

Biogenic silver nanoparticles obtention from *Aspergillus terreus* fungi

Obtenção biogênica de nanopartículas de prata pelo fungo *Aspergillus terreus*

Producción biogénica de nanopartículas de plata por el hongo *Aspergillus terreus*

DOI: 10.34188/bjaerv7n2-008

Submetido: 19/01/2024

Aprovado: 01/03/2024

Daniela Bustos Crescentino

Doctora en Ciencias Químicas, Expedido por la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba

Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan

San Juan. Argentina
dbustos@unsj.edu.ar

Pedrozo Roxana

Alumna del Profesorado en Química, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan

Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan

San Juan. Argentina
roxy.rp26@gmail.com

Jorge Allendes

Magister en Ciencias Químicas, Expedido por la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba

Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan

San Juan. Argentina
jorgearielallendes@gmail.com

Paola Ramos

Licenciada en Biología Molecular, Expedido por la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de San Luis. Doctorando de CONICET

Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan

San Juan. Argentina
paoladanielaramos27@gmail.com

Carina Magnoli

Doctora en Ciencias Biológicas, expedido por Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto.

Instituto de Investigación en Micología y Micotoxicología (IMICO-CONICET), Facultad de Cs. Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto

Córdoba. Argentina
cmagnoli@exa.unrc.edu.ar

Daniel Alfredo Bustos

Doctor en Química, expedido por Universidad Nacional de Rosario
Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Filosofía, Humanidades y Artes, Universidad Nacional de San Juan
San Juan, Argentina
idbustos@ffha.unsj.edu.ar

RESUMEN

A nanotecnología é uma disciplina em rápido crescimento que se concentra no estudo da matéria em escala nanométrica e no desenvolvimento de materiais com propriedades novas e aprimoradas. De acordo com a Organização Internacional de Padronização (ISO), as nanopartículas de prata (AgNPs) são definidas como partículas sólidas de prata coloidal com uma faixa de tamanho de 1 a 100 nm. Esses materiais apresentam propriedades funcionais exclusivas, levando a diversas aplicações nas áreas de medicina, catálise, sensores ópticos e são fortes bactericidas. Existem diferentes métodos para a síntese de nanopartículas metálicas. As nanopartículas de prata (AgNPs) tornaram-se o foco das pesquisas devido à sua ampla gama de aplicações. Algumas pesquisas usaram sistemas biológicos para a síntese de nanopartículas como alternativa aos métodos químicos e físicos, pois alguns microrganismos produzem materiais inorgânicos intra ou extracelularmente. Há algumas vantagens que a síntese por métodos biológicos oferece em relação a outros métodos, incluindo o fato de ser um processo simples, limpo, eficiente e de baixo custo; as nanopartículas sintetizadas por esses métodos geralmente apresentam biocompatibilidade e biodegradabilidade. Na síntese de AgNPs, os fungos filamentosos são preferidos às bactérias por serem facilmente manipulados. Neste estudo, o *Aspergillus terreus* demonstrou sua capacidade extracelular de biossintetizar AgNPs. Para isso, esse fungo foi inoculado em YES médium. Eles foram mantidos em uma estufa de cultura por 7 dias a 28°C. Em seguida, a biomassa foi filtrada. Para a síntese de AgNPs, 1mL de uma solução de AgNO₃ 100mM foi adicionado a 99mL do filtrado fúngico com uma concentração final de 1mM, e foi agitado a 80 rpm e 30°C por 6 dias, com amostragem a cada 24 horas. As amostras foram analisadas por espectrofotometria UV-visível (300-600nm). Foi observada uma banda plasmônica com um máximo de absorvância em 406 nm, com uma amplitude entre 400-430 nm, confirmando a obtenção de nanopartículas de prata e o poder redutor das enzimas extracelulares produzidas pela biomassa fúngica. Esses resultados mostram que esse método de síntese por "química verde" é confiável e econômico, promissor em comparação com outros métodos, como os métodos físicos e químicos convencionais.

