

# سنتز زیستی نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید بر پایه‌ی سویه‌های باکتریایی *Bacillus haynesii* sp. PN14F و *Bacillus* sp. B3 *halotolerans* و بررسی خواص کاتالیزگری و ضدباکتریایی آنها

نرگس رخشان<sup>۱</sup>، محمدرضا منصورنیا<sup>۲\*</sup>، فرشته جوکار کاشی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۲- دانشیار، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

\* صندوق پستی ۵۳۱۵۳-۸۷۳۱۷، کاشان، ایران

mansournia@kashanu.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۹

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵

## چکیده

پژوهش حاضر با هدف توسعه‌ی یک رویکرد ساده و سبز برای تولید نانوکامپوزیت نقره/نقره کلرید با استفاده از دو سویه‌ی باکتریایی و *Bacillus halotolerans* sp. B3 به روش خارج سلولی انجام شده است. سویه‌های PN14F و B3 از نمونه‌های خاک و پساب با روش رقیق‌سازی و کشت مستقیم جداسازی و مورد استفاده قرار گرفت. نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید از واکنش محلول نیترات نقره (I) و سوپرناتانت باکتریایی در شرایط کاملاً استریل در حضور نور سنتز شدند. علاوه بر این آزمایش‌های کنترل شده برای بهینه‌سازی برخی شرایط واکنش از جمله غلظت سوستر، pH، حجم سوستر، حجم سوپرناتانت باکتریایی، حضور گلوکز به عنوان الکترون دهنده و غلظت محلول نیترات نقره (I) به عنوان القاکننده انجام گردید. نتایج نشان داد شرایط بهینه برای نانوکامپوزیت‌های Ag1 و Ag2، ۷۵/۴ میلی‌لیتر سوپرناتانت، ۰/۲۵ میلی‌لیتر از نیترات نقره (I) یک میلی‌مولار و حضور الکترون دهنده و القاکننده است؛ با این تفاوت که نانوکامپوزیت‌های Ag1 در pH برابر ۷ و Ag2 در pH برابر ۸ بهترین بازده را دارند. محصولات با استفاده از روش‌های UV-Vis، XRD، FT-IR، FE-SEM و EDX مورد شناسایی قرار گرفتند. نانوکامپوزیت‌های زیستی حاصل Ag1 و Ag2 با اندازه ذرات ۳۰ و ۲۲/۳ نانومتر، به عنوان کاتالیزگرهای ناهمگن کارآمد برای کاهش ترکیب سمی پارانیتروفنول به ترکیب غیر سمی پارا آمینوفنول، مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین، نانوکامپوزیت‌ها فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. همچنین، نانوکامپوزیت Ag2 با مدت زمان احیای ۱۵ دقیقه‌ای، کاتالیزگر بهتری نسبت به نمونه‌ی Ag1 می‌باشد، که این موضوع را می‌توان به اندازه‌ی ریزتر نانوذرات آن نسبت داد.

**کلید واژگان:** نانوکامپوزیت زیستی، نقره/نقره کلرید، روش خارج سلولی، کاتالیزگر ناهمگن، فعالیت ضد میکروبی

## ۱-مقدمه

اخیراً سنتز نانوذرات فلزات نجیب به دلیل کاربردهای بالقوه در الکترونیک، فتونیک، کاتالیزورها، نانوپزشکی، مهندسی پزشکی، سلول‌های سوخت زیستی و بازیابی زیستی فلزات به طور ویژه مورد توجه قرار گرفته است [۱]. کاربردهای مهم نانوذرات معمولاً به اندازه آنها وابسته است، بنابراین سنتز نانوذرات با اندازه کنترل شده بسیار مطلوب می‌باشد [۲]. روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی می‌تواند برای تولید نانوذرات با ریخت‌شناسی معین و خواص منحصر به فرد استفاده شود. اما این سازوکارهای معمولی سنتزی به علت هزینه بالا و استفاده از مواد شیمیایی سمی و خطرناک ترجیح داده نمی‌شود [۳]. برای مقابله با این مسائل، در آغاز قرن اخیر استفاده از موجودات زنده به عنوان کارخانه‌های تولید نانوذرات معرفی شد و تقاضا برای به کارگیری روش‌های تمیز و سازگار با محیط زیست برای تولید نانوذرات گسترش یافت [۴]. تولید زیستی نانومواد به دلیل استفاده از شرایط ملایم تولید مانند دما، فشار و pH پایین توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۵]. از دیگر مزایای روش‌های زیستی می‌توان به ساده و سریع بودن، زیست سازگار بودن، کاهش مصرف انرژی، دردسترس بودن و نیز پایداری منابع اشاره کرد [۶]. از جمله مهمترین و پرکاربردترین سیستم‌های زیستی می‌توان به باکتری‌ها اشاره کرد. گزارش‌های زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه گونه‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌توانند یون‌های فلزات سنگین را جذب کنند. باکتری‌ها توانایی قابل توجهی برای احیای این یون‌ها دارند، همین امر باعث شده از آنها به عنوان نانوکارخانه‌های زیستی مهم برای سنتز نانوذرات یاد شود [۷]. سهولت کارکردن با باکتری‌ها و قابلیت دست کاری ژنتیکی آنها از مزایای قابل توجه استفاده از سیستم‌های باکتریایی برای سنتز نانوذرات است [۸].

در میان عناصر مختلف، نقره به عنوان یک فلز، توجه زیادی را برای سنتز نانوذرات نقره سبز به دلیل کاربردهای زیست-پزشکی، صنعتی و زیست محیطی به خود جلب کرده است. موارد کاربرد نانوذرات نقره شامل آنتی بیوتیک‌ها (فعالیت ضد میکروبی)، کاتالیزورها، حسگرها، تشخیص سرطان و تحویل دارو هستند. در برخی از این زمینه‌ها نانوذرات سنتز شده زیستی، مزایای ویژه‌ای به علت زیست سازگار بودن دارند. همچنین، نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید با توجه به خواص ضدباکتریایی قوی و سمیت کم در سلول‌های پستانداران اغلب در فرمول‌بندی محصولات تجاری استفاده می‌شوند [۹]. این نانومواد در صنایع بهداشتی، کاتالیزورها، لوازم الکترونیکی، مواد غذایی، رنگ، نساجی و لوازم آرایشی کاربرد دارند [۱۰]. نسبت سطح به حجم بالای این نانوذرات به آنها اجازه می‌دهد تا با میکروارگانیسم‌ها بهتر ارتباط برقرار کرده و به همین دلیل به عنوان عوامل ضد میکروبی قوی شناخته شده‌اند [۱۱]. علاوه بر این، در سال‌های اخیر نانوکامپوزیت‌های حاوی نقره/نقره کلرید به دلیل فعالیت فوتوکاتالیزگری [۱۲]، توانایی تخریب رنگ‌ها و آلاینده‌ها [۱۳] و تصفیه فاضلاب‌ها [۱۴] مورد توجه قرار گرفته‌اند.

