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 پستی۵۳۱۵۳-۸۷۳۱۷ کاشان، ایران

mansournia@kashanu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۹

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 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 ازجمله غلظت سوبسترا، pH، حجم سوبسترا، حجم سوپرناتانت باکتریایی، حضور گلوکز به‌عنوان الکترون دهنده و غلظت محلول نیترات نقره (I) به‌عنوان القاکننده انجام گردید. نتایج نشان داد شرایط بهینه برای نانوکامپوزیت‌های Ag1 و Ag2، ۷۵/٤ میلی‌لیترسوپرناتانت، 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، به‌عنوان کاتالیزگرهای ناهمگن کارآمد برای کاهش ترکیب سمی پارانیتروفنول به ترکیب غیرسمی پارا آمینوفنول، مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین، نانوکامپوزیت‌ها فعالیت ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی

۱-مقدمه

اخیراً ســـنتز نانوذرات فلزات نجیب به‌دلیل کاربردهای بالقوه در الکترونیک، فتونیک، کاتالیزگرها، نانوپزشـــکی، مهندسی پزشکی، سلول‌های سوخت زیستی و بازیابی زیستی فلزات به‌طور ویژه مورد توجه قرارگرفته است [۱]. کاربردهای مهم نانوذرات معمولاً به اندازه آنها وابســـته است، بنابراین سنتز نانوذرات با اندازه کنترل شده بسیار مطلوب می‌باشـــد [۲]. روش‌هـای مختلف فیزیکی و شـیمیایی می‌تواند برای تولید نانوذرات با ریخت‌شـناسـی معین و خواص منحصـــر به فرد اســـتفاده شـــود. اما این سازوکارهای معمولی سنتزی به‌علت هزینه بالا و استفاده از مواد شـیمیایی سـمی و خطرناک ترجیح داده نمی‌شـود [۳]. برای مقابله با این مسـائل، در آغاز قرن اخیر اسـتفاده از موجودات زنده به‌عنوان کارخانه‌های تولید نانوذرات معرفی شـــد و تقاضـــا برای به‌کارگیری روش‌های تمیز و ســـازگار با محیط زیســـت برای تولید نانوذرات گســـترش یافت [٤]. تولید زیستی نانومواد به‌دلیل استفاده از شرایط ملایم تولید مانند دما، فشار و pH پایین توجه زیادی را به خود جلب کرده اســـت [٥]. از دیگر مزایای روش‌های زیسـتی می‌توان به سـاده و سـریع بودن، زیسـت سـازگار بودن، کاهش مصـــرف انرژی، دردســـترس بودن و نیز پـایـداری منـابع اشـــاره کرد [٦]. ازجملـه مهمترین و پرکاربردترین ســیســتم‌های زیســتی می‌توان به باکتری‌ها اشـــاره کرد. گزارش‌های زیادی وجود دارد مبنی بر اینکه گونه‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌توانند یون‌های فلزات سـنگین را جذب کنند. باکتری‌ها توانایی قابل‌توجهی برای احیای این یون‌ها دارند، همین امر باعث شده از آنها به‌عنوان نانوکارخانه‌های زیستی مهم برای ســنتز نانوذرات یاد شــود [۷]. ســهولت کارکردن با باکتری‌ها و قابلیت دســـت‌کاری ژنتیکی آنها از مزایای قابل‌توجه اســتفاده از ســیســتم‌های باکتریایی برای ســنتز نانوذرات است [۸].

