیجه تولید نانوذرات نقره می‌باشد. گفته می‌شود که این ردوکتاز احتمالا در همه قارچ‌ها وجود ندارد، برای مثال نانوذرات نقره (Nano-Ag) به صورت داخل سلولی یا خارج سلولی در حضور قارچ Fusarium moniliforme تشکیل نمی‌شوند [۱].

در مطالعه‌ای دیگر چندین قارچ Fusarium oxysporum را برای تولید خارج سلولی نانوذرات فلزی با اندازه ۵۰- ۲۰ nm استفاده کرده‌اند و مکانیسم تولید نانوذرات نقره را بررسی نموده‌اند. انجام اسپکتروفتومتری فرابنفش و اسپکتروفتومتری فلورسانس و آنالیز فعالیت آنزیماتیک، نشان دهنده احیای یون‌های فلزات توسط ردوکتاز وابسته به نیترات می‌باشد [۱].

در ادامه تحقیقاتی در مورد نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچ Fusarium oxysporum صورت گرفت که مشخص شد این نانوذرات توسط پروتئین‌های قارچی تثبیت و پایدار می‌شوند. در تصاویری که توسط میکروسکوپ الکترونی گرفته شده است اتم‌های N و S اطراف نانوذرات نقره مشاهده شده است که امکان دارد این اتم‌ها با نانوذرات نقره اتصال ایجاد کرده باشند [۱].

به جهت اینکه بتوان گفت نیترات ردوکتاز در قارچ Fusarium oxysporum عهده‌دار تولید نانوذرات می‌باشد نیز طبق تحقیقات صورت گرفته، حضور این آنزیم در فیلتراسیون قارچی و توسط دیسک تایید شده است. آنزیم نیترات ردوکتاز وابسته به NADH در ارتباط با احیای یون‌های نقره و تبدیل آنها به نانوذرات نقره نقش دارد. قارچ Fusarium moniliforme دارای آنزیم نیترات ردوکتاز می‌باشد ولی قادر به تولید نانوذرات نقره نمی‌باشد، علاوه بر این آنزیم وجود الکترون‌ها نیز ضروری هستند تا یون‌های فلزی احیا شوند [۱].

دانشمندان توانسته‌اند در محیط آزمایشگاه نانوذرات نقره را توسط پپتیدها پوشش دهند تا پایدار شوند که برای این منظور در حضور کوفاکتور NADPH از آنزیم نیترات ردوکتاز خالص که توسط قارچ Fusarium oxysporum تولید شده،

Archive of SID

www.SID.ir

فیتوچلاتین و ۴ هیدروکسی کوئینولین استفاده نموده‌اند. در غیاب هرکدام از این اجزا، نانوذرات تولید نمی‌شوند و حضور همه این مولکول‌ها برای مکانیسم تولید نانوذرات فلزی لازم می‌باشد [۱].

در پژوهشی که در مورد تولید خارج سلولی نانوذرات طلا توسط Rhizopus oryzae انجام شده، ویژگی‌های این نانوذرات توسط FTIR مشخص شده است. پس از افزودن $AuCl_4$ در مایع روئی کشت قارچ، حضور گروه‌های amide I, II, III مشخص شد ولی گروه‌های کربوکسیلی که در میسلیوم قارچ حضور داشتند دیده نشدند، پس می‌توان نتیجه گرفت پلی پپتیدها و پروتئین‌ها در احیای یون‌های طلا درگیر هستند. همچنین باتوجه به پیک‌های باندهای فسفات می‌توان گفت فسفات‌ها نیز در احیای یون‌های فلزی درگیر هستند. نتیجه این مطالعه بدین صورت بود که نانوذرات طلا توسط باند شدن پروتئین‌ها به سطح مولکول‌ها تولید شده و پروتئین‌ها به عنوان پایدارکننده نانوذرات محسوب می‌شوند [۱].

