



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology

E-ISSN: 3060-7647

15rd Year, Vol. 15, No. 57, 2026 pp. 73-87

Received: 15/02/2026

Accepted: 31/05/2026

(Research Paper)

Investigation of the antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticles and lavender essential oil against biodeteriorative fungi isolated from the Masjed-e Jāmē of Isfahan

Azam Aliasghari Veshareh

Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Alzahra University, Tehran, Iran
a.aliasghary@alzahra.ac.ir

Parisa Mohammadi  ¹

Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Alzahra University, Tehran, Iran
p.mohammadi@alzahra.ac.ir

Parinaz Ghadam

Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
pghadam@alzahra.ac.ir

Abstract

Biodeterioration is irreversible damage caused by microorganisms or their metabolites to historical monuments, and fungi are considered important factors in this deterioration. In this regard, the use of new, effective, and low-risk antifungal agents, such as biosynthesized nanoparticles and plant essential oils, is of interest. The aim of this study was to investigate and compare the antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using an aqueous extract of green walnut shells and lavender essential oil against six species of biodeteriorative fungi isolated from Iran cultural heritage. The antifungal activity was evaluated using two methods: diffusion in agar and determination of minimum inhibitory concentration and minimum lethal concentration. The results showed that silver nanoparticles at a concentration of 1 mg/mL were effective against a wide range of fungi, whereas lavender essential oil had favorable activity at high concentrations (50 and 100%). Based on the microtiter plate method, nanoparticles with MIC values between 0.125 and 1 mg/mL and strong bactericidal properties against fungi such as *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, and *Penicillium polonicum* showed their superiority. In contrast, the essential oil exhibited no measurable fungicidal properties against the three fungi. According to the results, the biosynthesized silver nanoparticles are very efficient and promising option, and lavender essential oil can be considered an alternative or complementary natural agent for controlling the biodeterioration of cultural heritage, depending on the conservation conditions and the concentration used. Furthermore, determining the final decision for the application of these compounds requires additional studies on the materials used in historical monuments.

Keywords: Antifungal compounds, Biosynthesis of nanoparticles, Biodeterioration, Cultural heritage, Nanoparticles, Essential oils

¹Corresponding Author
3060-7647/ © 2026 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Aliasghari Veshareh, A., Mohammadi, P., Ghadam, P. Investigation of the antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticles and lavender essential oil against biodeteriorative fungi isolated from the Masjed-e Jāmē of Isfahan. *Journal of Microbial Biology*, 2026; 15(57): 73-87.

doi: [10.22108/bjm.2026.148351.1668](https://doi.org/10.22108/bjm.2026.148351.1668)

Introduction

Physical and chemical processes have long been considered the main agents of cultural heritage deterioration, although recent decades have proven the destructive role of microorganisms. Fungi are significant biodeteriogens through secreting organic acids, producing melanin stains, and penetrating into stones with their hyphae. This activity causes cracks, nutrient transfer, and chelation of metal ions, leading to severe physical and chemical damage to the historical substrates.

Controlling biodeterioration is costly, and traditional synthetic biocides are toxic to humans and the environment. This has driven the demand for natural, low-toxicity alternatives. Nanotechnology offers innovative solutions, such as green-synthesized nanoparticles (NPs) using plant extracts, which are cost-effective, rapid, eco-friendly, and can be produced from agricultural waste. Such methods enable the controlled size and shape of NPs for heritage conservation.

Plant essential oils are well known for their antimicrobial properties and are widely used in various industries. Their mechanisms include membrane disruption and metabolic inhibition, although their details remain unclear due to chemical diversity. This study evaluated the antifungal activity of green-synthesized silver nanoparticles using walnut skin extract, and lavender essential oil against fungi isolated from the *Jāmē Mosque* of Isfahan, aiming to introduce eco-friendly, safe, and effective biocides for sustainable cultural heritage preservation.

Materials & Methods

Lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) was obtained from Barij Essence Company, and its chemical composition was analyzed by GC, revealing 1,8-cineole (36.84%), camphor (31.84%), and borneol (0.35%) as its main components. The oil was stored at 4 °C in the dark until it was used. Colloidal silver nanoparticles (AgNP-GH, Nanoziran, Iran) were synthesized *via* a green method using aqueous green walnut skin extract as both a reducing and stabilizing agent. The biomolecules in the extract reduce Ag⁺ to metallic silver (core) and form a coating shell around the nanoparticles. To purify the nanoparticles, the colloidal suspension was centrifuged and washed three times with deionized water, and the purified nanoparticles were redispersed in deionized water at 1 mg/mL.

Six fungal strains previously isolated from deteriorated glazed tiles, brick, and plaster of *Jāmē Mosque* of Isfahan were used: *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum*, *Parengyodontium album*, *Cladosporium limoniforme*, *Aspergillus flavus*, and *Penicillium chrysogenum* (NCBI accession numbers MW876236, MW876234, MW767610, MW729033, MW774373, MW896114, respectively). For the disc diffusion assay, each fungus was cultured on potato dextrose agar (PDA) at 28 °C for 3–7 days. Spore suspensions with a concentration of 10⁵ spores/mL were prepared in potato dextrose broth, and 200 µL was spread onto PDA. Sterile paper discs with 6 mm diameter were impregnated with 30 µL of lavender oil at concentrations of 100%, 50%, and 25% (prepared by serial dilution), and placed on the inoculated plates. After incubation at 28 °C for 2–7 days, the inhibition zone diameters were measured.

To determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC), a spore suspension (10⁵ spores/mL) was prepared. Serial dilutions of both nanoparticles and lavender oil were added to microtiter plate wells (100 µL per well), followed by the addition of 100 µL of spore suspension. The positive controls contained spores and medium, and the negative controls contained only medium. Plates were incubated at 28–30 °C for 48–72 hours. The MIC was defined as the lowest concentration that showed no visible growth. For MFC, 10 µL from wells with no growth was subcultured on PDA and incubated at 28–30 °C for 48–72 hours to confirm fungicidal activity.

Results, Discussion, and Conclusions

The antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticles (1 mg/mL) and lavender essential oil (25%, 50%, and 100%) was evaluated against six fungal strains. Silver nanoparticles showed significant inhibition against *Cladosporium limoniforme* and *Penicillium polonicum* with 15 mm inhibition zones and efficient effects on *Penicillium chrysogenum* (12 mm) and *Aspergillus niger* (11 mm). However, they exhibited no measurable activity against *Aspergillus flavus* and *Parengyodontium album*. Lavender essential oil showed a concentration-

dependent pattern. No inhibition was observed at 25% concentration. At 50% concentration, the highest sensitivity was observed against *P. album* (17 mm). At 100% concentration, lavender oil completely inhibited the growth of four out of six fungi: *A. niger*, *C. limoniforme*, *P. polonicum*, and *P. album*. Against *A. flavus*, it produced a 10 mm inhibition zone. Overall, the silver nanoparticles had a broader spectrum at fixed concentrations than at lower oil concentrations.

