نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیست و پنجم، شماره اول، ۱۳۹۷
http://jwfst.gau.ac.ir

اثرات ضد قارچی نانو کریستال سلولز و نانوکیتوزان بر روی اسکناس‌های رایج ایران

پیام مرادپور[۱]، عباس اخوان‌سپهی[۲] و *مهدی جنوبی[۱]

[۱]استادیار گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران،

[۲]دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۱/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: اسکناس‌ها، یکی از راه‌های انتقال بسیاری از میکروب‌ها به انسان بوده و موجبات بیماری در آن‌ها **می‌شوند**. هدف این تحقیق بررسی اثر ضد قارچی نانو ذرات کریستال سلولز با و بدون نانو الیاف کیتوزان بر روی کاهش آلودگی اسکناس‌های رایج ایران بود.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، نانو ذرات کریستال سلولز توسط فرآیند هیدرولیز اسیدی با واکنشگر H_2So_4 از لینتر پنبه تهیه شدند. قطر نانو کریستال‌های سلولز و نانو الیاف کیتوزان، توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مشخص شد. میزان آلودگی‌های قارچی اسکناس‌های ٤ مرکز نانوایی، قصابی، پایانه مسافربری و بیمارستان ارزیابی شدند. جهت بررسی فعالیت ضدقارچی، نانو کریستال سلولزی با و بدون نانو الیاف کیتوزان با غلظت‌های ۱، ۲، ٤ و ٦ درصد به‌صورت امولسیون پایدار ترکیب شده و به روش پوشش‌دهی غلطکی بر روی سطح کاغذهای اسکناس اعمال شدند.

یافته‌ها: تصاویر TEM نشان دادند، قطر نانوکریستال‌های سلولز ۵ تا ۲۰ نانومتر و قطر نانو الیاف کیتوزان ٤٥ نانومتر می‌باشد، که بیانگر این است، نانوکریستال سلولز با موفقیت از لینترپنبه تهیه شده است. نتایج نشان دادند عمده‌ترین قارچ‌های موجود در اسکناس‌های نانوایی و قصابی "آسپرژیلوس"، پایانه مسافربری "آسپرژیلوس نایژر" و بیمارستان "پنی‌سیلیوم" بود. بر طبق نتایج به‌دست آمده، اسکناس‌های پوشش داده شده توسط نانو ذرات کریستال سلولزی با غلظت ۳ درصد، اثر ضد قارچی روی قارچ‌های پنی سیلیوم موجود در سطح اسکناس بیمارستان نداشت. نتایج نشان دادند، افزودن نانو الیاف کیتوزان با غلظت‌های ۱، ۲ و ٤ درصد هیچ‌گونه اثر ضد قارچی روی قارچ‌های موجود در سطح اسکناس‌های نانوایی، قصابی و پایانه مسافربری نداشته است. با افزودن ٦ درصد نانو الیاف کیتوزان به نانو ذرات کریستال سلولزی فعالیت ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای بر روی اسکناس‌های پوشش داده شده مشاهده گردید. نتایج نشان داد، گرچه نانو کریستال‌های سلولز به تنهایی اثر ضد قارچی نشان ندادند، ولی نانوکریستال‌ها توانایی بهبود پایداری و چسبندگی نانو الیاف کیتوزان بر سطح اسکناس‌ها را دارا می‌باشند.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه‌گیری کرد، که نانو مواد استفاده در این تحقیق، امکان دستیابی به راه حل جدیدی جهت کاهش آلودگی سطح اسکناس‌های موجود را فراهم می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: نانو کریستال سلولز، نانوالیاف کیتوزان، ضد قارچ، کاغذ اسکناس

*مسئول مکاتبه: Mehdi.jonoobi@ut.ac.ir

مقدمه

اگر چه امروز با ورود انواع کارت‌های اعتباری به سیستم تجارت و داد و ستد در اکثر کشورها به‌خصوص کشورهای پیشرفته، میزان استفاده از اسکناس تا حدودی کاهش یافته است، اما همچنان اسکناس و سکه در فروشگاه‌های مختلف که به‌طور معمول داد و ستد با ارزش کم انجام می‌پذیرد، بیشترین کاربرد را دارد. به‌طور کلی اسکناس در طی دوره عمر خود از محیط‌های مختلف و دست‌های مختلف آن هم با فراوانی بسیار زیاد عبور می‌کند. این ویژگی می تواند بهداشتی بودن آن را مورد تردید قرار دهد. با توجه به توان بالقوه پول در نگه‌داری و انتقال عوامل بیماری‌زا (انواع باکتری و قارچ) به انسان، در جوامع و فرهنگ‌های مختلف، همواره پول به‌عنوان یک شیء آلوده قلمداد می‌شود (۹، ۱٤، ۲٤ و ۲۸). در بسیاری از کشورها باور عمومی بر این است که استفاده همزمان پول و غذا می‌تواند در ایجاد بیماری‌های مختلف مؤثر باشد (۱، ۱۰، ۱۷ و ۲۵). میزان و نوع آلودگی پول دو مساله مورد توجه و نامعلوم هر منطقه می‌باشد. با توجه به این‌که برخی از قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا قادرند با تعداد کم در انسان بیماری و عوارض شدیدی ایجاد کنند بررسی وضعیت بهداشتی پول رایج هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. اقدامات زیادی از جمله استفاده از مواد ضد باکتری به‌صورت افزودنی در ساختار کاغذ و یا به‌صورت مواد افزودنی در ساختار پوشش کاغذ برای از بین بردن آلودگی‌های میکروبی کاغذ صورت گرفته است (٤). استفاده از فن‌آوری نانو در ساخت نانو ذرات و پوشش‌های ضد میکروبی روی کاغذ، راهکار دیگری در این زمینه می‌باشد.

