



## اثر نوع و غلظت نانو ذرات بر فعالیت آنزیم اوره آز در خاک

وحیده شریفی گلرو<sup>۱</sup>، شکوفه رضائی<sup>۲\*</sup>، علی خانمیرزایی فرد<sup>۲</sup>  
۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج  
\*Email: Rezaee\_sh@yahoo.com

### چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر نوع و غلظت نانوذرات بر روی فعالیت آنزیم اوره آز خاک صورت پذیرفت. خاک مورد نظر با سه نوع نانو ذره (اکسیدمس، اکسیدنیکل و نقره) و هر کدام در چهار سطح (۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰) میلی گرم بر کیلوگرم خاک مخلوط و با حفظ دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت زراعی انکوبه شدند. پس از گذشت ۷، ۲۴ و ۷۲ روز فعالیت آنزیم اوره آز در خاک اندازه گیری شد. نتایج نشان داد نانو اکسیدمس بیشترین اثر بازدارندگی روی فعالیت آنزیم اوره آز داشت. با افزایش غلظت نانوذرات و زمان فعالیت آنزیم اوره آز کاهش یافت. بیشترین و کمترین فعالیت اوره آز مربوط به غلظت صفر و ۱۰۰۰ میلی گرم نانو ذره بر کیلوگرم خاک بود. به طور کلی فعالیت آنزیمی وابسته به نوع و غلظت نانو ذره، زمان تماس با نانو ذره و همچنین خصوصیات خاک می باشد.

واژه های کلیدی: نانو اکسیدنیکل، نانو اکسیدمس، نانونقره، آنزیم اوره آز

### مقدمه

نانوذرات از جمله رایج ترین عناصر در علم و فناوری نانو هستند و خواص جالب توجه آنها باعث شده کاربردهای بسیار متنوعی در صنایع شیمیایی، پزشکی و دارویی، الکترونیک و کشاورزی داشته باشند. با توجه به توسعه مواد و روش های جدید در حوزه تهیه نانوذرات، نگرانی از آلودگی محیط زیست توسط نانوذرات تولید شده از روش های شیمیایی و تولید محصولات جانبی خطرناک دوچندان شده است (شانکار و همکاران، ۲۰۰۴). رفتار نانوذرات در محیط خاک بعنوان یکی از اجزاء محیط زیست بسته به خواص فیزیکی و شیمیایی مواد به شدت تغییر می کند (یانگ و واتس، ۲۰۰۵). آنزیم های خاک بعنوان کاتالیزور واکنش های شیمیایی در چرخه عناصر غذایی نقش ویژه دارند (شی و همکاران، ۲۰۰۸). اوره آز یکی از آنزیم های مهم چرخه نیتروژن است که هیدرولیز اوره به دی اکسید کربن و آمونیاک را کاتالیز می کند و ممکن است منشأ میکروبی، گیاهی و جانوری داشته باشد. آنزیم ها بخاطر ارتباط با ویژگی های بیولوژیکی خاک، سهولت در اندازه گیری، پاسخ سریع به تغییرات مدیریتی خاک می توانند به عنوان یکی از شاخص های کیفیت خاک باشند (تاجیک و همکاران، ۱۳۹۱؛ الدور، ۲۰۰۷). بنابراین در این تحقیق به بررسی تأثیر نانوذرات بر فعالیت آنزیم اوره آز در خاک پرداخته شد.

### مواد و روش ها



پس از انتخاب خاک، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شد (علی‌احیایی و بهبهانی‌زاده، ۱۳۷۲). خاک‌ها به نمونه‌های ۱۰۰ گرمی تقسیم شده، ذرات نانو اکسید مس، نانو اکسید نیکل و نانو نقره هر کدام در چهار سطح (۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) به صورت پودری به خاک اضافه و با کمک همزن برقی به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردید. نمونه‌های خاک در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با حفظ رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت زراعی انکوبه شدند. پس از گذشت مدت زمان معین از خاک‌ها نمونه‌برداری و فعالیت آنزیم اوره‌آز (زانتوا و برمنر، ۱۹۷۵) اندازه‌گیری شد. در پایان تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS، رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن صورت گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

