

**BİOLOGİYA**

**UOT : 576.809.5**

**ASPERGİLLUS SP. BDU-A4 KİF GÖBƏLƏYİNDƏ GÜMÜŞ  
NANOHISSƏCİKLƏRİNİN ƏMƏLƏ GƏLMƏSİNƏ BİOKÜTLƏNİN  
VƏ İNKUBASIYA VAXTININ TƏSİRİ**

**E.M.MUSAYEV, X.Q.QƏNBƏROV, Q.İ.EYVAZOVA**

*Bakı Dövlət Universiteti*  
*musayev.eynulla@mail.ru*

*Təqdim olunan məqalədə Aspergillus sp. BDU-A4 kif göbələyinin müxtəlif şəraitlərdə - biokütlənin müxtəlif miqdarlarında (5, 10, 15, 20 q) və müxtəlif inkubasiya vaxtlarında (24, 48, 72, 96, 120, 144 saat) gümüş nanohissəciklərini əmələ gətirməsi tədqiq olunmuş və nəticələr ultrabənövşəyi spektrofotometrə yoxlanılmışdır. Çəkilməmiş spektrlərin nəticələrinə görə nanohissəciklərin əmələ gəlməsi biokütlənin və inkubasiya vaxtının bütün qiymətlərində müşahidə edilmişdir. Lakin gümüş nanohissəciklərinin ən çox sıxlığı 10 q biokütlədə və inkubasiyanın 24 saat müddətində müşahidə edilmişdir.*

**Açar sözlər:** gümüş nanohissəcikləri, kif göbələyi, Aspergillus sp BDU-A4, biokütlə, inkubasiya vaxtı, spektrofotometr

Ölçüləri 0.1 - 100 nm ölçüsündə, tərkibində sayla bilən sayda atom və molekullar olan istənilən üzvü və ya qeyri-üzvü maddə hissəciyi nanohissəcikdir. Maddələrin nano-miqyaslı səviyyədə olan xüsusiyyətləri, onların makroskopik xüsusiyyətlərindən əhəmiyyətli dərəcədə fərqlənir. Nanohissəciklərin sintezi fiziki, kimyəvi, fiziki-kimyəvi və bioloji metodlarla həyata keçirilə bilər. Nanohissəciklərin mikroorqanizmlər və bitkilər vasitəsilə alınması bioloji metodun əsasını təşkil edir [3, 4, 7, 11].

Bioloji yolla, mövcud tədqiqat nəticələrinə əsasən müəyyən mikroorqanizm növlərinin qeyri-üzvi maddələrdən, metallardan hüceyrədaxili və ya hüceyrəxarici enzimlər vasitəsilə nanohissəciklər əmələ gətirməsi məlumdur. Nanohissəciklərin sintezində bakteriyalar, aktinomisetlər, kif göbələkləri və

maya göbələri kimi mikroorqanizmlərdən istifadə olunur ki, bu da nanobio-  
texnologiyanın nisbətən son nailiyyətidir [1, 2, 3, 4].

Hazırda metal nanomateriallar: mis, sink, titan, maqnezium, qızıl, kadmium  
və gümüş istehsal edilib, müxtəlif sahələrdə istifadə olunur. Bu nanomateriallar  
optik cihazların hazırlanmasında, katalitik maddələrin istehsalında, bakterisid  
təsirli dərman preparatlarının istehsalında, elektronikada, sensor texnologiyasında,  
bioloji markerlərin yaradılmasında və bəzi xərçəng xəstəliklərinin müalicəsində  
tətbiq olunur. Bu metal nanomaterialları içərisində gümüş nanohissəciklərindən  
hazırlanmış materiallar sənaye ilə yanaşı tibbdə də çox geniş istifadə olunur. Belə  
ki, materialın tərkibində gümüş nanohissəciklərinin olması onda antimikrob xassə  
əmələ gətirir. Məlumdur ki, antibiotiklər cəmi 5-10 növə qarşı aktivlik göstərdiyi  
halda gümüşün kolloid məhlulu 650 növ mikroorqanizmə qarşı antimikrob təsirə  
malikdir. Qeyd etmək lazımdır ki, antibiotiklərdən fərqli olaraq gümüş nanohissə-  
ciklərinə qarşı mikroorqanizmlərdə rezistentlik yaranmır. Çox güman ki, təkhü-  
ceyrəli orqanizmlər gümüş nanohissəciklərinə qarşı dözümlü formalara mutasiya  
oluna bilmirlər [3, 4, 5, 9, 10, 11].

