

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم

النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة

عامر حسن عباس

فرع التقنيات الإحيائية / قسم العلوم التطبيقية / الجامعة التكنولوجية

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى التصنيع الحيوي (Green biosynthesis) لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية باستخدام الفطر *fusariumoxysporum* المعزول من التربة بواسطة تقنية التخافيف المتسلسلة و تراوحت أحجام الجسيمات بين 30-90 nm. تم استعمال الكتلة الحيوية لتصنيع جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية. تم تشخيص الجسيمات النانوية باستعمال عدة تقنيات ومنها طريقة مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV-visible spectroscopy) والمجهر الذري الالكتروني (Atomic force microscope) وجهاز حيود الأشعة السينية (X Ray diffraction) والمجهر الالكتروني الماسح (Scanning electron microscope). استخدمت تقنية الانتشار بالحفر لتقييم حساسية البكتريا لهذه الجسيمات إذ استخدم نوعان من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام و أظهرت النتائج فعالية بايولوجية واضحة ضد البكتريا المستعملة. كلمات مفتاحية: التصنيع الحيوي لأكسيد التيتانيوم النانوي، فطر *fusariumoxysporum* ، فعالية حيوية مضادة للبكتريا .

1-المقدمة

علم النانوتكنولوجيا هو تطبيق العلم والتكنولوجيا من أجل السيطرة على المادة على صعيد المستوى الجزيئي إذ تختلف الجسيمات في المستوى النانوي بصفاتها بشكل ملحوظ عن المادة وهي في حالتها الطبيعية (غير النانوية) ومن الممكن إعطاء تعريف آخر لعلم النانوتكنولوجيا وهو القدرة على تصميم و تشخيص و إنتاج وتطبيق التراكيب والأجهزة والأنظمة بواسطة السيطرة على شكل وحجم المادة في المستوى النانوي (1).

تعد الجسيمات النانوية الوحدة البنائية الأساسية لعلم النانوتكنولوجيا إذ يتم تحضيرها بطرق فيزيائية وأخرى كيميائية ولكن بعض الطرق الكيميائية تولد مواد سامة كنواتج

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عناصر حسن عباس

عرضية لتفاعلاتها المعقدة ومن غير الممكن أن نتجنب تكوين مثل هكذا مواد وأما الطرق الفيزيائية فتتطلب استعمال مواد مكلفة وتستهلك معدلات طاقة عالية من أجل إنتاج تلك الجسيمات (3,2) من هنا تطورت حاجة ملحة لتطوير طرق صديقة للبيئة لإنتاج الجسيمات النانوية فكانت الطرق البيولوجية هي الحل لهذه المشاكل (إنتاج المواد السامة واستعمال مواد مكلفة واستهلاك الطاقة العالية) إذ تم استعمال الأحياء المجهرية وكذلك المستخلصات النباتية من أجل التصنيع الحيوي الصديق للبيئة آذ وفرت هذه الطرق وسائل أمنة و صديقة للبيئة وقليلة الكلفة المادية آذ كانت هذه الطرق بديلة عن الطرق الفيزيائية والكيميائية. من المعروف مسبقا استعمال الأحياء المجهرية كأدوات لمعالجة المواد السامة من خلال اختزال ايونات المواد المختلفة لكن استعمال هذه الأحياء المجهرية كوسائل وأدوات لتحضير الجسيمات النانوية لم يظهر إلا حديثا(في العقود الأخيرة) إذ يتم التصنيع الحيوي بانتزاع الايونات من المحاليل المتواجدة بها(أي اختزال تلك الايونات) ومن ثم تجميع تلك الايونات المختزلة على هيئة عنصر وذلك بواسطة الأنزيمات التي أنتجها الكائن المجهر المستعمل في العملية ومن الممكن تصنيف عملية التصنيع الحيوي إلى نوعين: تصنيع خارج خلوي وتصنيع داخل خلوي اعتمادا على المكان الذي تم فيه التصنيع الحيوي لتلك الجسيمات النانوية (4,5).

لقد ظهرت الفطريات والنباتات على إنها البدائل البسيطة والفعالة للطرق الفيزيائية والكيميائية المستخدمة لتصنيع الجسيمات النانوية (6) فمن الملاحظ اقتران معظم أنواع الفطريات بالتصنيع الحيوي للجسيمات النانوية سواء كان بالتصنيع الخارج خلوي أم التصنيع الداخل خلوي(7) ,لكن ومن ناحية أخرى فان الميكانيكية الدقيقة للتصنيع الحيوي لتلك الجسيمات بواسطة الفطريات والمستخلصات النباتية لم تفهم أو تعرف بشكل واضح لكن افترض العلماء وجود جزيئات حيائية هي المسؤولة عن عملية التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية ولكن في التصنيع الحيوي الخارج الخلوي خصوصا في الفطريات لوحظ إفراز كميات من الأنزيمات المختزلة وعوامل التغطية (هي عوامل تغلف الجسيمات النانوية) إذ افترض العلماء مشاركة هذه الأنزيمات والعوامل بالتصنيع الحيوي لتلك الجسيمات النانوية وكذلك مشاركتها بتحديد الشكل والحجم النهائي لتلك الجسيمات النانوية (8).

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
 عامر حسن عباس

أكسيد التيتانيوم هو مادة شبه موصلة يمتلك فجوة طاقة واسعة ويكون بشكله المتبلور أما anatase أو rutile أو brookite وله استعمالات عديدة ومتنوعة أشهرها استعماله في تطبيقات الخلايا الشمسية والمتحسسات الكيميائية والأجهزة الالكترونية المايكروية (9)، كذلك يستخدم في مجالات عدة أخرى إذ قام الباحثون مؤخراً بالبحث عن التطبيقات الممكنة لثاني أكسيد التيتانيوم في علوم الحياة إذ أوضحت النتائج امتلاكه خصائص وصفات تساعد على تثبيط النمو البكتيري وكذلك من الممكن تطوير تلك القابلية من خلال تغليفه ببعض المعادن مثل الذهب، الفضة والنحاس. تعد الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم مستقرة في المحلول المائي وقادرة على البقاء مستقرة في المحاليل القاعدية والحامضية (10).