The MIC and MFC values of silver nanoparticles demonstrated remarkable antifungal potency, with MIC ranging from 0.125 to 1 mg/mL. This indicates that the nanoparticles not only inhibited fungal growth, but also effectively killed these cells at low concentrations. In contrast, lavender essential oil required much higher concentrations (0.78% to 100%) to achieve an inhibitory activity. Notably, the essential oil showed no measurable fungicidal activity against *A. niger*, *A. flavus*, and *C. limoniforme*, whereas the silver nanoparticles exhibited clear fungicidal activities against the same fungi. This difference highlights that silver nanoparticles possess both inhibitory and killing capabilities, while lavender oil, under the best conditions, has only a growth inhibitory effect.

Cultural heritage is crucial for understanding human civilization and national history, and sustainable preservation is essential. Microbial colonization, including fungi, leads to severe biodeterioration of historical materials through physical and biochemical mechanisms and aesthetic effects. Silver nanoparticles with their unique physicochemical properties are promising alternatives to conventional biocides. Their antimicrobial mechanisms include inhibition of DNA replication, binding to sulfur-containing groups of amino acids, and disruption of cellular respiration and cytoplasmic membrane integrity, leading to metabolite leakage and cell death. Silver nanoparticles also offer long-term stability.

The use of plant essential oils as environmentally friendly antifungals has gained increasing attention. A study on thyme and oregano essential oils showed effective inhibition of marble stone microbiota in the Florence Cathedral at very low concentrations (2% solution) without altering stone properties, comparable to commercial biocides. Another study on Mediterranean plants, including *Lavandula viridis*, showed significant antimicrobial activity against isolates from the Conímbriga historical site, with *Mentha pulegium* presenting the broadest spectrum and no discoloration of limestone. In the present study, the biosynthesized silver nanoparticles showed superior inhibitory activity and a broader spectrum than lavender essential oil, which was only significantly effective at the highest concentrations (100%). This difference is likely due to the volatile nature of essential oils.

To enhance efficacy and reduce the required effective concentration, the combined use of these nanoparticles with other natural antimicrobial agents (e.g., other effective plant essential oils) or compatible commercial biocides is recommended. This approach could reduce the concentration of chemical agents and their potential adverse effects on historical substrates and environment, contributing to more sustainable conservation methods. Future studies should investigate the immobilization of these nanoparticles on polymeric or mineral carriers and evaluate their real-world efficiency as preventive or remedial treatments for cultural heritage materials.

بررسی فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده و اسانس اسطوخودوس علیه قارچ‌های فرسایشگر جداشده از مسجد جامع اصفهان

اعظم علی‌اصغری وشاره

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
a.aliasghary@alzahra.ac.ir

پریناز محمدی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
p.mohammadi@alzahra.ac.ir

پریناز قدم

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
pghadam@alzahra.ac.ir

چکیده

فرسودگی زیستی، آسیب غیرقابل بازگشتی است که توسط میکروارگانیسم‌ها یا متابولیت‌های آنها بر آثار تاریخی به وجود می‌آید و قارچ‌ها از عوامل مهم این فرسایش محسوب می‌شوند. در این راستا، استفاده از عوامل ضدقارچ نوین، مؤثر و کم‌خطر مانند نانوذرات زیست‌سنتز شده و اسانس‌های گیاهی شایان توجه است. هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی پوست سبز گردو و اسانس گیاه اسطوخودوس علیه شش گونه قارچ فرسایشگر جداشده از میراث فرهنگی بود. فعالیت ضدقارچی به دو روش انتشار در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ارزیابی شد. نتایج نشان دادند نانوذرات نقره در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر طیف وسیعی از قارچ‌ها مؤثر است؛ درحالی‌که اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های زیاد (۵۰ و ۱۰۰ درصد) فعالیت مطلوبی داشت. براساس روش میکروتیتربلیت، نانوذرات با مقادیر MIC بین ۰/۱۲۵ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با خاصیت کشندگی قوی علیه قارچ‌هایی مانند *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و *Penicillium polonicum* برتری خود را نشان دادند. در مقابل، اسانس علیه سه قارچ فاقد خاصیت کشندگی قابل اندازه‌گیری بود و تنها اثر بازدارندگی رشد نشان داد. با توجه به نتایج، نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده به‌عنوان گزینه‌ای بسیار کارآمد و امیدوارکننده و اسانس اسطوخودوس به‌عنوان یک عامل طبیعی جایگزین یا مکمل، می‌توانند با توجه به شرایط حفاظتی و غلظت استفاده‌شده، در کنترل فرسودگی زیستی میراث فرهنگی درخور توجه قرار گیرند؛ البته تعیین راهکار نهایی کاربرد این ترکیبات، نیازمند مطالعات تکمیلی دربارهٔ مواد سازنده بناهای تاریخی است.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات ضدقارچی، سنتز زیستی نانوذرات، فرسودگی زیستی، میراث فرهنگی، اسانس، نانوذره

نویسنده مسئول مکاتبات *

علی‌اصغری وشاره، اعظم، محمدی، پریناز، قدم، پریناز. بررسی فعالیت ضد قارچی نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده و اسانس اسطوخودوس علیه قارچ‌های فرسایشگر جدا شده از مسجد جامع

اصفهان زیست‌شناسی میکروبی، ۱۴۰۵؛ ۱۵(۵۷): ۷۳-۸۷ [doi: 10.22108/bjm.2026.148351.1668](https://doi.org/10.22108/bjm.2026.148351.1668)



مقدمه

برای مدت‌های طولانی، اعتقاد بر این بود که فرایندهای فیزیکی و شیمیایی، فاکتورهای اصلی در تخریب میراث فرهنگی هستند؛ اما در دهه‌های اخیر نقش مخرب میکروارگانیسم‌ها در فرسودگی میراث فرهنگی به اثبات رسیده است (۱). اصطلاح فرسودگی زیستی اولین بار توسط هوک در سال ۱۹۶۵ وارد ادبیات علمی شد (۲). فرسودگی زیستی یک فرایند پیچیده است که باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مکانیکی مواد توسط فعالیت موجودات زنده می‌شود (۳). آسیب‌های فرسودگی زیستی میراث فرهنگی، موضوعی جدی است که همه کشورهای جهان به‌خصوص کشورهایی با میراث ملموس فرهنگی با آن مواجه‌اند (۴).

مطابق نظر برخی محققان، قارچ‌ها یکی از مهم‌ترین عوامل در فرسودگی زیستی آثار فرهنگی در محیط‌های بیرونی هستند (۵) و به دلیل ترشح مقدار زیادی از اسیدهای آلی نسبت به باکتری‌ها، فرسایش زیادی در بسترهای تاریخی و میراثی ایجاد می‌کنند (۶). به‌علاوه، کلنی بسیاری از قارچ‌ها به دلیل تولید ملاتین و تجمع آن در دیواره سلولی، به شکل لکه یا لایه‌های رنگی در سطوح ظاهر می‌شوند (۷). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که هیف قارچ‌ها می‌تواند در سنگ‌ها نفوذ کنند و با ایجاد شکاف و ترک در سنگ‌ها و مواد ساختمانی، باعث آسیب فیزیکی به سنگ شود (۵، ۸). گفتنی است این نفوذ، باعث انتقال همزمان آب و مواد غذایی و تسهیل استقرار قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها درون سنگ و به تبع آن ایجاد فرسودگی می‌شوند (۹). قارچ‌ها همچنین با تولید انواع اسیدهای آلی مانند اسید اگزالیک، اسید گلوکونیک و اسید لاکتیک باعث کلاته کردن یون‌های منیزیم، منگنز، آهن و کلسیم از سطح سنگ می‌شوند و فرسودگی زیستی بستر را فراهم می‌کنند (۱۰).