در آزمایش تحقیقاتی جالب نانوذراتی که توسط Coriolus versicolor تولید شدند توسط FTIR بررسی شده‌اند، زمانی که یون‌های نقره احیا می‌شوند تغییر قابل توجهی در باندهای مربوط به گروه‌های آروماتیک دیده شده است. به علاوه باندی جدید در نمونه حاوی قارچ و یون‌های نقره ظاهر شده است که نشان دهنده اکسیداسیون گروه‌های هیدروکسیل موجود در میسلیوم قارچی و تولید نانوذرات نقره می‌باشد. پس از تولید نانوذرات، بررسی‌ها حضور آمین I و II را نشان می‌دهد که این بیانگر پایدارسازی و تثبیت نانوذرات با پروتئین‌ها می‌باشد. این باند می‌تواند به علت جذب الکتروستاتیک بین گروه‌های آزاد آمینی و بقایای سیستئین‌ها در پروتئین‌ها با گروه‌های کربوکسیلات درحضور آنزیم‌های دیواره سلولی میسلیوم قارچی ایجاد شده باشد. در بررسی دیگر که توسط FTIR صورت گرفته است، پس از تولید نانوذرات نقره، S-H مشاهده شده است که نشان دهنده به وجود آمدن باندی بین اتم‌های S و ذرات نقره می‌باشد که این نیز نتیجه تثبیت شدن نانوذرات نقره توسط پروتئین‌های قارچی می‌باشد [۱].

در سال ۲۰۰۸ گزارشی با عنوان تولید زیستی کنترل شده نانوکریستال‌های نقره توسط Trichoderma asperellum ارائه شده است که مکانیسم‌های قبل از تولید نانوذرات نقره را بررسی نمودند. همه نتایج بیانگر حضور پروتئین‌های پوشش دهنده روی نانوذرات نقره می‌باشد. آنالیز عصاره سلولی قارچ پس از برداشتن باند S-H می‌باشد، به علاوه باندهای Carbonyl و Carboxylic C=O گسترش یافته‌اند که نشان دهنده کاهش غلظت پپتیدها در محلول پس از ساخت نانوذرات نقره می‌باشد. آنها بیان کرده‌اند که در طی روند احیای یون‌های نقره، پروتئین‌ها محتوای آمینواسیدی خود را همراه با باند S-H آزاد می‌کنند و احتمالا سیستئین آمینواسیدی است که در احیای یون نقره برای تشکیل نانوذرات نقره درگیر است [۱].

مطالعات بسیار کمی در زمینه استفاده از توده سلولی مرده قارچ جهت تولید نانوذرات صورت گرفته است ولی این روش مزایایی دارد ازجمله محدود شدن سمیت زیست‌توده، قابلیت ذخیره بالای آنها برای مدت طولانی، عدم نیاز به رشد و محیط کشت و مواد مغذی و نگهداری آنها. آنالیزها نشان می‌دهند که در اثر کشتن زیست‌توده قارچی با اتوکلاو کردن، اجزای نشات گرفته از دیواره سلولی قارچ مانند پروتئین‌های دیواره سلولی آزاد می‌شوندکه به سطح سلول‌ها می‌توانند باند شوند و یا پوششی روی نانوذرات ایجاد کنند [۱۴].

در پژوهشی که توسط Salvadori در مورد تولید نانوذرات نیکل اکساید توسط زیست‌توده مرده قارچ Filamentus صورت گرفت، بیان شده است که توسط زیست‌توده زنده قارچ‌های مختلفی تاکنون نانوذرات مختلف با روش خارج سلولی و داخل سلولی تولید شده است، ولی مطالعات کمی در مورد استفاده از زیست‌توده مرده قارچ‌ها برای تولید نانوذرات انجام شده است که شامل تولید خارج سلولی نانوذرات مس توسط Hipocrea lixii و تولید داخل سلولی

Archive of SID

www.SID.ir

نانوذرات مس توسط مخمر Rhodotorula mucilaginosa می‌باشد. در این مطالعه بررسی تولید نانوذرات نیکل اکساید توسط زیست‌توده مرده قارچ Aspergillus aculeatus صورت گرفته و بیان شده است که زیست‌توده مرده، خشک شده و زنده از این قارچ توانایی تولید نانوذرات نیکل اکساید را در محلول دارند [۲۶].