في الدراسة الحالية تم التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوي باستعمال الفطر *Fusarium oxysporum* وتم تشخيص تلك الجسيمات النانوية بواسطة تقنيات وهي مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) والمجهر الذري الالكتروني (AFM) وجهاز حيود الأشعة السينية (XRD) والمجهر الالكتروني الماسح (SEM) ومن ثم اختبار الفعالية المضادة للبكتيرية للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام للجسيمات المخلفة.

2- المواد وطرائق العمل

2-1 المواد الكيميائية:

المادة	الشركة	بلد المنشأ
Potato dextrose agar , Nutrient (PDA) agar	Himedia	India
TiO ₂	BDH	England
lactophenol cotton blue stain	Sigma-Aldrich	India
Standard MacFarland solution (matching a turbidity of 1.5×10 ⁸)	BioMérieux	France
MgSO ₄ . 7H ₂ O	Aldrich	England
KH ₂ PO ₄	Aldrich	England
K ₂ HPO ₄	Aldrich	England
(NH ₄) ₂ SO ₄	Aldrich	England
Yeast extract	Himedia	India
Glucose	Himedia	India

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
نماير حسن عباس

2-2 جمع عينات التربة وعزل الفطريات:

جمعت عينات التربة العشبية من حدائق الجامعة التكنولوجية في بغداد/العراق. تم جمع هذه العينات في فصل الخريف من على عمق 3-4 سم باستعمال ملعقة مسطحة (spatula) تم نقلها من بعد ذلك في أكياس بلاستيكية معقمة ومحكمة الإغلاق خزنت في ثلاجة درجة حرارتها 4° من أجل استعمالها لاحقاً. عزلت الفطريات بتقنية التخفيف المتسلسلة والنشر بالأطباق. إذ أضيف واحد غرام من التربة إلى 9 مل من الماء المقطر المعقم وحضرت التخفيف المتسلسلة للحصول على التراكيز من 10^{-1} إلى 10^{-6} ، أخذ حجم مقداره 0.1 مل من كل تخفيف ونقل إلى طبق حاو على الوسط الزراعي (PDA) ونشر بواسطة ناشر معقم ومن ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة الغرفة (25°) لمدة 3-4 أيام، تتقى العزلات الفطرية وذلك بإعادة زرعها على أطباق (PDA). حفظت هذه العزلات النقية في ثلاجة بدرجة حرارة 4° من أجل استعمالها لاحقاً (11).

2-3 تشخيص العزلات الفطرية:

تمت معاينة العزلات الفطرية باستعمال العدسة اليدوية (10X) سجلت الملاحظات الخاصة بشكل ولون وطبيعة مستعمرة الفطر. أما التشخيص المجهرى فتم باستعمال طريقة Lactophenol Cotton Blue mounting من خلال ملاحظة شكل الخلايا، تتشكل سلاسل السبورات، الهيافات وتركيب الغزل الفطري (12).

2-4 التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية

2-4-1 إنتاج الكتلة الحيوية :

تم الحصول على الكتلة الحيوية للفطر *Fusarium oxysporum* من خلال تنميته في وسط سائل يحضر مختبرياً بإذابة المواد التالية في دورق يحتوي على لتر من الماء المقطر KH_2PO_4 (7.0g/L) و K_2HPO_4 (2.0g/L) و $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1g/L) و $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1.0g/L) ومستخلص الخميرة (0.6g/L) وكلوكوز (10g/L). عقم الوسط ومن ثم حضن في حاضنة هزازة عدد دوراتها 150 rpm لمدة ثلاثة أيام بدرجة حرارة 25°C ، بعدها تم اخذ الكتلة الحيوية الناتجة باستعمال ورق ترشيح واتمان رقم 1 (Wattman No.1) وغسلها بشكل جيد بماء مقطر منزوع الايونات للتخلص من بقايا الوسط الزراعي العالقة (13).

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عامر حسن عباس

2-4-2 التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية:

أخذ 20 غم من الكتلة الحيوية للفطر *Fusariumoxysporum* نقلت إلى دورق يحتوي على 200مل من الماء المقطر حضنت تحت نفس الظروف لمدة ثلاثة أيام في حاضنة هزازة عدد دوراتها 200 rpm بدرجة حرارة 25°C بعدها تم استحصال الراشح الخلوي بتمرير المحلول السابق عبر ورقة ترشيح واتمان رقم واحد، للتصنيع الحيوي للجسيمات النانوية تم خلط 50 مل من الراشح الخلوي مع 50 مل من 1m M TiO₂ وتحضن في الظلام في ظروف معقمة في حاضنة هزازة عدد دوراتها 200 rpm بدرجة حرارة 25°C ولمدة ثلاثة أيام، يتم وضع دورق سيطرة موجب حاوي على الراشح الخلوي للفطر وماء مقطر ودورق سيطرة سالب حاو على 1m M TiO₂ فقط وتحضن في نفس الظروف (14).

تم تحضير 1m M TiO₂ وفق المعادلة الآتية (15)

$$\text{Molarity} = \frac{\text{Weight (g)}}{\text{Molecular Weight (g/mol)} \times \text{Volume (ml)}} \times 1000$$

1-5-2 الفحص باستعمال جهاز UV-visible spectroscopic

تم مراقبة التصنيع الحيوي للجسيمات النانوية دوريا وذلك باستعمال الجهاز UV-visible spectroscopy (في الجامعة التكنولوجية/قسم العلوم التطبيقية/فرع الفيزياء التطبيقية) إذ يتم الفحص بطول موجي مداه 200 – 800 nm (16).

2-5-2 الفحص باستعمال جهاز X Ray diffraction

تم فحص عينة الجسيمات النانوية باستعمال جهاز حيود الأشعة السينية (في الجامعة التكنولوجية/مركزا بحاث النانوتكنولوجي) لتأكيد وجود تلك الجسيمات إذ استعملت كمية قليلة جدا من مسحوق الجسيمات وتم تسجيل النتائج في مدى 30-80 (19)2θ.