کنترل و تیمار فرسودگی زیستی مواد میراثی و هنری اغلب نیازمند هزینه هنگفت است که این هزینه به مؤسساتی که عهده‌دار حفاظت و مراقبت از میراث فرهنگی تحمیل می‌شود. کنترل فرسودگی زیستی می‌تواند از دو طریق پیشگیری و استفاده از تیمارهای مختلف انجام شود (۲). در این اقدامات محافظتی و پیشگیرانه، به‌طور سنتی از ترکیبات سنتزی متفاوتی استفاده می‌شود که دارای سمیت انسانی و محیط زیستی هستند و گاهی اثرات نامطلوبی بر مواد تیمار شده بر جای می‌گذارند. افزایش آگاهی نسبت به بهره‌برداری از منابع طبیعی و عوارض جانبی زیست‌کش‌های تجاری متداول، نیاز به ترکیبات طبیعی دارای فعالیت زیست‌کشی را ضروری کرده است. امروزه زیست‌کش‌هایی با طیف اثر گسترده و هزینه کم ترجیح داده می‌شوند که بر پایه مواد طبیعی مشتق از گیاهان تولید شده باشند؛ زیرا این مواد عموماً کاربردی آسان‌تر، پایداری بیشتر و سمیت محیط زیستی کمتری دارند (۱۱).

در سال‌های اخیر از نانوفناوری برای حفاظت انواع متفاوت سطوح میراث فرهنگی از فرسودگی زیستی استفاده شده است (۱۲)؛ بنابراین، استفاده از نانوذرات به‌عنوان راهکاری نوآورانه، برای جلوگیری از استقرار و کنترل رشد میکروارگانیسم‌های روی آثار باستانی، پیشنهاد شده است (۵). تولید مواد نانو بر پایه ترکیبات طبیعی که به آن سنتز زیستی نانومواد نیز گفته می‌شود، نسبت به روش‌های شیمیایی مزیت‌های بسیاری دارد؛ ازجمله اینکه تولید آن کم‌هزینه‌تر و سریع‌تر است و از طرف دیگر در مدت کوتاهی می‌توان مقادیر زیادی از آن را تولید کرد. تولید این نوع نانوذرات اثرات مخرب زیست‌محیطی کمتری دارد و برای تولید آن می‌توان از ضایعات کشاورزی یا مواد زائد صنایع غذایی استفاده کرد (۱۳). تولید نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان یک واکنش تک‌مرحله‌ای، آسان و با طراحی مطلوب است که طی آن می‌توان نانوذرات با اندازه و شکل دلخواه به دست آورد (۱۴).

تشکیل‌دهنده اسانس به ترتیب شامل ۸-۱ سینثول (۳۶/۸۴ درصد)، کامفور (۳۱/۸۴ درصد) و برنثول (۰/۳۵ درصد) هستند. این اسانس تا زمان مصرف، در محیط تاریک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نانوذره نقره سنتز شده از عصاره آبی پوست سبز گردو

نانوذرات نقره کلئیدی استفاده شده در این پژوهش، محصول شرکت نانوزیران (ایران) با نام تجاری AgNP-GH است. براساس گواهی تجزیه و تحلیل ارائه شده توسط شرکت سازنده، این نانوذرات به روش سنتز سبز (زیستی) و با استفاده از عصاره آبی پوست سبز گردو به عنوان عامل تولیدکننده و پایدارکننده سنتز شده‌اند. در این فرایند، زیست‌مولکول‌های موجود در عصاره به طور همزمان یون‌های نقره (Ag^+) را به نقره فلزی (Ag^0) احیا می‌کنند و یک لایه پوششی در اطراف نانوذرات تشکیل می‌دهند. به این ترتیب، نانوذره حاصل از دو بخش مجزا اما به هم پیوسته تشکیل شده است: هسته فلزی (کور) از نقره فلزی که توسط احیا ایجاد می‌شود و پوسته (کپ) شامل زیست‌مولکول‌های حاصل از عصاره گیاهی که پیرامون هسته را پوشانده است و آن را پایدار می‌کند؛ بنابراین، هم هسته فلزی و هم پوسته زیستی این نانوذره مستقیماً توسط عصاره گیاهی ایجاد می‌شوند. به منظور جداسازی نانوذرات سنتز شده از ترکیبات آزاد و اضافی عصاره، سوسپانسیون کلئیدی تحت سه مرحله سانتریفیوژ و شست‌وشو با آب دیونیزه قرار گرفت. پس از آخرین مرحله شست‌وشو، نانوذرات خالص سازی شده در آب دیونیزه با غلظت نهایی ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پخش شدند. تنها آن دسته از زیست‌مولکول‌هایی که پیوند قوی با سطح نانوذره دارند، پس از این فرایند شست‌وشو باقی می‌مانند؛ درحالی‌که

اسانس‌های گیاهی به دلیل خواص ضد میکروبی طبیعی خود، قرن‌هاست که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه این اسانس‌ها به صورت تجاری در دسترس بوده و به طور گسترده در صنایع داروسازی، عطر درمانی، غذا، کشاورزی و لوازم آرایشی به کار می‌روند. فعالیت ضد میکروبی بسیاری از اسانس‌ها و نیز برخی از اجزای آنها به ویژه بر روی باکتری‌ها، به خوبی شناخته شده است. برخی از اسانس‌ها در غلظت‌های کم نیز بر روی باکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها بسیار مؤثر هستند. مکانیسم اثر آنها می‌تواند شامل تخریب غشای سیتوپلاسمی، اختلال در متابولیسم و مهار واکنش‌های آنزیمی باشد. با این حال، سازوکار دقیق عمل این ترکیبات به دلیل تنوع شیمیایی بالا و اثرات گسترده‌شان هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۱۵).

در این راستا، هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره زیست سنتز شده با استفاده از عصاره آبی پوست سبز گردو و اسانس گیاه اسطوخودوس علیه قارچ‌های فرسایشگر جدا شده از سطوح تاریخی مسجد جامع اصفهان در شرایط آزمایشگاهی است. این مطالعه گامی به سوی شناخت گزینه‌های سازگار با محیط زیست، کم‌خطر برای بافت تاریخی و مؤثر برای جایگزینی یا تکمیل زیست‌کش‌های متعارف در فرایند حفاظت پایدار از میراث فرهنگی است.