نانو ذرات (ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر قطر حداقل در یک بعد) نسبت به ذرات بزرگ تر به‌دلیل نسبت بالای سطح به حجم، بسیار فعال تر بوده و از خواص بازدارندگی، مکانیکی، حرارتی، فیزیکی، پایداری طولانی مدت، زیستی، شیمیایی و میکروبی بالاتری برخوردار می‌باشند (۲۷). از این ذرات می‌توان فلزات، اکسید فلزات، بسترهای ضد میکروبی طبیعی، نانو مواد بر پایه کربن و نانو امولسیون‌های مبتنی بر ماده فعال سطحی[1] را نام برد. علاوه‌بر ویژگی‌های اشاره در بالا، در حال حاضر استفاده از نانو ذرات به‌دلیل سمیت پایین، به‌عنوان یک عامل ضداکسیدان و ضد میکروب برای برخی از مواد فعال به‌کار گرفته شده و در فرمولاسیون‌های مواد ضد میکروبی جدید در مقابل میکروارگانیسم‌های گرم منفی (اشرشیاکلی) و میکروارگانیسم‌های گرم مثبت (استافیلوکوک‌های طلایی) مورد توجه بسیاری قرارگرفته است (۵ و ٦). نانو ذرات از مسیرهای بیولوژیکی متعددی منجر به تخریب گونه‌های میکروبی می‌شوند و به‌منظور توسعه مقاومت در مقابل این ذرات بایستی جهش‌های همزمان و متعددی رخ دهد. مهمترین مکانیسم‌های ضدمیکروبی نانو ذرات از طریق تولید پوشش‌های خود شوینده[2] گونه‌های فعال اکسیژن، تخریب غشاء و دیواره سلول (باکتریایی و قارچی)، قطع انتقال انرژی، مهار فعالیت آنزیمی و مهار سنتز DNA می‌باشند (۱۹). نانو ذراتی از قبیل نقره، دی اکسیدتیتانیوم، اکسید روی در این زمینه استفاده شده است، اما به‌دلیل خطر احتمالی تأثیرات مضر نانو ذراتی مانند نانو ذرات نقره بر بدن انسان، استفاده آن محدود شده است (۲). در بین پلیمرهای زیستی، کیتوزان به‌دلیل خواص ذاتی ضدباکتری/ ضد قارچی و همچنین قابلیت تشکیل فیلم به منزله یک ماده ضدباکتری زیست تخریب‌پذیر ایده‌آل شناخته شده است (۳). کیتوزان به روش استیل‌زدایی از کیتین به‌دست آمده که پس از سلولز فراوان‌ترین پلی‌ساکارید موجود در طبیعت می‌باشد

1. Surfactant
2. Photocatalyctic

(۳). از جمله خصوصیات بارز آن‌ها می‌توان به سازگاری زیستی بالا، زیست تخریب‌پذیری قابل قبول در کنار سمیت پایین، همچنین خواص آنتی باکتریال و ضد حساسیت آن‌ها اشاره کرد (۱۳، ۱۵، ۲۲ و ۲٦). در سال‌های اخیر، کیتوزان به‌دلیل ساختار مولکولی بسیار مشابه با سلولز به‌شدت توسط صنعت کاغذسازی مورد توجه واقع شده است (۲۰ و ۲۱). این ماده علاوه‌بر افزایش مقاومت‌های مختلف کاغذ، به‌دلیل داشتن ویژگی ضدباکتریایی قوی علیه باکتری‌های گرم منفی در تولید کاغذهای ضدباکتری جایگاه خاصی پیدا کرده است (۱۸). کیتوزان به‌دلیل وجود گروه‌های آمینی با بار مثبت دارای فعالیت ضدمیکروبی می‌باشد. این گروه‌های آمینی با غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها که دارای بار منفی است واکنش می‌دهند و به دنبال آن نشت اجزاء پروتئینی و درون سلولی میکروارگانیسم اتفاق می‌افتد (۸). لی و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که این ماده در ترکیب با پلیمرهای دیگر و به منزله پوشش روی کاغذ، سبب افزایش خواص مانع شوندگی محصول نهایی می‌شود (۲۳). هلاندر و همکاران (۲۰۰۱) اثر ضدمیکروبی کیتوزان را به بار مثبت گروه‌های آمینی موجود در کربن دوم (C_2) در حلقه گلوکزامین و در pH کمتر از ٦/۳ نسبت دادند. این بار مثبت به کیتوزان یک ساختار پلی کاتیونی می‌بخشد که با ترکیبات بار منفی دیواره باکتری‌های گرم منفی واکنش می‌دهد. به همین، اثر کیتوزان بر باکتری‌های گرم منفی بیشتر است (۱۲). چانگ و همکاران (۲۰۰۵)، به این نکته پی‌بردند که کیتوزان فقط قدرت از بین بردن باکتری‌های گرم منفی را دارد و روی باکتریایی گرم مثبت کم‌اثر یا به‌طور کامل بی‌اثر است. یکی از مکانیسم‌های ضد میکروبی نانو الیاف کیتوزان، اتصال به سطح باکتری می‌باشد که منجر به آگلوتیناسیون[1]، افزایش نفوذپذیری دیواره میکروب و سرانجام تراوش ترکیبات داخل سلول به بیرون می‌شود. علاوه‌بر این، نانو الیاف کیتوزان منجر به کیلیت فلزات با مقادیر کم می‌شود و سبب مهار شدن فعالیت آنزیم‌ها و رشد میکروب‌ها می‌گردد (۷). در این تحقیق، با توجه به خاصیت ضد میکروبی نانوالیاف کیتوزان در پوشش‌دهی ساختار کاغذ اسکناس از نانو کریستال سلولز برای تثبیت بهتر و افزایش قابل توجهی در خاصیت ضد میکروبی آن استفاده شد، و در نهایت خواص ضدمیکروبی اسکناس‌ها بررسی شدند.