سال‌های طولانی است که پارانیتروفنول و مشتقات آن که حتی در مقدار کم هم سمی هستند در صنایع تولیدی مختلف مثل تولید آفت‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها و رنگ‌های مصنوعی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۵]. این ترکیبات به علت داشتن حلالیت و پایداری بالا می‌توانند آب‌های طبیعی و سیستم‌های فاضلاب را آلوده کنند. بنابراین، معرفی یک سیستم تصفیه کارآمد برای تصفیه فاضلاب‌های حاوی پارانیتروفنول پیش از ورود به محیط‌های آبی بسیار مهم و ضروری است. نانوذرات به دلیل نسبت سطح به حجم بسیار بالا فعالیت کاتالیزگری خیلی خوبی در این زمینه از خود نشان داده‌اند. در سال‌های اخیر نانوذرات و

## ۲-۲ سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

سنتز نانوذرات با استفاده از دو سویه‌ی باکتریایی *Bacillus* و *Bacillus haynesii* sp. PN14F و *halotolerans* sp. B3 به دو روش داخل سلولی و خارج سلولی انجام شد. جزئیات روش‌های جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی این دو باکتری به‌طور کامل در پژوهش پیشین ما ارائه شده است [۱۷]. برای جداکردن توده‌ی سلولی از مایع رویی کشت باکتری، سوپرناتانت و توده‌ی سلولی با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه از هم جدا شدند. در مرحله‌ی بعد برای سنتز خارج سلولی نانوذرات نقره، محلول نیترات نقره (I) با غلظت معین با مقدار مشخصی سوپرناتانت در شرایط کاملاً استریل مخلوط و در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در حضور نور گرماده‌ی شد. هرگونه تغییر رنگ در محلول نشان دهنده‌ی سنتز نانوذرات است که این تغییر رنگ برای نانوذرات نقره باعث تغییر قابل توجهی در طیف UV-Vis در محدوده‌ی ۴۰۰-۶۰۰ می‌شود.

نانوکامپوزیت‌های فلزات مختلف به‌طور گسترده به‌عنوان کاتالیزگر برای حذف ترکیبات نیتروآروماتیک به‌کار رفته‌اند [۱۶]. از جمله نانوذرات بسیار مناسب برای حذف پارانیتروفنول از فاضلاب‌های آلوده، نانوذرات نقره هستند. بنابراین، هدف پژوهش حاضر، ارائه یک رویکرد ساده و سبز برای تولید نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید، بررسی خواص کاتالیزگری آنها در حذف پارانیتروفنول از فاضلاب‌های آلوده و همچنین بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوکامپوزیت‌های مذکور می‌باشد.

## ۲-مواد و روش‌ها

### ۲-۱ مواد

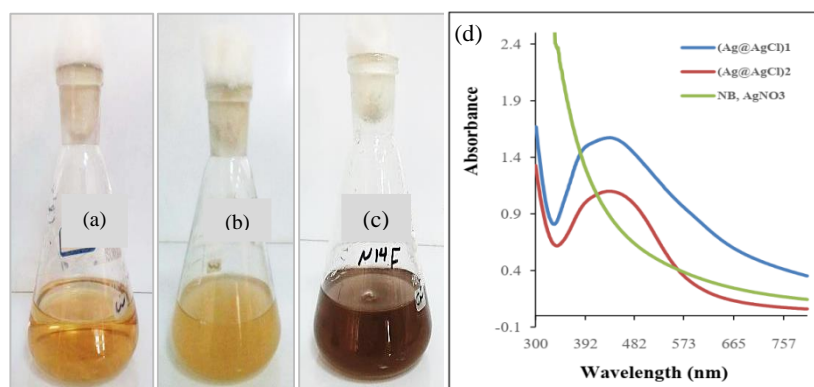
تمامی مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مصرف شده در این پژوهش با خلوص بالا خریداری شد و بدون خلوص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. فهرست کامل این مواد در جدول ۱ آورده شده است. محیط کشت‌ها، مواد و وسایل مورد استفاده در این پژوهش در صورت نیاز در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند.

جدول ۱ مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مورد استفاده در این پژوهش

ردیف	مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مورد نیاز	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده
۱	اتانول	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	نور زکریای رازی
۲	نقره نیترات (I)	AgNO <sub>3</sub>	Merck
۳	سدیم بور هیدرید	NaBH <sub>4</sub>	Merck
۴	پارانیتروفنول	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>3</sub>	Merck
۵	محیط کشت نوترینت براث	Nutrient Broth	Merck
۶	محیط کشت نوترینت آگار	Nutrient Agar	Merck
۷	محیط کشت مولر هینتون آگار	Muller Hinton Agar	Merck
۸	سدیم کلرید	NaCl	Merck
۹	دی متیل سولفوکسید	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS	Merck
۱۰	گلوکز	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Merck

برای جداسازی و خالص‌سازی نانوذرات نقره، سو سپانسیون مربوطه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و در نهایت پس از شستشو با آب مقطر و اتانول در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. در این پژوهش یک سری از آزمایش‌های کنترل شده برای بهینه‌سازی برخی شرایط واکنش از جمله غلظت سوپسترا، pH، حجم سوپسترا، حجم باکتری، حضور گلوکز (۵۶ میلی‌مولار) به‌عنوان الکترون دهنده، محلول نیترات نقره (I) (۰/۱ میلی‌مولار) به‌عنوان القاکنده فراهم شد [۱۸ و ۱۹]. تمامی شرایط آزمایشی مختلف مربوط به بهینه‌سازی این واکنش که در حجم ۵ میلی‌لیتر به‌طور جداگانه برای دو سویه PN14F و B3 انجام شد، در جدول ۲ خلاصه شده است.

