

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^۱، محمدرضا منصورنیا^{۲*}، فرشته جوکار کاشی^۳

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 زیست شناسی 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 *Bacillus halotolerans* sp. B3 و *Bacillus* sp. PN14F به روش خارج سلولی انجام شده است. سویه‌های B3 و PN14F از نمونه‌های خاک و پساب با روش رقیق سازی 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 میلی لیتر سوپرناتانت، ۰/۲۵ میلی لیتر از نیترات نقره (I) یک میلی مولار 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 می باشد [۲]. روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی می تواند برای تولید نانوذرات با ریخت شناسی 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 نمی شود [۳]. برای مقابله با این مسائل، در آغاز قرن اخیر استفاده از موجودات زنده به عنوان کارخانه های تولید نانوذرات معرفی شد و تقاضا برای به کارگیری روش های 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 روش های زیستی می توان به ساده و سریع بودن، زیست سازگار بودن، کاهش مصرف انرژی، دردسترس بودن و نیز پایداری منابع اشاره کرد [۶]. ازجمله مهمترین و پرکاربردترین سیستم های زیستی می توان به باکتری ها اشاره کرد. گزارش های زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه گونه های مختلف باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می توانند یون های فلزات سنگین را جذب کنند. باکتری ها توانایی قابل توجهی برای احیای این یون ها دارند، همین امر باعث شده از آنها به عنوان نانوکارخانه های زیستی مهم برای سنتز نانوذرات یاد شود [۷]. سهولت کارکردن با باکتری ها و قابلیت دست کاری ژنتیکی آنها از مزایای قابل توجه استفاده از سیستم های 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 بیوتیک ها (فعالیت ضد میکروبی)، کاتالیزورها، حسگرها، تشخیص سرطان و تحویل دارو هستند. در برخی از این زمینه ها نانوذرات سنتز شده زیستی، مزایای ویژه ای به علت زیست سازگار بودن دارند. همچنین، نانوکامپوزیت های نقره/نقره کلرید با توجه به خواص ضدباکتریایی قوی و سمیت کم در سلول های پستانداران اغلب در فرمول بندی محصولات تجاری استفاده می شوند [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 می دهد تا با میکروارگانیسم ها بهتر ارتباط برقرار کرده و به همین دلیل به عنوان عوامل ضد میکروبی قوی شناخته شده اند [۱۱]. علاوه بر این، در سال های اخیر نانوکامپوزیت های حاوی نقره/نقره کلرید به دلیل فعالیت فوتوکاتالیزگری [۱۲]، توانایی تخریب رنگ ها و آلاینده ها [۱۳] و تصفیه فاضلاب ها [۱۴] مورد توجه قرار گرفته اند.

سال های طولانی است که پارانیتروفنول و مشتقات آن که حتی در مقدار کم هم سمی هستند در صنایع تولیدی مختلف مثل تولید آفت کش ها، قارچ کش ها، علف کش ها، حشره کش ها و رنگ های مصنوعی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرند [۱۵]. این ترکیبات به علت داشتن حلالیت و پایداری بالا می توانند آب های طبیعی و سیستم های فاضلاب را آلوده کنند. بنابراین، معرفی یک سیستم تصفیه کارآمد برای تصفیه فاضلاب های حاوی پارانیتروفنول پیش از ورود به محیط های 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 داده اند. در سال های اخیر نانوذرات و

۲-۲ سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

سنتز نانوذرات با استفاده از دو سویه‌ی باکتریایی *Bacillus* sp. PN14F و *Bacillus haynesii* 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 ۴۰۰-۴۶۰ می‌شود.