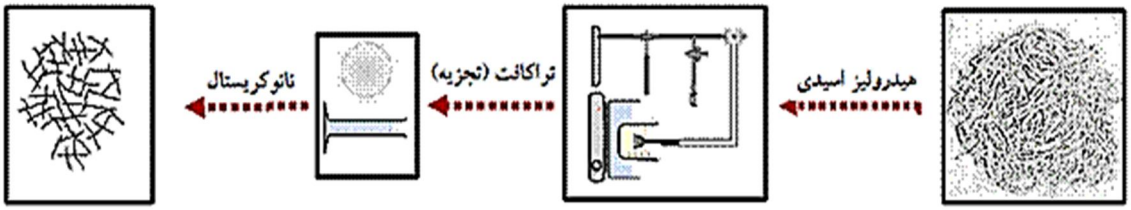
مواد و روش‌ها

مواد موردنیاز در این تحقیق شامل لینتر پنبه از شرکت لینتر پاک بهشهر، اسید سولفوریک (H_2So_4) از شرکت مرک آلمان، نانو الیاف کیتوزان با وزن مولکولی متوسط ۷۰۰۰۰ دالتون، pH خنثی ودرجه دی استیله شدن ۸۵ درصد از شرکت نانو نوین پلیمر، اسکناس‌های ۱۰۰۰۰ریالی بدون گردش از بانک مرکزی تهیه شده و به تعداد ٦۰ قطعه اسکناس در گردش از محیط های مختلف شامل نانوایی، قصابی، پایانه مسافربری (تاکسی) و بیمارستان جمع‌آوری شدند.

تهیه نانو کریستال سلولز با استفاده از هیدرولیز اسیدی: مکانیسم هیدرولیز اسیدی طی سه مرحله زیر بر اساس گزارشات حقیقی و همکاران (۲۰۱۷) انجام شده و در نهایت سوسپانسیونی از سلولز نانو کریستالی تولید گردید (۱۱). پس از اختلاط لینتر پنبه با آب دیونیزه، سوسپانسیون به‌دست آمده در دمای حدود ۷۰ درجه سانتی‌گراد با اسید سولفوریک ٦٤ درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه مورد واکنش قرار گرفت. در این تحقیق نسبت وزنی اسید به الیاف ۸/۷۵ در نظر

1. Agglutination

گرفته شد. به دنبال هیدرولیز اسیدی، برای توقف واکنش، سوسپانسیون حاصل با آب مقطر سرد رقیق‌سازی شده و برای حذف آب و اسید اضافی به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ (HERMLE Z366) شد. مرحله سانتریفیوژ تا زمان کدر شدن مایع رویی ادامه یافت (pH=۵). سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و خالص‌سازی آن با استفاده از کیسه‌های دیالیز تا حصول pH خنثی به‌مدت تقریبا ۵ روز انجام شد. شکل ۱ مراحل تولید نانو کریستال سلولز را نشان می‌دهد.



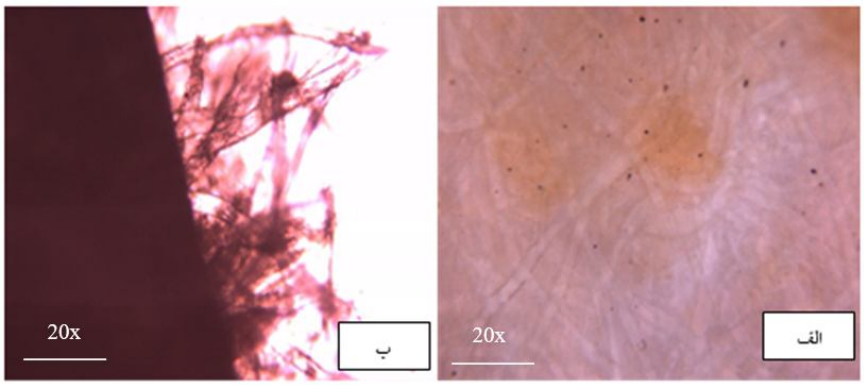
شکل ۱- طرح شماتیکی از فرایند تولید نانو کریستال سلولز (۱۶)

Figure 1. Schematic design of cellulose nanocrystal production process (16).

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM[1]): میانگین قطر نانو کریستال سلولز و نانو الیاف کیتوزان، توسط میکروسکوپ TEM ارزیابی شدند. میکروسکوپ الکترونی عبوری با استفاده از ریختن قطره‌ای رقیق شده (۰/۰۱ درصد وزنی در آب) از محلول نانوکریستال سلولز به داخل شبکه مسی با پوشش کربن و مش ۳۰۰ و با شدت ولتاژ ۲۰۰ کیلوولت انجام شد.

تهیه امولسیون نانو ذرات کریستال سلولز به‌همراه نانو الیاف کیتوزان و پوشش‌دهی سطح اسکناس‌ها با آن: برای تهیه امولسیون نانو ذرات کریستال سلولز و نانو الیاف کیتوزان، اختلاط نانو ذرات کریستال سلولز با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد با نانو الیاف کیتوزان با غلظت‌های ۱، ۲ و ٤ درصد و همچنین غلظت بالای هر دو ماده (۳ درصد نانو ذرات کریستال سلولز و ٦ درصد نانو الیاف کیتوزان) به‌وسیله همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه طی مدت زمان ۳۰ دقیقه انجام شد. پوشش‌دهی سطح کاغذ اسکناس‌ها با نانو ذرات کریستال سلولز به تنهایی و به همراه نانو الیاف کیتوزان به‌وسیله دستگاه پوشش‌دهی غلطکی دانشگاه تهران (گروه صنایع چوب و کاغذ) با ضخامت ۰/۰۱۵ میلی‌متر به‌صورت دو مرحله رو و پشت انجام شد. در پایان هر مرحله اسکناس‌ها به دستگاه خشک کن هوای آزاد منتقل شده و در آن‌جا عملیات خشک‌کردن انجام شد. شکل ۲ تصویر میکروسکوپ نوری از سطح اسکناس بدون پوشش (الف) و همچنین سطح دارای امولسیون نانو کریستال سلولز و نانو الیاف کیتوزان (ب) را نشان می‌دهد.