در میان عناصـــر مختلف، نقره به‌عنوان یک فلز، توجه زیادی را برای سنتز نانوذرات نقره سبز به‌دلیل کاربردهای زیست-پزشکی، صنعتی و زیست محیطی به خود جلب کرده است. موارد کاربرد نانوذرات نقره شامل آنتی بیوتیک ها (فعالیت ضدمیکروبی)، کاتالیزگرها، حسگرها، تشخیص ســـرطان و تحویل دارو هســـتند. در برخی از این زمینه‌ها نانوذرات سنتزشده زیستی، مزایای ویژه‌ای به‌علت زیست ســـازگاربودن دارند. همچنین، نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید با توجه به خواص ضدباکتریایی قوی و سمیت کم در سلول‌های پستانداران اغلب در فرمول‌بندی محصولات تجاری اســـتفاده می‌شـــوند [۹]. این نانومواد در صـــنایع بهداشـــتی، کاتالیزگرها، 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 میکروارگانیســـم‌ها بهتر ارتباط برقرار کرده و به همین دلیل به‌عنوان عوامل ضـدمیکروبی قوی شـناخته شـده‌اند [۱۱]. علاوه بر این، در ســـال‌های اخیر نانوکامپوزیت‌های حاوی نقره/نقره کلرید به‌دلیل فعالیت فوتوکاتالیزگری [۱۲]، توانایی تخریب رنگ‌ها و آلاینده‌ها [۱۳] و تصفیه‌ی فاضلاب‌ها [١٤] مورد توجه قرار گرفته‌اند.

سال‌های طولانی است که پارانیتروفنول و مشتقات آن که حتی در مقدار کم هم ســمی هســتند در صــنایع تولیدی مختلف مثل تولید آفت‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، حشـره‌کش‌ها و رنگ‌های مصـنوعی به‌طور گسـترده مورد اسـتفاده قرار می‌گیرند [۱۵]. این ترکیبات به‌علت داشـتن حلالیـت و پـایـداری بـالا می‌تواننـد آب‌هـای طبیعی و سـیسـتم‌های فاضـلاب را آلوده کنند. بنابراین، معرفی یک سیستم تصفیه‌ی کارآمد برای تصفیه‌ی فاضلاب‌های حاوی پارانیتروفنول پیش از ورود به محیط‌های آبی بسیار مهم و ضـروری اسـت. نانوذرات به‌دلیل نسـبت سـطح به حجم بسیار بالا فعالیت کاتالیزگری خیلی خوبی در این زمینه از خود نشـــان داده‌اند. در ســـال‌های اخیر نانوذرات و

نانوکامپوزیت‌های فلزات مختلف به‌طور گسترده به‌عنوان کاتالیزگر برای حذف ترکیبات نیتروآروماتیک به‌کار رفته اند [۱۶]. ازجمله نانوذرات بسیار مناسب برای حذف پارانیتروفنول از فاضلاب‌های آلوده، نانوذرات نقره هستند. بنابراین، هدف پژوهش حا ضر، 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 خالص 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 درصورت نیاز در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند.

۲-۲ سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

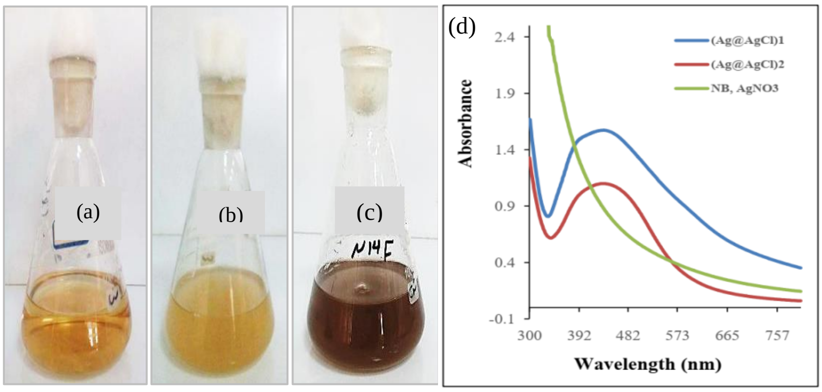
سنتز نانوذرات با استفاده از دو سویه‌ی باکتریایی *Bacillus haynesii* sp. PN14F و *Bacillus halotolerans* sp. B3 به دو روش داخل سلولی و خارج سلولی انجام شد. جزئیات روش‌های جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی این دو باکتری به‌طور کامل در پژوهش پیشین ما ارائه شده است [۱۷]. برای جداکردن توده‌ی سلولی از مایع رویی کشت باکتری، سوپرناتانت و توده‌ی سلولی با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ٤ 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 قابل‌توجهی در طیف UV-Vis در محدوده‌ی ٤۰۰-٤٦۰ می‌شود.