در این پژوهش نانوذرات نقره‌ی تهیه شده به روش خارج سلولی از این دو سویه به ترتیب ۱ (Ag@AgCl) و ۲ سلولی (Ag@AgCl) نامگذاری شده و برای اختصار با Ag1 و Ag2 نمایش داده می‌شوند. شکل ۱، سو سپانسیون‌های باکتریایی دو سویه PN14F (a) و B3 (b) به همراه تغییر رنگ حاصل از سنتز نانوذرات نقره (c) را نشان می‌دهد. برای بررسی اثر ترکیبات موجود در محیط کشت نوترینت بر اثربخشی نانوذرات نقره، آزمونی به‌عنوان شاهد با همان روش ذکر شده‌ی فوق انجام شد با این تفاوت که در این آزمایش به جای سوپرناتانت، محیط کشت استریل به محلول مورد نظر اضافه شد.



شکل ۱ سو سپانسیون‌های باکتریایی (a) PN14F و (b) B3، نانوذرات نقره (c) و طیف‌های جذبی UV-Vis نانوکامپوزیت‌های Ag1 و (d)

Ag2

جدول ۲ کل شرایط آزمایشی سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

نمونه	pH	حجم باکتری (میلی‌لیتر)	حجم سوپسترا (میلی‌لیتر)	غلظت سوپسترا (میلی‌مولار)	الکترون دهنده	القاکنده
۱	۸	۲/۵	۲/۵	۱۰	+	+
۲	۴	۴/۷۵	۰/۲۵	۱	+	+
۳	۴	۰/۵	۵	۲۰	+	-
۴	۴	۳/۷۵	۱/۲۵	۵	+	+
۵	۴	۳/۷۵	۱/۲۵	۵	-	+

+	-	۲۰	۵	۰/۵	۸	۶
+	+	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۸	۷
-	-	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۷	۸
-	+	۱۰	۲/۵	۲/۵	۴	۹
+	+	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۶	۱۰
+	+	۱۰	۲/۵	۲/۵	۶	۱۱
+	+	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۷	۱۲
+	-	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۶	۱۳
-	+	۲۰	۵	۰/۵	۸	۱۴
-	-	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۸	۱۵
-	-	۲۰	۵	۰/۵	۴	۱۶
+	+	۲۰	۵	۰/۵	۷	۱۷
-	+	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۷	۱۸
+	-	۱۰	۲/۵	۲/۵	۴	۱۹
+	-	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۸	۲۰
-	+	۱۰	۲/۵	۲/۵	۶	۲۱
-	-	۲۰	۵	۰/۵	۶	۲۲
+	+	۲۰	۵	۰/۵	۶	۲۳
-	-	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۶	۲۴
-	+	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۷	۲۵
-	+	۵	۱/۲۵	۳/۷۵	۶	۲۶
+	-	۱۰	۲/۵	۲/۵	۷	۲۷
+	-	۲۰	۵	۰/۵	۷	۲۸
-	-	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۴	۲۹
-	-	۱۰	۲/۵	۲/۵	۷	۳۰
-	+	۱	۰/۲۵	۴/۷۵	۸	۳۱
-	-	۱۰	۲/۵	۲/۵	۸	۳۲

### ۲-۳ آنالیز نانوذرات

نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در این پژوهش با استفاده از دستگاه پراش پرتو X در محدوده  $2\theta$  بین  $10^\circ$  تا  $80^\circ$  و با استفاده از منبع  $Cu\ K\alpha$  شناسایی شدند. ویژگی‌های پیوندهای شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه تبدیل فوریه (FT-IR) در محدوده  $4000\text{ cm}^{-1}$  تا  $400\text{ cm}^{-1}$  با استفاده از قرص‌های KBr بررسی شد. ریخت شناسی و اندازه‌ی نانوذرات با استفاده از دستگاه میکروسکوپ

الکترونی روبشی (SEM) و به دنبال آن توزیع اندازه‌ی آنها از طریق تخمین قطر  $50\text{ nm}$  ذره از تصویر SEM، با استفاده از نرم‌افزار Digimizer تعیین شد. علاوه بر این، ترکیب عنصری نانوذرات با استفاده از طیف سنجی پراکندگی انرژی پرتو ایکس (EDX) مطالعه شد.

### ۲-۴ بررسی خواص ضد میکروبی

در این بخش از پژوهش فعالیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت‌های نقره در مقابل ۹ باکتری و یک مخمر به

موج به‌طور معمول مربوط به نانوذرات فلزی نقره می‌باشد [۲۲ و ۲۳]. براساس بررسی‌های انجام شده با روش بهینه‌سازی، بیشترین شدت نوار برای نانوکامپوزیت‌های Ag1 و Ag2 تهیه شده با استفاده از سویه‌های PN14F و B3 به ترتیب مربوط به نمونه‌های شماره ۱۲ و ۳۱ (طبق شرایط سنتزی ارائه شده در جدول ۲) و بعد از گذشت مدت زمان ۱۸ و ۴ ساعت بود که در طول موج‌های ۴۳۷ و ۴۳۴ نانومتر ظاهر شدند. شکل ۱ (d) طیف‌های جذبی UV-Vis این نانوکامپوزیت‌ها را به‌عنوان محصولات و محلول نیترات نقره (I) و محیط کشت نوترینت براث را به‌عنوان شاهد نشان می‌دهد. افزایش شدت SPR را می‌توان به افزایش سنتز نقره به‌علت تولید زیستی مداوم با استفاده از باکتری‌ها نسبت داد.

برای تعیین ویژگی‌های پیوند شیمیایی این دو نانوکامپوزیت نقره، طیف سنجی مادون قرمز در  $\text{cm}^{-1}$  ۴۰۰-۴۰۰۰ به کار برده شد. طیف‌های تبدیل فوریه‌ی مادون قرمز ثبت شده برای تعیین مولکول‌های زیستی موجود در سطح نانوکامپوزیت‌های نقره تهیه شده در شکل ۲ (a,b) نشان داده شده است. طیف FT-IR نانوکامپوزیت Ag1 (a)، وجود نوار پهن در  $\text{cm}^{-1}$  ۳۴۳۲ را نشان می‌دهد که به هم‌پوشانی ارتعاشات کششی O-H و N-H برمی‌گردد. در این طیف نیز نوارهای موجود در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۶۳۲ و ۱۳۸۴ به ترتیب مربوط به آمید نوع اول یا پیوندهای کربونیل و C-H در پروتئین‌ها هستند. همچنین، نوارهای موجود در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۰۸۱ و ۵۳۴ را می‌توان به ترتیب به ارتعاشات کششی C-N آمین‌های آلیفاتیک و گروه‌های آلکیل هالید نسبت داد. نتایج کاملاً مشابهی در مطالعه طیف FT-IR نانوکامپوزیت Ag2 (طیف b) مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهند که نانوکامپوزیت‌های نقره تهیه شده با این روش با مولکول‌های پروتئینی پوشیده شده‌اند و این می‌تواند روی زیست‌سازگاری بیشتر آنها موثر باشد.