نانوکامپوزیت‌های فلزات مختلف به‌طور گسترده به‌عنوان کاتالیزگر برای حذف ترکیبات نیتروآروماتیک به‌کار رفته‌اند [۱۶]. ازجمله 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

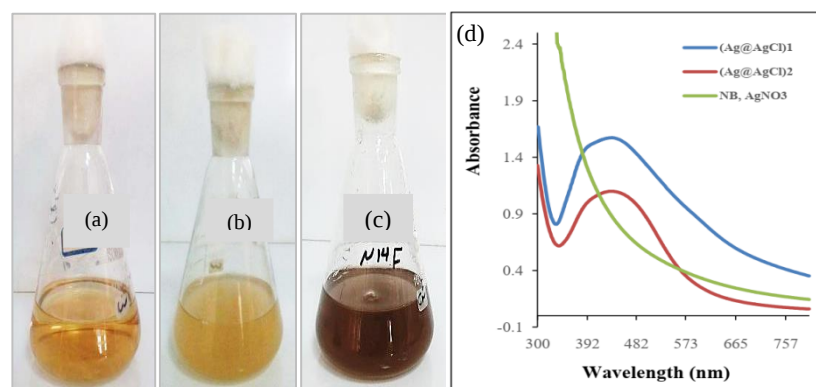
تمامی مواد شیمیایی و محیط کشت‌های مصرف شده در این پژوهش با خلوص بالا خریداری شد و بدون خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. فهرست کامل این مواد در جدول ۱ آورده شده است. محیط کشت‌ها، مواد و وسایل مورد استفاده در این پژوهش در صورت نیاز در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل 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 ₂ H ₆ O	نور زکریای رازی
۲	نقره نیترات (I)	AgNO ₃	Merck
۳	سدیم بور هیدرید	NaBH ₄	Merck
۴	پارانیتروفنول	C ₆ H ₅ NO ₃	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 ₂ H ₆ OS	Merck
۱۰	گلوکز	C ₆ H ₁₂ O ₆	Merck

برای جداسازی و خالص سازی نانوذرات نقره، سو سپانسیون مربوطه با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و در نهایت پس از شستشو با آب مقطر و اتانول در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شد. در این پژوهش یک سری از آزمایش های کنترل شده برای بهینه سازی برخی شرایط واکنش از جمله غلظت سوپسترا، pH، حجم سوپسترا، حجم باکتری، حضور گلوکز (۵۶ میلی مولار) به عنوان الکترون دهنده، محلول نیترات نقره (I) (۰/۱ میلی مولار) به عنوان القاکنده فراهم شد [۱۸ و ۱۹]. تمامی شرایط آزمایشی مختلف مربوط به بهینه سازی این واکنش که در حجم ۵ میلی لیتر به طور جداگانه برای دو سویه PN14F و B3 انجام شد، در جدول ۲ خلاصه شده است.

در این پژوهش نانوذرات نقره ی 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 می شوند. شکل ۱، سو سپانسیون های باکتریایی دو سویه (a) PN14F و (b) B3 به همراه تغییر رنگ حاصل از سنتز نانوذرات نقره (c) را نشان می دهد. برای بررسی اثر ترکیبات موجود در محیط کشت نوترینت بر اث در تهیه نانوذرات نقره، آزمونی به عنوان شاهد با همان روش ذکر شده ی 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 سپانسیون های باکتریایی (a) PN14F و (b) B3، نانوذرات نقره (c) و طیف های جذبی UV-Vis نانوکامپوزیت های Ag1 و (d) Ag2

جدول ۲ کل شرایط آزمایشی سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

نمونه	pH	حجم باکتری (میلی لیتر)	حجم سوپسترا (میلی لیتر)	غلظت سوپسترا (میلی مولار)	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

۳-۲ آنالیز نانوذرات

نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در این پژوهش با استفاده از دستگاه پراش پرتو X در محدوده ۲θ بین ۱۰ تا ۸۰ و با استفاده از منبع Cu Kα شناسایی شدند. ویژگی‌های پیوندهای شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه تبدیل فوریه (FT-IR) در محدوده 4000 تا 400 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 ۵۰ 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.