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_2H_6O	**نور زکریای رازی**
۲	نقره نیترات (I)	$AgNO_3$	Merck
۳	سدیم بور هیدرید	$NaBH_4$	Merck
٤	پارانیتروفنول	$C_6H_5NO_3$	Merck
٥	محیط کشت نوترینت براث	Nutrient Broth	Merck
٦	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_2H_6OS	Merck
۱۰	گلوکز	$C_6H_{12}O_6$	Merck

در این پژوهش نانوذرات نقره‌ی تهیه شده به روش خارج سلولی از این دو سویه به‌ترتیب ۱ (Ag@AgCl) و ۲ (Ag@AgCl) نامگذاری شده و برای اختصار با Ag1 و Ag2 نمایش داده می شوند. شکل ۱، سو سپا نسیون‌های باکتریایی دو سویه PN14F (a) و B3 (b) به همراه تغییر رنگ حا صل از سنتز نانوذرات نقره (c) را نشان می‌دهد. برای بررسی اثر ترکیبات موجود در محیط کشت نوترینت براث در تهیه 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.

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 بهینه سازی برخی شرایط واکنش ازجمله غلظت سوبسترا، pH، حجم سوبسترا، حجم باکتری، حضور گلوکز (۵۶ میلی‌مولار) به‌عنوان الکترون دهنده، محلول نیترات نقره (I) (۰/۱ میلی‌مولار) به‌عنوان القاکننده 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.



شکل ۱ سوسپانسیون‌های باکتریایی PN14F (a) و B3 (b)، نانوذرات نقره (c) و طیف‌های جذبی UV-Vis نانوکامپوزیت‌های Ag1 و Ag2 (d)

جدول ۲ کل شرایط آزمایشی سنتز باکتریایی نانوذرات نقره

نمونه	pH	حجم باکتری (میلی‌لیتر)	حجم سوبسترا (میلی‌لیتر)	غلظت سوبسترا (میلی‌مولار)	الکترون دهنده	القاکننده
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	–	+

٦	٨	٠/٥	٥	٢٠	−	+
٧	٨	٣/٧٥	١/٢٥	٥	+	+
٨	٧	٣/٧٥	١/٢٥	٥	−	−
٩	٤	٢/٥	٢/٥	١٠	+	−
١٠	٦	٤/٧٥	٠/٢٥	١	+	+
١١	٦	٢/٥	٢/٥	١٠	+	+
١٢	٧	٤/٧٥	٠/٢٥	١	+	+
١٣	٦	٤/٧٥	٠/٢٥	١	−	+
١٤	٨	٠/٥	٥	٢٠	+	−
١٥	٨	٤/٧٥	٠/٢٥	١	−	−
١٦	٤	٠/٥	٥	٢٠	−	−
١٧	٧	٠/٥	٥	٢٠	+	+
١٨	٧	٣/٧٥	١/٢٥	٥	+	−
١٩	٤	٢/٥	٢/٥	١٠	−	+
٢٠	٨	٣/٧٥	١/٢٥	٥	−	+
٢١	٦	٢/٥	٢/٥	١٠	+	−
٢٢	٦	٠/٥	٥	٢٠	−	−
٢٣	٦	٠/٥	٥	٢٠	+	+
٢٤	٦	٣/٧٥	١/٢٥	٥	−	−
٢٥	٧	٤/٧٥	٠/٢٥	١	+	−
٢٦	٦	٣/٧٥	١/٢٥	٥	+	−
٢٧	٧	٢/٥	٢/٥	١٠	−	+
٢٨	٧	٠/٥	٥	٢٠	−	+
٢٩	٤	٤/٧٥	٠/٢٥	١	−	−
٣٠	٧	٢/٥	٢/٥	١٠	−	−
٣١	٨	٤/٧٥	٠/٢٥	١	+	−
٣٢	٨	٢/٥	٢/٥	١٠	−	−

۲-۳ آنالیز نانوذرات

نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در این پژوهش با استفاده از د ستگاه پراش پرتو X در محدوده‌ی θ2 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 محدوده‌ی $400\ cm^{-1}$ تا ٤٠٠٠ با ا ستفاده از قرص‌های KBr برر سی شد. ریخت شنا سی 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.