Palabras clave: nanopartículas de prata, biossíntese, fungos filamentosos, *Aspergillus terreus*

RESUMO

La nanotecnología es una disciplina en rápido crecimiento centrada en el estudio de la materia a escala nanométrica y el desarrollo de materiales con propiedades nuevas y mejoradas. Según la Organización Internacional de Normalización (ISO), las nanopartículas de plata (AgNPs) se definen como partículas sólidas de plata coloidal con un tamaño comprendido entre 1 y 100 nm. Estos materiales presentan propiedades funcionales únicas, lo que da lugar a diversas aplicaciones en los ámbitos de la medicina, la catálisis, los sensores ópticos y son potentes bactericidas. Existen diferentes métodos para la síntesis de nanopartículas metálicas. Las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en el centro de la investigación debido a su amplia gama de aplicaciones. Algunas investigaciones han utilizado sistemas biológicos para la síntesis de nanopartículas como alternativa a los métodos químicos y físicos, ya que algunos microorganismos producen materiales inorgánicos intra o extracelularmente. La síntesis por métodos biológicos ofrece algunas ventajas sobre otros métodos, entre ellas que se trata de un proceso sencillo, limpio, eficiente y de bajo coste; las nanopartículas sintetizadas por estos métodos suelen mostrar biocompatibilidad y biodegradabilidad. En la síntesis de AgNPs, se prefieren los hongos filamentosos a las bacterias

debido a que son fácilmente manipulables. En este estudio, *Aspergillus terreus* demostró su capacidad extracelular para biosintetizar AgNPs. Para ello, se inoculó este hongo en YES médium. Se mantuvieron en una estufa de cultivo durante 7 días a 28°C. Después se filtró la biomasa. Para la síntesis de AgNPs, se agregó 1mL de una solución de AgNO₃ 100mM a 99mL del filtrado del hongo con una concentración final de 1mM, y se agitó a 80 rpm y 30°C durante 6 días, muestreando cada 24hs. Las muestras se analizaron por espectrofotometría UV-visible (300-600nm). Se observó una banda plasmónica con un máximo de absorbancia a 406 nm, con una amplitud entre 400-430 nm, confirmando la obtención de nanopartículas de plata y el poder reductor de las enzimas extracelulares producidas por la biomasa fúngica. Estos resultados demuestran que este método de síntesis por "química verde" es fiable y económico, prometedor en comparación con otros métodos como los físicos y químicos convencionales.

Palavras-chave: nanopartículas de plata, biosíntesis, hongos filamentosos, *Aspergillus terreus*

ABSTRACT

Nanotechnology is a rapidly growing discipline focused on the study of matter at the nanometer scale and the development of materials with new and improved properties. According to the International Organization for Standardization (ISO), silver nanoparticles (AgNPs) are defined as solid colloidal silver particles with a size range from 1 to 100 nm. These materials exhibit unique functional properties, leading to diverse applications in the areas of medicine, catalysis, optical sensors, and are strong bactericides. There are different methods for the synthesis of metallic nanoparticles. Silver nanoparticles (AgNPs) have become the focus of research due to their wide range of applications. Some research has used biological systems for the synthesis of nanoparticles as an alternative to chemical and physical methods, because some microorganisms produce inorganic materials intra or extracellularly. There are some advantages that synthesis by biological methods offers over other methods, including the fact that it is a simple, clean, efficient and low-cost process; nanoparticles synthesized by these methods usually show biocompatibility and biodegradability. In AgNPs synthesis, filamentous fungi are preferred over bacteria due to they are easily manipulated. In this study, *Aspergillus terreus* showed its extracellular ability to biosynthesize AgNPs. For this purpose, this fungus was inoculated in YES médium. They were kept in a culture oven for 7 days at 28°C. Then the biomass was filtered. For the synthesis of AgNPs, 1mL of a 100mM AgNO₃ solution was added to 99mL of the fungal filtrate with a final concentration of 1mM, and it was agitated at 80 rpm and 30°C for 6 days, sampling every 24hs. Samples were analyzed by UV-visible spectrophotometry (300-600nm). A plasmon band with an absorbance maximum at 406 nm was observed, with an amplitude between 400-430 nm, confirming the obtaining of silver nanoparticles and the reducing power of the extracelular enzymes produced by fungal biomass. These results show that this method of synthesis by "green chemistry" is reliable and economical, promising compared to other methods such as conventional physical and chemical methods.

Keywords: silver nanoparticles, biosynthesis, filamentous fungi, *Aspergillus terreus*

1 INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es una ciencia relativamente nueva, consiste en el estudio, análisis, estructuración, formación, diseño y operación de materiales a escalas moleculares, a los cuales llamamos nanomateriales. La nanotecnología tiene múltiples aplicaciones en otras ciencias y

tecnologías, reúne distintas áreas científicas y se ve favorecida por los enfoques interdisciplinarios (Syed y Satish, 2012).