1. Transmission Electron Microscopy



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ نوری از الف) سطح اسکناس بدون پوشش، ب) سطح اسکناس حاوی امولسیون نانو کریستال سلولز با نانو الیاف کیتوزان.

Figure 2. Optical microscopic images of a) banknote surface without coating, b) banknote surface coated with cellulose nanocrystal and chitosan nanofiber.

تهیه محیط کشت سابرودکستروزآگار: در این تحقیق از محیط‌های کشت سابرودکستروزآگار برای قارچ‌های ساپروفیت (قارچ‌های بیماری‌زای فرصت طلب) استفاده شد. جهت شناسایی قارچ‌ها، ٦٠ عدد اسکناس از محیط‌های مختلف شامل: نانوایی، قصابی، بیمارستان و پایانه تاکسی را در کیسه‌های پلاستیکی مجزا جمع‌آوری و به سرعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل شدند. سپس به‌وسیله سوآپ استریل آغشته به سرم فیزیولوژی استریل (۸/۵ گرم NaCl در ۱ لیتر آب مقطر) به‌طور کامل بر پشت و روی هر یک از اسکناس‌ها کشیده شد.

کشت سطحی بر روی محیط‌های کشت مجزای سابرودکستروزآگار که بر اساس دستور کمپانی سازنده (مرک) تهیه شده بود، انجام شد. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها مقدار ١٦ گرم در لیتر کلرامفنیکل به محیط کشت اضافه شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل گردیده و پس از خنک شدن در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد درون پلیت‌های استریل ریخته تا محیط بسته (جامد) شود. همه پلیت‌های تلقیح شده، در انکوباتور ۲۹ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری شد. به‌دلیل زمان متفاوت رشد برای قارچ‌های مختلف، پس از مدت ٤٨ ساعت، ۱ هفته و در نهایت ۱ ماه به شناسایی قارچ‌های رشد یافته پرداخته شد. رنگ‌آمیزی کلنی‌های رشد یافته بر روی پلیت‌های متعلق به هر اسکناس به‌وسیله محلول لاکتو فنل کتون بلو انجام شده و سپس توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ٤٠٠ مشاهده و شناسایی شدند. پس از شناسایی، اقدام به جداسازی و کشت مجدد هر یک از کلنی‌ها در محیط‌های کشت مجزا شده و در انکوباتور ۲۹ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری و نگهداری شدند.

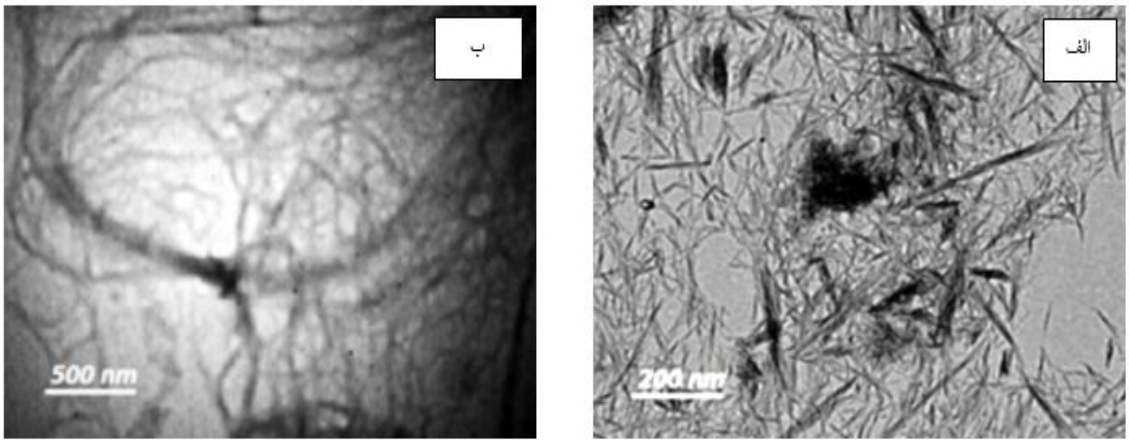
آزمایش تعیین حساسیت ضد قارچی: به‌منظور انجام آزمایش تعیین حساسیت ضد قارچی تیمارهای مختلف، دیسک‌های بلانک استریل و نیز دیسک‌های کلوتریمازول (۱۰ میلی‌گرم) از شرکت روبین طب گستر خریداری شدند. نمونه تیمارهای مختلف به‌طور جداگانه در پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده شده و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار ۱۵ پوند به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل شده و خنک شدند. پس از ۱۰ دقیقه آغشته‌سازی کامل دیسک‌های بلانک استریل با تیمارهای تحقیق، دیسک‌ها را با پنس استریل از داخل پلیت‌ها خارج و به پلیت‌های استریل دیگر به طور جداگانه انتقال داده شدند. پس از ۳ ساعت در

زیر هود بیولوژیک و در کنار شعله پشت و روی دیسک‌ها به‌طور کامل خشک شده و در شرایط استریل برای استفاده در آزمایش تعیین حساسیت ضد قارچی نگهداری شد. سپس از کلنی‌های قارچی جدا شده و برای خالص‌سازی و تهیه کشت تازه، مجدد بر روی محیط‌های کشت تهیه شده، کشت سطحی داده و در انکوباتور ۲۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ هفته گرم خانه گذاری شد. سپس از هر یک از کلنی‌ها در لوله‌های استریل به وسیله سرم فیزیولوژی استریل (۸/۵ گرم NaCl در ۱ لیتر آب مقطر)، و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر و عبور ۹۰ درصد نور که تقریبا برابر رقت ۱۰۶ اسپور از قارچ‌ها می‌باشد، رقت‌های موردنظر تهیه شد.

