Archive of SID

سنتز میکروبی نانوذرات نقره و اثرات ضدمیکروبی آنها

فرشته جوکار کاشی[1*]، زهره برومند[2]

۱. استادیار میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی سلولی و ملکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
۲. پژوهشگر مرکز پژوهش‌های کاربردی سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور، رییس اداره نانوبیوزمین، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۵

چکیده

زمینه و هدف باکتری‌ها با توجه به توانایی قابل توجه‌شان برای احیای یون‌های فلزی سنگین به عنوان کارخانه‌های زیستی یا نانوکارخانه‌های مهمی برای تولید نانوذرات در نظر گرفته می‌شوند. تولید باکتریایی نانوذرات به عنوان یک روش سبز و تک‌مرحله‌ای می‌تواند بر مشکلات و معایب تولید از طریق روش‌های فیزیکی و شیمیایی غلبه کند.

مواد و روش‌ها در این پژوهش، سویه‌های باکتری از خاک معدن نخلک جدا شد. سپس یک سویه باکتری مقاوم به نقره برای تولید نانوذرات نقره انتخاب شد. توانایی این سویه برای تولید نانوذرات نقره به‌صورت خارج‌سلولی و داخل‌سلولی بررسی شد. نانوذرات تولیدشده با استفاده از شیوه‌های طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس (XRD) و تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) شناسایی شدند. فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات نیز بررسی گردید.

یافته‌ها از نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده، سویه‌های باکتری مقاوم به نقره جداسازی و یک سویه برای تولید نانوذرات نقره انتخاب شد. سویه مذکور قادر بود نانوذرات را هم به صورت داخل‌سلولی و هم خارج‌سلولی سنتز کند. نانوذرات سنتزشده، اثر ضدمیکروبی خوبی بر ضدسویه‌های استاندارد مورد آزمایش داشتند.

نتیجه‌گیری نتایج نشان می‌دهد که سویه باکتری جدا شده از معدن نخلک، منبع زیستی خوبی برای سنتز نانوذرات نقره با توانایی ضدمیکروبی است. در ادامه می‌توان این ترکیب را برای بررسی‌های بیشتر با هدف ساخت مواد ضدعفونی‌کننده پیشنهاد داد.

کلیدواژه‌ها:
اثر ضدمیکروبی، نانوذرات نقره، میکروارگانیسم، سنتز سبز.

۱. مقدمه

تولید نانوذرات به طور گسترده‌ای با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مطالعه شده است. این روش‌ها علاوه بر تحمیل هزینه‌های بالا، آلودگی زیست‌محیطی را به همراه دارد. همچنین این روش‌ها همراه با مصرف انرژی بالا هستند و از مواد شیمیایی سمّی و خطرناک استفاده می‌شود. علاوه بر این، اغلب نانوذرات در محلول‌های آلی غیرقطبی سنتز می‌شوند که این، مانعی برای کاربردهای پزشکی آن‌ها است (۱). لذا تمایل به گسترش روش‌های سازگار با محیط‌زیست و صرف هزینه‌های کمتر، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲). تولید نانوذرات با روش زیستی، شامل استفاده از سیستم‌های مختلف زیستی، موجودات ساده پروکاریوتی مانند باکتری تا موجودات پیچیده یوکاریوتی مانند قارچ‌ها و گیاهان است (۳). برخی سیستم‌های زیستی که در تولید نانوذرات استفاده شده‌اند، شامل باکتری‌ها (در تولید

* نویسندهٔ مسئول: فرشته جوکار کاشی
نشانی: گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تلفن: ۰۳۱۵۵۹۱۳۰۴۲
رایانامه: jookar@kashanu.ac.ir
شناسه ORCID: 0000-0002-8332-1269

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۸، شمارهٔ ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۰، ص ۸۵۰-۸۳۹
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

www.SID.ir

Archive of SID

نانوذرات طلا، نقره، کادمیوم، روی، مگنتیت و نانوذرات آهن)، مخمر (در تولید نانوذرات نقره، سرب و کادمیوم)، قارچ (در تولید طلا، نقره و کادمیوم) (۴و۵)، ویروس‌ها (در تولید نانوسیم‌ها) (۶)، گیاهان (در تولید طلا، نقره، پالادیوم، اکسیدروی، پلاتین و نانوذرات مغناطیسی)، جلبک‌ها (در تولید طلا و نقره) است (۵). علاوه بر این‌ها ملکول‌های زیستی کوچک مانند ویتامین‌ها، پلی‌ساکاریدها، آنزیم‌ها، کربوهیدرات‌ها، پپتیدها و پروتئین‌ها نیز در تولید نانوذرات استفاده می‌شوند (۴) برخی مزایای تولید زیستی نانوذرات شامل ساده، سریع (۲)، مقرون‌به‌صرفه (۶)، زیست سازگار (۳)، امکان سنتز نانوذرات در اندازه و ریخت‌شناسی‌های مختلف (۷)، انجام فرایند در دما و فشار محیط (۸)، کاهش مصرف انرژی (۹)، در دسترس بودن آرایه‌های متنوع به عنوان منبع زیستی، پایداری و تولید نانوذرات محلول در آب است (۲). از طرفی درک ضعیف از مکانیسم دقیق تولید نانوذرات، کنترل اندازه و شکل آن‌ها، مقیاس‌پذیری در سطح تولید انبوه، تجمع و به‌هم چسبیدن نانوذرات از مشکلاتی است که در این روش تولید وجود دارد (۴).

نانوذرات نقره، خوشه‌های از اتم‌های نقره هستند که اندازه آن‌ها ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است (۱۰). امروزه تقریباً ۳۲۰ تن در سال نانوذرات نقره تولید و در سراسر دنیا استفاده می‌شود (۱۱). خواص نانوذرات نقره با همتایان خود در اندازه حجیم بسیار متمایز است. آن‌ها خواص فیزیکی، شیمیایی، نوری، الکتریکی، حرارتی، مکانیکی، کاتالیزوری و زیستی منحصربه‌فردی را از خود نشان می‌دهند (۳).