3-5-2 الفحص باستعمال المجهر الماسح الذري Atomic force microscope

يستخدم هذا النوع من المجاهر لمعرفة الحجم الدقيق للجسيمات النانوية وكذلك لإعطاء صورة ثلاثية الأبعاد للجسيمات النانوية إذ يؤخذ 1 مل من السائل الحاوي على الجسيمات النانوية ووضع تحت المجهر لأغراض الفحص إذ تم استخدام برنامج

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عناصر حسن عباس

Granularity accumulation distribution report وتم الفحص باستخدام المجهر
الموجود في جامعة النهرين/قسم هندسة الليزر والالكترونيات البصرية (17).

4-5-2 الفحص باستعمال المجهر الالكتروني الماسح Scanning electron microscope

تم تحضير العينة من اجل الفحص تحت المجهر(في الجامعة التكنولوجية/مركز
أبحاث النانوتكنولوجي) باستعمال شبكة نحاسية مغطاة بالكربون مع وضع كمية قليلة جدا
من العينة فوق هذه الشبكة وتم فحصها بالمجهر لدراسة التركيب الشكليائي
(المورفولوجي) للدقائق المصنعة(18).

2-6 فحص الحساسية باستعمال تقنية الانتشار بالحفر Well diffusion technique

تم الكشف عن حساسية الأحياء المجهرية تجاه الجسيمات النانوية بطريقة الانتشار
بالحفر من خلال تحضير اللقاح بنقل جزء من المستعمرة البكتيرية (*Escherichia*
Staphylococcus aureus, coli) النامية على وسط (Nutrient agar) بعد تنشيطها
ووضعها في أنبوبة محكمة الغلق تحتوي على 5 مل من المحلول الفسلجي (Normal
saline) إذ تم نشر 0.1 مل من العالق البكتيري بواسطة ناشر معقم. عملت ثلاث حفر في
كل طبق بعرض 6 ملم بثاقب الفلين المعقم وملئت هذه الحفر بإضافة 50 مايكرو لتر
بتركيز مختلفة من الجسيمات النانوية. حضنت هذه الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة
 37° لمدة 24 ساعة. ثم قيست منطقة التثبيط (20).

لتحضير العالق البكتيري تم اخذ عدة مستعمرات (2-3) من البكتريا المنماة على
وسط (Nutrient agar) ونقلت إلى 2 مل من المحلول الفسلجي وقورنت عكورة العالق
بمحلول ماكفرلاند لكي تساوي 1.5×10^8 CFU/ml (Standard MacFarland)
(solution (matching a turbidity of 1.5×10^8) ليتم بعدها نشر العالق البكتيري
في أطباق بتري الحاوية على وسط Muller Hinton agar بطريقة الفرش
(Spreading method) باستعمال عود قطني معقم (21).

تم قياس أقطار التثبيط باستعمال المسطرة إذ قيس قطر التثبيط حول مناطق الحفر.
تم الحصول على العزلات البكتيرية من مختبرات الدراسات العليا في فرع التقنيات
الاحيائية/قسم العلوم التطبيقية/الجامعة التكنولوجية والتي تم تشخيصها باستعمال جهاز
VITEK.

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عامر حسن عباس

حضر المحلول الفسلجي Normal saline بإذابة 0.85 غم كلوريد الصوديوم في 90 مل من الماء المقطر ونظمت درجة الحموضة لتساوي 7 ومن ثم كمل الحجم إلى 100 مل وعقم المحلول (22).

ملئت الحفر الثلاثة كالآتي:

1- تم وضع 50µl من المحلول النانوي TiO_2 تركيزه 50µgm/l.

2- تم وضع 50µl من المحلول النانوي TiO_2 تركيزه 100µgm/l.

3- تم وضع راشح الفطر فقط.

تم تحضير التراكيز النانوية بتعليق المسحوق النانوي بأوزان 50 & 100 µgm في لتر من الماء المقطر المعقم، وقد حضر المسحوق النانوي بدوره من وضع المحلول النانوي الذي حضر مسبقا في جهاز التبخير الدوار Rotary Evaporator .

3- النتائج والمناقشة

3-1 التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة الفطر

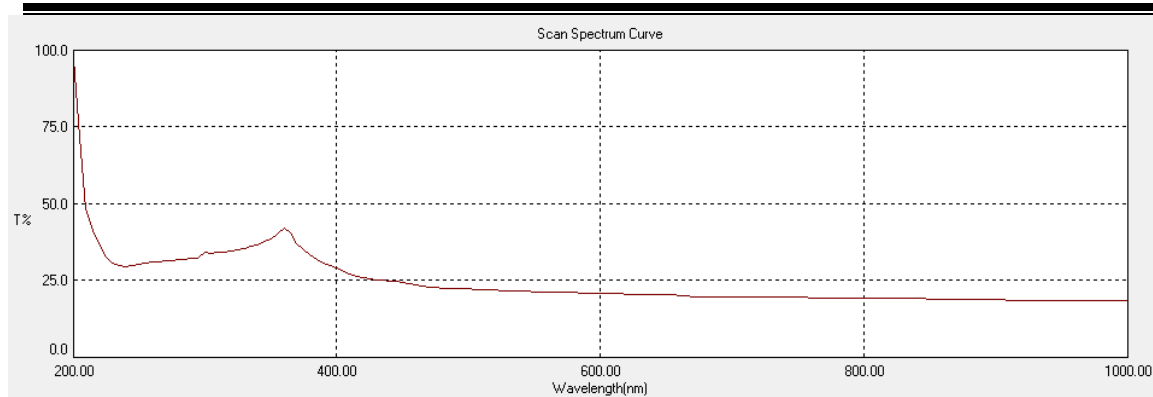
Fusariumoxysporum

تم عزل فطر *Fusariumoxysporum* منتربة حقائق الجامعة التكنولوجية إذ تم تشخيصه على الأسس المظهرية للمستعمرة ومظهر الفطر تحت المجهر الضوئي، تم التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة الفطر *Fusariumoxysporum*, تم تشخيص تلك الجسيمات النانوية بالتقنيات الآتية وهي:

3-1-1 الفحص باستعمال جهاز UV-visible spectroscopic

إن نتائج هذا الاختبار تعد نتيجة تأكيدية لوجود أو عدم وجود الجسيمات النانوية فمن ملاحظة الشكل (1) لوحظ وجود قمة عند طول موجي بالقرب من (350 nm) والتي تؤكد على وجود الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم إذ تطابقت هذه النتيجة والبحوث السابقة إذ أشار Vijayalakshmi وآخرون (23) إلى إن حزمة الامتصاص تتراوح من 351 إلى 369 nm عند تصنيع الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم بواسطة طرق مختلفة.