مواد و رججوجش‌ها

اسانس مورد استفاده

اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) از شرکت باریج اسانس تهیه شده است و برای تعیین ترکیبات شیمیایی آن، توسط همان شرکت مورد تحلیل کروماتوگرافی گازی (GC) قرار گرفت. براساس نتایج حاصل از این آنالیز، مشخص شد ترکیبات اصلی

ترکیبات باقی مانده با جذب ضعیف یا آزاد حذف می‌شوند. این لایه پوششی محکم، از تجمع نانوذرات، جلوگیری و پایداری کلئیدی را تضمین می‌کند. حضور لایه پوششی توسط آنالیز FTIR تأیید شد که حتی پس از شست‌وشوی مکرر نیز پیک‌های مشخصه ترکیبات فنلی، پروتئین‌ها و

کربوهیدرات‌ها را نشان داد (۱۶). تمامی ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی ذکر شده در جدول ۱، مستخرج از مستندات شرکت تولیدکننده است و نانوذره در این تحقیق بدون هیچ‌گونه اصلاح یا پردازش اضافی استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات نانوذرات نقره کلئیدی تجاری

Table 1: Technical specifications of commercial colloidal silver nanoparticles

Parameter	Method/Explanation	Value/Description
Trade name and model	-	AgNp-GH
Synthesis method	Using aqueous extract of green walnut hull	Green synthesis
Crystal structure	X-ray diffraction analysis (XRD)	Face-centered cubic (FCC)
Miller indices	XRD	(311), (220), (200), (111)
Polydispersity index, PDI	Dynamic Light Scattering (DLS)	1,88
Associated elements	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX)	Sr ,Mg ,P ,K
Stabilizing functional groups	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	C=C ,C-H ,N-H ,C=O ,O-H
Average particle size	Transmission electron microscopy (TEM)	7 nm
Size distribution range	TEM	3 to 50 nm
Hydrodynamic diameter	DLS	67 nm
Surface plasmon resonance peak	UV-Vis spectroscopy	460 nm
Suspension color	Visual observation	Brick red
Stabilizing agent	-	Natural organic molecules
Initial suspension concentration	-	1 mg/mL
Manufacturer	-	NanoZiran, Iran

شده‌اند

ثبت

قارچ‌های استفاده‌شده

در (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/>). مطالعات انجام‌شده، وجود فاکتورهای فرسایشی در این قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی تأیید شده بود (۱۷).

شش قارچ استفاده‌شده در این پژوهش شامل *Aspergillus niger*، *Penicillium polonicum*، *Cladosporium*، *Parengyodontium album*، *Penicillium dimoniiform* و *Aspergillus flavus* هستند که در مطالعه قبلی از بسترهای فرسوده کاشی لعاب‌دار، آجر و گچ مسجد جامع اصفهان جدا شده بودند و در پایگاه NCBI با شماره دسترسی MW767610، MW876234، MW876236، MW729033، MW774373، MW896114 به ترتیب

روش انتشار دیسک

برای ارزیابی فعالیت ضدقارچی، هر شش سویه قارچی روی محیط سیب‌زمینی-دکستروز آگار (PDA) شرکت مرک، آلمان، کشت و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری

به عنوان کنترل منفی حاوی فقط محیط کشت در نظر گرفته شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. MIC نانوذره و اسانس به عنوان کمترین غلظتی از ماده گزارش شد که از رشد قارچ مدنظر ممانعت کرده است.

برای تعیین MFC، یعنی حداقل غلظتی از ماده ضدقارچی که باعث کشتن قارچ می‌شود، از چاهک‌هایی که رشد قارچی در آنها مشاهده نشده بود، ۱۰ میکرولیتر در محیط PDA کشت داده شد و به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد.

نتایج

بررسی فعالیت ضدقارچی توسط روش انتشار در آگار

فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره زیست سنتز شده (شکل ۱) با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر و اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد علیه شش گونه قارچی بررسی شد. نتایج حاصل از این ارزیابی در جدول ۲ ارائه شده‌اند.

شدند. با توجه به گونه قارچ و نرخ رشد، زمان گرماگذاری برای تهیه اسپور بین ۳ تا ۷ روز متغیر بود. پس از گرماگذاری، کلنی‌های قارچ توسط اسکالپل استریل از سطح پلیت‌ها، جمع‌آوری و در محیط سیب‌زمینی-دکستروز براث (PDB) معلق شدند. سوسپانسیون به مدت ۵ دقیقه ساکن ماند تا ذرات درشت و توده زیستی قارچ ته‌نشین شوند. سپس مایع رویی حاوی کنیدی‌های قارچ به لوله استریل منتقل شد. پس از ورتکس کردن، غلظت کنیدی‌ها با استفاده از لام نتوبار به میزان 10^5 اسپور در میلی لیتر تنظیم شد. در پایان، ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور روی محیط PDA برای سنجش فعالیت ضدقارچی کشت شد.

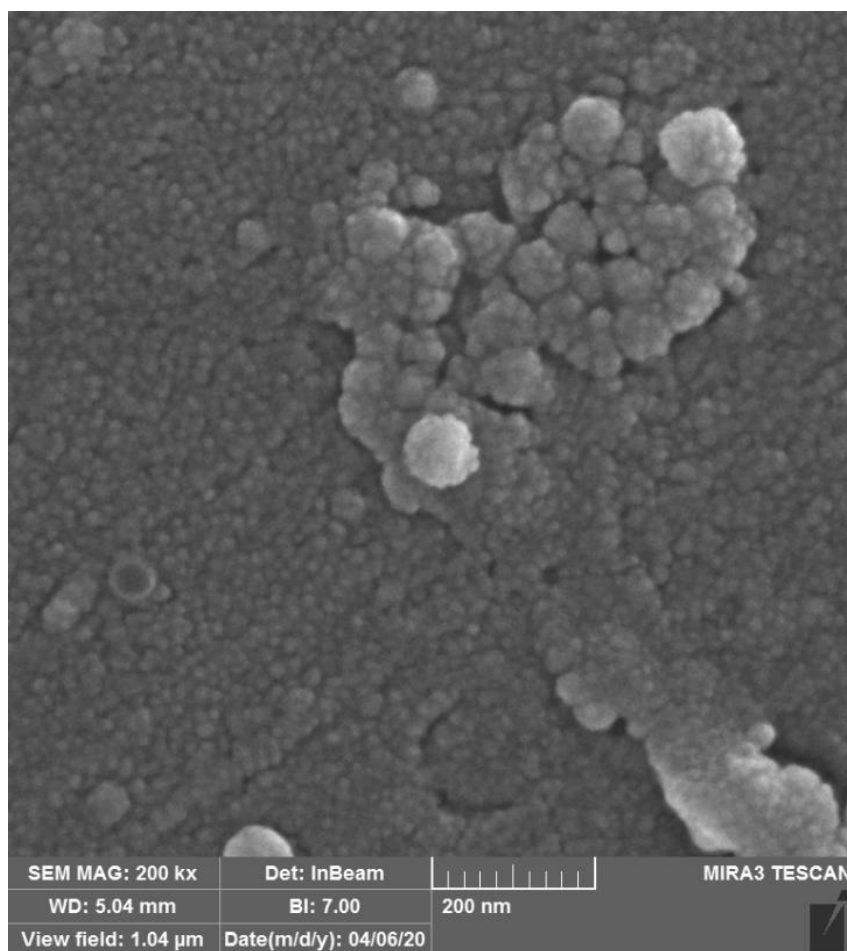
در مرحله بعد، دیسک‌های کاغذی با قطر ۶ میلی‌متر آغشته شده با حجم ۳۰ میکرولیتر از هریک از غلظت‌های مختلف اسانس (۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصد) روی کشت‌های قارچ قرار داده شدند. اسانس خریداری شده به عنوان غلظت ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و رقت‌های سریالی ۱:۲ و ۱:۴ از آن، به ترتیب به عنوان غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ درصد استفاده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲ تا ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند (۱۸) و در نهایت، قطر هاله مهار رشد دیسک‌ها اندازه‌گیری شد.