نانوذرات نقره به دلیل خواص منحصربه‌فرد فیزیکی-شیمیایی که دارند در حوزه‌های مختلف مانند پزشکی، مراقبت‌های بهداشتی، غذا و کشاورزی، کاتالیزوری، صنعت نساجی و زیست‌محیطی، کاربردهای گسترده‌ای دارند (۱۲).

در این پژوهش به منظور سنتز میکروبی نانوذرات نقره، باکتری‌های مقاوم به نقره از نمونه خاک معدن نخلک جداسازی شدند. نانوذرات نقره با استفاده از سویه باکتریایی مقاوم به نقره منتخب سنتز شد و خصوصیات نانوذرات با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD) شد و تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی گردید. همچنین فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات نیز ارزیابی شد.

۲. مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، از نوع تجربی است و در گروه بیوتکنولوژی دانشگاه کاشان انجام گرفت.

۱،۲. جداسازی باکتری‌های مقاوم به نقره

برای جداسازی باکتری‌ها، از نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده از معدن نخلک واقع در شرق نائین و بخش انارک با استفاده از روش رقت‌های پیاپی در سرم فیزیولوژی استریل تا رقت 10^{-10} بر روی محیط کشت نوترینت آگار به روش کشت چمنی استفاده شد. نمونه‌های خاک در ظروف استریل جمع‌آوری شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های حاصل بر پلیت‌های حاوی محیط کشت تلقیح و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. در ادامه برای اطمینان از خالص بودن جدایه‌ها، کشت متوالی انجام شد. بعد از خالص‌سازی باکتری‌ها، کلونی‌های دارای ویژگی‌های ریخت‌شناسی متفاوت (شکل، اندازه، رنگ، قوام، حاشیه و برآمدگی سطحی) جداسازی و نامگذاری شدند. برای شناسایی اولیه سویه‌ها و تأیید خالص بودن کلونی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش هوکر[1] و آزمایش‌های اکسیداز، کاتالاز و پتاسیم هیدروکسید ۳ درصد انجام گرفت. به‌منظور جداسازی باکتری‌های مقاوم به نقره، سویه‌های باکتریایی جداسازی و خالص شده در محیط‌های نوترینت‌آگار حاوی غلظت‌های یک تا چهار میلی‌مولار از نیترات نقره کشت خطی داده شد و برای ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. سپس از بین باکتری‌هایی که در این غلظت‌ها رشد داشتند، یک‌سویه باکتری به طور تصادفی برای تولید زیستی نانوذرات نقره انتخاب شد (۸). به‌منظور نگهداری و جلوگیری از تغییرات ژنتیکی، سویه منتخب در محیط کشت حاوی ۲۰ درصد گلیسرول تلقیح و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲،۲. بررسی توانایی باکتری‌ها برای تولید خارج سلولی یا داخل سلولی نانوذرات نقره

باکتری‌ها می‌توانند نانوذرات نقره را به صورت داخل‌سلولی (با استفاده از توده زیستی) و هم به صورت خارج‌سلولی (با استفاده از سوپرناتانت کشت) تولید کنند. برای این منظور، کلونی‌های رشد کرده از سویه منتخب در محیط کشت نوترینت‌آگار به ارلن‌مایر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر

1 Hucker

www.SID.ir

Archive of SID

محیط کشت TSB منتقل و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، به وسیله سانتریفوژ یخچال‌دار مدل Eppendorf AG 22331 ساخت شرکت Eppendrof آلمان با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه[1] و به مدت ۱۰ دقیقه، سوپرناتانت و توده سلولی از هم جدا شدند.

۳,۲. سنتز نانوذرات نقره با سوپرناتانت

ابتدا ۵۰ سی‌سی محلول نیترات‌نقره با غلظت یک میلی‌مولار در آب مقطر آماده و با استفاده از فیلتر ۲۲/. میکرومتر استریل شد. برای تولید خارج سلولی نانوذرات نقره، یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت آماده شده در شرایط استریل به محلول نیترات‌نقره اضافه و همزمان در تاریکی و در حضور نور قرار گرفت. همچنین همزمان محلول نیترات نقره یک میلی مولار به عنوان شاهد همراه با نمونه‌های در مقابل نور و تاریکی قرار گرفت. سپس تغییر رنگ محلول به دلیل تشکیل نانوذرات نقره در طول زمان‌های مختلف تحت نظارت قرار گرفت. پس از مشاهده تغییر رنگ محلول، ویژگی‌های نوری نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری UV-Vis[2] در محدوده طول موج ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر بررسی شد.

۴,۲. سنتز نانوذرات نقره با توده سلولی

توده سلولی جمع‌آوری‌شده دو بار با سرم فیزیولوژی استریل شسته شد. سپس یک گرم توده سلولی شسته‌شده به ۵۰ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره که با استفاده از فیلتر ۲۲/. میکرومتراستریل شده بود افزوده شد و همزمان در مقابل نور و در تاریکی قرار گرفت. بعد از ۱۸ ساعت و مشاهده تغییر رنگ محلول به‌منظور جدا کردن توده سلولی، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه تحت سانتریفوژ قرار گرفت.

برای جداسازی نانوذرات، محلول با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس به منظور خالص‌سازی نانوذرات، رسوب باقی‌مانده، دو مرتبه با آب مقطر و یک مرتبه با اتانول، با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد و برای خشک شدن در دمای اتاق قرار گرفت.

برای اثبات اینکه فرایند تولید نانوذرات نقره، زیستی است و سلول‌های زنده باکتری و آنزیم‌های آنها در این سنتز دخیل هستند سوپرناتانت و توده سلولی به طور جداگانه اتوکلاو شد و سپس برای سنتز نانوذرات استفاده گردید.