۴-۲ بررسی خواص ضد میکروبی

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

لحاظ کمی و کیفی توسط اندازه گیری 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 5702)، *Proteus vulgaris* (PTCC 1182) و 27853 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 به عنوان یک عامل کاهنده در دمای اتاق بررسی شد. به این صورت که ۰/۱۷ میلی گرم از نانوکامپوزیت مورد نظر و ۱ میلی لیتر سدیم بور هیدرید (۱/۵ مولار) تازه تهیه شده به تناوب به ۱۰ میلی لیتر 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 طیف سنج UV-Vis دنبال شد [۲۱].

۳- نتایج

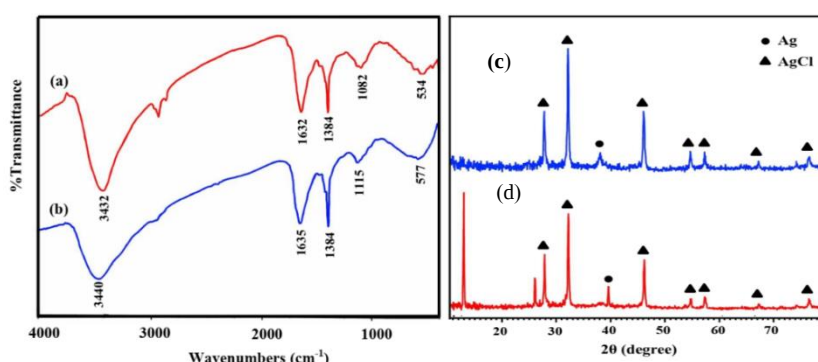
تشکیل نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید در حضور دو سویه‌ی باکتریایی با تغییر قابل توجهی در محدوده‌ی ۴۰۰-۶۰ نانومتر اتفاق افتاد که بعد از چند دقیقه از شروع واکنش ظاهر شد. ویژگی SPR در این محدوده‌ی طول

موج به طور معمول مربوط به نانو ذرات فلزی نقره می‌باشد [۲۲ و ۲۳]. براساس بررسی‌های انجام شده با روش بهینه سازی، 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 به عنوان محصولات و محلول نیترات نقره (I) و محیط کشت نوترینت براث را به عنوان شاهد نشان می‌دهد. افزایش شدت SPR را می‌توان به افزایش سنتز نقره به علت تولید زیستی مداوم با استفاده از باکتری‌ها نسبت داد.

برای تعیین ویژگی‌های پیوند شیمیایی این دو نانوکامپوزیت نقره، طیف سنجی مادون قرمز در cm^{-1} ۴۰۰-۴۰۰۰ به کار برده شد. طیف‌های تبدیل فوری 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 cm^{-1} ۳۴۳۲ را نشان می‌دهد که به هم‌پوشانی ارتعاشات کششی O-H و N-H برمی گردد. در این طیف نیز نوارهای موجود در 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 cm^{-1} ۱۰۸۱ و ۵۳۴ را می‌توان به ترتیب به ارتعاشات کششی C-N آمین‌های آلفاتیک و گروه‌های آلکیل هالید نسبت داد. نتایج کاملاً مشابهی در مطالعه طیف FT-IR نانوکامپوزیت Ag2 (ب) مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهند که نانوکامپوزیت‌های نقره تهیه شده با این روش با مولکول‌های پروتئینی پوشیده شده‌اند و این می‌تواند روی زیست سازگاری بیشتر آنها موثر باشد.