روش میکروتیتر پلیت برای تعیین MIC^۱ و MFC^۲

سوسپانسیون اسپور قارچی با غلظت 10^5 در میلی لیتر تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف نانوذره و اسانس اسطوخودوس به چاهک‌های ۱ تا ۱۰ میکروتیتر پلیت اضافه شد. به همه چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی اضافه شد. چاهک ستون ۱۱ به عنوان کنترل مثبت حاوی سوسپانسیون اسپور قارچ و محیط کشت و چاهک ستون ۱۲

^۱ Minimum Inhibitory Concentration

^۲ Minimum Fungicidal Concentration



شکل ۱: نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده با استفاده از عصاره آبی پوست سبز گردو

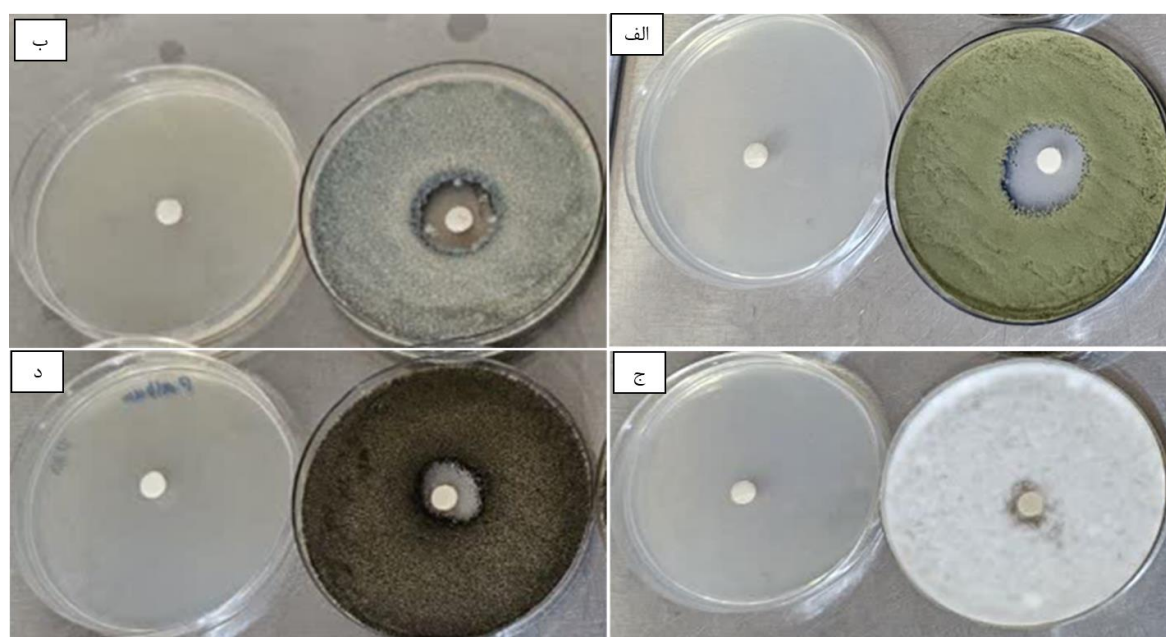
Figure 1: Biosynthesized silver nanoparticles using aqueous extract of green walnut shell

نداشت. با افزایش غلظت به ۵۰ درصد، فعالیت ضدقارچی آن آغاز شد و بیشترین حساسیت در این غلظت علیه *Parengyodontium album* با قطر هاله مهار ۱۷ میلی‌متر بود. در بالاترین غلظت (۱۰۰ درصد)، اسانس اسطوخودوس قدرت ضدقارچی چشمگیری از خود نشان داد و علیه چهار گونه قارچی از مجموع شش گونه آزمایش شده شامل *C. limoniform*، *P. polonicum*، *A. niger* و *P. album* هاله مهار کامل رشد (++) ایجاد شد (شکل ۲ الف تا د). *Aspergillus flavus* که در برابر نانوذره‌های نقره نسبتاً مقاوم بود، در برابر غلظت ۱۰۰ درصد اسانس اسطوخودوس، هاله مهار رشد ۱۰ میلی‌متری ایجاد کرد.

مطابق جدول ۲، نانوذره نقره، تأثیر چشمگیری در مهار قارچ‌های *Cladosporium limoniform* و *Penicillium polonicum* با هاله مهار ۱۵ میلی‌متری داشته است. علاوه بر این، اثرات مطلوبی بر قارچ‌های *Penicillium chrysogenum* با هاله ۱۲ میلی‌متری و *Aspergillus niger* با هاله ۱۱ میلی‌متری مشاهده شد. با این حال، این نانوذره علیه قارچ‌های *Aspergillus flavus* و *Parengyodontium album* فاقد هر گونه فعالیت قابل اندازه‌گیری بود. اسانس اسطوخودوس الگوی تأثیر وابسته به غلظت نشان داد. در کمترین غلظت بررسی شده (۲۵ درصد)، این اسانس هیچ اثر مهارکننده‌ای روی قارچ‌ها

مقایسه کلی دو ترکیب فوق نشان داد نانوذرات نقره در غلظت ثابت بر طیف گسترده تری از قارچ‌ها، در مقایسه با غلظت‌های کم اسانس، اثر بیشتری داشت؛ اما اسانس اسطوخودوس در غلظت ۱۰۰ درصد بر برخی قارچ‌ها

از جمله *P. album* اثر بهتری نشان داد و همچنین توانست رشد *A. flavus* را مهار کند؛ درحالی‌که نانوذرات نقره در برابر این قارچ مؤثر واقع نشدند.