٤-۲ بررسی خواص ضدمیکروبی

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

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 ،*Escherichia Coli* (10536 ،6633)، *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)، *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737)، *Klebsiella pneumonia* (ATCC 10031)، *Shigella dysenteria* (ATCC 1188)، *Salmonella paratyphi*-A serotype (ATCC 5702)، *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 ضدمیکروبی این نانوکامپوزیت‌ها از روش ارائه شده در پژوهش پیشین استفاده شد[۲].

۲-۵ بررسی خواص کاتالیزگری

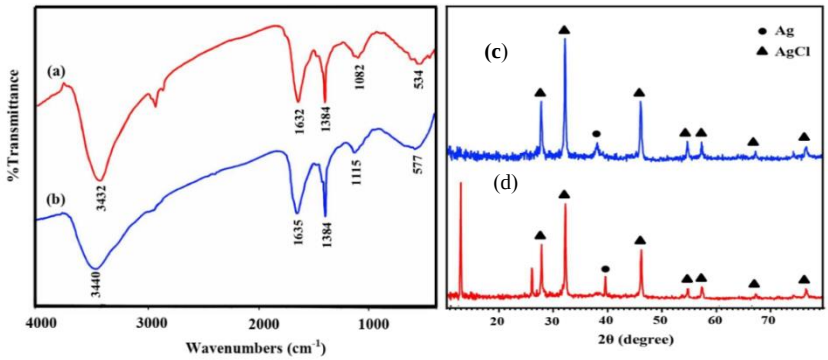
فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های سنتزی در واکنش کاهش پارانیتروفنول به پارا آمینوفنول با استفاده از سدیم بور هیدرید به‌عنوان یک عامل کاهنده در دمای اتاق بررسی شد. به این صورت که ۰/۱۷ میلی‌گرم از نانوکامپوزیت مورد نظر و ۱ میلی‌لیتر سدیم بور هیدرید (۱/۵ مولار) تازه تهیه شده به تناوب به ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی پارانیتروفنول (۱۲۰ میکرومولار) اضافه و در دمای اتاق روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. پیشرفت واکنش علاوه بر مشاهده‌ی 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 قابل‌توجهی در محدوده‌ی ۴۰۰-۴۶۰ نانومتر اتفاق افتاد که بعد از چند دقیقه از شروع واکنش ظاهر شد. ویژگی SPR در این محدوده‌ی طول موج به‌طور معمول مربوط به نانوذرات 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 به‌ترتیب مربوط به نمونه‌های شماره ۱۲ و ۳۱ (طبق شرایط سنتزی ارائه شده در جدول ۲) و بعد از گذشت مدت زمان ۱۸ و ٤ ساعت بود که در طول موج‌های ۴۳۷ و ٤۳٤ 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 cm^{-1} ۴۰۰-۴۰۰۰ به‌کار 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 cm^{-1} ۳٤۳۲ را نشان می‌دهد که به هم‌پوشانی ارتعاشات کششی O–H و N–H برمی گردد. در این طیف نیز نوارهای موجود در cm^{-1} ۱٦۳۲ و ۱۳۸٤ به‌ترتیب مربوط به آمید نوع اول یا پیوندهای کربونیل و C–H در پروتئین‌ها هستند. همچنین، نوارهای موجود در cm^{-1} ۱۰۸۱ و ٥۳٤ را می‌توان به‌ترتیب 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 زیست سازگاری بیشتر آنها موثر باشد.

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 θ2 برابر با ۲۷/۸۲، ۳۲/۲۶، ٤٦/۲٤، ٥٤/۸۳ و ٥۷/٥٥ درجه به‌ترتیب ناشی از صفحات ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰، ۳۱۱ و ۲۲۲ از فاز مکعبی AgCl می باشند که همگی در توافق خوبی با شماره کارت ۱۳٥٥-۰۸٥-۰۱ هستند. پراش‌های مربوط به این صفحات در الگوی XRD نانوکامپوزیت زیستی Ag2 در شکل ۲ (d) به‌ترتیب در زوایای ۲۷/۹۰، ۳۲/۳۲، ٤٦/۳٤، ٥٤/۹۲ و ٥۷/٥۷ درجه ظاهر شده‌اند. علاوه بر این، خطوط موجود در زوایای ۳۸/ ۱٤ (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.