لحاظ کمی و کیفی توسط اندازه‌گیری قطر هاله‌ی مربوطه، MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) ارزیابی شد. این باکتری‌ها شامل *Bacillus subtilis* (ATCC 10536)، *Escherichia Coli* (ATCC 6633)، *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)، *Klebsiella Staphylococcus aureus* (ATCC 29737)، *Shigella dysenteriae pneumonia* (ATCC 10031)، *Salmonella paratyphi-A serotype* (ATCC 1188)، *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) و *Proteus vulgaris* (PTCC 1182) می‌باشند. همچنین، مخمر *Candida albicans* (ATCC 10231) نیز استفاده شد. این ده میکروارگانیسم از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) خریداری شد. برای بررسی خاصیت ضد میکروبی این نانوکامپوزیت‌ها از روش ارائه شده در پژوهش پیشین استفاده شد [۲].

## ۲-۵ بررسی خواص کاتالیزگری

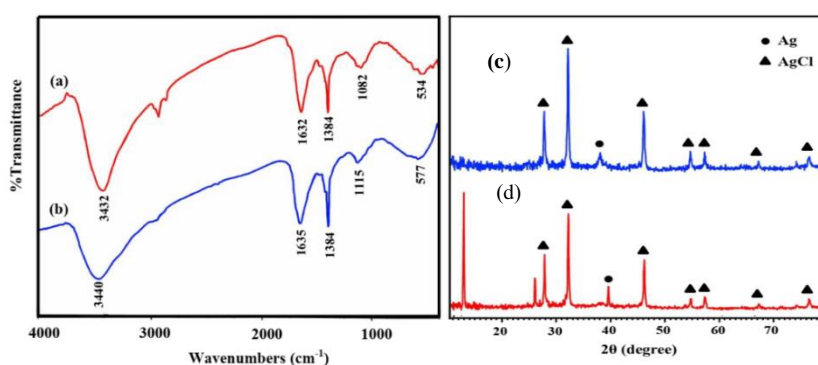
فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های سنتزی در واکنش کاهش پارانیترو فنول به پارا آمینو فنول با استفاده از سدیم بور هیدرید به‌عنوان یک عامل کاهنده در دمای اتاق بررسی شد. به این صورت که ۰/۱۷ میلی‌گرم از نانوکامپوزیت مورد نظر و ۱ میلی‌لیتر سدیم بور هیدرید (۱/۵ مولار) تازه تهیه شده به تناوب به ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی پارانیترو فنول (۱۲۰ میکرومولار) اضافه و در دمای اتاق روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. پیشرفت واکنش علاوه بر مشاهده تغییر رنگ محلول از زرد به بیرنگ با استفاده از دستگاه طیف‌سنج UV-Vis دنبال شد [۲۱].

## ۳- نتایج

تشکیل نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید در حضور دو سویه‌ی باکتریایی با تغییر قابل توجهی در محدوده‌ی ۴۰۰-۴۶۰ نانومتر اتفاق افتاد که بعد از چند دقیقه از شروع واکنش ظاهر شد. ویژگی SPR در این محدوده‌ی طول

الگوی XRD نانوکامپوزیت زیستی Ag<sub>2</sub> در شکل ۲ (d) به ترتیب در زوایای ۲۷/۹۰، ۳۲/۳۲، ۴۶/۳۴، ۵۴/۹۲ و ۵۷/۵۷ درجه ظاهر شده‌اند. علاوه بر این، خطوط موجود در زوایای ۱۴/۳۸ (c) و ۳۹/۷۲ (d) با صفحه‌ی ۱۱۱ از نقره‌ی مکعبی با شماره کارت ۰۱-۰۸۷-۰۷۱۷ مطابقت دارند. همچنین، تیز بودن پیک‌ها دلیل بر بلورینگی خوب محصول بوده و عدم وجود هیچگونه پیک اضافی نیز نشان دهنده‌ی خلوص بالای نانوکامپوزیت‌های تهیه شده است.

برای تخمین فاز ساختار بلوری این دو نانوکامپوزیت از الگوی پراش اشعه‌ی ایکس استفاده شد. در الگوی XRD نانوکامپوزیت زیستی AgI که در شکل ۲ (c) ارائه شده است، خطوط پراش با مقادیر  $\theta$  برابر با ۲۷/۸۲، ۳۲/۲۶، ۴۶/۲۴، ۵۴/۸۳ و ۵۷/۵۵ درجه به ترتیب ناشی از صفحات ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰، ۳۱۱ و ۲۲۲ از فاز مکعبی AgCl می‌باشند که همگی در توافق خوبی با شماره کارت ۰۱-۱۳۵۵-۰۸۵ هستند. پراش‌های مربوط به این صفحات در



شکل ۲ طیف‌های FT-IR نانوکامپوزیت‌های AgI (a) و Ag<sub>2</sub> (b) و الگوهای XRD نانوکامپوزیت‌های AgI (c) و Ag<sub>2</sub> (d)

حدود ۳۰ نانومتر به دست آمد، همچنین توزیع اندازه‌ی ذرات نسبتاً باریک و بین ۱۰-۴۵ نانومتر بود. به طور مشابه تصاویر FE-SEM نانوکامپوزیت Ag<sub>2</sub>، نانوذرات کروی شکل یکنواخت و کاملاً جدا از هم با متوسط اندازه‌ی ذرات حدود ۲۲/۳ نانومتر را مطابق شکل ۳ (d,e) نشان داد. توزیع اندازه‌ی ذرات این نانوکامپوزیت کمی باریک‌تر از نانوکامپوزیت AgI و در محدوده‌ی ۱۰-۳۵ نانومتر می‌باشد که برتری سویه B3 را در تولید نانوکامپوزیت مذکور نسبت به سویه PN14F اثبات می‌کند.