الگوی XRD نانوکامپوزیت زیستی Ag2 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 ۰۷۱۷-۰۸۷-۰۱ 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 Ag1 که در شکل ۲ (c) ارائه شده است، خطوط پراش با مقادیر θ 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 ۱۳۵۵-۰۸۵-۰۱ هستند. پراش‌های مربوط به این صفحات در



شکل ۲ طیف‌های FT-IR نانوکامپوزیت‌های Ag1 (a) و Ag2 (b) و الگوهای XRD نانوکامپوزیت‌های Ag1 (c) و Ag2 (d)

حدود ۳۰ نانومتر به‌دست آمد، همچنین توزیع اندازه‌ی ذرات نسبتاً باریک و بین ۱۰-۴۵ نانومتر بود. به‌طور مشابه تصاویر FE-SEM نانوکامپوزیت Ag2، 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 Ag1 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 Ag1 و Ag2 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 Ag1 به ترتیب ۴۶/۱۶ و ۳۴/۶۱ نانومتر تخمین زده شد. به‌طور مشابه، این مقادیر در مورد نانوکامپوزیت Ag2 به ترتیب برابر با ۲۳/۴۶ و ۳۴/۶۳ نانومتر به‌دست آمد [۲۰ و ۲۴].

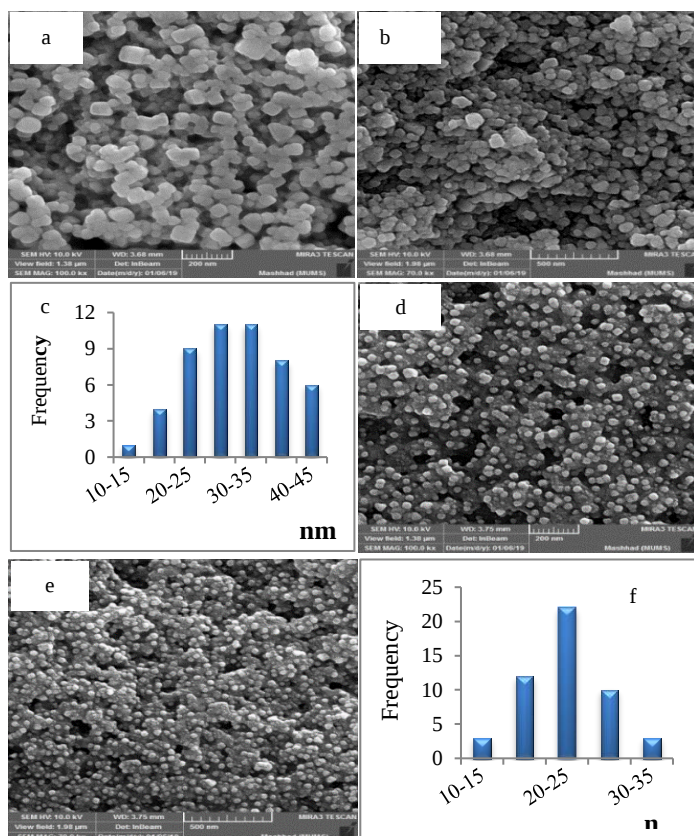
همچنین، میکروسکوپ الکترونی روبشی برای تعیین ریخت‌شناسی نانوکامپوزیت‌های Ag1 و Ag2 به‌کار برده شد.

تصویر FE-SEM نمونه‌ی Ag1 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)

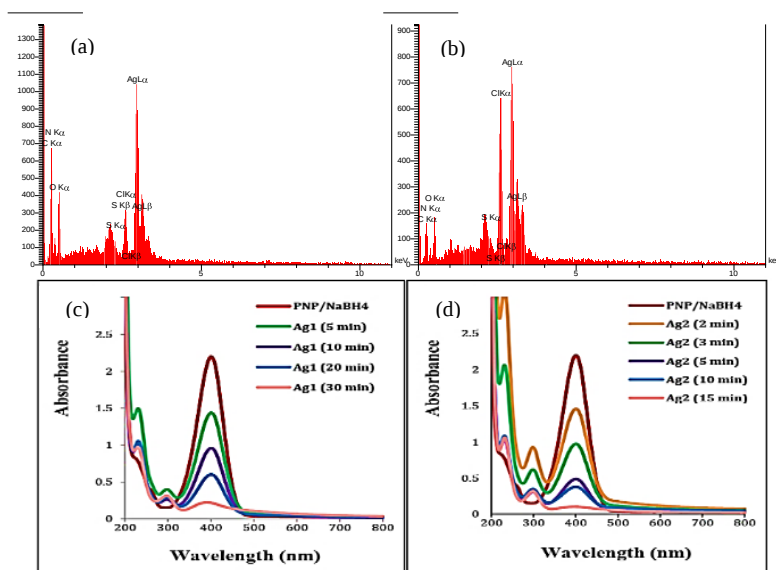
های جذب نوری مشخصه‌ی آنها به ترتیب در حدود ۳ و ۲/۶ کیلو الکترون ولت بودند.