شکل ۲: هاله مهار رشد در حضور غلظت اولیه اسانس اسطوخودوس و نانوذره نقره با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، الف) هاله مهار رشد *C. limoniform* سمت راست نانوذره نقره، سمت چپ اسانس اسطوخودوس، ب) هاله مهار رشد *P. polonicum* سمت راست نانوذره نقره، سمت چپ اسانس اسطوخودوس، ج) هاله مهار رشد *P. album* سمت راست نانوذره نقره، سمت چپ اسانس، د) *A. niger* سمت راست نانوذره نقره، سمت چپ اسانس اسطوخودوس

Figure 2: Growth inhibition zone in the presence of initial concentration of lavender essential oil and silver nanoparticles at a concentration of 1 mg/ml, a) Growth inhibition zone of *C. limoniform*, right side of silver nanoparticles, left side of lavender essential oil, b) Growth inhibition zone of *P. polonicum*, right side of silver nanoparticles, left side of lavender essential oil, c) Growth inhibition zone of *P. album*, right side of silver nanoparticles, left side of essential oil, d) *A. niger*, right side of silver nanoparticles, left side of lavender essential oil

جدول ۲: مقایسه فعالیت ضدقارچی نانوذره نقره زیست سنتز شده و اسانس اسطوخودوس براساس قطر هاله مهار رشد (میلی متر)

Table 2: Comparison of antifungal activity of biosynthesized silver nanoparticles and lavender essential oil based on growth inhibition zone diameter (mm)

Fungi	Lavender essential oil (%)			AgNP- GH (mg/ml)
	100	50	25	1
<i>Aspergillus niger</i>	++	0	0	11
<i>Aspergillus flavus</i>	10	0	0	0
<i>Cladosporium limoniform</i>	++	12	0	15
<i>Penicillium polonicum</i>	++	10	0	15
<i>Penicillium chrysogenum</i>	15	10	0	12
<i>Parengyodontium album</i>	++	17	0	0

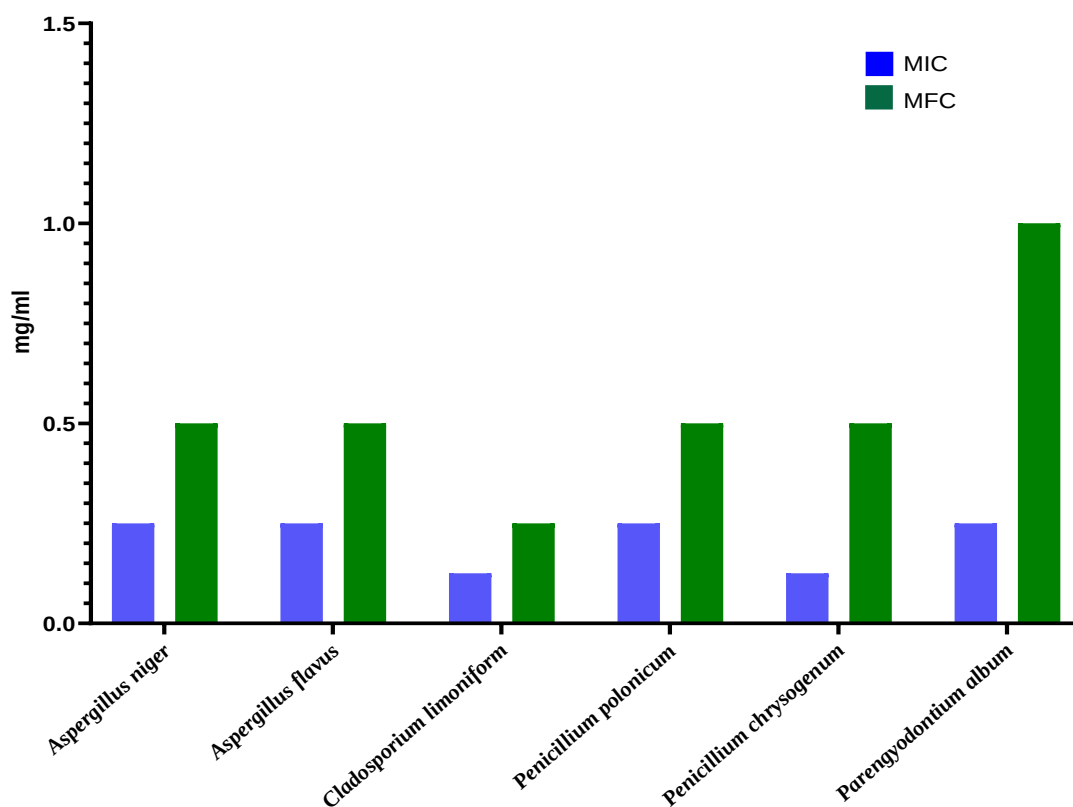
* مقادیر برای AgNP- GH برحسب mg/ml و برای اسانس اسطوخودوس برحسب درصد حجمی-حجمی (v/v) گزارش شده است.

* صفر (۰) نشان دهنده عدم رشد قارچ است. علامت ++ نشان دهنده هاله کامل مهار رشد (بیش از ۴۰ میلی متر) است.

بررسی اثر ضدقارچی با روش میکروتیتر پلیت

نتایج تعیین MIC و MFC نانوذرات نقره، همان‌طور که در جدول ۳ و نمودار ۱ مشخص شده‌اند، نشان‌دهنده قدرت ضدقارچی چشمگیر این نانوذرات است. مقادیر MIC در غلظت کم ۰/۱۲۵ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، نشان‌دهنده

اثربخشی قوی و طیف عمل گسترده آنها است و این بدان معناست که نانوذرات در غلظت‌های بسیار کم نه تنها رشد قارچ را متوقف می‌کنند، بلکه به‌طور مؤثری سلول‌های قارچی را از بین می‌برند.



نمودار ۱: مقایسه MIC و MFC نانوذره نقره علیه قارچ‌های منتخب

Chart 1: Comparison of MIC and MFC of silver nanoparticles against selected fungi

جدول ۳: مقایسه MIC و MFC نانوذره نقره و اسانس اسطوخودوس علیه قارچ‌های منتخب

Table 3: Comparison of MIC and MFC of silver nanoparticles and lavender essential oil against selected fungi

Fungi	Lavender essential oil (%)		AgNP- GH (mg/ml)	
	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Aspergillus niger</i>	12/5	0	0/25	0/50
<i>Aspergillus flavus</i>	3/125	0	0/25	0/50
<i>Cladosporium limoniform</i>	100	0	0/125	0/25
<i>Penicillium polonicum</i>	3/125	50	0/25	0/50
<i>Penicillium chrysogenum</i>	6/25	100	0/125	0/50
<i>Parengyodontium album</i>	0/78	0/78	0/25	1

متنوع است. نقره می‌تواند تکثیر DNA را مهار کند، به گروه‌های سولفور آمینواسیدها متصل و باعث اختلال در عملکرد پپتیدها و پروتئین‌ها شود. همچنین، در فرایندهای مربوط به تنفس سلولی، می‌تواند پتانسیل الکتریکی و عملکرد غشاهای سیتوپلاسمی را مختل کند که این مسئله منجر به خروج بسیاری از متابولیت‌ها از سلول و در نهایت مرگ سلول می‌شود. نقره به علت پایداری زیاد، فعالیت ضد میکروبی بلندمدتی دارد و امروزه در حوزه‌های مختلف پزشکی و صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی استفاده می‌شود و مدتی است که استفاده از آن برای تمیزکردن اشیای تاریخی توصیه شده است. به تازگی، نانوذرات نقره به طور گسترده در محصولات مصرفی و کاربردهای پزشکی از جمله پانسمان‌ها، مواد دندان‌پزشکی، ماسک‌های جراحی، ایمپلنت‌ها، کرم‌ها، منسوجات، سطوح پلیمری، فولاد، لوازم آرایشی، بسته‌بندی مواد غذایی، تصفیه آب، انرژی‌های تجدیدپذیر، اصلاح محیط زیست، دستگاه‌های الکترونیکی و بسیاری دیگر از کاربردها به کار گرفته شده‌اند (۱۹).