پس از انجام مراحل فوق برای تک تک قارچ‌ها، محیط‌های کشت در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور به‌مدت ۳۶ ساعت خانه‌گذاری شده، سپس به بررسی هاله‌های عدم رشد غلظت‌های مختلف نانو ذرات کریستال سلولز و نیز ترکیب نانو ذرات کریستال سلولز به‌همراه نانو الیاف کیتوزان در غلظت‌های یاد شده پرداخته شد.

نتایج و بحث

مشخصات نانو کریستال تهیه شده: شکل ۳ تصاویر حاصله از میکروسکوپ TEM را برای نانو ذرات کریستال سلولز و نانو الیاف کیتوزان نشان می‌دهد. تصاویر TEM نشان دادند، که نانوکریستال‌های میله مانند با قطری در محدوده ۵ تا ۲۰ و طولی در ۲۰ تا ۵۰ نانومتر بیانگر این است که نانوکریستال سلولز با موفقیت از لینتر پنبه تهیه شده است. از طرفی نتایج حاصله از میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داد که نانو الیاف کیتوزان دارای میانگین قطری ٤٥ نانومتر می‌باشند.



شکل ۳- تصویر میکروسکوپی TEM الف) نانو ذرات کریستال سلولز، ب) نانو الیاف کیتوزان.

Figure 3. TEM images a) cellulose nanocrystals, b) chitosan nanofiber.

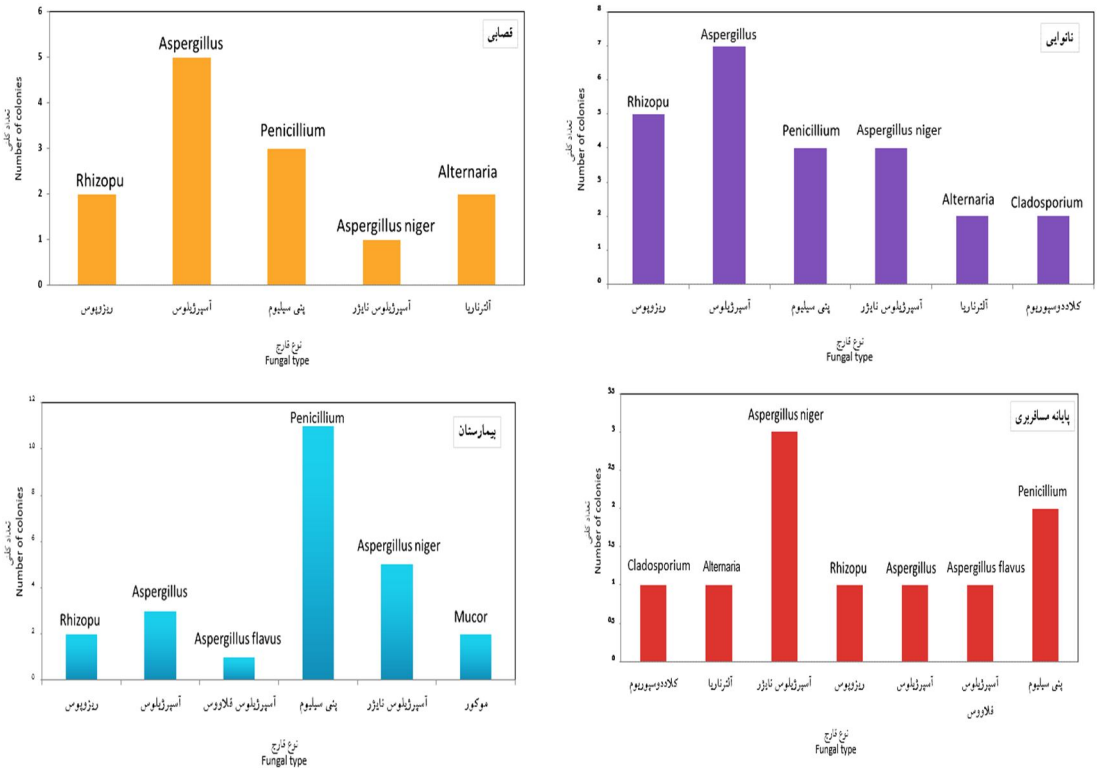
قارچ‌های شناسایی شده بروی روی اسکناس‌های تهیه شده از مراکز مختلف: در شکل ٤ قارچ‌های جدا شده از سطح اسکناس‌های مراکز مختلف بر روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار ارائه شده است. نتایج شناسایی قارچ‌های موجود در سطح اسکناس‌های مراکز (نانوایی، قصابی، پایانه مسافربری، بیمارستان) نشان داد که قارچ‌های آسپرژیلوس[1]،

1. Aspergillus

آسپرژیلوس نایژر[1]، آسپرژیلوس فلاووس[2]، ریزوپوس[3]، موکور[4]، آلترناریا[5]، کلودوسپوریوم[6] و پنی سیلیوم[7] در سطح اسکناس‌ها موجود بودند. نتایج نشان دادند قارچ‌های موجود در سطح اسکناس‌های نانوایی ریزوبوس، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، آسپرزیلوس نایژر، آلترناریا و کلاددوسیوریوم بودند. همان‌طور که مشاهده می‌شود تعداد قارچ‌های آسپرژیلوس بیشتر از سایر قارچ‌ها بود. نوع قارچ‌های شناسایی شده از اسکناس قصابی ریزوبوس، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، آسپرزیلوس نایژرو آلترناریا بودند. میزان قارچ‌های آسپرژیلوس بیشتر از سایر قارچ‌ها بود. نتایج نشان دادند قارچ موجود در سطح اسکناس مسافربری ریزوبوس، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، آسپرزیلوس نایژر، آلترناریا و کلادوسپوریوم بودند. بیشترین میزان قارچ موجود روی سطح این اسکناس‌ها، آلترناریا بودند. قارچ موجود در سطح اسکناس بیمارستان ریزوبوس، آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، آسپرزیلوس نایژر، آسپرزیلوس فلاووس، پنی سیلیوم و موکور بودند. بیشترین میزان قارچ موجود روی سطح این اسکناس‌ها، پنی‌سیلیوم بودند.