۵,۲. بررسی ویژگی‌های نانوذرات نقره

تغییر رنگ محلول از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای، اولین مرحله برای تشخیص تولید نانوذرات است. در مرحله بعد، تولید این نانوذرات با دستگاه اسپکتروفتومتری در محدوده طول موج ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر تأیید می‌شود. همچنین XRD برای اثبات تولید نانوکریستال‌های نقره انجام شد. برای محاسبه متوسط اندازه بلورها (D_c[3]) از معادله شرر $Dc=\frac{0.89\lambda}{\beta\cos\theta}$ استفاده می‌شود (۱۳). همچنین تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای شناسایی خصوصیات نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت.

۶,۲. بررسی اثر ضدمیکروبی نانوذرات

۱,۶,۲. میکروارگانیسم‌ها

میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737)، *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) و *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)، باکتری‌های گرم منفی *Shigella dysenteriae* (PTCC 1188)، *Klebsiella pneumonia* (ATCC 10031)، *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)، *Salmonella paratyphi-A serotype* (ATCC 5702)، *Escherichia coli* (ATCC 10536) و *Proteus vulgaris* (PTCC 1182) و قارچ‌های *Aspergillus niger* (ATCC 16404)، *Aspergillus brasiliensis* (PTCC 5011) و *Candida albicans* (ATCC10231) از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت آگار[4] (مرک، آلمان) و قارچ‌ها در محیط کشت سابرو دکستروز آگار[5] (مرک، آلمان) کشت داده شدند. باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شب و قارچ‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۷۲ ساعت در گرم‌خانه گرماگذاری شدند.

محلول نانوذرات نقره با غلظت ۰/۰۳ گرم در یک میلی‌لیتر تهیه شد. برای این منظور، مقدار لازم از نانوذرات، وزن و داخل ظرف کوچک شیشه‌ای و استریل‌شده ریخته شد. سپس مقدار موردنظر آب‌مقطر استریل به آن اضافه شد تا به غلظت نهایی ۰/۰۳ گرم در یک میلی‌لیتر برسد. در مرحله بعد، به منظور یکنواخت شدن ذرات، محلول در

1 revolution per minute
2 Ultraviolet–visible
3 Debye scherrer
4 Nutrient agar
5 Sabouraud dextrose agar

www.SID.ir

Archive of SID

دستگاه سونیکاتور به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت.

۲،۶،۲. روش انتشار در آگار

فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات با روش انتشار در آگار، مطابق دستورکار مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI)[1] تعیین شد (۱۴). ابتدا محیط کشت‌های مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) برای باکتری‌ها و سابرو دکستروز آگار برای قارچ‌ها تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی با کدورت معادل نیم‌مک‌فارلند در سطح محیط کشت‌ها، کشت داده شد. چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر و به ضخامت ۴ میلی‌متر در محیط کشت‌ها ایجاد و به هر یک از آن‌ها ۱۰ میکرولیتر نانوذرات با غلظت نهایی ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری و تشکیل هاله عدم‌رشد در اطراف چاهک بررسی شد (۱۳).

پلیت‌های تلقیح‌شده با مخمر به مدت ۴۸ ساعت و پلیت‌های تلقیح‌شده با سایر قارچ‌ها به مدت ۷۲ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین (۵ میکروگرم در دیسک) و جنتامایسین (۱۰ میکروگرم در دیسک) (برای باکتری‌ها) (پادتن طب، ایران) و نیستاتین (۱۰۰ واحد بین‌المللی در دیسک) (برای قارچ‌ها) (پادتن طب، ایران) به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند. سپس قطر هاله مهار رشد با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

۷،۲. تعیین کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد (MIC)[2] با روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع[3]

از روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع طبق دستور کار CLSI برای تعیین MIC برای سویه‌های باکتری استاندارد حساس به نانوذرات نقره استفاده گردید (۱۵). به هر یک از خانه‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای (سیگما) ۲۰۰ میکرولیتر محلول شامل ۱۰۰ میکرولیتر از یکی از غلظت‌های نانوذرات نقره (۰/۰۳۱۲۵، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ۹۵ میکرولیتر محیط کشت مایع برین هارت اینفیوژن (BHI)[4] (مرک، آلمان) و پنج میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی یا قارچی با رقت معادل نیم مک‌فارلند اضافه گردید. چاهک‌های مربوط به کنترل منفی، فاقد محلول نانوذرات نقره و حاوی ۱۹۵ میکرولیتر از محیط کشت BHI و پنج میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با رقت معادل نیم مک‌فارلند بودند. آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین و جنتامایسین (سیگما، ایالات متحده امریکا) به عنوان کنترل مثبت با غلظت‌های (۰/۰۳۱۲۵، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) استفاده گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه گرماگذاری شدند. کمترین غلظت نانوذرات که مانع از رشد باکتری‌ها شده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد

۳. یافته‌های پژوهش

از نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده از معدن نخلک واقع در شرق نائین و بخش انارک باکتری‌ها جدا شدند. تحمل‌پذیری ۸ باکتری خالص‌شده از نمونه‌های خاک معدن نخلک به یون نقره با استفاده از محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های یک تا چهار میلی‌مولار نیترات نقره ارزیابی شد. همه باکتری، توانایی رشد روی محیط‌های مذکور را داشتند که از بین آنها یک سویه باکتری NM1 که توانایی رشد در غلظت چهار میلی‌مولار را داشت و مقاومت خوبی را نشان داد انتخاب شد. نتایج رنگ‌آمیزی گرم نشان داد سویه NM1 کوکسی گرم مثبت با آرایش استافیلوکوک بود. این سویه کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی و پتاسیم‌هیدروکسید ۳ درصد منفی بود که احتمالاً سویه NM1 به جنس استافیلوکوک تعلق دارد (۱۶).