طیف‌سنجی EDX نیز برای بررسی ترکیب عنصری نانوکامپوزیت‌های AgI و Ag<sub>2</sub> برای تایید حضور نقره و کلر استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۴ (a,b) قابل مشاهده است هر دو نمونه شامل نقره و کلر به دلیل پیک

میانگین اندازه‌ی بلورک‌های Ag و AgCl با استفاده از معادله‌ی شرر، براساس صفحات ۱۱۱ از Ag و ۲۰۰ از AgCl، برای نانوکامپوزیت AgI به ترتیب ۴۶/۱۶ و ۳۴/۶۱ نانومتر تخمین زده شد. به طور مشابه، این مقادیر در مورد نانوکامپوزیت Ag<sub>2</sub> به ترتیب برابر با ۲۳/۴۶ و ۳۴/۶۳ نانومتر به دست آمد [۲۰ و ۲۴].

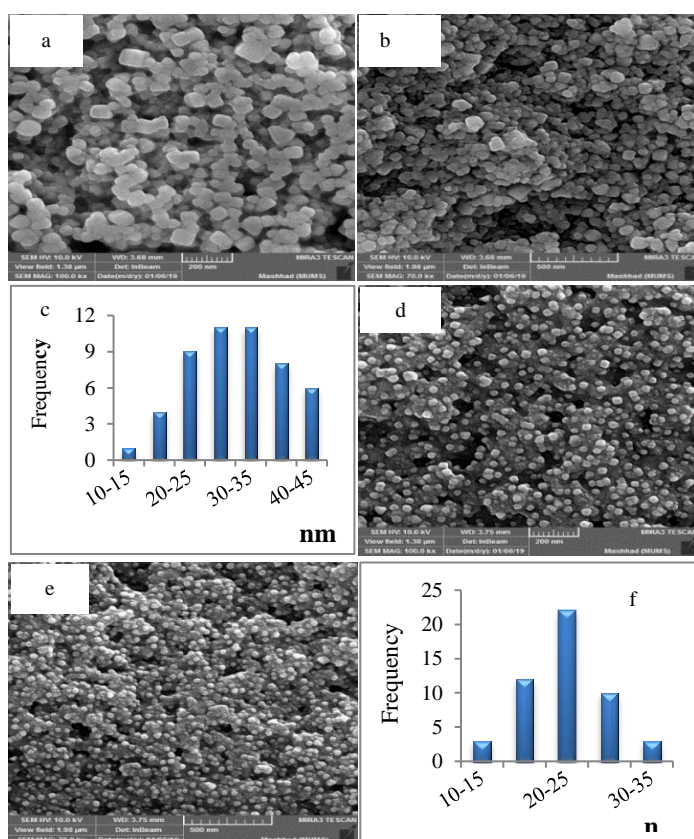
همچنین، میکروسکوپ الکترونی روبشی برای تعیین ریخت‌شناسی نانوکامپوزیت‌های AgI و Ag<sub>2</sub> به کار برده شد.

تصویر FE-SEM نمونه‌ی AgI در دو مقیاس ۲۰۰ و ۵۰۰ نانومتر در شکل ۳ (a,b) نشان داده شده است. بررسی این تصاویر وجود نانوذرات زاویه‌دار جدا از هم با پراکندگی خوب را نشان می‌دهد. متوسط اندازه‌ی نانوذرات تهیه شده با استفاده از هیستوگرام توزیع اندازه‌ی ذرات (c)

فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در احیای پارائیتروفنول در محلول آبی در حضور سدیم بور هیدرید به‌عنوان عامل کاهنده بررسی شد. به‌علت تشکیل یون‌های پارائیتروفنولات در محیط قلیایی، نوار جذبی بیشینه‌ی پارائیتروفنول بعد از اضافه کردن سدیم بور هیدرید از ۳۱۷ به ۴۰۰ نانومتر و رنگ محلول از زرد کم رنگ به زرد روشن تغییر کرد. در نهایت نیز با اضافه کردن نانوکامپوزیت، محلول بعد از مدت زمان مشخصی به‌طور کامل بی‌رنگ شد. همانگونه که در شکل ۴ (c,d) قابل مشاهده است نوار موجود در ۴۰۰ نانومتر حذف و نوار جدیدی در ۳۰۰ نانومتر ظاهر می‌شود که نشان دهنده‌ی احیای پارائیتروفنول به پارا آمینوفنول می‌باشد.

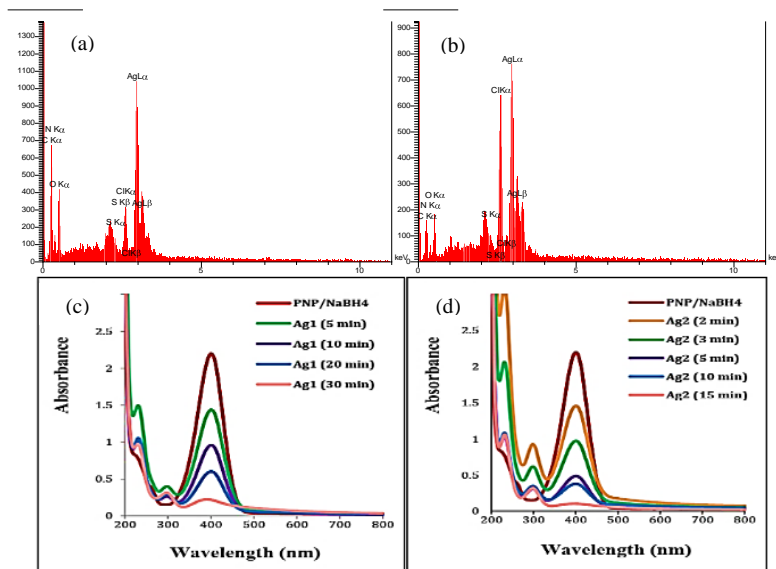
های جذب نوری مشخصه‌ی آنها به‌ترتیب در حدود ۳ و ۲/۶ کیلو الکترون ولت بودند.

نتایج مربوط به فعالیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت‌های نقره تهیه شده در این پژوهش در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان فعالیت ضد میکروبی دو نانوکامپوزیت *P. aeruginosa* با قطر هاله عدم رشد ۱۳ میلی‌متر و کمترین اثر ضد میکروبی علیه باکتری *S. epidermidis* با قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر می‌باشد. بنابراین، همان‌طور که انتظار می‌رفت فعالیت ضد میکروبی دو نانوکامپوزیت مشابه و نشان دهنده‌ی یکسان بودن نوع و ساختار دو نانوکامپوزیت تولید شده می‌باشد.