در بررسی‌های انجام شده بهترین شرایط فیزیکی و شیمیایی جهت تولید نانوذرات نیکل اکساید، مدت زمان ۹۰ دقیقه، pH برابر با ۴، دمای ۳۰ °C و سرعت هم‌زدن ۱۵۰ rpm در شیکر و غلظت پیشساز برابر ۱۰۰ mg می‌باشد. جذب نیکل توسط زیست‌توده مرده قارچ ۸۹٪، توسط زیست‌توده قارچ خشک شده ۵۳٪ و توسط زیست‌توده زنده قارچ ۴۸٪ بوده است [۲۶].

تولید نانوذرات نیکل اکساید توسط زیست‌توده مرده قارچ به صورت خارج سلولی صورت گرفته که این نانوذرات از لحاظ مورفولوژی و ساختاری بررسی شده‌اند. توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM از سطح زیست‌توده مرده قارچ، قبل و بعد از تولید نانوذرات تصویربرداری شده است که تصاویر نشان دهنده تشکیل لایه‌ای از نیکل اکساید می‌باشد که روی سطح زیست‌توده را پوشش داده است [۲۶]. همچنین حضور پروتئین‌ها به عنوان پوششی بر روی سطح نانوذرات مشاهده شده است. این ماتریکس پروتئینی احتمالا باعث پایداری نانوذرات شده که به صورت لایه‌ای بر روی سطح زیست‌توده قارچ را گرفته است. تشکیل لایه‌ای از نانوذرات نیکل اکساید که روی سطح زیست‌توده قارچی را پوشش داده است توسط میکروسکوپ نیروی اتمی به صورت دو بعدی و سه بعدی تایید شده است. توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری نیز تولید نانوذرات نیکل اکساید توسط زیست‌توده، تایید شده است که میانگین قطر این نانوذرات ۵/۸۹ nm بوده و اکثرا به شکل کروی دیده شده‌اند. این قارچ توانایی جذب زیستی فلز نیکل را در دیواره سلولی خود دارد. دیواره سلولی زیست توده قارچ Aspergillus aculeatus متشکل از کیتین، کیتوزان، گلوکان، لیپید و فسفولیپید است که شامل گروه‌های کربوکسیل، آمین، فسفات‌ها، لیپیدها، ملانین، سولفات و هیدروکسید می‌باشد. عملکرد این گروه‌ها بدین صورت می‌باشد که مکانی برای جذب فلزات محسوب می‌شوند [۲۶].

بیان شده است که زیست‌توده مرده قارچ Aspergillus aculeatus ظرفیت بالایی برای تولید نانوذرات نیکل اکساید دارد و در غلظت‌های بالای سوبسترا، یون‌های نیکل فعل و انفعالاتی با اجزای سلولی مانند اسیدهای ارگانیک، نوکلئوتیدها، اسیدهای آمینه و فسفولیپیدها انجام می‌دهند [۲۶].

در این پژوهش مزایای استفاده از زیست‌توده مرده قارچ را نداشتن سمیت، امکان ذخیره برای مدتی طولانی، عدم نیاز به محیط مغذی برای رشد عنوان کرده است. در ادامه اشاره شده آنالیزهایی که توسط EDS صورت گرفته نشان دهنده وجود عناصری در محلول می‌باشد که از پروتئین‌های قارچی نشات گرفته‌اند. این پروتئین‌ها در اثر اتوکلاو کردن آزاد شده‌اند و به سطح سلول‌ها باند شده‌اند که به احتمال زیاد نقش پوشانندگی بر نانوذرات نیکل اکساید دارند [۲۶].

دیواره سلولی قارچ Fusarium oxysporum شامل N استیل گلوکزآمین، گلوکز، گالاکتوز، مانوز، گلوکورونیک اسید و پروتئین‌ها است. پلی ساکارید اصلی دیواره آن کیتین و گلوکان می‌باشد. دیواره سلولی آن نیز متشکل از دو لایه است. کیتین در دیواره داخلی و گلیکوپروتئین‌ها در دیواره خارجی هستند [۲۷].