Belə prosesi həyata keçirən mikroorqanizmlər içərisində göbələklər, nis-  
bətən çox öyrənilmişdir. *Colletotrichum sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus* cinsli  
göbələklər tərəfindən qızıl və gümüş nanohissəciklərinin sintezinin həyata  
keçirilməsi müəyyən olunmuşdur [6, 9, 10]. *Fusarium*, *Verticillium*, *Penicillium*  
və *Trichoderma* cinsli göbələklərin gümüş nanohissəciklərini əmələ gətirməsi  
məlumdur [2, 4, 5, 10].

Göbələklər vasitəsilə gümüş nanohissəciklərinin alınması yuxarıda  
göstərilən mikroorqanizmlər içərisində bir neçə üstünlüklərə malikdir. Belə ki,  
onlar qidalı mühit içərisində metal nanohissəciklərinin yüksək qatılığına qarşı  
dözümlülük göstərir, nisbətən sadə qidalı mühit tələb edir, xüsusi avadanlıq  
üçün əlavə xərclər tələb etmir [5, 6, 7, 8].

Əvvəlki tədqiqatlarımızda torpaq nümunələrindən və müxtəlif çürümüş  
bitki qalıqlarından kif göbələyi ştamları ayrılmış, identifikasiya olunmuş və  
ştamların gümüş nanohissəcikləri əmələ gətirməsi yoxlanılmışdır. Müəyyən  
edilmişdir ki, *Aspergillus sp. BDU-A4* kif göbələyi ştamı gümüş nanohis-  
səciklərini əmələ gətirmək qabiliyyətinə malikdir [7, 8].

Təqdim olunan işin məqsədi *Aspergillus sp. BDU-A4* kif göbələyi  
ştamının gümüş nanohissəcikləri əmələ gətirməsinə biokütlənin və inkubasiya  
müddətinin təsirini öyrənmək olmuşdur.

### **Material və metodlar**

*Aspergillus sp. BDU-A4* kif göbələyi ştamının 7-10 günlük təmiz kul-  
turası, içərisində 100 ml sintetik qidalı mühit olan 250 ml-lik kolbaya əkilmiş  
və 28°C-də 5 gün inkubasiya olunmuşdur. Qidalı mühit aşağıdakı tərkibdə  
olmuşdur (q/l):  $\text{NaNO}_3$  - 3;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 1;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$

- 0,01; saxaroza – 20. İnkubasiyadan sonra kolbalardakı biokütlə filtr kağızından süzölmüş və bir neçə dəfə distillə suyu ilə yuyulmuşdur. Alınan nəm biokütlə 5, 10, 15 və 20 q miqdarında olmaqla ayrı-ayrı çökölmişdir. Çökölmiş hər bir biokütlə, içərisində 100 ml distillə suyu olan kolbaya daxil edilmişdir. Kolbaların hər birinə 1 ml 1 mM AgNO<sub>3</sub> məhlulundan əlavə edib, 28°C-də, 120 dövr/dəq çalxalanmaqla, 5 sutka qaranlıq şəraitdə inkubasiya olunmuşdur. Sonra göbələyin “kultural maye”si filtr kağızından süzölmüş, filtrat 10 dəq. müddətində 5000 dövr/dəq sürətdə sentrifüqalaşdırılmışdır. Çöküntü ayrıldıqdan sonra, supernatantda gümüş nanohissəciklərinin mövcudluğu spektrofotometrik analiz ilə təyin edilmişdir [9, 10, 11].