۱،۳. سنجش توانایی باکتری‌ها برای تولید خارج سلولی یا داخل سلولی

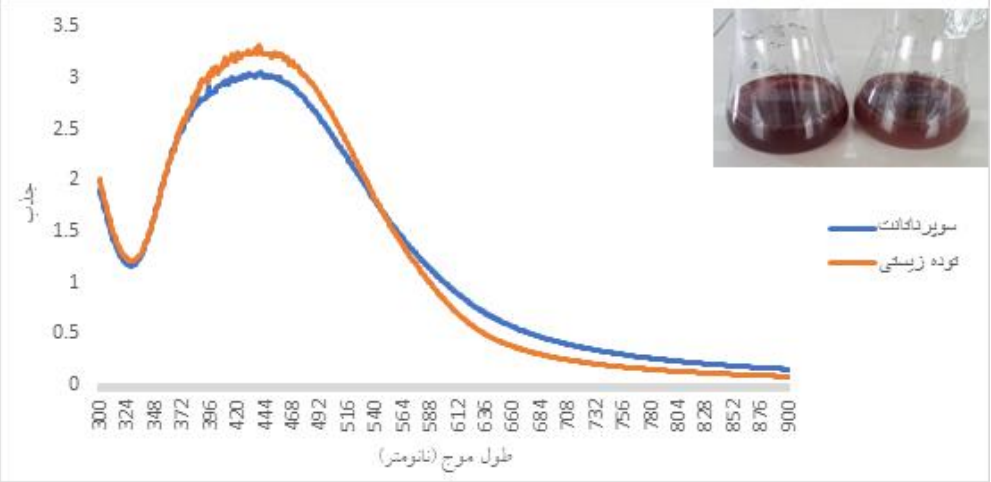
تغییر رنگ محلول از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای، اولین مرحله برای تشخیص تولید نانوذرات بود. سویه باکتری انتخاب شده، سویه NM1 قادر به احیای یون‌های نقره به نانوذرات نقره هم به صورت داخل‌سلولی (با استفاده از توده زیستی) و هم به صورت خارج‌سلولی (با استفاده از سوپرناتانت کشت) بود (شکل ۱.الف). کنترل (محلول نیترات نقره استریل) در مقابل نور هیچ تغییر رنگی نشان نداد.

نتایج بررسی تأثیر نور بر تولید نانوذرات نقره برای سویه NM1 نشان داد که احیای یون‌های نقره در مقابل نور و همچین در تاریکی انجام می‌شود اما در شرایط تاریکی به‌آهستگی انجام می‌شود که این مطلب با ایجاد رنگ قهوه‌ای ملایم و جذب در طول موج مربوط به نانوذرات نقره ثابت می‌شود. در این بررسی، افزایش شدت رنگ قهوه‌ای و

1 Clinical and Laboratory Standards Institute
2 Minimum inhibitory concentration
3 Broth microdilution
4 Brain Heart Infusion

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. الف: تولید نانوذرات نقره با توده سلولی و سوپرناتانت. با افزودن توده سلولی یا سوپرناتانت به محلول نیترات نقره، رنگ محلول به قهوه‌ای تغییر یافت که نشان‌دهنده تولید نانوذرات نقره است.ب: پیک جذبی UV–vis در محدوده ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر نانوذرات نقره سنتز شده با سوپرناتانت و توده سلولی سویه باکتری جدا شده از معدن نخلک. بیشترین پیک جذبی در طول موج ۴۳۰ نانومتر نشان‌دهنده تولید نانوذرات نقره است.

مقدار جذب با میزان احیای یون‌های نقره به نانوذرات نقره متناسب بود (۲۸). نتایج طیف‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis در شکل۱.ب سنتز نانوذرات نقره را نشان می‌دهد و پیک جذبی حداکثر در محدوده ۴۰۰ تا ۴۵۰ سنتز را تأیید می‌کند که با شناسایی پیک جذبی در طول موج ۴۳۰ نانومتر تولید نانوذرات تأیید شد.

به‌منظور اثبات این‌که نانوذرات به روش زیستی تولید شده‌اند، نانوذرات نقره با روش داخل‌سلولی و خارج‌سلولی با استفاده از سوپرناتانت و توده زیستی مرده و زنده به‌طور هم‌زمان تولید شدند. مخلوط واکنش، حاوی سوپرناتانت و توده زیستی زنده تغییر رنگ قهوه‌ای مشاهده شد. همچنین تولید نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis تأیید شد. اما محیط واکنش حاوی سوپرناتانت و توده زیستی مرده هیچ‌گونه تغییر رنگی حتی با گذشت یک هفته مشاهده نشد که نشان‌دهنده تولید نشدن نانوذات نقره است. اسپکتروفوتومتری UV-Vis نیز این نتیجه را تأیید کرد.

ناحیه پرتو ایکس در طیف الکترومغناطیس XRD در محدوده بین پرتو گاما و پرتو فرابنفش قرار دارد. برای تأیید تولید نانوذرات با استفاده از این ناحیه طیفی می‌توان اطلاعاتی در خصوص ساختار، جنس ماده و نیز تعیین مقادیر عناصر به‌دست آورد. همچنین با این روش می‌توان ساختار بلوری مواد و اندازه دانه‌ها را تعیین کرد. تشکیل کریستال‌های نانوذرات نقره با این روش اثبات می‌شود (۱۷).

در ادامه این پژوهش، به‌منظور شناسایی و تعیین ساختار محصول از الگوی پراش اشعه ایکس نیز استفاده شد. شکل۲ الگوی XRD نانوساختارهای نانوذرات سنتزشده با سوپرناتانت دارای پنج پیک در زاویه ۳۸/۰۵، ۴۴/۳۴، ۶۴/۴۹، ۷۷/۳۶ و ۸۱/۴۷ که به‌ترتیب مربوط به سطوح ۲۴۰، ۲۷۶ ، ۳۹۷ و ۴۷۵ و ۵۰۲ است را در تشکیل ساختار کریستالی نانوذرات نقره نشان می‌دهد.