زمانی که زیست توده قارچی را توسط اتوکلاو یا فور به زیست‌توده مرده و غیرفعال قارچی تبدیل نمودیم باز هم قابلیت تولید نانوذرات را داشته، حتی با اینکه در اثر کشته شدن فعالیت آنزیمی آن را حذف نمودیم، غیر از آنزیم‌های فعال قارچ خود زیست‌توده قارچی به علت داشتن پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها و ... خاصیت جذب و احیا را دارد. در واقع این کار توسط گروه‌های عاملی احیا کننده مانند انتهای آمین‌ها، کربوکسیل، گروه‌های تیول و هر چه که در اثر

Archive of SID

www.SID.ir

تخریب پروتئین‌ها یا کربوهیدرات‌ها و ... تولید شده باشد صورت می‌گیرد. پس اگر در شرایطی باشیم که زیست‌توده تولیدکننده نانوذرات برای محیط یا فرد مضر باشد به راحتی توسط زیست‌توده مرده و غیر فعال شده می‌توانیم نانوذرات را تولید نماییم که در واقع گروه‌های عاملی میکروب مرده قابلیت تولید نانوذرات را دارند.

در این پژوهش به نوعی مقایسه فعالیت بیولوژیکی قارچ زنده و غیر زنده انجام شد که ثابت شد حتی اگر زیست‌توده قارچ Fusarium oxysporum کشته شود توانایی تولید نانوذرات را به خوبی دارا می‌باشد.

در پژوهشی امکان حذف کروم شش ظرفیتی توسط زیست‌توده مرده قارچ Aspergillus niger بررسی شده است که مکانیسمی احیائی می‌باشد و به صورت مستقیم یا غیرمستقیم انجام می‌شود که یون‌های احیا شده در فاز محلول به زیست‌توده متصل می شوند. از آنجائیکه برای انجام این فعالیت احیا نیاز به پروتون می‌باشد pH محلول پس از احیا افزایش می‌یابد [۲۸].

در پژوهشی که به منظور بررسی جذب زیستی آنیون‌های سیانوفرات شش ظرفیتی توسط زیست‌توده مرده قارچ بازیدیومایست Pleurotus mutilus صورت گرفته است، بیان شده که این روش طبیعی و کم هزینه برای حذف آلودگی‌ها می‌باشد. زیست‌توده قارچی مرده را از محصولات زائد حاصل از تولید آنتی‌بیوتیک جمع‌آوری نموده‌اند. زیست‌توده این قارچ دارای پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها و لیپیدهایی است که می‌توانند به عنوان پلی‌الکترولیت با آمین‌ها، کربوکسیل، فسفات و گروه‌های سولفات مورد توجه قرار گیرند. با روش تیتراسیون اسید-باز می‌توان یونیزه شدن گروه‌های عاملی یا محل‌های اتصال لیگاندها را تشخیص داد [۲۹].

در سال ۱۹۸۹ مقایسه‌ای بین جذب زیستی آلاینده‌های پرخطر توسط زیست‌توده زنده و مرده قارچ R. arrhizus صورت گرفته است که عنوان شده فقدان فاکتورهای محافظت کننده متابولیکی در قارچ مرده منجر به افزایش جذب این آلاینده‌ها توسط زیست‌توده مرده قارچ می‌شود، همچنین ویژگی‌های جذب سطحی در قارچ مرده افزایش می‌یابد [۳۰].

به طور کلی بیان شده است که جذب زیستی انواع فلزات مانند مس، کروم، سرب و کادمیوم امکان‌پذیر است و جذب زیستی وابسته به فاکتورهای مختلفی ازجمله دما، ویژگی‌های زیست‌توده، میزان سطح تماس، اسیدیته، غلظت زیست‌توده، غلظت یون‌های فلزی و تمایل فلز به جذب زیستی بستگی دارد. جذب این فلزات توسط قارچ‌ها می‌تواند با باند شدن یون‌های فلزی به دیواره سلولی قارچ و خارج سلولی باشد و یا جذب در داخل سلول باشد. بیان شده که میزان جذب زیستی توسط سلول‌های مرده قارچی بهتر و گاهی برابر و کمتر از زنده صورت می‌گیرد. جذب داخل سلولی یون‌های فلزی فقط توسط سلول‌های زنده انجام می‌شود و اگر سطح سلولی اجازه فعل و انفعال بین یون‌های فلزی و گروه‌های عاملی مانند کربوکسیلات، هیدروکسیل، سولفات، فسفات و گروه‌های آمینی موجود در سطح سلولی را بدهد صورت می‌گیرد. جذب فلزات توسط سلول‌های مرده به صورت passive است که نیازی به روند سریع مکانیسم‌هایی مانند جذب فیزیکی، تبادل یونی و کمپلکس شدن نمی‌باشد [۳۱].