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
 عامر حسن عباس

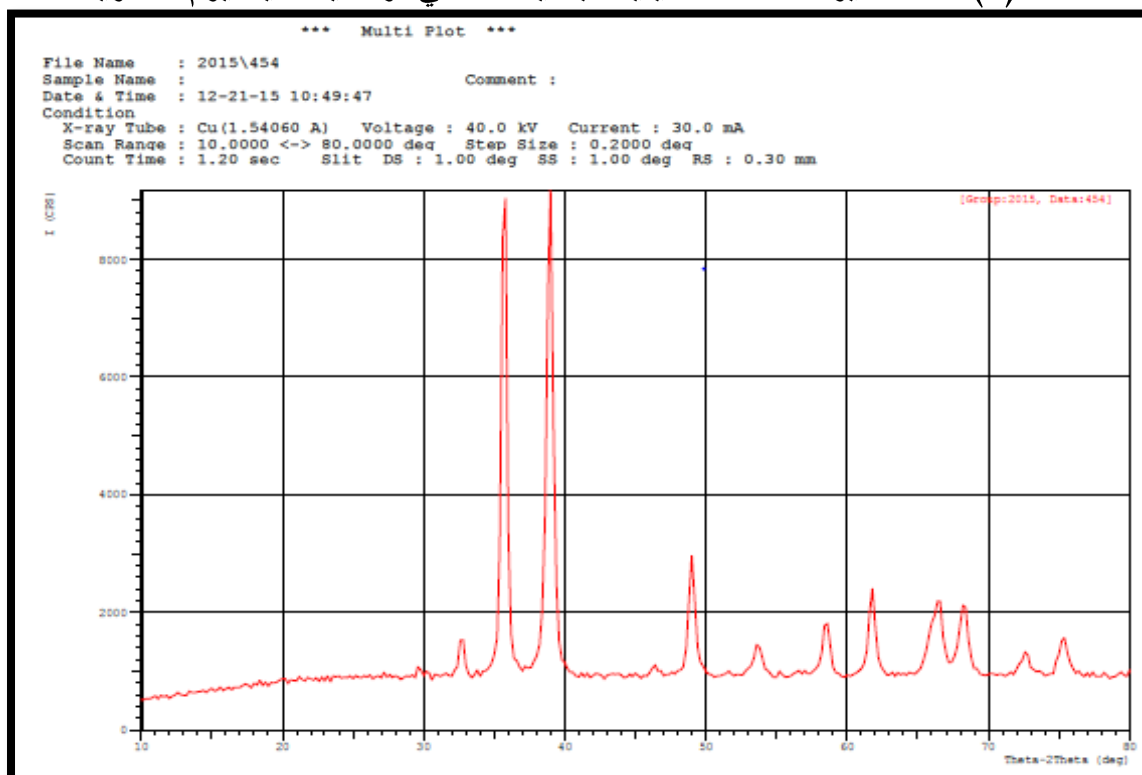


شكل (1) الفحص باستعمال جهاز UV-visible spectroscopic

2-1-3 الفحص باستعمال جهاز x ray diffraction

يعتبر هذا الاختبار تأكيداً أيضاً لوجود الجسيمات النانوية، إذ من المعروف إن لكل مادة كيميائية قمماً محددة تظهر في الرسم البياني الخاص بالمادة المفحوصة، تظهر القمم كما في الشكل (2) إذ تظهر القمم في قيمة زاوية حيود 2θ (10-80) $^{\circ}$ (25.3 $^{\circ}$, 36 $^{\circ}$, 39 $^{\circ}$) والتي تماثل طور الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم التي اتفقت مع النتائج المقدمة من قبل Rajakumar وآخرين (10) والتي أكدت وجود نفس القيم لزاويا الحيود.

شكل (2) أنماط حيود الأشعة السينية لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية



التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عامر حسن عباس

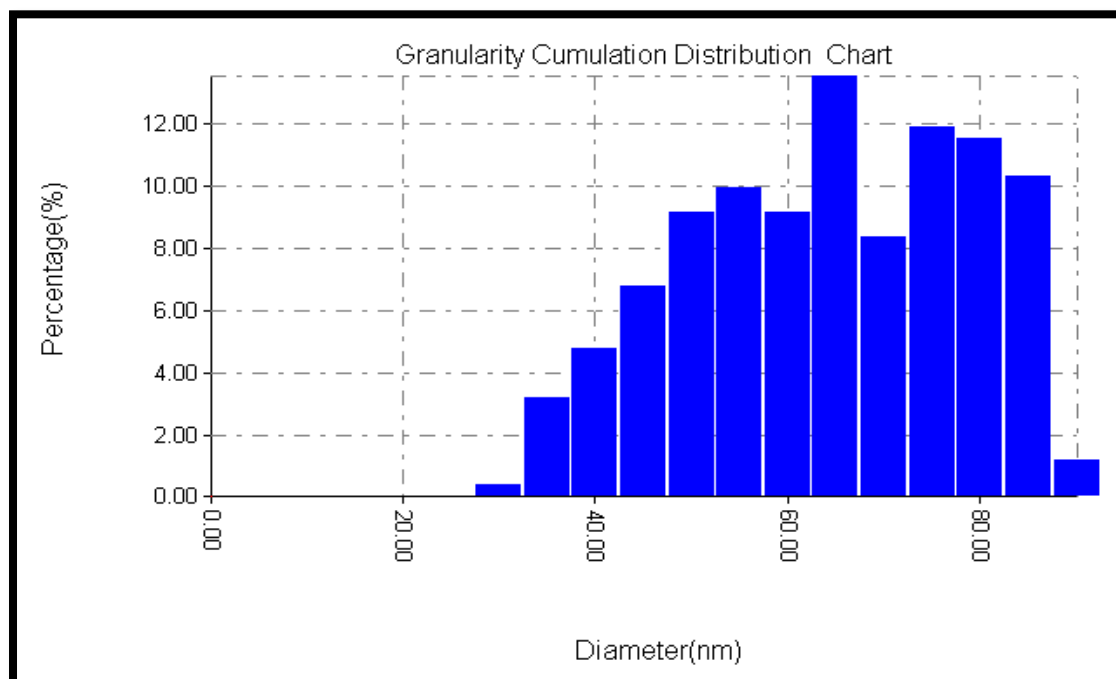
3-1-3 المجهر الذري الإلكتروني

ويعد من أهم الأجهزة المستعملة في هذه الدراسة إذ يقدم الحجم الدقيق للجسيمات النانوية إذ ظهرت الجسيمات بأقطار مختلفة ابتداء من 30 nm وانتهاء ب 90 nm فكان معدل الأقطار هو 61.71 nm (شكل 3) و(جدول 1)، و يعطي كذلك معلومات عن المظهر الطوبوغرافي للجسيمات كما موضح في الأشكال 4 و 5.

جدول (1) أقطار ونسب أقطار بالنسبة للمجموع الكلي للجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم

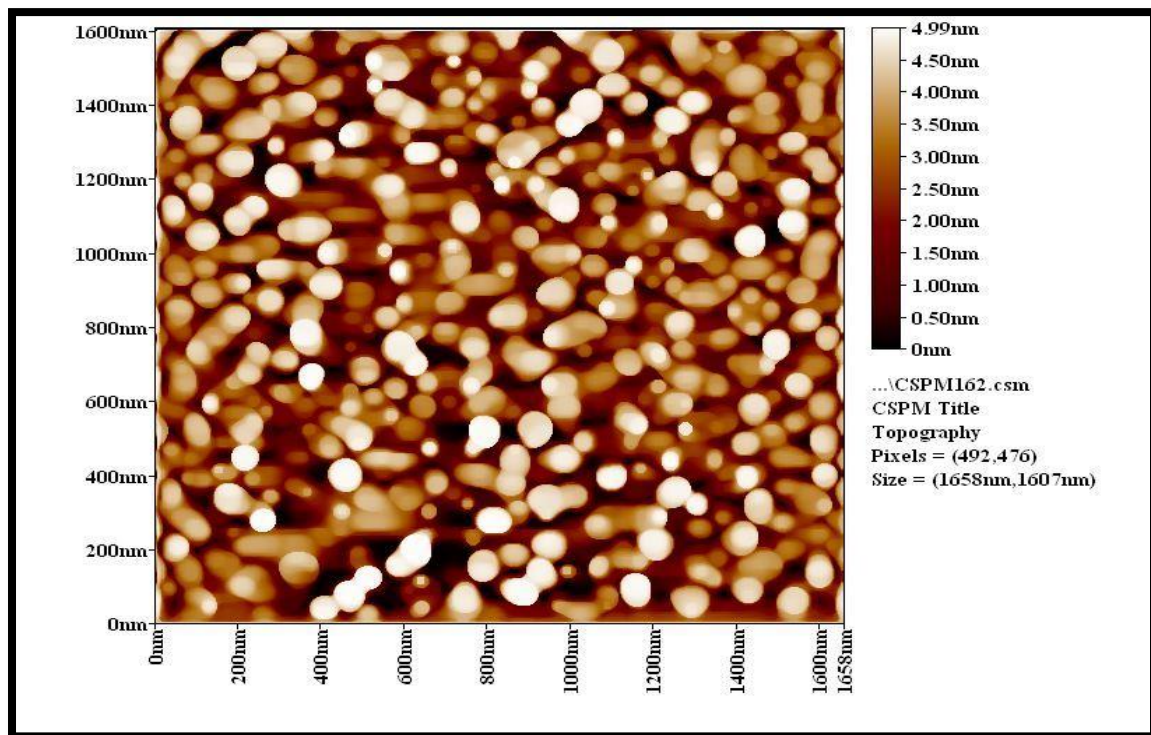
Diameter (nm) <	Volume (%)	Accumulation (%)	Diameter (nm) <	Volume (%)	Accumulation (%)	Diameter (nm) <	Volume (%)	Accumulation (%)
30.00	0.40	0.40	55.00	9.92	34.13	80.00	11.5	88.49
35.00	3.17	3.57	60.00	9.13	43.25	85.00	1	98.81
40.00	4.76	8.33	65.00	13.49	56.75	90.00	10.3	100.00
45.00	6.75	15.08	70.00	8.33	65.08		2	
50.00	9.13	24.21	75.00	11.90	76.98		1.19	

شكل (3) أقطار الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم النانوية ونسبة الأقطار بالنسبة للحجم الكلي للجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم

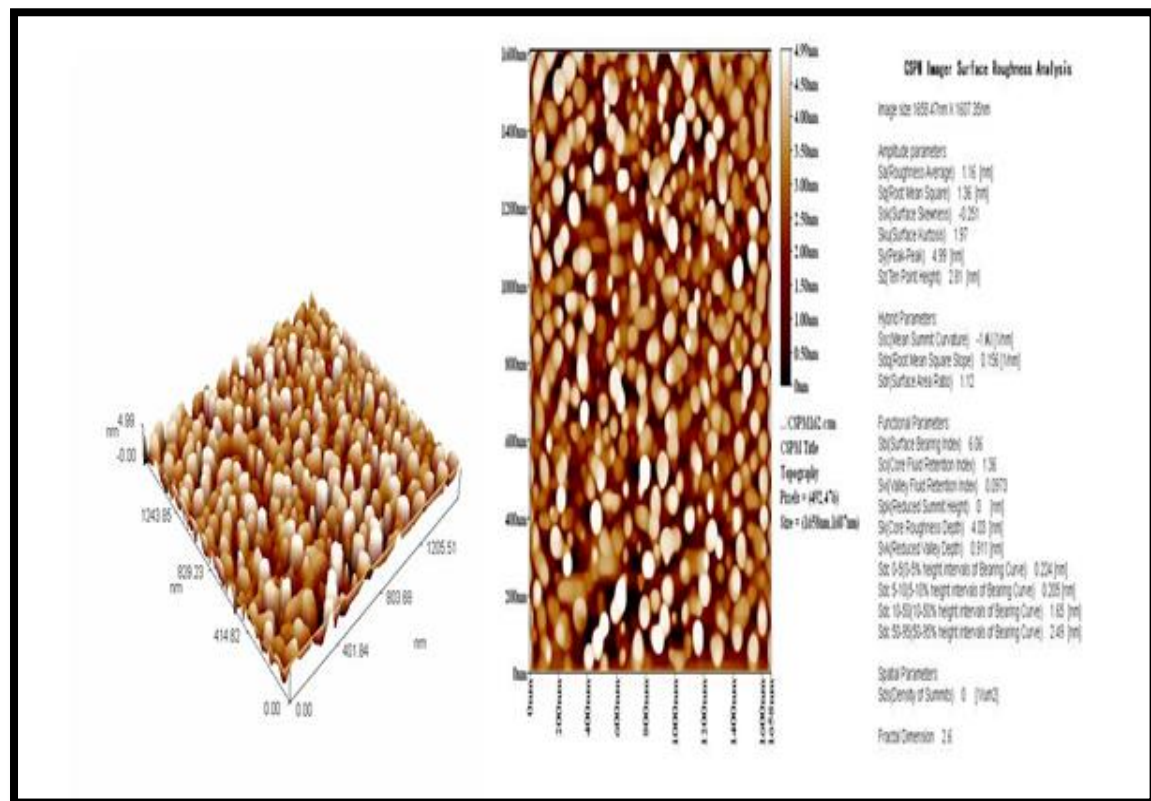


التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
 عامر حسن عباس

شكل (4) يوضح طوبوغرافية جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية



شكل (5) مظهر فوقى للجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم

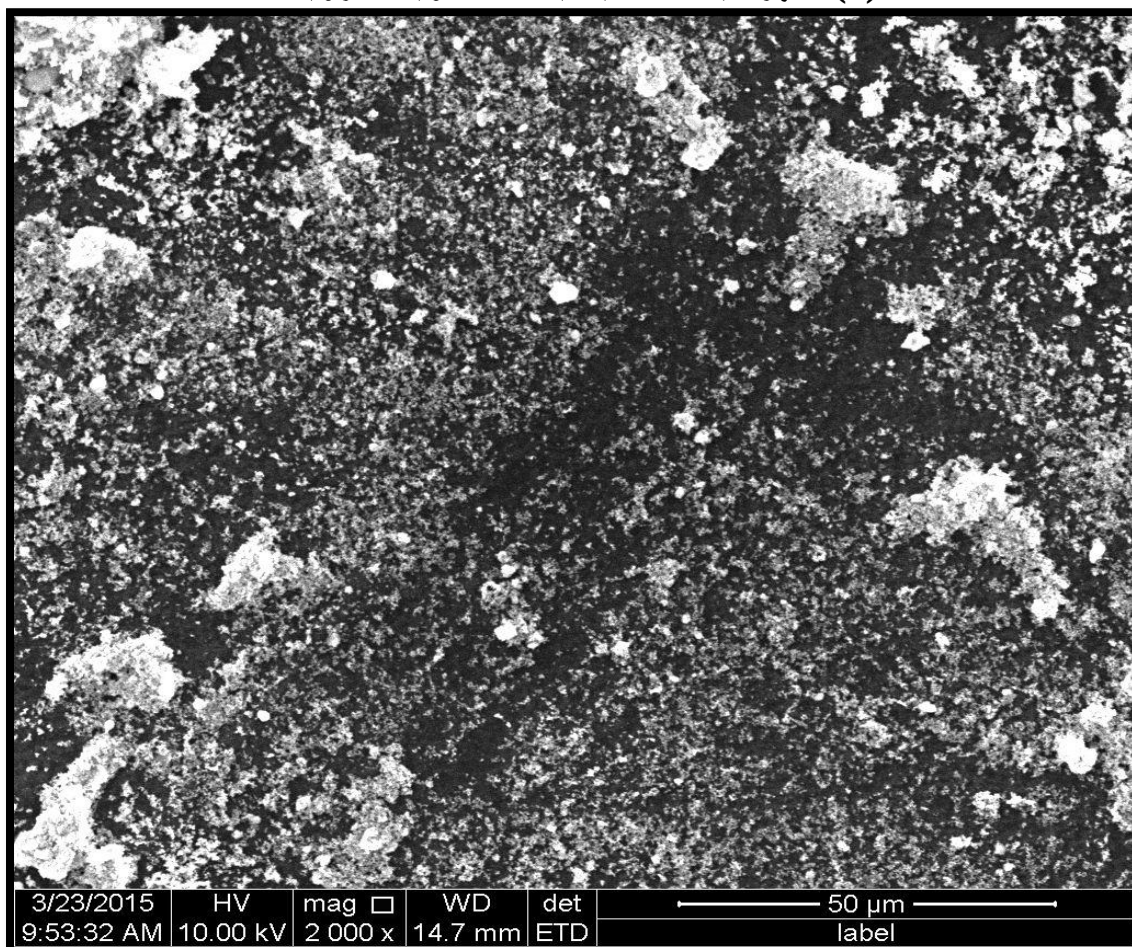


التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عناصر حسن عباس

3-1-4 المجهر الماسح الإلكتروني

توفر الصور الناتجة من هذا الجهاز معلومات عن المظهر الخارجي للجسيمات النانوية في الشكل (6) تظهر الجسيمات النانوية المصنعة الكروية الشكل كما ويمكن ملاحظة الثباتية من خلال عدم وجود تجمعات كثيرة لتلك الجسيمات.