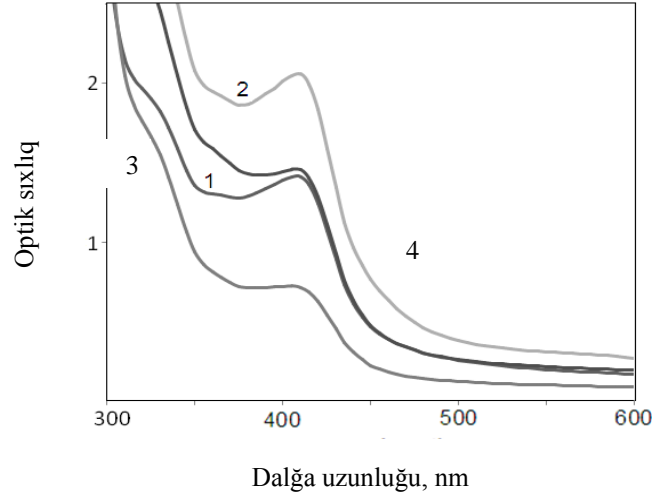
Müxtəlif inkubasiya vaxtının gümüş nanohissəciklərinin əmələ gəlməsinə təsirini öyrənmək üçün *Aspergillus sp.* BDU-A4 kif göbələyi ştamının, tərkibi yuxarıda verilmiş duru qidalı mühütdə biokütləsi alınmışdır. Nəm biokütlə 50 q çökölərək içərisində 500 ml qidalı mühüt olan 1 litrlik kolbaya daxil edilmişdir. Kolbaya 5 ml 1 mM AgNO<sub>3</sub> məhlulundan əlavə edib, 28°C-də, 120 dövr/dəq, qaranlıq şəraitdə inkubasiya olunmuşdur. İnkubasiyanın 24, 48, 72, 96, 120 və 144-cü saatlarında kultural mayedən götürüb yuxarıda göstərilən qayda ilə nanohissəciklərin əmələ gəlməsi yoxlanılmışdır.

#### **Nəticələr və onların müzakirəsi**

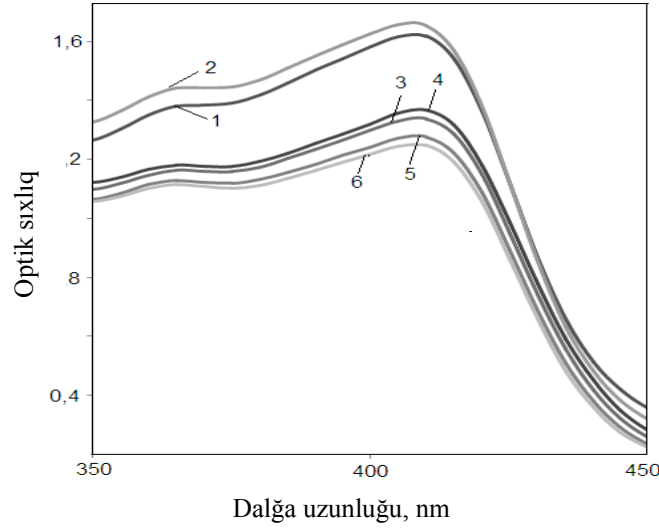
*Aspergillus sp.* BDU-A4 kif göbələyi ştamının 5, 10, 15 və 20 q miqdarında biokütləsinin gümüş nanohissəciklərini əmələ gətirməsinə təsiri öyrənilmiş və alınan nəticələr şəkil 1-də verilmişdir. Ədəbiyyat məlumatına əsasən gümüş nanohissəcikləri 400-420 nm dalğa uzunluğunda pik əmələ gətirdiyindən alınan spektrlərin təhlili də buna uyğun aparılmışdır. Nanohissəciklərin ən yüksək optik sıxlığı 10 q biokütlədə, ən az sıxlığı isə 20 q biokütlədə müşahidə olunmuşdur. Belə ki, 10 q biokütlədə əmələ gələn nanohissəciyin optik sıxlığı 5 q biokütlədəki optik sıxlıqdan 1,6 dəfə, 15 q biokütlədəki optik sıxlıqda 1,5 dəfə, 20 q biokütlədəki optik sıxlıqdan 3,0 dəfə çoxdur. Deməli, gümüş nanohissəciklərinin əmələ gəlməsi üçün göbələk biokütləsinin optimal miqdarı 10 q (nəm çəki ilə) təşkil edir.