شکل ۳ تصاویر SEM نانوکامپوزیت Ag1 در دو مقیاس ۲۰۰ (a) و ۵۰۰ نانومتر (b). به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (c)، و نانوکامپوزیت Ag2 در دو مقیاس ۲۰۰ (d) و ۵۰۰ نانومتر (e) به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (f)





شکل ۴ طیف‌های EDX نانوکامپوزیت‌های (a) Ag<sub>1</sub> و (b) Ag<sub>2</sub> و تغییرات طیف‌های جذب UV-Vis محلول‌های PNP بعد از اضافه کردن NaBH<sub>4</sub> در حضور دو نانوکامپوزیت Ag<sub>1</sub> و Ag<sub>2</sub>

جدول ۳ نتایج بررسی قطر هاله‌ی عدم رشد (بر حسب میلی‌متر)، MIC و MBC نانوکامپوزیت‌های Ag<sub>1</sub> و Ag<sub>2</sub>

میکروارگانیسم‌ها	Ag <sub>1</sub>			Ag <sub>2</sub>		
	DD (mm)	MIC	MBC	DD (mm)	MIC	MBC
<i>B subtilis</i>	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	۵۰۰	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	۵۰۰
<i>E coli</i>	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>K pneumoniae</i>	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>P vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P aeruginosa</i>	۱۳	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۳	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>S paratyphi-A serotype</i>	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>S dysenteriae</i>	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>S aureus</i>	۱۰	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۰	۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>S epidermidis</i>	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
<i>C albicans</i>	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵

## ۴- بحث

از مقایسه‌ی اندازه‌ی نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید Ag1 و Ag2 به دست آمده با روش‌های XRD و SEM که در توافق کامل با یکدیگر هستند، به نظر می‌رسد سویه B3 توانایی بیشتری برای تهیه نانوذرات با اندازه‌ی کوچکتر و توزیع اندازه‌ی ذرات باریک‌تر نسبت به سویه PN14F دارد. بنابراین استفاده از این سویه برای تهیه نانوذرات با توجه به سریع بودن فرایند رشد باکتری، صرف وقت و هزینه‌ی کمتر و تهیه نانوذرات با اندازه‌ی ریزتر، به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. بررسی فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های سنتزی نشان می‌دهد که نوار موجود در ۴۰۰ نانومتر در غیاب نانوکامپوزیت‌های نقره حتی بعد از ۴۸ ساعت نیز تغییر نکرده است (شکل ۴)، به بیان دیگر سدیم بور هیدرید به تنهایی قادر به احیای پارانیتروفنول نمی‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که فرایند احیای پارانیتروفنول با استفاده از نانوکامپوزیت‌های نقره به دلیل انتقال الکترون و اتم هیدروژن از  $BH_4^-$  به این ترکیب آلی است [۲۵]. در واقع کاتالیزگر را می‌توان به عنوان یک سیستم انتقال دهنده‌ی الکترون موثر در نظر گرفت که انتقال بار را در طول فرایند احیا تسهیل می‌کند. به همین ترتیب، احیا می‌تواند از طریق یک فرایند انتقال شش الکترونی از  $BH_4^-$  به پارانیتروفنول با استفاده از جذب مولکول‌های واکنشگر روی سطح کاتالیزگر انجام شود. بنابراین، این واکنش را می‌توان در سه مرحله خلاصه کرد که این سه مرحله به ترتیب شامل، جذب واکنشگر بر روی سطح کاتالیزگر، احیای پارانیتروفنول با انتقال الکترون از  $BH_4^-$  به آنیون‌های نیتروفنولات هم زمان با جذب هر دو روی سطح و در پایان، جداسازن پارانیتروفنول از سطح می‌باشند [۲۶]. همچنین، با توجه به اینکه سرعت احیای پارانیتروفنول در حضور سدیم بورهیدرید در مورد نانوکامپوزیت‌های مختلف، متفاوت

است، بررسی نتایج حاصل از فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های Ag@AgCl نشان داد که در میان دو نانوکامپوزیت، نمونه‌ی Ag2 (نانوکامپوزیت تهیه شده با سویه B3) با مدت زمان احیای ۱۵ دقیقه‌ای، کاتالیزگر بهتری نسبت به نمونه‌ی Ag1 (نانوکامپوزیت تهیه شده با سویه PN14F) می‌باشد، که این موضوع را می‌توان به اندازه‌ی ریزتر نانوذرات Ag2 نسبت داد. این مدت زمان کوتاه برای فرایند احیا در مقایسه با نتایج پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر بسیار امیدوارکننده است.

به طور کلی، از مقایسه‌ی روش سنتز و کاربردهای بررسی شده در پژوهش حاضر با تحقیقات اخیر که به برخی از آنها در جدول ۴ اشاره شده است [۳۷-۳۵]، می‌توان نتیجه گرفت که روش سنتز ارائه شده در این پژوهش بسیار ساده و کم هزینه می‌باشد. نانوکامپوزیت‌های مذکور بدون استفاده از هیچگونه ماده جانبی از جمله سورفکتانت تهیه شدند، در حالی که بیشتر سنتزهای میکروبی نانوذرات نقره در حضور سورفکتانت‌های مختلف از جمله رامولیبیدها، فوکولانت زیستی، فلاژلین که تنها به ذکر چند مورد از آنها در جدول ۴ اکتفا شده است، انجام شده‌اند. همچنین، نانوکامپوزیت‌های نقره سنتزی در این پژوهش علاوه بر اینکه در واکنش کاهش پارانیتروفنول به پارا آمینوفنول با استفاده از کاهنده‌ی سدیم بور هیدرید توانایی کاتالیزگری بسیار خوبی را در مقایسه با سایر پژوهش‌ها از خود نشان دادند، در زمینه‌ی کاربرد ضد میکروبی نیز در مقابل ۹ میکروارگانیسم مختلف از جمله ۸ باکتری و یک مخمر فعالیت خوبی داشتند، در صورتی که تا کنون فعالیت ضد میکروبی نانوکامپوزیت‌های مشابه تنها در مقابل یک یا چند باکتری گزارش شده است. علاوه بر این، نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در این پژوهش در هر دو زمینه‌ی ضد میکروبی و کاتالیزگری موثر بودند در حالی که مطالعات دیگر کاربرد این نانوکامپوزیت‌ها را تنها در یکی از این دو مورد گزارش نموده‌اند.