الشكل (6) تظهر تجمعات الجسيمات النانوية الكروية الشكل



3-2 فحص الحساسية لجسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية ضد البكتريا الموجبة

لصبغة كرام *Staphylococcus aureus* والسالبة لصبغة كرام *Escherihia coli*

إن من احد أهداف هذا البحث هو تقييم حساسية البكتريا لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية إذ تم استخدام نوعين من البكتريا احدهما موجب والآخر سالب لصبغة كرام وهما *Staphylococcus aureus* و *Escherechia coli* على التوالي , وجود مناطق تثبيط هو دليل واضح على فعالية الجسيمات البايولوجية تجاه البكتريا المستعملة إذ لوحظ إن أعلى تركيز للجسيمات يعطي أعلى منطقة تثبيط كما موضح في الجدول أدناه

التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عامر حسن عباس

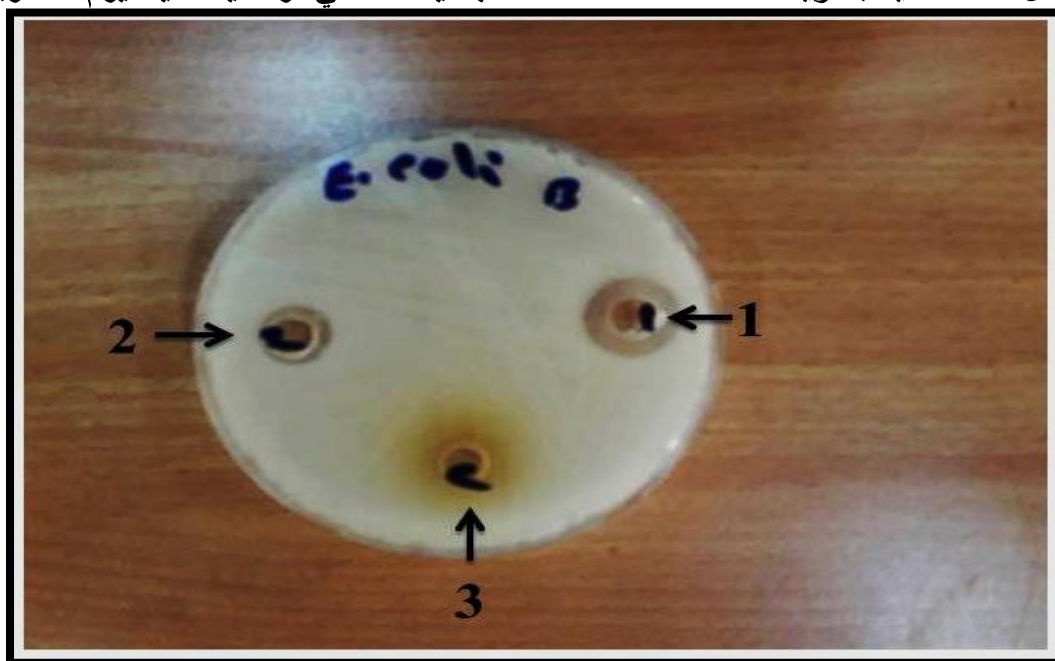
كذلك يمكن ملاحظة إن تأثير الجسيمات على البكتريا الموجبة لصبغة كرام اكبر من تأثيرها على السالبة ويرجع السبب إلى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام (24). وتعزى قابلية هذه الجسيمات على قتل وتنشيط النمو البكتيري إلى تفكك (decomposition) جدار البكتريا بواسطة reactive oxygen species (ROS), إذ تقوم جذور الهيدوكسيل (OH⁻) بعملية (phospholipids' peroxidation) إذ يتم تحرير الأوكسجين في طبقة الشحوم المفسفرة في جدار البكتريا ومن ثم موت البكتريا (10).

جدول (2) أقطار التنشيط لبكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*

نوع البكتريا	السيطرة (راشح خلايا الفطر C)	التركيز الأول (100 µgm/l)	التركيز الثاني (50µgm/l)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	4 mm	2mm
<i>Escherichia coli</i>	0	2mm	1mm

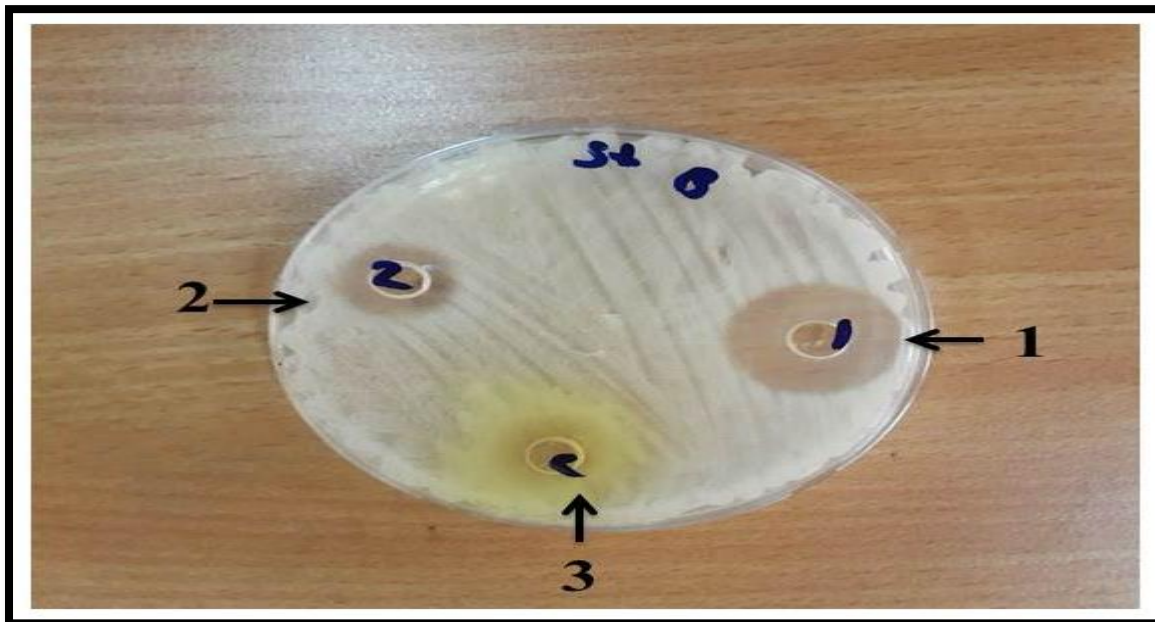
*وجود اللون الأصفر حول حفرة السيطرة هوليس منطقة تثبيط لكن هو انتشار لون راشح خلايا الغزل الفطري وتم التأكد منه بأخذ مسحة من هذه المنطقة وزرعها بوسط Nutrient agar ولم يظهر أي نمو بكتيري.