La producción de nanopartículas metálicas (NPs) es una de las áreas de mayor crecimiento dentro de la nanotecnología debido a que las nanopartículas de metales, de óxidos metálicos o de compuestos basados en metales muestran interesantes propiedades biológicas, ópticas, magnéticas, electrónicas, catalíticas, etc. Sin embargo, los problemas de contaminación derivados del empleo de productos químicos en los procesos de formación de nanopartículas han motivado la investigación en nuevas tecnologías tales como el empleo de microorganismos (Syed y Satish, 2012).

Mediante diversos métodos de síntesis, es posible obtener nanopartículas metálicas de distinta naturaleza. En particular, las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en foco de investigación debido a su amplia aplicación como antimicrobianos, en óptica, como catalizadores y en la producción de biomateriales (AbdelRahim et al, 2017).

Los métodos convencionales para la síntesis de nanopartículas están ligados a diversas implicaciones, como costos elevados, riesgos de toxicidad para la salud por contaminantes ambientales, etc. Con el reciente desarrollo e implementación de nuevas tecnologías, la nanorevolución se despliega, y el papel de los microorganismos en la “síntesis verde” de nanopartículas parece haber llamado inequívocamente la atención con vistas a reformular las novedosas estrategias para combatir la amenaza a la vida humana y los ecosistemas en épocas futuras (Mu y col, 2014).

Cada vez es más necesario desarrollar procesos y productos limpios, no tóxicos y respetuosos con el medio ambiente. Por esta razón, diversas investigaciones han recurrido al uso de sistemas biológicos para la síntesis de nanopartículas como alternativa a métodos químicos y físicos, ya que varios microorganismos son bien conocidos por producir materiales inorgánicos ya sea de manera intra o extracelular (Priyabrata et al, 2001).

El empleo de microorganismos y su habilidad para extraer y acumular diversos metales ha sido ampliamente documentado en la literatura y además de la capacidad para absorber metales. Los microorganismos también presentan la capacidad de formar nanopartículas metálicas de diversas formas y tamaños, con lo cual se abren nuevas posibilidades de desarrollo de nuevos productos o materiales (Syed y Satish, 2012).

En la síntesis de AgNPs, los hongos filamentosos son usados con mayor preferencia que las bacterias por su fácil manipulación (Rodrigues et al, 2012).

Por lo tanto, este trabajo plantea la vinculación entre la nanotecnología y la utilización de hongos como sistemas biológicos para obtener NPs metálicas en condiciones amigables con el medio ambiente.

En este estudio en particular, se biosintetizaron nanopartículas de plata (AgNPs), utilizando el filtrado de la biomasa viva del hongo *Aspergillus terreus*, e identificaron la presencia de las NPs mediante análisis de espectrofotometría UV-visible.

2 METODOLOGÍA

Obtención de biomasa fúngica

El hongo utilizado en este trabajo fue el *Aspergillus terreus*. Para la generación de biomasa, en primer lugar, se inoculó la cepa en medio caldo YES, se incubó en estufa de cultivo durante 7 días a una temperatura de 28°C. Luego se filtró la biomasa para utilizar el filtrado para la obtención de las AgNPs.

Biosíntesis de nanopartículas de plata

Para la síntesis de AgNPs, se añadió 1ml de una solución de AgNO₃ 100mM a 99mL del filtrado fúngico, obteniendo una concentración final de 1mM y se llevó a agitación a 80 rpm y 30°C durante 6 días, tomando muestras a las 24,48,72 y 144 horas.

Medición por espectrometría UV-visible

Para la determinación de la resonancia de plasmón superficial correspondiente a las AgNPs (400-450nm), las muestras se analizaron por espectrofotometría UV-visible mediante Espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 (Lab Wrench, Canadá). Para ello se tomaron 3ml de sobrenadante después de las 24,48,72 y 144 horas y se midió la absorbancia en la longitud de onda que va de 300 a 600 nm.