جدول ۴ مقایسه‌ی روش سنتز و کاربردهای نانوذرات و نانوکامپوزیت‌های نقره در پژوهش‌های اخیر و پژوهش حاضر

مرجع	خاصیت ضد میکروبی	زمان واکنش احیا (min)	پایدارکننده زیستی	اندازه (nm)	روش سنتز	نانوساختار
[۲۷]	-	-	رامنولیبیدها	۱۵/۱±۵/۸	Pseudomonas aeruginosa	Ag
[۲۸]	-	-	یک آنزیم	۵۰-۸۰	Bacillus cereus	Ag
[۲۹]	-	-	فوکولانت زیستی	۶۰	Bacillus subtilis	Ag
[۳۰]	-	-	فلازین	۳-۱۱	Salmonella typhimurium	Ag
[۳۱]	-	۲۰	-	۱۳-۴۴	عصاره گیاه گاردیا رزینفرا	Ag
[۳۲]	-	۵۰-۱۲۰	-	۱۶-۴۰	هیدروترمال/سولوترمال	Ag/F <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
[۳۳]	-	۱۰-۲۰	-	۳-۱۰	S. oneidensis MR- / شیمیایی	Ag/rGO
[۳۴]	E. coli فقط	-	-	۲۵۰ و ۱۷	عصاره‌ی سیر	Ag/AgCl
[۳۵]	۲ میکروارگانسیم	-	-	۵۰ و ۱۰	شیمیایی	Ag
[۳۶]	۴ میکروارگانسیم	-	-	۱۷	عصاره‌ی جلبک چارا	Ag/AgCl
پژوهش حاضر	۹ میکروارگانسیم	۱۵ ۳۰	-	۱۰-۳۵ ۱۰-۴۵	باکتری B3 باکتری PN14F	Ag/AgCl

[3] Narayanan K B, Sakthivel N, Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Adv. Colloid Interf. Sci. 2010; 156(1-2):1-13.

[4] Fayaz A M, Balaji K, Girilal M, Yadav R, Kalaichelvan P T, Venketesan R, Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. Nanomedicine 2010; 6:103-109.

[5] Panigrahi S, Kundu S, Ghosh S K, Nath S, Pal T, Sugar assisted evolution of mono-and bimetallic nanoparticles. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Aspects 2005; 264:133-138.

[6] Singh P, Kim Y, Zhang D, Yang D, Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. Trends Biotechnol. 2016; 34(7):588-599.

[7] Irvani S, Bacteria in nanoparticle synthesis: current status and future prospects. Int. Sch. Res. Notices 2014; 18.

[8] Kalishwaralal K, Deepak V, Pandian S R K, Gurunathan S, Biological synthesis of gold

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه کاشان برای حمایت در اجرای این پژوهش (گزارش شماره ۷۸۵۱۰۳/۱) تشکر و قدردانی می‌کنند.

### تاییدیه‌های اخلاقی، تعارض منافع و سهم نویسندگان

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

### ۵- منابع

[1] Daraee H, Eatemadi A, Abbasi E, Fekri Aval S, Kouhi M, Akbarzadeh A, Artif, Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. Cell Nanomed. Biotechnol. 2016; 44(1):410-422.

[2] Wang L, Ali J, Zhang C, Mailhot G, Pan G, Simultaneously enhanced photocatalytic and antibacterial activities of TiO<sub>2</sub>/Ag composite nanofibers for wastewater purification. J. Environ. Chem. Eng. 2017; 8(1):057.

- [18] Jha A K, Prasad K, Kulkarni A, Green synthesis of silver nanoparticles: a review. *Colloids. Surf. Biointerfaces* 2009; 73:219–223.
- [19] Korbekandi H, Iravani S, Abbasi S, Production of nanoparticles using organisms. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2009; 29(4):279–306.
- [20] Rakhshan N, Mansournia M, J Kashi F, Plant extract-strategy using *Teucrium Polium* stems to green synthesize Ag/AgCl bionanocomposite imprinted on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/kaolinite and potentials in catalytic and chemosensor applications. *Arab. J. Chem.* 2022; 15(4):103719.
- [21] Zheng Y, Shu J, Wang Z, Ag@AgCl composites with rough surfaces as bifunctional catalyst for the photooxidation and catalytic reduction of 4-nitrophenol. *Mater. Lett.* 2015; 158:339–342.
- [22] Shu J, Wang Z, Xia G, Zheng Y, Yang L, Zhang W, One-pot synthesis of Ag@AgCl hybrid photocatalyst with high photocatalytic activity and photostability under visible light and sunlight irradiation. *Chem. Eng. J.* 2014; 252:374–81.
- [23] Meva F E, Segnou M L, Ebongue C O, Ntomba A A, Kedi P B E, Deli V, Etoh M A, Mpondo E M, Spectroscopic synthetic optimizations monitoring of silver nanoparticles formation from *Megaphrynium macrostachyum* leaf extract. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2016; 26:640–646.
- [24] Jenkins R, Snyder R L, Introduction to X-Ray powder diffractometry. Inc. New York. 1996; 138.
- [25] Sun L, He J, An S, Zhang J, Zheng J, Ren D, Recyclable Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>-Ag magnetic nanospheres for the rapid decolorizing of dye pollutants. *Chin. J. Catal.* 2013; 34(7):1378–1385.
- [26] Kong X K, Zhu H Y, Chen C L, Huang G M, Chen Q W, Insights into the reduction of 4-nitrophenol to 4-aminophenol on catalysts. *Chem. Phys. Lett.* 2017; 684:148.
- [27] Kumar C G, Mamidyala S K, Extracellular synthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Colloids Surf. B* 2011; 84(2):462–466.
- [28] Deepak V, Umamaheshwaran P S, Guhan K, Nanthini R A, Krithiga B, Meeran N, Jaithoon H, Gurunathan S, Synthesis of gold nanocubes from *Bacillus licheniformis*. *Bioresource Technol.* 2009; 100:5356-5358.
- [9] Rai M, Yadav A, Gade A, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol. Adv.* 2009; 27(1):76–83.
- [10] Jung W K, Koo H C, Kim K W, Shin S, Kim S H, Park Y H, Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(7):2171–2178.
- [11] Kim J S, Kuk E, Yu K N, Kim J H, Park S J, Lee H J, Kim S H, Park Y K, Park Y H, Hwang C Y, Kim Y K, Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: NBM* 2007; 3(1):95–101.
- [12] Wang P, Huang B, Qin X, Zhang X, Dai Y, Wei J, Whangbo M H, Ag@AgCl: a highly efficient and stable photocatalyst active under visible light. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2008; 47(41):7931-3.
- [13] Devi T B, Ahmaruzzaman M, Bio-inspired sustainable and green synthesis of plasmonic Ag/AgCl nanoparticles for enhanced degradation of organic compound from aqueous phase. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016; 23:17702–17714.
- [14] Lombi E, Donner E, Taheri S, Tavakkoli E, Jämting A K, McClure S, Naidu R, Miller B W, Scheckel K G, Vasilev K, Transformation of four silver/silver chloride nanoparticles during anaerobic treatment of wastewater and post-processing of sewage sludge. *Environ. Pollut.* 2013; 176:193–197.
- [15] Vil'pan Y A, Grinshtein I L, Akatov A A, Gucer S, Direct atomic absorption determination of mercury in drinking water and urine using a two-step electrothermal atomizer. *J. Anal. Chem.* 2005; 60(1):38-44.
- [16] Chang Y C, Chen D H, Catalytic reduction of 4-nitrophenol by magnetically recoverable Au nanocatalyst. *J. Hazard. Mater.* 2009; 165(1-3):664–669.
- [17] Rakhshan N, Mansournia M, J Kashi F, A magnetic four component nanocomposite: biosynthesis using *Melissa officinalis* leaves extract, application in high-performance naked-eye sensing of mercury(II) and efficient catalytic reduction of para-nitrophenol. *J. Cluster Sci.* 2022; 33(6):2559-2572.