تحلیل XRD برای اثبات تولید نانوکریستال‌های نقره انجام شد. پیک‌های موجود پهن و نشان‌دهنده کوچک بودن نانوذرات حاصل است. در مورد نانوذرات نقره، شدیدترین پیک در 2θ معادل با ۳۸/۰۵ درجه و با پهنای برابر با ۰/۱۸۵۲ در نصف ارتفاع آن‌ها ظاهر شده است. با قرار دادن این داده‌ها در معادله شرر، متوسط اندازه کریستال نانوذرات نقره ۴۲/۹۵ نانومتر به‌دست آمد.

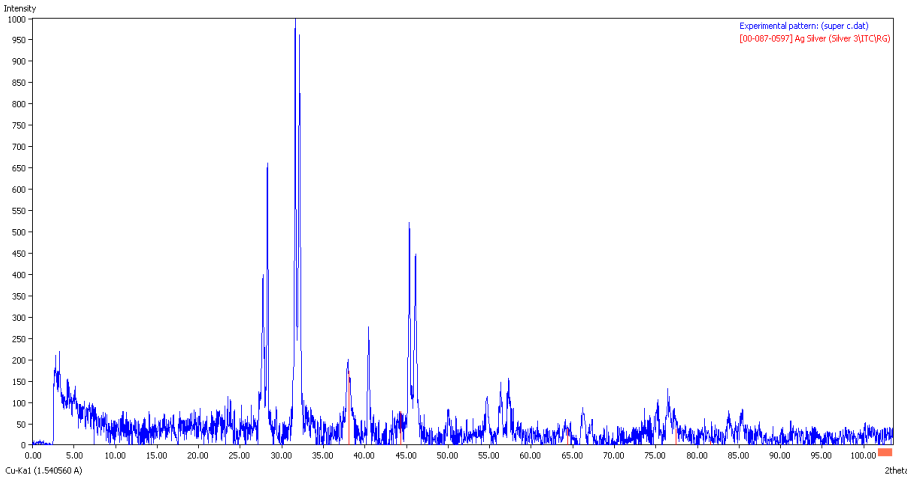
شکل ۳ الگوی XRD نانوساختارهای نانوذرات سنتزشده با توده سلولی دارای پنج پیک در زاویه‌های ۳۸/۲۲، ۴۴/۴۱، ۴۴/۵۱، ۵۱/۶۰، ۷۶/۱۷ و ۷۷/۸۰ که به ترتیب مربوط به سطوح ۲۵۰، ۲۹۲، ۲۹۳، ۳۴۲ و ۴۳۱ می‌باشد که نشان‌دهنده تشکیل کریستال نقره است.

در مورد نانوذرات نقره، شدیدترین پیک در معادل با ۳۸/۲۲ درجه و با پهنای برابر با ۰/۲۸۰۸ در نصف ارتفاع آن‌ها ظاهر شده است. با قرار دادن این داده‌ها در معادله شرر، متوسط اندازه کریستال نانوذرات نقره ۲۸/۳۳ نانومتر به‌دست آمد.

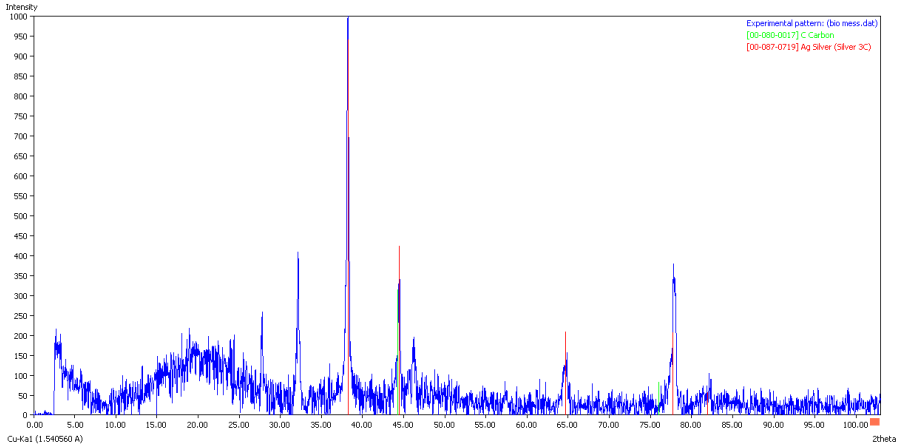
www.SID.ir

Archive of SID

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانوذرات سنتز شده با سوپرناتانت با نرم‌افزار Digimizer بررسی شد که اندازه نانوذرات بین ۱۴۰-۱۹ نانومتر به‌دست آمد و میانگین اندازه نانوذرات ۳۳/۷۴ نانومتر به‌دست آمد (شکل ۴.الف). همچنین طبق نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) اندازه نانوذرات سنتزشده بین ۶۶۲/۷۲-۱۱۵۰/۲۸ با توده زیستی میانگین اندازه نانو ذرات ۸۴۳/۷۷ نانومتر است. علت این که اندازه‌ها بزرگ گزارش شده‌اند اگلومره شدن و چسبیدن نانوذرات به هم است (شکل ۴.ب).



شکل ۲. الگوی XRD نانوذرات نقره سنتزشده با سوپرناتانت. پیک در زاویه‌های ۳۸/۰۵، ۴۴/۳۴، ۶۴/۴۹، ۷۷/۳۶ و ۸۱/۴۷ مربوط به کریستال‌های نقره که به رنگ قرمز مشخص شده است.



شکل ۳. الگوی XRD نانوذرات نقره سنتزشده با زیست توده. پیک در زاویه‌های ۳۸/۲۲، ۴۴/۴۱، ۴۴/۵۱، ۵۱/۶۰، ۷۶/۱۷ و ۷۷/۸۰ مربوط به کریستال‌های نقره که به رنگ قرمز مشخص شده است.