İnkubasiya müddətinin nanohissəciklərin əmələ gəlməsinə təsirini öyrənmək üçün, inkubasiyanın 24, 48, 72, 96, 120 və 144-cü saatlarında nümunələr götürölmüş və ultrabənövşəyi spektrofotometrde yoxlanılmışdır. Alınan nəticələr şəkil 2-də verilmişdir. Şəkildən göründüyü kimi, gümüş nanohissəciklərinin maksimum miqdarı inkubasiyanın 24 və 48-ci saatlarında, minimum miqdarı isə inkubasiyanın 120-144-cü saatlarında müşahidə olunmuşdur. Belə ki, inkubasiyanın 24 və 48-ci saatlarında əmələ gələn gümüş nanohissəciklərinin optik sıxlığı, inkubasiyanın 72-96-cı və 120-144-cü saatlarında əmələ gələn gümüş nanohissəciklərinin optik sıxlığından, müvafiq olaraq, 1,2 və 1,3 dəfə çoxdur.

Beləliklə, müəyyən edilmişdir ki, *Aspergillus sp.* BDU-A4 göbələk ştamının gümüş nanohissəciklərini əmələ gətirməsi göbələyin biokütləsinin miqdarından və inkubasiya müddətindən asılı olaraq dəyişilə bilər. Gümüş nanohissəciklərinin əmələ gəlməsi üçün biokütlənin optimal miqdarı və optimal inkubasiya müddəti müvafiq olaraq, 10 q və 24-48 saat olmuşdur.



**Şək. 1.** *Aspergillus sp.* BDU-A4 göbələk ştamı vasitəsilə gümüş nanohissəciklərinin əmələ gəlməsinə göbələk biokütləsinin miqdarının təsiri: 1) 5 q, 2) 10 q, 3) 20 q, 4) 15 q biokütlə.



**Şək. 2.** *Aspergillus sp.* BDU-A4 göbələk ştamının inkubasiya müddətindən asılı olaraq gümüş nanohissəciklərini əmələ gətirməsi: 1) 24 saat, 2) 48 saat, 3) 72 saat, 4) 96 saat, 5) 120 saat, 6) 144 saat.