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

میانگین اندازه‌ی بلورک‌های Ag و AgCl با استفاده از معادله‌ی شرر، براساس صفحات ۱۱۱ از Ag و ۲۰۰ از AgCl، برای نانوکامپوزیت Ag1 به‌ترتیب ٤٦/۱٦ و ۳٤/٦۱ نانومتر تخمین زده شد. به‌طور مشابه، این مقادیر در مورد نانوکامپوزیت Ag2 به‌ترتیب برابر با ۲۳/٤٦ و ۳٤/٦۳ نانومتر به‌دست آمد [۲۰ و ۲٤].

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

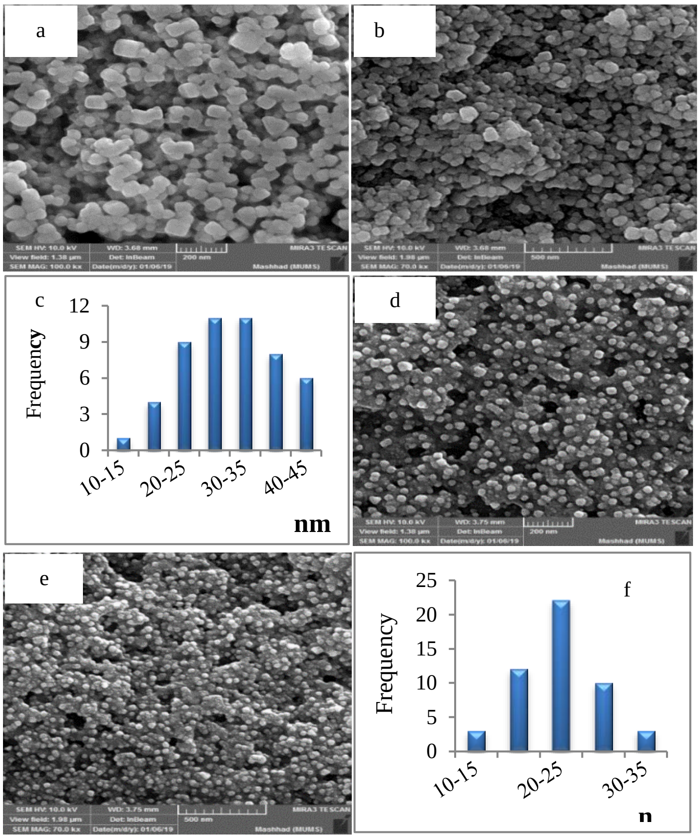
تصویر FE-SEM نمونه‌ی Ag1 در دو مقیاس ۲۰۰ و ٥۰۰ نانومتر در شکل ۳ (a,b) نشان داده شده است. بررسی این تصاویر وجود نانوذرات زاویه‌دار جدا از هم با پراکندگی خوب را نشان می‌دهد. متوسط اندازه‌ی نانوذرات تهیه شده با استفاده از هیستوگرام توزیع اندازه‌ی ذرات (c) حدود ۳۰ نانومتر به‌دست آمد، همچنین توزیع اندازه‌ی ذرات نسبتا باریک و بین ۱۰-٤٥ نانومتر بود. به‌طور مشابه تصاویر FE-SEM نانوکامپوزیت Ag2، نانوذرات کروی شکل یکنواخت و کاملا 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 ۱۰-۳٥ 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 ٤ (a,b) قابل مشاهده است هر دو نمونه شامل نقره و کلر به‌دلیل پیک