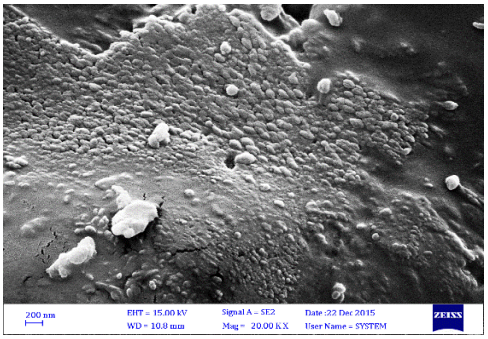
اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره سنتزشده بر ضدسویه‌های استاندارد بررسی شد که نتایج در جدول ۱ آورده شده است.

براساس نتایج روش انتشار در آگار و آزمون کمترین غلظت مهارکننده رشد، بیشترین اثر مهاری نانوذرات سنتز شده با سوپرناتانت بر ضدسویه‌های گرم مثبت *S. epidermidis* ، *B. subtilis*، *S.aureus* و باکتری‌های گرم منفی *S. dysenteriae*، *K. pneumonia*، *P. aeruginosa* و *S. paratyphi-A serotype* و *E. coli* مؤثر بود. نانوذرات سنتزشده با توده زیستی هم بر ضدسویه‌های گرم مثبت *S. epidermidis*، *B. subtilis*، *S.aureus* و باکتری‌های گرم منفی *P. aeruginosa*، *S. paratyphi-A serotype* و *E. coli* مؤثر است. نتایج نشان داد که هر دو نوع نانوذرات، بر ضد کپک و مخمرهای مورد آزمایش، تأثیری نداشتند.

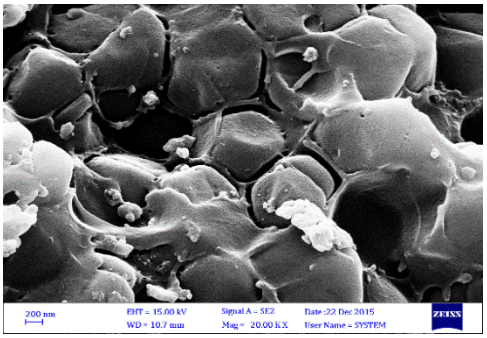
www.SID.ir

Archive of SID

الف



ب



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانوذرات سنتز شده با (الف) سوپرناتانت، (ب) با توده سلولی

جدول ۱. بررسی اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره، محلول نیترات نقره و آنتی‌بیوتیک‌ها علیه سویه‌های استاندارد میکروبی

میکروارگانیسم‌ها	نانوذرات نقره سنتزشده با سوپرناتانت		نانوذرات نقره سنتزشده با توده سلولی		محلول نیترات نقره یک میلی مولار		ریفامپین		جنتامایسین		نیستاتین	
باکتری‌های گرم مثبت	IZ[1] (mm)	MIC (µg/ml)	IZ (mm)	MIC (µg/ml)	IZ (mm)	MIC (µg/ml)	IZ (mm)	MIC (µg/ml)	IZ (mm)	MIC (µg/ml)	IZ (mm)	MIC (µg/ml)
S. epidermidis	۱۹	۰/۵	۱۸	۰/۵	۱۶	۱	۴۰	۲۵۰	۳۵	۵۰۰	*	*
B. subtilis	۱۴	۰/۵	۱۵	۰/۵	–	–	۱۳	۱۵/۶	۲۱	۵۰۰	*	*
S. aureus	۱۳	۱	۱۳	۱	۸	۲	۱۰	۲۵۰	۲۱	۵۰۰	*	*
باکتری‌های گرم منفی												
S. dysenteriae	۱۱	۰/۵	–	–	–	–	۸	۲۵۰	۱۸	۵۰۰	*	*
K. pneumonia	۱۲	۰/۵	–	–	–	–	۷	۲۵۰	۲۲	۲۵۰	*	*
P. aeruginosa	۱۵	۰/۵	۱۶	۰/۲۵	–	–	–	–	۸	۵۰۰	*	*
S. paratyphi-A serotype	۸	۰/۵	۱۴	۰/۵	–	–	–	–	۲۱	۵۰۰	*	*
E. coli	۱۳	۱	۱۸	۰/۵	۱۱	۱	۱۱	۵۰۰	۲۱	۵۰۰	*	*
P. vulgaris	–	–	–	–	–	–	۱۰	۱۲۵	۲۳	۵۰۰	*	*
قارچ‌ها												
A. niger	–	–	–	–	–	–	*	*	*	*	۲۷	۳۱/۲۵
A. brasilienis	–	–	–	–	–	–	*	*	*	*	۳۰	۳۱/۲۵
C. albicans	–	–	–	–	–	–	*	*	*	*	۳۳	۱۲۵

(–) به معنای عدم‌فعالیت ضدمیکروبی است.

(*) به معنای غیرقابل‌استفاده‌بودن آنتی‌بیوتیک برای سویه میکروبی است.

۱قطر هاله عدم‌رشد

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

۴. بحث و نتیجه‌گیری

در دنیای امروز، برخلاف گذشته که عواملی مانند منابع طبیعی و معدنی، موجب برتری کشورها بر یکدیگر بود، فناوری، مهم‌ترین عامل این برتری است. البته فناوری‌های برتر و نوظهور از اهمیت بیشتری برخوردار هستند. در این میان، فناوری نانو با ارائه رویکردی جدید در توسعه علوم و فنون مختلف از امید بخش‌ترین فناوری‌های قرن حاضر است (۱۸). برای فناوری نانو کاربردهایی در حوزه‌های مختلف مانند غذا، دارو، تشخیص پزشکی و زیست فن آوری، الکترونیک، کامپیوتر، ارتباطات، حمل ونقل، انرژی، محیط زیست، مواد، هوافضا و امنیت ملی وجود دارد (۱۸).