شكل 7 حساسية بكتريا *Escherichia coli* لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية



التصنيع الحيوي لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية بواسطة فطريات معزولة من التربة
عامر حسن عباس

شكل 8 حساسية بكتريا *Staphylococcus aureus* لجسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم النانوية



References

- [1] Mansoori, GA, 2005. Principles of Nanotechnology – Molecular-Based Study of Condensed Matter in Small Systems, World Scientific Pub. Co., Hackensack, NJ.
- [2] Azim, A., Davood, Z., Ali, F., Mohammad, R.M., Dariush, N., Shahram, T., Majid, M., Nasim, B., 2009. Synthesis and characterization of gold nanoparticles by tryptophane. Am. J. Appl. Sci. 6, 691–695.
- [3] Tapan, K.S., Andrey, L.R., 2009. Nonspherical noble metal nanoparticles: colloid chemical synthesis and morphology control. Adv. Mater. 21, 1–24.
- [4] Simkiss, K., Wilbur, K.M., 1989. “Biomining,” Cell Biology and Mineral Deposition, Academic Press, New York, NY, [10.5402/2011/385480](https://doi.org/10.5402/2011/385480).
- [5] Mann, S., 1996. Biomimetic Materials Chemistry. Wiley-VCH, New York.
- [6] R.W. Raut, J.R. Lakkakula, N.S. Kolekar, V.D. Mendhulkar, S.B. Kashid, 2009. Photosynthesis of silver nanoparticle using *Gliricidia sepium*, Current Nanoscience 5, 117-122.

- [7] D.J. Anderson, M. Moskovits, 2006. A SERS –Active system based on silver nanoparticles tethered to a deposited silver films. *J. Phys. Chem. B*, 110, 13722-13727.
- [8] Honary, S.; Barabadi, H.; Gharaeifathabad, E.; and Naghib, F., 2012. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Penicillium aurantio-rubrum*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium waksmanii*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 3:999 – 1005.
- [9] L. Sang, Y. Zhao, C. Burda, 2014. TiO₂ nanoparticles as functional building blocks. *Chem. Rev.* 8; 114(19):9283-318.
- [10] Rajakumar, G.; Abdul Rahuman, A.; MohanaRoopan, S.; Gopiesh, V.; Khanna.; Elango, G.; Kamaraj, C.; AbdurZahir, A.; and Velayutham, K., 2012. Fungus-mediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. *Spectro chimica Acta Part A*. 91 : 23– 29.
- [11] Naveen, H. K.S.; Gaurav Kumar.; Karthik L.; and BhaskaraRao K.V. , 2010. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium sp.* *Archives of Applied Science Research*. 2 (6): 161-167.
- [12] Samson, R.A. and Hockstra, E.S., 1988. Introduction to food – Borne fungi 3rd ed. Institute of the Royal Netherlands Acad. Arts & Sci.
- [13] Sangappa, M.; and Thiagarajan, P., 2012. Mycobiosynthesis and characterization of silver nanoparticles from *Aspergillus niger*. A soil fungal isolate. *Polish j. of Microbiology*. 60 (1).
- [14] Basavaraja, S.S.; Balaji, S.D.; Lagashetty, A.K.; Rajasab, A.H.; and Venkataraman, A., 2008. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium semitectum*. *Materials Research Bulletin*. 43: 1164-1170.
- [15] Myers, R., 2003. [The Basics of Chemistry](#). [Greenwood Publishing Group](#). Pp.13–14. United States.
- [16] Jayaseelan, C. ; Abdul Rahuman A. ; Kirthi A.V. ; Marimuthu, S.; Santhoshkumar, T. ; Bagavan, A. ; Gaurav, K. ; Karthik L. and Rao, K.V.B., 2012. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectro chimica Acta. Part A* 90:78– 84.
- [17] Naveen, H. K.S.; Gaurav Kumar.; Karthik L.; and BhaskaraRao K.V. , 2010. Extracellular biosynthesis of silver

-
- nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium* sp. *Archives of Applied Science Research*. 2 (6): 161-167.
- [18] Castro-Longoria, A.; Vilchis-Nestor, A.R.; and Avalos-Borja, M., 2011. Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 83: 42–48.
- [19] Prasad, K.; and Jha, A.K., 2009. ZnO Nanoparticles: Synthesis and Adsorption Study. *Natural Science*, 1, 129-135.
- [20] Kora, A.J.; Sashidhar, R.B. and Arunachalam, J. ,2010 . Gum kondagogu (*Cochlospermum gossypium*): a template for the green synthesis and stabilization of silver nanoparticles with antibacterial application. *Carbohydr Polym*. 82:670-679.
- [21] CLSI. , 2011. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-First informational supplement. M100-S21.vol.31 No. (1).
- [22] Atlas, R. M. (1995). Pathogenesis of Infectious Diseases in: Principles of Microbiology. 1st ed., Mosby-Yearbook, Inc. Loui. Baltimore.
- [23] Vijayalakshmi, R. and Rajendran, V., 2012. Synthesis and characterization of nano-TiO₂ via different methods. *Archives of Applied Science Research*, 4 (2):1183-1190.
- [24] Fayaz, A., M.; Balaji. K.; Girilal, M.; Yadav, R.; Kalaichelvan, P., T.; Venketesan, R., 2010. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 6. 103–109.

Biosynthesis of TiO_2 nanoparticles by fungi isolated from soil

Amer Hasan Abbas

Biotechnology branch /Department of applied science /University of
Technology, Baghdad

Abstract

In the present study , the biosynthesis of TiO_2 nanoparticles were included by fungi *Fusarium oxysporum* , the particle size were 30-90 nm , fungi *Fusarium oxysporum* was isolated from soil using serial dilution technique , biomass was harvested and used to biosynthesized TiO_2 nanoparticles . The biosynthesis of TiO_2 nanoparticles was characterized by UV Vis. Spectroscopy (UV) , X-ray diffraction (XRD) , atomic force microscope (AFM) and scanning electron microscope (SEM) studies .The biosynthesized TiO_2 nanoparticles were tested against gram Positive and gram negative bacteria . results showed that TiO_2 nanoparticals have a remarkable antibacterial activity against gram Positive and gram negative bacteria .

Key words: Biosynthesis of TiO_2 nanoparticles, *Fusarium oxysporum* fungi, antibacterial activity .