در مطالعه‌ای نشان داده شد نانوذره نقره به دست آمده از عصاره گیاهان تکوما (*Tecoma stans* L) و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) در مهار رشد باکتری‌ها و قارچ‌های جدا شده از بیوفیلم‌های دیواره‌های سنگی مجموعه باستانی سیتادل^۱ و مواد سنگی ساختمان‌های تاریخی ساخته شده از سنگ‌های بازالتی و کلسیتی اثر مطلوبی دارد (۱۳). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر، سنتز نانوذره نقره با استفاده از باکتری *Nesterenkonia halobia* انجام شد و فعالیت ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های گرم مثبت *Streptomyces parvullus* و قارچ *Apergillus niger* ارزیابی شد. نتایج نشان دادند پلیمرهای سیلیکون آغشته شده به نانوذرات نقره، فعالیت

الگوی فعالیت اسانس اسطوخودوس کاملاً متفاوت بود. برای دستیابی به اثر بازدارندگی، به غلظت‌های به مراتب بالاتری از ۰/۷۸ تا ۱۰۰ درصد نیاز بود. براساس داده‌های جدول ۳، اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های آزمایش شده فاقد خاصیت کشندگی قابل اندازه‌گیری علیه سه قارچ *A. A. flavus nier* و *C. limoniform* بود؛ به طوری که برای این گونه‌های قارچی فقط حداقل غلظت مهارکنندگی رشد مشاهده شد. در مقابل، نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده خاصیت کشندگی را علیه همان قارچ‌ها نشان دادند. این تفاوت نشان می‌دهد نانوذرات نه تنها رشد قارچ را مهار می‌کنند، بلکه توانایی حذف این قارچ‌ها را دارند؛ درحالی که اسانس در بهترین حالت صرفاً بازدارنده رشد است.

بحث

میراث فرهنگی به لحاظ درک تمدن بشری و تاریخ کشورها حائز اهمیت زیادی است؛ بنابراین، حفاظت پایدار آنها امری ضروری است. با این حال، حملات میکروبی به مواد با ارزش تاریخی باعث ایجاد مشکلات جدی فرسودگی در میراث فرهنگی جهانی شده است. میکروارگانیسم‌ها، از جمله باکتری‌ها، آرکی‌ها، ریز جلبک‌ها و قارچ‌ها می‌توانند در مواد تاریخی مستقر شوند و رشد کنند و در نهایت تشکیل بیوفیلم دهند. چنین عوامل زیستی از طریق مکانیسم‌های فیزیکی و بیوشیمیایی می‌تواند پیامدهای مخرب غیرقابل برگشت مختلفی را روی مواد آلی و معدنی تاریخی و هنری اعمال کنند (۴).

نانوذرات نقره با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد جایگزین مناسبی برای عوامل ضد میکروبی در نظر گرفته می‌شوند. طیف عمل ضد میکروبی نقره به ویژه نانوذرات نقره وسیع تر از بسیاری از زیست‌کش‌های تجاری است. مکانیسم ضد میکروبی نقره روی میکروارگانیسم‌ها

^۱ Citadel

ضدمیکروبی مطلوبی علیه *A. niger* و *S. parvullus* داشتند (۲۰). در مطالعه حاضر نیز فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره به‌دست آمده از عصاره آبی پوست سبز گردو علیه ۶ سویه قارچی دارای فاکتورهای فرسایش شایان توجه بود.

در راستای جست‌وجوی عوامل ضدمیکروبی مؤثر و سازگار با محیط زیست برای حفاظت از میراث فرهنگی، به رویکرد استفاده از اسانس‌های گیاهی توجه شده است. در مطالعه‌ای، اثر بازدارندگی اسانس‌های آویشن و پونه کوهی بر میکروبیوتای سنگ‌مرمر کلیسای جامع فلورانس ارزیابی شد. در آن پژوهش، اسانس‌ها در غلظت بسیار کم (حتی به‌صورت محلول ۲ درصد) توانستند رشد جامعه میکروبی را بدون ایجاد تغییر نامطلوب در ویژگی‌های فیزیکی سنگ، به‌طور مؤثر مهار کنند و کارایی آنها قابل قیاس با زیست‌کش‌های تجاری گزارش شد (۱۵).

در مطالعه‌ای دیگر روی اسانس چهار گیاه مدیترانه‌ای از جمله *Lavandula viridis* آزمون‌های ضدمیکروبی انجام شد که در آن فعالیت این اسانس‌ها علیه میکروارگانسیم‌های جداشده از محوطه تاریخی کونیمبریگا^۱ ارزیابی شد. نتایج نشان دادند اسانس‌ها، برخلاف عصاره‌های آلی، دارای فعالیت ضدمیکروبی چشمگیری هستند که این فعالیت به‌طور معناداری به گونه میکروارگانسیم و نوع اسانس وابسته است. به‌طور خاص، اسانس *Mentha pulegium* دارای گسترده‌ترین طیف فعالیت بود. نکته حائز اهمیت دیگر، عدم تغییر رنگ بستر سنگ‌آهک بود که نشان‌دهنده سازگاری آنها با بسترهای تاریخی است (۱۱).

در مطالعه‌ای دیگر، پژوهشگران با تمرکز بر گیاهان دارویی سنتی چین مانند *Scutellaria baicalensis* و *Coptis*

chinensis ترکیبات مؤثره باکالین^۲ و بربرین^۳ را شناسایی کردند که فعالیت ضدقارچی و مهار تشکیل بیوفیلم از خود نشان می‌دهند. نکته درخور توجه، مشاهده اثر هم‌افزایی بین این دو ترکیب بود که کارایی آنها را با اسانس دارچین قابل مقایسه می‌کند. همچنین، این مطالعه با در نظر گرفتن ملاحظات حفاظتی، حداکثر دوز قابل قبول این ترکیبات را تعیین کرده است که بدون ایجاد تغییر رنگ محسوس در سنگ آهک و دیوارنگاره، قادر به مهار رشد قارچ باشد و پتانسیل کاربردی آنها را به‌عنوان زیست‌کش‌های طبیعی جایگزین مورد تأکید قرار داده است (۲۱).