#### ƏDƏBIYYAT

1. Begum N.A., Mondal S., Basu S., Laskara R.A., Mandal D. Biogenic Synthesis of Au and Ag Nanoparticles using Aqueous Solutions of Black Tea Leaf Extracts // Colloids and Surfaces, Biointerfaces. 2009, v. 71, p. 113-118.
2. Bhainsa K.C. D'Souza S.F. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles using the Fungus *Aspergillus Fumigatus*. Colloids Surf B Biointerfaces. 2006, v. 47, №2, p. 160-164.
3. Bharde A., Rautaray D., Bansal V., Ahmad A., Sarkar I., Mohammad Yusuf S., Sanyal M., Sastry M. Extracellular Biosynthesis of Magnetite using Fungi // Small, 2006, v. 2, p. 135.
4. Chovanec P., Kalinak M., Liptaj T., Pronayova N., Jakubik T., Hudecova D., Varecka L. Study of *Trichoderma Viride* Metabolism under Conditions of the Restriction of Oxidative Processes // Can. J. Microbiol, 2005, v. 51, №10, p. 853-862.
5. Klittich C.J, Leslie J.F. Nitrate Reduction Mutants of *Fusarium Moniliforme* (*gibberella-fujikuroi*) // Genetics, 1988, v. 118, p. 417-423.
6. Nadagouda M.N., Varma R.S. Green Synthesis of Silver and Palladium Nanoparticles at Room Temperature using Coffee and Tea Extract // Green Chem, 2008, v. 10, p. 859-862.
7. Jain N., Bhargava A., Majumdar S., Tarafdar J.C., Panwar J. "Extracellular Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles using *Aspergillus Flavus* NJP08: A Mechanism Perspective," *Nanoscale*, 2011, v. 3, №2, p. 635-641.
8. Ottow J.C., Von Klopotek A. Enzymatic Reduction of Iron Oxide by Fungi // Appl. Microbiol., 1969, v. 18, p. 41-43.
9. Ravindra S., Murali Mohan Y., Narayana Reddy N., Mohana Raju K. Fabrication of Antibacterial Cotton Fibres loaded with Silver Nanoparticles via "Green Approach" // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects., 2010, v. 367, p. 31-40.
10. Sadowski Z., Maliszewska H.I., Grochowalska B., Polowczyk I., Kozlecki T. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Microorganisms, *Materials Science-Poland*, 2008, v. 26, №2, p. 419-424.
11. Singh R., Balaji Raja R. Biological Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles using the Fungus *Trichoderma Harzianum*. *Asian J.Exp.Biol.Sci.*, 2011, v. 2, №4, p. 600-605.

#### ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ ИНКУБАЦИИ И БИОМАССЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА У ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА *ASPERGILLUS SP.BDU-A4*

Э.М. МУСАЕВ, Х. Г. ГАНБАРОВ, Г. И. ЭЙВАЗОВА

#### РЕЗЮМЕ

В представленной статье было исследовано образование наночастиц серебра штаммом BDU-A4 плесневого гриба *Aspergillus sp.* в различных условиях - при различном количестве биомассы (5, 10, 15, 20 г) и при различном времени инкубации (24, 48, 72, 96, 120, 144 ч). Результаты были проверены с помощью ультрафиолетового спектрофотометра. В полученных спектрах образование наночастиц серебра наблюдалось во всех показателях биомассы и времени инкубации. Однако наибольшая плотность наночастиц серебра наблюдалась при количестве биомассы 10 г и времени инкубации 24 часа.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, плесневой гриб, *Aspergillus sp.* BDU A4, биомасса, время инкубации, спектрофотометр

**THE EFFECT OF INCUBATION TIME AND BIOMASS TO THE FORMATION OF SILVER NANOPARTICLES BY MOLD FUNGUS *ASPERGILLUS SP.* BSU-A4**

**E.M.MUSAYEV, Kh.G.GANBAROV, G.IEYVAZOVA**

**SUMMARY**

In this work, the synthesis in various circumstances – at different amounts of biomass (5, 10, 15, 20 g) and at different incubation times (24, 48, 72, 96, 120, 144 hours) of silver nanoparticles by the strain BDU-A4 *Aspergillus sp* was investigated and the results were checked with UV-Visible Spectroscopy. From resulting spectra was revealed the formation of nanoparticles at all indicators of biomass and incubation time. The influence of different amounts of biomass (5, 10, 15 and 20 g ) and diferent incubation times (24, 48, 72, 96, 120 and 144) to the formation of silver nanoparticles by *Aspergillus sp.* BDU-A4 was investigated. The results were checked with UV-visible spectroscopy. The formation of nanoparticles was revealed at all indicators of biomass and incubation time. However, the highest density of silver nanoparticles was observed at 10 gramm biomass and 24 hours of incubation.

**Key words:** silver nanoparticles, mold fungus, *Aspergillus sp.* BSU A4, biomass, incubation time, spectrophotometer

*Redaksiyaya daxil oldu: 12.09.2013-cü il.*

*Çapa imzalandı: 29.10.2013-cü il.*