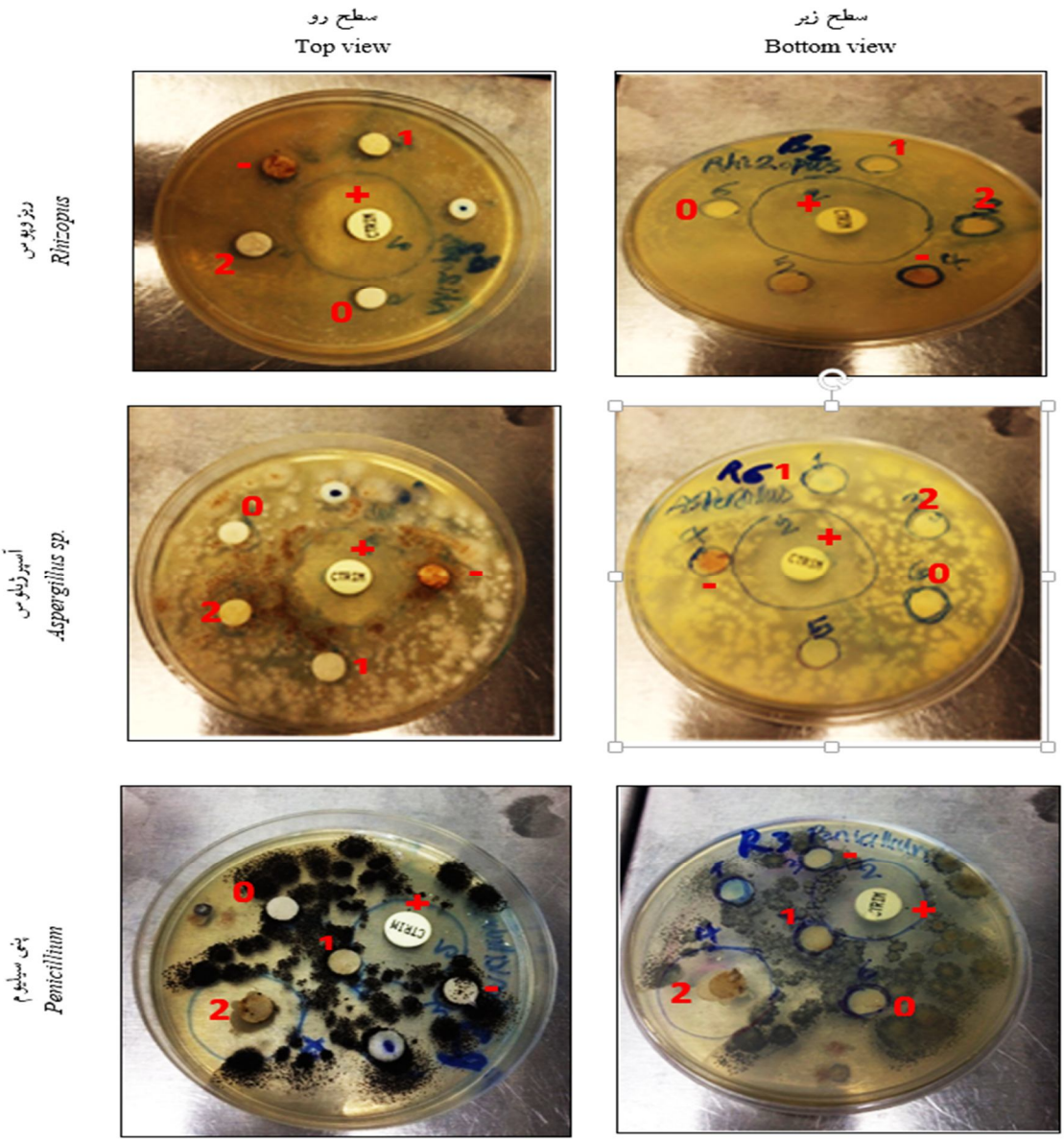
آزمون ضد قارچی اسکناس‌های پوشش داده شده: نتایج آزمون ضد قارچی آمده در شکل (۵) آمده است. بر طبق مشاهدات و بررسی‌های انجام شده، اسکناس‌های بیمارستان پوشش داده شده با نانو کریستال سلولز ۳ درصد فعالیت منفی در برابر قارچ‌های ریزوپوس داشت و هیچ‌گونه هاله عدم رشدی مشاهده نشد. بررسی‌های فعالیت ضد قارچی اسکناس‌های نانوایی پوشش داده شده با نانو ذرات کریستال سلولز ۰/۵ درصد و نانو الیاف کیتوزان ۱ درصد نشان داد افزودن ۱ درصد نانو الیاف کیتوزان تأثیر مثبتی بر عدم رشد قارچ‌های پنی‌سیلیوم نداشت. همچنین نتایج نشان داد پوشش‌دهی اسکناس‌های مسافربری و قصابی با نانو ذرات کریستال سلولز ۱ و ۲ درصد نانو الیاف کیتوزان ۲ و ٤ درصد فعالیت ضد قارچی در برابر قارچ آسپرژیلوس نداشته است. در حالی‌که اسکناس‌های پوشش داده شده با نانوکریستال ۳ درصد و نانوکیتوزان ٦ درصد در برابر قارچ‌های پنی‌سیلیوم فعالیت ضدقارچی نشان دادند. همان‌طور که ذکر شد، با افزودن نانو الیاف کیتوزان با غلظت (۱، ۲ و ٤ درصد) هیچ‌گونه هاله عدم رشدی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که با افزودن کیتوزان خاصیت ضد باکتری کاغذهای بسته‌بندی شده افزایش یافت. اما با افزودن نانو الیاف کیتوزان با غلظت ٦ درصد خاصیت ضد قارچی نانو ذرات کریستال سلولز بهبود یافت. به‌طور کلی می‌توان گفت، نانو ذرات کریستال سلولز در غلظت‌های مختلف، فاقد هاله عدم رشد (فاقد خاصیت ضد قارچی) می‌باشد و ترکیب نانو ذرات کریستال سلولز به همراه نانو الیاف کیتوزان نیز تنها در قارچ‌های جنس پنی سیلیوم در بالاترین غلظت از نانو ذرات کریستال سلولز و نانو الیاف کیتوزان هاله عدم رشدی به شعاع ۳ میلی‌متر مشاهده شد. در بقیه موارد تنها در سطح تماس دیسک‌های بلانک پوشش داده شده مربوطه از رشد قارچ جلوگیری به عمل آمده بود. بر خلاف دیسک‌های بلانک کنترل منفی که در سطح تماس نیز قارچ‌ها رشد یافته بودند اما هاله عدم رشد که در میکروبیولوژی به معنای خاصیت ضد قارچی می‌باشد تنها در همان یک مورد مشاهده شد.