3 RESULTADOS Y CONCLUSIONES

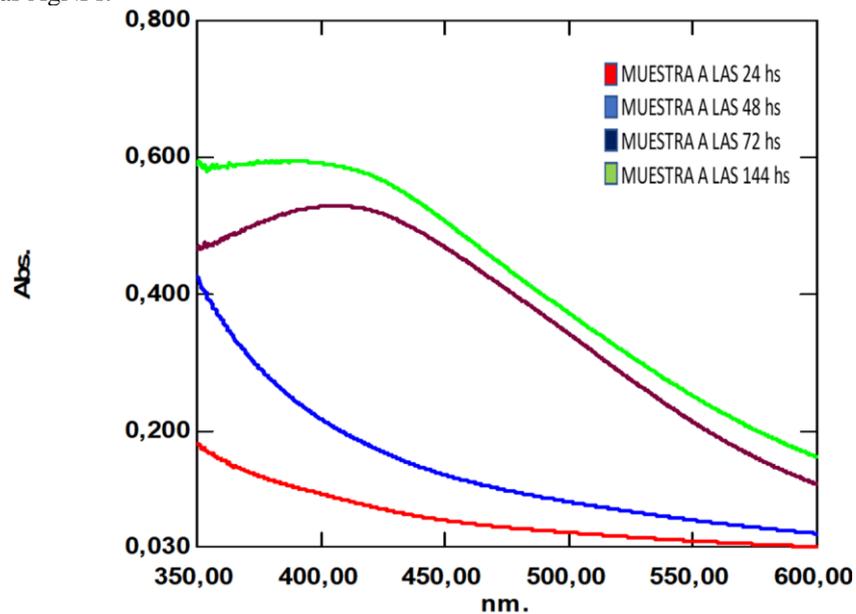
La disposición experimental para la obtención de las biomásas fúngicas se evidencia en la figura 1. A la izquierda se puede ver el desarrollo de la biomasa al cabo de los 7 días, a la derecha la obtención del filtrado.

Figura 1. izquierda: Generación de biomasa, derecha: obtención del filtrado para la obtención de las AgNPs.



A continuación, se presentan los resultados de la medición de la absorbancia por espectrometría UV-visible de las muestras líquidas tomadas a las 24,48,72 y 144 horas en la longitud de onda que va de 300 a 600 nm.

Figura 2. Análisis por espectrometría UV-visible donde se observa claramente la resonancia plasmón superficial correspondiente a las AgNPs.



En las muestras líquidas analizadas a los distintos tiempos, se pudo observar la resonancia de plasmón superficial bien definido con una amplitud entre los 400-450 nm característico de las nanopartículas de plata. En la muestra tomada a las 72 horas se observa una absorbancia máxima a los 406nm (figura 2), lo que confirma la obtención de las nanopartículas de plata y el poder reductor del filtrado de la biomasa fúngica utilizada.

4 CONCLUSIÓN

En este trabajo se ha demostrado la exitosa bio-reducción de iones de Ag^+ en medio acuoso por las enzimas extracelulares del hongo *Aspergillus terreus*. También se puede agregar que el ensayo fue efectivo en un corto período de tiempo, ya que a las 72 horas se pudo observar la resonancia de plasmón superficial característico de las NPs de plata.

En este enfoque de Química Verde mediada por la biomasa del hongo *Aspergillus terreus* para la biosíntesis de nanopartículas de plata, tiene muchas ventajas, entre las que se destacan: que es un proceso llevado a cabo bajo condiciones ecoamigables, la facilidad con la que se puede ampliar la escala de proceso, la viabilidad económica, como así también la posibilidad de obtener grandes cantidades de enzimas extracelulares mediante el crecimiento del micelio en un medio de cultivo de bajo costo.

REFERENCIAS

- AbdelRahim, K, Younis Mahmond, S., Mohamed Ali, A., Salmeen Almaary, K., Mustafa, A and Moussa, S. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. Saudi Journal of Biological Sciences 24, 208–216 (2017).
- Mu, Q., Jiang, G., Chen, L., Zhou, H., Fourches, D., Tropsha, A., Yan, B. (2014): Chemical Basis of Interactions Between Engineered Nanoparticles and Biological Systems. *Chem. Rev.*, 114, pags. 7740–7781.
- Salvadori, M., Rómulo, A., Oller Nascimento and C., Correa, B. Extra and Intracellular Synthesis of Nickel Oxide Nanoparticles Mediated by Dead Fungal Biomass. *PLoS ONE* 10(6): e0129799. (2015).
- Syed, B. and Satish, S. (2012): Endophytes: Toward a Vision in Synthesis of Nanoparticle for Future Therapeutic Agents. *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat.*, Vol. 1, No. 2, pags. 67-77.
- Priyabrata M., Ahmad, A. Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S. Khan, M., Parishcha, R., Ajaykumar, P., Alam, M., Kumar, R. and Sastry, M. *NANO LETTERS* Vol. 1, No. 10, 515-519 (2001).
- Rodrigues, A., Ping, L. Y., Marcato, P., Alves, O., Silva, M., Ruiz, R., Melo, I., Tasic, L. and De Souza, A. Biogenic antimicrobial silver nanoparticles produced by fungi. *Appl Microbiol Biotechnol* DOI 10.1007/s00253-012-4209-7 (2012).