سنتز نانوذرات مس توسط زیست‌توده مرده Hypocrea lixii نیز صورت گرفته است. در بررسی‌های صورت گرفته توسط FTIR نشان داده شده است که گروه‌های آمیدی قارچ با ذرات فلزی فعل و انفعالاتی انجام داده‌اند که منجر به پایدار شدن نانوذرات شده‌اند. نتیجه این نیز بیانگر حضور پروتئین‌ها در پایدارسازی و پوشش‌دار کردن نانوذرات مس می‌باشد. احتمالا در زمان اتوکلاو کردن قارچ به منظور کشتن آن، پروتئین‌های سلولی قارچ آزاد شده‌اند که گروه‌های آمیدی پروتئین‌ها تمایل بالایی برای اتصال به فلزات دارند [۳۲].

طبق نتایج مطالعات صورت گرفته، قارچ Oscillatoria sp اگر با حرارت غیرفعال گردد، توانایی جذب یون‌های کادمیم را دارد [۳۳].

مطالعاتی جهت استفاده از زیست‌توده مرده قارچ برای سم‌زدایی فلزات شش ظرفیتی صورت گرفته است که از ۴

Archive of SID

www.SID.ir

نوع قارچ از قبیل Aspergillus niger، Rhizopus oryzae، Saccharomyces cerevisiae و Penicillium chrysogenum استفاده شده است. همگی این قارچ‌ها توان حذف یون‌های فلزی کروم را داشته‌اند [۳۴].

بیوسنتز داخل سلولی توسط زیست‌توده مرده مخمرها نیز مطالعه شده است که مخمر Rhodotorula mucilaginosa توانسته یون‌های مس را حذف کند که حتی جذب زیستی مخمر مرده از زنده بهتر صورت گرفته است [۳۵].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حضور قارچ Fusarium oxysporum باعث احیای یون‌های نقره و تولید نانوذرات نقره می‌شود. این نتایج بر اساس بررسی‌های اسپکتروفتومتری و پراش پرتو ایکس و میکروسکوپ الکترونی عبوری می‌باشد. تجمع خارج سلولی نانوذرات نقره با تغییر رنگ محیط کشت بررسی شد و ایجاد رنگ قهوه‌ای در محلول نشان دهنده حضور نانوذرات نقره بود. در مطالعه حاضر نتایج کشت باکتری‌ها نشان داد که نانوذرات نقره دارای خاصیت آنتی‌باکتریال مناسبی می‌باشند و شرایط مختلف محیطی روی قارچ بر تولید نانوذرات نقره توسط قارچ اثرگذار می‌باشد. در مطالعات انجام شده نانوذرات نقره تولید شده توسط قارچی که در اتوکلاو قرار داده شد با میانگین اندازه حدود ۳۴ nm، قوی‌ترین خاصیت آنتی‌باکتریال را دارا می‌باشند و ضعیف‌ترین خاصیت آنتی‌باکتریال نانوذرات مربوط به قارچی که در یخچال قرار داده شد، می‌باشد. پس می‌توان گفت نانوذرات تولید شده توسط قارچ قرار داده شده در اتوکلاو، با وجود مردن و غیرفعال شدن قارچ بیشترین خواص آنتی‌باکتریال را روی هر سه نوع باکتری اعمال نموده است.

مراجع

[1] N. Duran, P.D. Marcato, O.L. Alves, G.I. De Souza, E. Esposito, *Journal of nanobiotechnology*, **3**, 2005, 8.

[2] Q.H. Tran, A.T. Le, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, **4**, 2013, 1.

[3] W. Zhou, Y. Ma, H. Yang, Y. Ding, X. Luo, *International journal of nanomedicine*, **6**, 2011, 381.

[4] P. Prokopovich, M. Kobrick, E. Brousseau, S. Perni, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **103**, 2015, 273.