1. Aspergillus niger
2. Aspergillus flavus
3. Rhizopus
4. Mucor
5. Alternaria
6. Cladosporium
7. Penicillium



شکل ٤- قارچ‌های شناسایی شده از سطوح اسکناس‌های مراکز مختلف.

Figure 4. Identified fungal from the surfaces of banknotes of different parts.



شکل ۵- دیسک‌های بلانک (کنترل منفی) و دیسک‌های کلوتریمازول (کنترل مثبت) از نانو ذرات کریستال سلولز به‌همراه نانو الیاف کیتوزان. عدد (۰): دیسک محتوی ۳ درصد نانوکریستال سلولوز بدون نانوالیاف کیتوزان، عدد (۱): دیسک محتوی ۳ درصد نانوکریستال سلولوز به‌همراه ۱ درصد نانوالیاف کیتوزان، عدد (۲): دیسک محتوی ۳ درصد نانوکریستال سلولوز و ٤ درصد نانوالیاف کیتوزان.

Figure 5. Blank disks used as control (-) and the disks with Clotrimazole used as control (+). Number (0): The disks coated with cellulose nanocrystals 3 wt% without chitosan nanofiber, Number (1): The disks coated with cellulose nanocrystals 3 wt% and chitosan nanofiber 1 %, number (2): the disks coated with cellulose nanocrystals 3 wt% and chitosan nanofibers 4 %.

نتیجه‌گیری

در تحقیق فوق، نمونه قارچ‌های موجود بر رروی سطح کاغذهای اسکناس (به‌دست آمده از نانوایی، قصابی، پایانه مسافربری و بیمارستان) شناسایی شدند. به گونه‌ای که نمونه قارچ‌های موجود نشان از طیف مختلفی از قارچ‌ها شامل گونه‌های آسپرژیلوس، گونه ریزوپوس، پنی سیلیوم، کلودوسپوریوم و همچنین موکور بود. نتایج نشان داد که اضافه کردن نانو کریستال سلولز به‌صورت لایه پوشش‌دهنده سطح اسکناس به تنهایی اثر ضد قارچی نداشته، اما

مخلوطی از محلول‌های شامل نانو کریستال سلولز به‌همراه نانو الیاف کیتوزان فعالیت نمونه‌های قارچی موجود بر روی سطح اسکناس‌ها را محدود می‌کند. از سوی دیگر، اگر چه اضافه نمودن نانو کریستال سلولز نشان داد که این ذرات به تنهایی نقشی در کاهش فعالیت قارچ‌ها ندارند، ولی هنگام اضافه نمودن به نانو الیاف کیتوزان می‌توانند نقش ضد قارچی نانو الیاف را بهبود بخشند. در نتیجه می‌توان گفت که محلول‌های حاوی نانو کریستال سلولز به‌همراه نانو الیاف کیتوزان زمانی که به‌صورت ترکیبی استفاده می‌شود توانایی نشان دادن اثرات ضد قارچی را دارا می‌باشد. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته می‌توان این محلول ترکیبی ضد قارچی را جهت استفاده در صنایع کاغذ، غذایی، بسته‌بندی و بهداشتی پیشنهاد داد.

منابع

1. Abrams, B.L., and Waterman, N.G. 1972. Dirty money. J Am Med Associ. 219: 1202-1203.
2. Ahmed, M., AlSalhi, M.S., and Siddiqui, M. 2010. Silver nanoparticle applications and human health. Clinica chimica acta. 411: 23.1841-1848.
3. Aider, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT-*Food Science and Technology*. 43: 6.837-842.
4. Amini, E., Azadfallah, M., Layeghi, M., and Talaei-Hassanloui, R. 2016. Silver-nanoparticle-impregnated cellulose nanofiber coating for packaging paper. Cellulose. 23: 557–570.
5. Applerot, G., Lipovsky, A., Dror, R., Perkas, N., Nitzan, Y., and Lubart, R. 2009. Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS mediated cell injury. Adv Funct Mater. 19: 6.1-11.
6. Chen, C.Y., and Chiang, C.L. 2008. Preparation of cotton fibers with antibacterial silver nanoparticles. Mater Lett. 62: 21-22.3607-9.
7. Chung, Y.C., SU, Y.P., Chen, C.C., JIA, G., Wang, H.I., WU, J.C.G., and AND LIN, J.G. 2004. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. Acta Pharmacologica Sinica Chinese Pharmacological Society Shanghai Institute of Materia Medica Chinese Academy of Sciences. 25: 7. 932-936.
8. Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K., and Dutta, J. 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry*. 114: 4. 1173-1182.
9. Gadsby, P. 1998. Filthy lucre: bugs, drugs and grime hitch a ride on the back of every buck. Discover. 19: 76-84.
10. Goktas, P., and Oktay, G. 1992. Bacteriological examination of paper money. Microbiol Bull. 26: 344-348.
11. Haghighi-Poshtiri, A., Jonoobi, M., and Karimi, A.N. 2017. Preparation of cellulose nanocrystals from α-cellulose and optimization of its isolation. Iranian Journal of Wood and Paper Science Research, 32: 2.300-310.
12. Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., and Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. International Journal of Food Microbiology. 71: 2–3. 235-244.
13. Hirano, S. 1999. Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. Polymer International. 48: 8.732–734.
14. Honua, M.H.M. 2017. The hygienic and microbial status of Sudanese banknote. Khartoum state, Sudan. International Journal of Community Medicine and Public Health. 4: 4.923-927.
15. Jayakumar, R., New, N., Tokura, S., and Tamura, H. 2007. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. International Journal of Biological Macromolecules. 4: 3.175–181.