and silver nanoparticles using purified URAK. *Colloids Surf. B* 2011; 86(2):353–358.

[29] Sathiyarayanan G, Kiran G S, Selvin J, Synthesis of silver nanoparticles by polysaccharide bioflocculant produced from marine *Bacillus subtilis* MSBN17. *Colloids Surf. B* 2013; 102:13–20.

[30] Gopinathan P, Ashok A M, Selvakumar R, Bacterial flagella as biotemplate for the synthesis of silver nanoparticle impregnated bionanomaterial. *Appl. Surf. Sci.* 2013; 276:717–722.

[31] Parit S B, Karade V C, Patil R B, Pawar N V, Dhavale R P, Tawre M, Pardesi K, Jadhav U U, Dawkar V V, Tanpure R S, Kim J H. Bioinspired synthesis of multifunctional silver nanoparticles for enhanced antimicrobial and catalytic applications with tailored SPR properties. *Mater. Today Chem.* 2020; 17:100285.

[32] Wang N, Zeng S, Yuan H, Huang J, Morphology-dependent interfacial interactions of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> with Ag nanoparticles for determining the catalytic reduction of p-nitrophenol. *J. Environ. Sci.* 2020.

[33] Song X, Shi X, Biosynthesis of Ag/reduced graphene oxide nanocomposites using *Shewanella oneidensis* MR-1 and their antibacterial and catalytic applications. *Appl. Surf. Sci.* 2019; 491:682–689.

[34] Boonupara T h, Kajitvichyanukul P, Facile synthesis of Plasmonic Ag/AgCl nanoparticles with Aqueous Garlic Extract (*Allium Sativum* L.) for Visible-light triggered antibacterial activity. *Mater. Lett.* 2020; 277:128362.

[35] Kubo A L, Capjak I, Vrcek I V, Bondarenko O M, Kurvet I, Vija H, Ivask A, Kasemets K, Kahru A. Antimicrobial potency of differently coated 10 and 50 nm silver nanoparticles against clinically relevant bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Colloids Surf. B* 2018; 170:401-410.

[36] Hassan K T, Ibraheem I J, Hassan O M, Obaid A S, Ali H H, Salih T A, Kadhim M S. Facile green synthesis of Ag/AgCl nanoparticles derived from *Chara* algae extract and evaluating their antibacterial activity and synergistic effect with antibiotics. *J. Environ. Chem. Eng.* 2021; 9:105359.

# Biosynthesis of Ag/AgCl nanocomposites based on bacterial strains *Bacillus haynesii* sp. PN14F and *Bacillus halotolerans* sp. B3, and investigation of their catalytic and antibacterial properties

Narges Rakhshan<sup>1</sup>, Mohammadreza Mansournia<sup>2\*</sup>, Fereshteh Jookar Kashi<sup>3</sup>

1- Ph.D candidate, Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

2- Associated professor, Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

3- Associated professor, Department of Molecular Biology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

mansournia@kashanu.ac.ir

Receipt: 2023/01/25

Accepted: 2024/06/08

## Abstract

The present research aims to develop a simple green approach to produce Ag/AgCl nanocomposites using bacterial strains *Bacillus haynesii* sp. PN14F and *Bacillus halotolerans* sp. B3, via an extracellular process. The bacterial strains PN14F and B3 were isolated from the soil and wastewater samples using dilution and direct cultivation. The Ag/AgCl nanocomposites were synthesized from the reaction of silver (I) nitrate solution and supernatant under completely sterile conditions in the presence of light. Moreover, a series of controlled experiments were provided to optimize reaction conditions such as substrate concentration, PH, substrate volume, bacterial volume, glucose as an electron donor, and silver (I) nitrate as an inducer. The results showed that the best conditions for Ag1 and Ag2 nanocomposites were 4.75 ml of supernatant, 0.25 ml of 1 mM silver(I) nitrate, and the presence of electron donor and inducer. The Ag1 nanocomposite at pH 7 and Ag2 nanocomposite at pH 8 had the best efficiency. The products were characterized using UV-Vis, XRD, FT-IR, FE-SEM, and EDX techniques. The resulting bionanocomposite, Ag1 and Ag2 with an average particle size of 30 and 22.3 nm, were efficient heterogeneous catalysts for reduce of para-nitrophenol to para-aminophenol. Further, it demonstrated their antibacterial properties against gram-positive and negative bacteria. The results showed that the Ag2 sample with a reducing time of 15 min is more efficient catalyst than the Ag1 nanocomposite, which can be attributed to the smaller size of its nanoparticles.

**Keywords:** Bionanocomposite, Ag/AgCl, Extracellular process, Heterogeneous catalyst, Antimicrobial activity