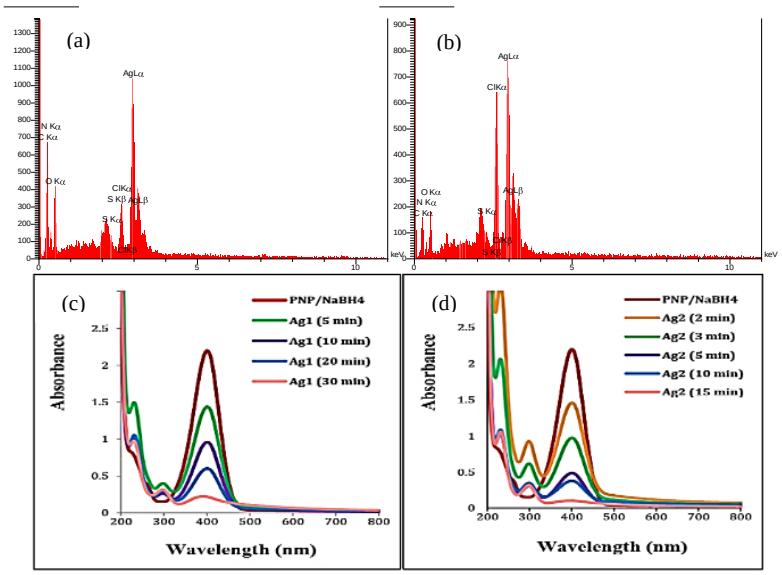
های جذب نوری مشخصه‌ی آنها به‌ترتیب در حدود ۳ و ۲/٦ کیلوالکترون ولت بودند.

نتایج مربوط به فعالیت ضدمیکروبی نانوکامپوزیت‌های نقره تهیه شده در این پژوهش در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان فعالیت ضدمیکروبی دو نانو نانوکامپوزیت Ag1 و Ag2 بر روی باکتری *P. aeruginosa* با قطر هاله عدم رشد ۱۳میلی‌متر و کمترین اثر ضدمیکروبی علیه باکتری *S. epidermidis* با قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر می‌باشد. بنابراین، همان‌طور که انتظار می‌رفت فعالیت ضدمیکروبی دو نانوکامپوزیت مشابه و نشان دهنده‌ی یکسان بودن نوع و ساختار دو نانوکامپوزیت تولیدشده می‌باشد.

فعالیت کاتالیزگری نانوکامپوزیت‌های تهیه شده در احیای پارانیتروفنول در محلول آبی در حضور سدیم بور هیدرید به‌عنوان عامل کاهنده بررسی شد. به‌علت تشکیل یون‌های پارانیتروفنولات در محیط قلیایی، نوار جذبی بیشینه‌ی پارانیتروفنول بعد از اضافه کردن سدیم بور هیدرید از ۳۱۷ به ٤۰۰ 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 ٤ (c,d) قابل مشاهده است نوار موجود در ٤۰۰ نانومتر حذف و نوار جدیدی در ۳۰۰ نانومتر ظاهر می‌شود که نشان دهنده‌ی احیای پارانیتروفنول به پارا آمینوفنول می‌باشد.



شکل ۳ تصاویر SEM نانوکامپوزیت Ag1 در دو مقیاس۲۰۰ (a) و۵۰۰ نانومتر (b). به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (c)، و نانوکامپوزیت Ag2 در دو مقیاس۲۰۰ (d) و۵۰۰ نانومتر (e) به همراه نمودار توزیع اندازه‌ی ذرات (f)



شکل ٤ طیف‌های EDX نانوکامپوزیت‌های (a) Ag1 و ۲ Ag (b) 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
B .subtilis	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	۵۰۰	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	۵۰۰
E .coli	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
K .pneumoniae	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
P .vulgaris	-	-	-	-	-	-
P .aeruginosa	۱۳	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۳	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
S .paratyphi-A serotype	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
S .dysenteriae	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
S .aureus	۱۰	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۰	۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
S .epidermidis	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۱	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵
C .albicans	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵	۱۲	≤ ۳۱/۲۵	≤ ۳۱/۲۵