تولید نانوذرات به طور گسترده‌ای با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مطالعه شده است. این روش‌ها علاوه بر تحمیل هزینه‌های بالا، آلودگی زیست محیطی را به همراه دارند. همچنین این روش‌ها همراه با مصرف انرژی بالا هستند و از مواد شیمیایی سمی و خطرناک استفاده می‌کنند. علاوه بر این، اغلب نانوذرات در محلول‌های آلی غیرقطبی سنتز می‌شوند که این، مانعی برای کاربردهای پزشکی آن‌ها است (۱)؛ لذا تمایل به گسترش روش‌های سازگار با محیط زیست و صرف هزینه‌های کمتر، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲). تولید نانوذرات با روش زیستی، شامل استفاده از سیستم‌های مختلف زیستی شامل موجودات ساده پروکاریوتی مانند باکتری تا موجودات پیچیده یوکاریوتی مانند قارچ‌ها و گیاهان است (۳).

امروزه، استفاده تجاری از نانوذرات به سرعت در حال پیشرفت است. خواص فیزیکی، شیمیایی و فیزیولوژی نانوذرات تحت تأثیر اندازه و مرفولوژی نانوذرات است و تکنیک‌های قابل‌اعتماد و دقیق برای مطالعه ویژگی‌های نانوذرات لازم است (۱۹).

باکتری‌ها به عنوان نانوکارخانه‌های زیستی برای تولید نانوذرات بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش، از باکتری‌ها برای تولید نانوذرات استفاده شد. برای این منظور، باکتری‌های بومی معدن نخلک با داشتن توانایی در تولید نانوذرات نقره، جداسازی و شناسایی شدند. بنابراین در این تحقیق سعی شد تا با بهره‌گیری از میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک معدن نخلک، باکتری بومی توانا در تولید نانوذرات نقره معرفی گردد. یک‌سویه باکتری مقاوم به نقره انتخاب شد. سویه باکتری مقاوم به نقره، منتخب نانوذرات نقره را هم به صورت داخل‌سلولی و هم خارج‌سلولی سنتز کرد. در مطالعات دیگری نیز از باکتری‌ها برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شده است که از آن جمله در سال ۲۰۱۶ نانوذرات نقره با سوپرناتانت و توده سلولی باکتری *E.coli* سنتز شد و اثرات ضدمیکروبی بر ضدباکتری‌های بیماری‌زا *S. typhi, Vibrio cholerae, B. subtilis, K. pneumoniae* مؤثر بود که نتایج تحقیق ما را تأیید می‌کند (۲۰).

دیپا و همکاران[1]، نانوذرات نقره کروی‌شکل را با استفاده از گونه باکتریایی *Thermoactinomyces sp.* در اندازه ۲۰ تا ۴۰ نانومتر به‌صورت خارج‌سلولی تولید کردند (۳). در این روش از مایع رویی (سوپرناتانت) یا عصاره عاری از سلول[2] استفاده می‌شود که به این ترتیب تولید نانوذرات نقره به روش خارج‌سلولی، بیرون از سلول باکتری اتفاق می‌افتد. مزیت این روش در مقایسه با نوع درون‌سلولی، امکان بازیابی آسان نانوذرات از محلول است. نتایج تحقیق ما نشان داد تولید به روش خارج‌سلولی بهتر از روش تولید با توده سلولی است. همچنین عصاره بدون سلول باکتری *Acinetobacter calcoaceticus* برای تولید خارج‌سلولی نانوذرات نقره گزارش شده است (۳). باکتری *Lactobacillus fermentum* در شرایط دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، غلظت یک میلی‌مولار از نیترات نقره و pH= ۵/۶ نانوذرات نقره تولید کردند (۲۱) که مجموعه این گزارش‌ها سنتز نانوذرات نقره با باکتری‌ها را نشان می‌دهد.

در سال ۲۰۱۸ مخمر *Rhodotorula* sp.strain ATL72 از مارچ‌های شور اطراف دریای مدیترانه در یونان جدا شد و برای ساخت نانوذرات نقره استفاده شد. این نانوذرات با اندازه‌ای بین ۸/۸ تا ۲۱/۴ نانومتر اثر ضدمیکروبی خوبی علیه باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها داشتند (۲۲).

نانوکامپوزیت‌های نقره (EPL-g-butyl@AgNPs) اثر ضد میکروبی خوبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک داشتند و بر سلول‌های پستاندارن، اثر منفی نشان ندادند. این نانوکامپوزیت‌ها به سطح سلول‌های باکتری متصل می‌شوند و غشای سلول باکتری را تخریب می‌کنند (۲۳).

پژوهشی در سال ۲۰۱۹ نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز گزارش کرد که ضد باکتری *E.coli* مؤثر بودند. نانوکامپوزیت نقره /عصاره اسپند حاصل از این نانوذرات نقره در مقایسه با هر کدام از نانوذرات نقره و گیاه اسپند به طور جداگانه اثر ضدمیکروبی بیشتری نشان داد (۲۴).

در سال ۱۳۹۴ ملانیا و همکاران با استفاده از آنزیم آلفا امیلاز باکتریایی نانوذرات نقره ساختند که بر اساس مطالعه‌های DLS وSEM اندازه این نانوذرات حدود ۴۰-۲۰ نانومتر بود. اثر ضدمیکروبی این نانوذرات بر ضدباکتری‌های

1 Deepa et al
2 cell-free extract

www.SID.ir

Archive of SID

E.coli ATCC 25922 و *S.aureus* ATCC 25923 بررسی شد که اثر ضدمیکروبی خوبی نشان دادند (۲۵).

اطلاعاتی زیادی در مورد احیای نیترات نقره و تشکیل نانوذرات نقره در دسترس نیست و ملکول‌های پروتئین و آنزیم‌هایی مثل نیترات ردوکتاز به عنوان عامل مؤثر در سنتز نانوذرات نقره عمل می‌کنند (۲۶).