16.Jonoobi, M., Rahamin, H., and Rahimian, F. 2015. Cellulose nanocrystal properties and their applications. Iranian Journal of Wood and Paper Industries, 6: 1.167-192. (In Persian)
17.Khin, N.O., Phyu, P.W., and Aung, M.H. 1989. Contamination of currency notes with enteric bacterial pathogens. J. Diarrh Dis Res., 7: 92-94.
18.Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., and Desobry, S. 2010. Biopolymer coatings on paper packaging materials. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 9: 1.82-91.
19.Kong, M., Chen, X., and Park, H.J. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. International journal of food microbiology. 144: 1. 51-63.
20.Kumar, M.N.V.R., Muzarelli, R.A.A., Muzarelli, C., Sashiwa, H., and Domb, A.J. 2004. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. Chemical Reviews., 10: 12.6017-6084.
21.Kumar, A., Negi, Y.S., Choudhary, V., and Bhardwaj, N.K. 2014.Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. Journal of Materials Physics and Chemistry. 2: 1. 1-8.
22.Kurita, K. 2006. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. Marine Biotechnology., 8: 3.203–26.
23.Lee, C.H., An, D.S., Park, H.J., Nad Lee, D.S. 2003. Wide-spectrum antimicrobial packaging materials incorporating nisin and chitosan in the coating. Packaging Technology and Science, 2003. 16: 3. 99-106.
24.Pachter, B.R., Kozer, L., Pachter, S.A., and Weiner, M. 1997. Dirty money: A bacteriological investigation of US currency. Infect Med. 14: 574.
25.Pope, T.M., Ender, P.T., Woelk, W.K., Koroscil, M.A., and Koroscil, T.M. 2002. Bacteriological contamination of paper currency. South Med J. 95: 1408-1410.
26.Rinaudo, M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. Polymer International. 57: 3.397-430.
27.Roselli, M., Finamore, A., Garaguso, I., Britti, M.S., and Mengheri, E. 2003. Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by Escherichia coli. J Nutr. 133: 1240.77-82.
28.Uneke, C.J., and Ogbu, O. 2007. Potential for parasite and bacterial transmission by paper currency in Nigeria. J Environ Health. 69: 9.54-60.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 25 (1), 2018
http://jwfst.gau.ac.ir

Antifungal properties of cellulose nanocrystals and chitosan nanofiber on the current banknotes in Iran

P. Moradpour[1], A. Akhavan Sepahi[2], *M. Jonoobi[1]
[1]Assistant Prof., Dept., of Wood and Paper Science and Technology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, [2]Associate Prof., Dept., of Microbiology, Faculty of Life Sciences, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran
Received: 01/22/2018; Accepted: 06/01/2018

Abstract
Background and objectives: The banknote is one of the most important ways to transfer of the many of microbes to human and also human diseases. In this study, the anti-fungal effect of cellulose nanocrystal alone and with chitosan nanofiber on the common paper banknotes have been examined.
Materials and Methods: Cellulose nanocrystals have been prepared using acid hydrolysis by H_2SO_4 from cotton linter. The diameter of the prepared cellulose nanocrystals and chitosan nanofibers was characterized by transmission electron microscopy (TEM). Firstly, the fungal contamination of the banknotes from four centers (bakery, butchery, passenger terminal and hospital) was evaluated. Then, in order to consider the antifungal activity of cellulose nanocrystals and chitosan nanofiber compound, stable emulsions with 1%, 2%, 4% and 6% concentrations have been prepared and then coated to the surface of banknotes using rolling coating method.
Results: According to the TEM images, the diameter for cellulose nanocrystals and chitosan nanofiber was 5-20 nm and 45 nm, respectively. It can be concluded that the cellulose nanocrystals have been successfully prepared from cotton linter. The results showed most fungal spices found in banknotes from bakery, butchery, passenger terminal and hospital) are *Aspergillus, Aspergillus niger* and *Penicillium* respectively. Anti-fungal examination of paper banknotes covered with cellulose nanocrystals at concentration of 3% shows no significant anti-fungal activity on *Penicillium* fungi on paper banknotes from the hospital. In addition, the results also show that adding chitosan nanofiber at 1%, 2% and 4% concentrations have no anti-fungal effect on the surface of banknotes from bakery, butchery, passenger terminal and hospital, but adding chitosan nanofibers at 6% concentration shows the significant anti-fungal effect. The results show that cellulose nanocrystals had no antifungal effect alone effect alone on the banknote species, but it could improve the antifungal effect, adhesion, and stability of cellulose nanocrystals on the banknote surfaces.
Conclusions: This study suggested a new approach to decrease the infection spreads through banknotes.

***Keywords*:** Cellulose nanocrystals, Chitosan nanofiber, Antifungal, Banknote

*Corresponding author: Mehdi.jonoobi@ut.ac.ir