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 Ag_1 و Ag_2 بر روی باکتری *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.

فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در احیای پارانیتروفنول در محلول آبی در حضور سدیم بور هیدرید به عنوان عامل کاهنده بررسی شد. به علت تشکیل یون‌های پارانیتروفنولات در محیط قلیایی، نوار جذبی بیشینه‌ی پارانیتروفنول 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 به طور 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 پارانیتروفنول به پارا آمینوفنول می‌باشد.



شکل ۳ تصاویر SEM نانوکامپوزیت Ag_1 در دو مقیاس ۲۰۰ (a) و ۵۰۰ نانومتر (b). به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (c)، و نانوکامپوزیت Ag_2 در دو مقیاس ۲۰۰ (d) و ۵۰۰ نانومتر (e) به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (f)



شکل ۴: طیف‌های EDX نانوکامپوزیت‌های (a) Ag₁ و (b) Ag₂ و تغییرات طیف‌های جذبی UV-Vis محلول‌های PNP بعد از اضافه کردن NaBH₄ در حضور دو نانوکامپوزیت Ag₁ و Ag₂

جدول ۳: نتایج بررسی قطر هاله‌ی عدم رشد (بر حسب میلی‌متر)، MIC و MBC نانوکامپوزیت‌های Ag₁ و Ag₂

میکروارگانیسم‌ها	Ag ₁			Ag ₂		
	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]. درواقع 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، جداشدن پارا آمینوفنول 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، درحالی که بیشتر سنتزهای میکروبی نانوذرات نقره در حضور سورفکتانت‌های مختلف از جمله رامنولیدها، 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]	-	-	رامنولیبیداها	۱۵/۱±۵/۸	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ag
[۲۸]	-	-	یک آنزیم	۵۰-۸۰	<i>Bacillus cereus</i>	Ag
[۲۹]	-	-	فوکولانت زیستی	۶۰	<i>Bacillus subtilis</i>	Ag
[۳۰]	-	-	فلازین	۳-۱۱	<i>Salmonella typhimurium</i>	Ag
[۳۱]	-	۲۰	-	۱۳-۴۴	عصاره گیاه گاردیا رزینیفر	Ag
[۳۲]	-	۵۰-۱۲۰	-	۱۶-۴۰	هیدروترمال/سولوترمال	Ag/F ₂ O ₃
[۳۳]	-	۱۰-۲۰	-	۳-۱۰	شیمیایی / <i>S. oneidensis</i> MR-	Ag/rGO
[۳۴]	<i>E. coli</i> فقط	-	-	۲۵۰ و ۱۷	عصاره‌ی سیر	Ag/AgCl
[۳۵]	۲ میکروارگانیزم	-	-	۵۰ و ۱۰	شیمیایی	Ag
[۳۶]	۴ میکروارگانیزم	-	-	۱۷	عصاره‌ی جلبک چارا	Ag/AgCl
پژوهش حاضر	۹ میکروارگانیزم	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.

تائیدیه‌های 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 TiO₂/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, Irvani 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 Fe₃O₄/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 Fe₃O₄@SiO₂-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, Mamidyalala 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, Jänting 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 Fe₂O₃ 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 Rakhshan¹, Mohammadreza Mansournia^{2*}, Fereshteh Jookar Kashi³

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