٤- بحث

از مقایسه‌ی اندازه‌ی نانوکامپوزیت‌های نقره/نقره کلرید Ag1 و Ag2 به‌دست 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 ٤٠٠ نانومتر در غیاب نانوکامپوزیت‌های نقره حتی بعد از ٤٨ ساعت نیز تغییر نکرده است (شکل ٤)، 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 به‌دلیل انتقال الکترون و اتم هیدروژن از $BH4^-$ به این ترکیب آلی است [٢٥]. درواقع کاتالیزگر را می‌توان به‌عنوان یک سیستم انتقال دهنده‌ی الکترون موثر در نظر گرفت که انتقال بار را در طول فرایند احیا تسهیل می‌کند. به‌همین ترتیب، احیا می‌تواند از طریق یک فرایند انتقال شش الکترونی از $BH4^-$ 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 به‌ترتیب شامل، جذب واکنشگر بر روی سطح کاتالیزگر، احیای پارانیتروفنول با انتقال الکترون از $BH4^-$ به آنیون‌های نیتروفنولات هم زمان با جذب هر دو روی سطح و در پایان، جداشدن پارا آمینوفنول از سطح می‌باشند [٢٦]. 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 ١٥ 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.

به‌طورکلی، از مقایسه‌ی روش سنتز و کاربردهای بررسی شده در پژوهش حاضر با تحقیقات اخیر که به برخی از آنها در جدول ٤ اشاره شده است [٣٧-٣٥]، 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، درحالی‌که بیشتر سنتزهای میکروبی نانوذرات نقره در حضور سورفکتانت‌های مختلف ازجمله رامنولیپیدها، فوکولانت زیستی، فلاژلین که تنها به ذکر چند مورد از آنها در جدول ٤ اکتفا شده است، انجام شده‌اند. همچنین، نانوکامپوزیت‌های نقره‌ی 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 ضدمیکروبی نیز در مقابل ٩ میکروارگانیسم مختلف از جمله ٨ باکتری و یک مخمر فعالیت خوبی داشتند، در صورتی‌که تا کنون فعالیت ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی و کاتالیزگری موثر بودند در حالی‌که مطالعات دیگر کاربرد این نانوکامپوزیت‌ها را تنها در یکی از این دو مورد گزارش نموده‌اند.

جدول ٤ مقایسه‌ی روش سنتز و کاربردهای نانوذرات و نانوکامپوزیت‌های نقره در پژوهش‌های اخیر و پژوهش حاضر

نانوساختار	روش سنتز	اندازه (nm)	پایدارکننده زیستی	زمان واکنش احیا (min)	خاصیت ضدمیکروبی	مرجع
Ag	Pseudomonas aeruginosa	۱۵/۱±۵/۸	رامنولیپیدها	–	–	[۲۷]
Ag	Bacillus cereus	۵۰–۸۰	یک آنزیم فرمنتاتیک	–	–	[۲۸]
Ag	Bacillus subtilis	٦۰	فوکولانت زیستی	–	–	[۲۹]
Ag	Salmonella typhimurium	۳–۱۱	فلاژین	–	–	[۳۰]
Ag	عصاره گیاه گاردیا رزینیفرا	۱۳–٤٤	–	۲۰	–	[۳۱]
Ag/F_2O_3	هیدروترمال/سولوترمال	۱٦–٤۰	–	۵۰–۱۲۰	–	[۳۲]
Ag/rGO	شیمیایی/ S. oneidensis MR-	۳–۱۰	–	۱۰–۲۰	–	[۳۳]
Ag/AgCl	عصاره‌ی سیر	۱۷ و ۲۵۰	–	–	فقط *E. coli*	[۳٤]
Ag	شیمیایی	۱۰ و ۵۰	–	–	۲ میگروارگانیسم	[۳۵]
Ag/AgCl	عصاره‌ی جلبک چارا	۱۷	–	–	٤ میگروارگانیسم	[۳٦]
Ag/AgCl	باکتری B3 باکتری PN14F	۱۰–۳۵ ۱۰–٤۵	–	۱۵ ۳۰	۹ میگروارگانیسم	پژوهش حاضر

تشکر و قدردانی

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

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 TiO2/Ag composite nanofibers for wastewater purification. J. Environ. Chem. Eng. 2017; 8(1):057.

[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] Iravani 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

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــ
[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 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, Ntoumba 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, 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 aqueou 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 eficient 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] Sathiyanarayanan 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.

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــ

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[1], Mohammadreza Mansournia[2]*, Fereshteh Jookar Kashi[3]

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-aminophenl. 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