بافت	رس	سیلت	شن	ماده آلی	اسیدیته
					درصد
رسی سیلتی	۴۹/۸	۳۲	۱۸/۲	۱/۳۷	۷/۷

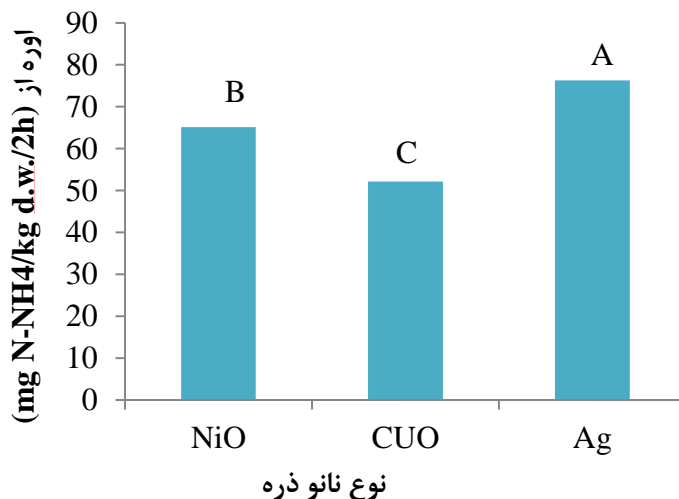
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع نانوذره، غلظت نانوذرات و زمان بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲)

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات فعالیت آنزیم اوره‌آز

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات اوره‌آز
زمان	۲	۱۴۰۲۶/۲۵**
نوع نانوذره	۲	۵۲۲۶/۵۲**
سطوح نانوذره	۳	۲۵۴۰۹/۳۵**
خطا	۷۲	۶۲۱۹۶/۲۲۱
ضریب تغییرات	-	۲۶/۴۴

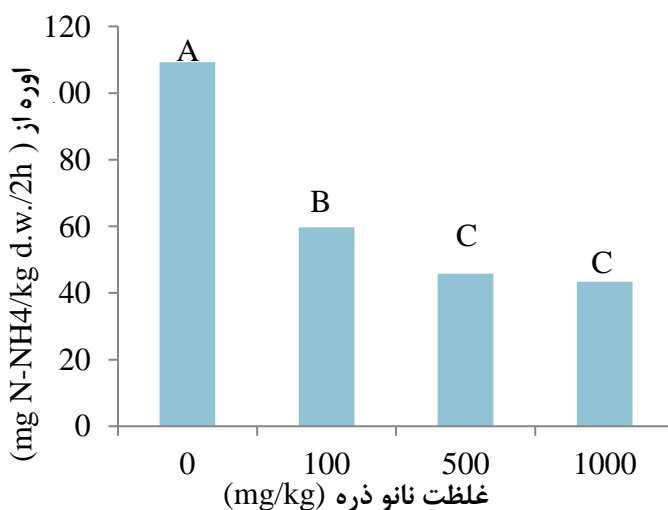
\*\* و \* به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱٪ و ۵٪ را نشان می‌دهد.

شکل ۱ اثر نانوذرات اکسیدمس، اکسیدنیکل و نانونقره را روی فعالیت آنزیم اوره‌آز نشان می‌دهد. آنزیم اوره‌آز در حضور نانو اکسیدمس کمترین و در حضور نانونقره بیشترین فعالیت خود را داشته است. بیشترین سمیت و بازدارندگی روی فعالیت آنزیم مربوط به نانو CuO مشاهده شد. اکسید مس دارای قطر کوچکتر و سطح ویژه بیشتری نسبت به نانو نقره می‌باشد، به علاوه CuO دارای خصوصیات آنتی باکتریال قدرتمندی است که می‌تواند تاثیرات بازدارندگی قوی نانو CuO را در قیاس با سایر نانو ذرات توضیح دهد (جاسکو و همکاران، ۲۰۱۴).



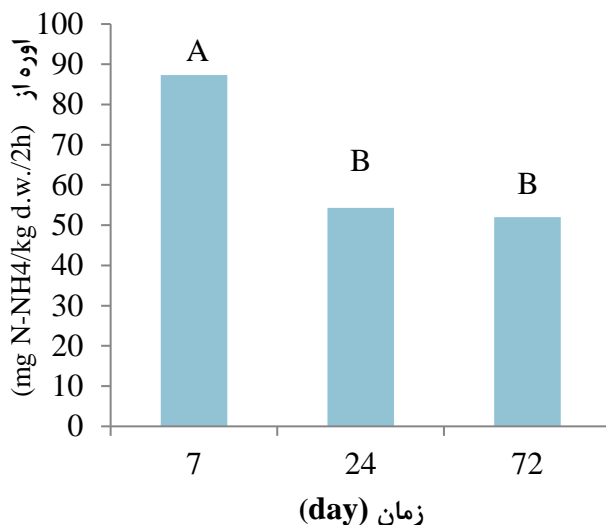
شکل ۱- اثر نوع نانوذرات روی فعالیت آنزیم اوره‌آز

شکل ۲ اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات را روی فعالیت آنزیم اوره‌آز نشان می‌دهد. با افزایش غلظت نانوذرات، فعالیت آنزیم اوره‌آز به طور معنی‌دار کاهش یافت بطوریکه بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم به ترتیب در غلظت صفر و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مشاهده شد. اگرچه بین غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم نانوذرات بر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.