در مطالعه حاضر، فعالیت ضدقارچی نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده و اسانس اسطوخودوس علیه قارچ‌های فرسایشگر جداشده از مسجد جامع اصفهان ارزیابی شد. نتایج نشان دادند نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده در مقایسه با اسانس اسطوخودوس، دارای فعالیت بازدارندگی بیشتر و طیف اثر گسترده‌تری هستند. در مقابل، اسانس اسطوخودوس تنها در غلظت‌های زیاد (۱۰۰ درصد) اثر بازدارندگی چشمگیری از خود نشان داد که احتمالاً این موضوع به ترکیبات فرار و غلظت‌های استفاده‌شده اسانس مرتبط است. این مطالعه، پتانسیل کاربرد نانوذرات نقره زیست‌سنتز شده و اسانس را به‌عنوان عامل ضدقارچی مؤثر و امیدوارکننده در حفاظت از میراث فرهنگی مورد تأکید قرار می‌دهد.

نتیجه‌گیری

نانوذرات نقره مصرفی در این پژوهش، به‌صورت تجاری از شرکت نانوزیران خریداری شد. این نانوذرات نقره با استفاده از روش سنتز زیستی و با استفاده از عصاره آبی

^۲ Baicalin

^۳ Berberine

^۱ Conímbriga

آن روی بسترهای تاریخی و نیز زیست‌محیطی را کاهش دهد و گامی به سوی روش‌های پایدارتر در حفاظت باشد. در گام بعدی، لازم است تثبیت این نانوذرات روی حامل‌های پلیمری یا معدنی استفاده‌شده در مرمت مانند تثبیت‌کننده‌ها یا پوشش‌های نانوکامپوزیتی بررسی شود تا کارایی واقعی آنها به‌عنوان بخشی از روش حفاظتی پیشگیرانه یا درمانی روی مواد فرهنگی - تاریخی ارزیابی شود.

قدردانی

این مطالعه در آزمایشگاه‌های دکتر شایسته سپهر گروه میکروبیولوژی دانشگاه الزهراء انجام شد و توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تأمین اعتبار شد که بدین‌وسیله تقدیر می‌شود.

References

- [1] Perito B, Cavalieri D, editors. Innovative metagenomic approaches for detection of microbial communities involved in biodeterioration of cultural heritage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*; 2018: IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-99X/364/1/012074>
- [2] Alexander S-A, Schiesser CH. Heteroorganic molecules and bacterial biofilms: Controlling biodeterioration of cultural heritage. *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry*. 2017;2017. <http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.p009.765>
- [3] Guiamet PS, Soto DM, Schultz M. Bioreceptivity of archaeological ceramics in an arid region of northern Argentina. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019;141:2-9. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.10.003>
- [4] Li Y-H, Gu J-D. A more accurate definition of water characteristics in stone materials for an improved understanding and effective protection of cultural heritage from biodeterioration. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2022;166:105338. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105338>
- [5] Gambino M, Ahmed MA-aA, Villa F, Cappitelli F. Zinc oxide nanoparticles hinder fungal biofilm development in an ancient Egyptian tomb. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2017;122:92-9. 122:92-99. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.011>
- [6] Ghany TMA, Omar A, Elwkeel FM, Al Abboud MA, Alawlaqi M. Fungal deterioration of limestone false-door monument. *Heliyon*. 2019;5(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02673>
- [7] Helmi FM, Ali NM, Ismael SM. Nanomaterials for the inhibition of microbial growth on ancient Egyptian funeral masks. *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*. 2015; 15(3):87-. <https://doi.org/10.5281/zenodo.18360>
- [8] Urzì C, De Leo F, De Hoog S, Sterflinger K. Recent advances in the molecular biology and ecophysiology of meristematic stone-inhabiting fungi. *Of microbes and art: the role*

- of microbial communities in the degradation and protection of cultural heritage. 2000:3-19.
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-4239-1_1
- [9] Fernandes P. Applied microbiology and biotechnology in the conservation of stone cultural heritage materials. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006;73(2):291-6.
<https://doi.org/10.1007/s00253-006-0599-8>
- [10] Mohammadi P, Maghbolli-Balasjin N. Isolation and molecular identification of deteriorating fungi from Cyrus the Great tomb stones. *Iranian Journal of Microbiology*. 2014;6(5):361.
<https://ijm.tums.ac.ir/index.php/ijm/article/view/370>
- [11] Mateus DM, Ferraz E, Perna V, Sales P, Hipólito-Correia V. Essential oils and extracts of plants as biocides against microorganisms isolated from the ruins of the Roman city of Conímbriga (Portugal). *Environmental Science and Pollution Research*. 2024;31(28):40669-77.
<https://doi.org/10.1007/s11356-023-28212-6>
- [12] Goffredo GB, Citterio B, Biavasco F, Stazi F, Barcelli S, Munafo P. Nanotechnology on wood: The effect of photocatalytic nanocoatings against *Aspergillus niger*. *Journal of Cultural Heritage*. 2017; 27:125-36. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2017.04.006>
- [13] Carrillo-González R, Martínez-Gómez MA, González-Chávez MdCA, Hernández JCM. Inhibition of microorganisms involved in deterioration of an archaeological site by silver nanoparticles produced by a green synthesis method. *Science of the Total Environment*. 2016;565:872-81.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.110>
- [14] San Keskin NO, Kılıç NK, Dönmez G, Tekinay T. Green synthesis of silver nanoparticles using cyanobacteria and evaluation of their photocatalytic and antimicrobial activity. *Journal of Nano Research*. 2016;40:120-7.
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanor.40.120>
- [15] Santo AP, Agostini B, Cuzman OA, Michelozzi M, Salvatici T, Perito B. Essential oils to contrast biodeterioration of the external marble of Florence Cathedral. *Science of the Total Environment*. 2023;877:162913.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162913>
- [16] Abbasi Z FS, Taghipour E, Ghadam P. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dried *Juglans regia* green husk and examination of its biological properties. *Green Process Synth*. 2017;6:477–85. <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0108>
- [17] Aliasghari Veshareh A, Mohammadi P, Elikaei A, Urzi C, Leo FD. Biodeteriogenic potential of bacteria and fungi isolated from deteriorated areas of Masjed-e Jāmē of Isfahan, UNESCO Cultural Heritage. *Geomicrobiology Journal*. 2023;40(1):75-87.
<https://doi.org/10.1080/01490451.2022.2109080>
- [18] Barberia-Roque L, Gámez-Espinosa E, Viera M, Bellotti N. Assessment of three plant extracts to obtain silver nanoparticles as alternative additives to control biodeterioration of coatings. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019;141:52-61.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.011>
- [19] Gutarowska B, Rembisz D, Zduniak K, Skóra J, Szykowska M, Gliścińska E, et al. Optimization and application of the misting method with silver nanoparticles for disinfection of the historical objects. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012;75:167-75.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.10.002>
- [20] Essa AM, Khallaf MK. Biological nanosilver particles for the protection of archaeological stones against microbial colonization. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2014; 94:31-7.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.015>
- [21] Li T, Zhang H, Tan X, Zhang R, Wu F, Yu Z, et al. Antifungal activity evaluation of three traditional Chinese herbs against biodeterioration of cultural heritage. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2025;202:106093.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2025.106093>