[5] A. Nagal, R.K. Singlab, *Nanoparticles in Different Delivery Systems: A Brief Review Organ*, **1**, 2013, 4.

[6] S. Rajeshkumar, C. Malarkodi, M. Vanaja, G. Annadurai, *Journal of Molecular Structure*, **1116**, 2016, 165.

[7] K. Ishida, T.F. Cipriano, G.M. Rocha, G. Weissmuller, F. Gomes, K. Miranda, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **109**, 2014, 220.

[8] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, **28**, 2003, 313.

[9] S. Prabhu, E.K. Poulose, *International Nano Letters*, **2**, 2012, 32.

[10] G. Bagherzade, M.M. Tavakoli, M.H. Namaei, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7**, 2017, 227.

[11] P. Bragg, D. Rainnie, *Canadian journal of microbiology*, **20**, 1974, 883.

[12] M. Rai, S. Deshmukh, A. Ingle, A. Gade, *Journal of applied microbiology*, **112**, 2012, 841.

[13] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnology advances*, **27**, 2009, 76.

[14] D. Mandal, M.E. Bolander, D. Mukhopadhyay, G. Sarkar, *Applied microbiology and biotechnology*, **69**, 2006, 485.

[15] K. Gudikandula, P. Vadapally, M.S. Charya, *Open Nano*, **2**, 2017, 64.

[16] P. Mukherjee, A. Ahmad, D. Mandal, S. Senapati, S.R. Sainkar, M.I. Khan, *Nano Letters*, **1**, 2001, 515.

[17] A. Ahmad, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, *Journal of the American Chemical Society*, **124**, 2002, 108.

[18] X. Li, H. Xu, G. Chen, *Journal of Nanomaterials*, **20**, 2011, 11.

[19] A.S. Ethiraj, S. Jayanthi, C. Ramalingam, C. Banerjee, *Materials Letters*, **185**, 2016, 526.

[20] A.D. Shirley, A. Dayanand, B. Sreedhar, S. Dastager, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **5**, 2010, 447.

[21] K.V. Selvi, T. Sivakumar, *Int. J Curr. Microbiol Appl. Sci.*, **1**, 2012, 56.

[22] G. Shabani, M. Imani, A. Razzaghi, G. Riazi, M. Chiani, S. Khademi, M. Chamani, A. Akbarzade, *Science Journal of Islamic Azad University*, **4**, 2013, 23.

[23] M, Madakka, N. Jayaraju, N. Rajesh, Methods. 2017.

[24] B. Khodashenas, H. Ghorbani, *International Journal of Nano Dimension*, **6**, 2015, 111.

[25] S.M. Husseiny, T.A. Salah, H.A. Anter, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, **4**, 2015, 225.

[26] M.R. Salvadori, C. Nascimento, B. Correa, *Scientific Reports*, **4**, 2014, 115.

[27] E.A. Schoffelmeer, F.M. Klis, J. Sietsma, B.J. Cornelissen, *Fungal Genetics and Biology*, **27**, 1999, 275.

[28] D. Park, Y.S. Yun, J.H. Jo, J.M. Park, *Water Research*, **39**, 2005, 533.

[29] A. Chergui, R. Kerbachi, G.A. Junter, *Biosorbent characterization and batch experiments. Chemical engineering journal*, **147**, 2009, 150.

[30] M. Tsezos, J. Bell, *Water Research*, **23**, 1989, 561.

[31] S.H. Abbas, I.M. Ismail, T.M. Mostafa, A.H. Sulaymon, *Journal of Chemical Science and Technology*, **3**, 2014, 74.

[32] M.R. Salvadori, L.F. Lepre, R. Ando, C. Nascimento, B. Correa, *PloS one*, **8**, 2013, 519.

[33] H. Katırcıoglu, B. Aslım, A.R. Turker, T. Atıcı, Y. Beyatlı, *Bioresource Technology*, **99**, 2008, 4185.

[34] D. Park, Y.S. Yun, J.M. Park, *Process Biochemistry*, 40, 2005, 2559.

[35] M.R. Salvadori, R. Ando, C. Nascimento, B. Correa, *PLoS One*, **9**, 2014, 87968.

Archive of SID

www.SID.ir