شکل ۲- اثر سطوح مختلف نانوذرات بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز

با گذشت زمان فعالیت آنزیم اوره‌آز کاهش یافت. پس از گزشت ۲۴ و ۷۲ روز کاهش فعالیت اوره‌آز نسبت به زمان هفت روز معنی‌دار بود ولی بین زمان ۲۴ و ۷۲ روز تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۳). فرض بر این است که نانوذرات در بازه زمانی هفت تا ۲۴ روز فعالیت خود را در خاک شروع کرده و باعث کاهش فعالیت آنزیم شده است.



شکل ۳- اثر زمان تماس نانوذرات بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز

مطالعه حاضر نشان داد فعالیت آنزیمی به شدت در ارتباط با نوع نانو ذرات، غلظت و خصوصیات خاک متفاوت است. (جاسکو و همکاران، ۲۰۱۴). یون‌های آزاد شده از نانو ذرات می‌توانند با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث سمیت و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیمی شوند. ROS باعث فشار اکسیداتیو در سلول میکروارگانیسم‌ها و نهایتاً تخریب آنها شده که منجر به کاهش در تولید و ترشح آنزیم‌های خاک می‌شود (جاسکو و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین میزان pH، مقدار و ترکیب مواد آلی، رس و مواد معدنی (P، Mg، K) خاک تاثیر زیادی بر رفتار نانو ذرات دارد. آنزیم‌ها دارای یک pH مطلوب می‌باشند که در آن حداکثر فعالیت را نشان می‌دهند و در pH بالاتر و پایین‌تر از آن فعالیت آنها کاهش می‌یابد.

#### منابع

تاجیک، س. ایوبی، ش. ا. نوربخش. ف. (۱۳۹۱). برآورد فعالیت برخی از آنزیم‌های خاک با استفاده از خصوصیات خاک و پستی و بلندی زمین در بخشی از اراضی تپه ماهوری سمیرم استان اصفهان". نشریه آب و خاک. شماره ۳. صص ۷۶۱-۷۵۳.  
علی‌احیایی، م. بهبهانی زاده، ع. ا. ۱۳۷۲. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. نشریه مؤسسه تحقیقات خاک و آب، شماره ۸۹۲

- Eldor P. 2007. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. Tercera ed. Eldor P, editor. Chennai, India: Academic Press.
- Josko I., Oleszczuk P., and Futa B. 2014. The effect of inorganic nanoparticles (ZnO, Cr2O3, CuO and Ni) and their bulk counterparts on enzyme activities in different soils. Geoderma, 232-234: 528-537
- Shankar S.S., Rai A., Ankamwar B., Singh A., Ahmad A., and Sastry M. 2004. Biological synthesis of triangular goldnanoprism. Nature Materials, 3: 482-488.
- Shi Z.J., Lu Y., Xu Z.G. and Fu S.L. 2008. Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China. Plant, Soil and Environment, 54: 341-346.



- Yang L. and Watts D.J. 2005. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicol. Let*, 158: 122-132.
- Zantua M.I. and Bremner J.M. 1975. Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem*, 7: 291–295.

### The effect of nanoparticles type and concentration on soil urease activity

#### Abstract

This study was to evaluate the effect of type and concentration of nanoparticles (NPs) on soil urease activity. Soil were mixed with three types of nanoparticles (CuO, NiO and Ag) each in four levels (0, 100, 500, 1000 mgkg<sup>-1</sup>) and incubated with constant moisture content (60% FC) at 25°C. Soils were sampled 7, 24 and 72 days during the incubation to determine the urease activity. The results showed that the most frequent inhibitory effect on urease was observed for CuO NPs. Urease activity decreased by increasing concentrations of nanoparticles and time. The highest and lowest urease activity was measured at 0 and 1000 mgkg<sup>-1</sup> nanoparticles, respectively. In general, enzymatic activity depends on the type and concentration of nanoparticles, NPs–soil contact time and soil properties.

**Keywords:** Nano-CuO, Nano-NiO, Nano-Ag, Urease enzyme