امروزه مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی نسبت به عوامل بیماری‌زا و عفونی، از جمله معضلات علم پزشکی است و یکی از نگرانی‌های جامعه پزشکی، گسترش روزافزون این مقاومت‌هاست که دلیل آن استفاده نامناسب و خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی سبب افزایش هزینه‌های درمان و طولانی شدن دوره نقاهت می‌شود و این امر نیاز به جستجوی ترکیب‌های جدید با توانایی ضدمیکروبی و جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها را ضروری می‌کند (۲۷).

از جمله اهداف این پژوهش، بررسی اثر نانوذرات نقره سنتز شده با سوپرناتانت و توده سلولی علیه میکروارگانیسم‌های شامل باکتری، مخمر و کپک بود که هر دو نوع نانوذرات سنتز شده ضد مخمر و کپک تأثیری نداشتند و همچنین دو نوع نانوذرات علیه باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون اثر ضدمیکروبی مشابه داشتند در حالی‌که اثر ضدمیکروبی آنها علیه باکتری‌های گرم منفی، نتایج تا حدودی متفاوت بود و نانوذرات سنتز شده با سوپرناتانت بر دو باکتری *S. dysenteriae* و *K. pneumonia* مؤثر بودند ولی نانوذرات سنتز شده با توده سلولی بر این دو باکتری بی‌تأثیر بود. تفاوت در نتایج ضدمیکروبی دو نوع نانوذرات احتمالاً به دلیل تفاوت در اندازه و خصوصیات آنها باشد. مطالعات بیشتری لازم است تا تأثیر ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده بر ضدسویه‌های بالینی جدا شده از بیماران مختلف، ارزیابی شود و همچنین لازم است تا اثر سمیت این نانوذرات نیز بررسی گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشکده شیمی، گروه زیست‌شناسی سلولی ملکولی دانشگاه کاشان که مواد، وسایل و امکانات لازم برای انجام این پژوهش را فراهم کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

[1] Haytham M, Ibrahim M. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 2015; 265-275
[2] Zhang X, Liu Zh, Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. Int. J. Mol. Sci, 2016; 17, 1534.
[3] Singh R, Shedbalkar U, Wadhwani S, Chopade B. Bacteriagenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. Appl Microbiol Biotechnol, 2015; 99(11): 4579–4593.
[4] Ranjit K, Abdul Baquee A. Nanoparticle: An overview of preparation, characterization and application. Int. Res. J. Pharm. 2013; 4 (4): 47-57.
[5] Iravani S, Korbekandi H, Zolfaghari B. Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. *RPS*, 2014; 9(6): 385-406.
[6] Singh P, Kim Y, Zhang D, Yang D. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. Trends in Biotechnology, 2016; 34(7):588-599.
[7] Thomas R, Janardhanan A, Varghese R, Soniya E, Mathew E, Radhakrishnan E. Antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized by marine Ochrobactrum sp. Brazilian Journal of Microbiology. 2014; 45(4): 1221-1227.
[8] Lakshmi Das V, Thomas R, Varghese R T, Soniya EV, Mathew J, Radhakrishnan E K. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. 3 Biotech. 2014; 4,121–126.
[9] Attarad A, Hira Z, Muhammad Z, Ihsan ul H, Abdul Rehman P, Joham Sarfraz A, Altaf H. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. Nanotechnol Sci Appl. 2016; 9: 49–67.
[10] Behra R, Sigg L, Clift MJD, Herzog F, Minghetti M, Johnston B, Petri-Fink A, Rothen-Rutishauser B. Bioavailability of silver nanoparticles and ions: from a chemical and biochemical perspective. *J. R. Soc. Interface*. 2013; 10: 20130396, 1-15.
[11] Nowack B, Krug H F, Height M.120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. Environ. Sci. Technol. 2011; 45, 1177–1183
[12] Liang Keat C, Aziz A, Eid A M, Elmarzugi N A. Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. Bioresour.Bioprocess. 2015; 2:47.
[13] Allafchian AR, Mirahmadi-Zare S Z, Jalali S AH, Hashemi S S, Vahabi M R. Green synthesis of silver nanoparticles using *phlomis* leaf extract and investigation of their antibacterial activity. JNSC. 2016; 6:129–135.
[14] Wang M, Abbineni G, Clevenger A, Mao Ch, Sh. Xu. Upconversion Nanoparticles: Synthesis, Surface Modification, and Biological Applications. Nanomedicine, 2011; 7(6): 710–729.
[15] Conde J, Dias J, Grazú V, Moros M, Baptista P, J. de la Fuente. Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for anomedicine .Front Chem. 2014; 2: 48.
[16] Garrity GM, Bernner DJ, Krig NR, Stalery, editors. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd Volume. New York: Springer; 2005; 1-399.
[17] Zhang X, Liu Z, Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016; 17 (9), 1534.
[18] Jahanshahi M. Molecular nanotechnology and bionanotechnology. 2008; pp. 15. Persian.
[19] Lin P, Lin S, Wang P, Sridhar R. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials Biotechnol Adv. 2014; 32(4):711–726.
[20] Koilparambil D, Kurian LC, Vijayan S, Manakulam Shaikmoideen J. Green synthesis of silver nanoparticles by *Escherichia coli* : Analysis of antibacterial activity. J. Water Environ. Nanotechnol.2016; 1(1): 63-74.

www.SID.ir

Archive of SID

[21] Omidi ., Hashemi S J, Bayat M, Larijani K. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Lactobacillus fermentum. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2014; 3(12): 186-192

[22] Soliman H, Elsayed A, Dyaa A. Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesized by *Rhodotorula* sp.strain ATL72. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences. 2018; 5, 228–233.

[23] Xiaomei Dai, Qianqian Guo, Yu Zhao,a Peng Zhang, Tianqi Zhang, Xinge Zhang, Chaoxing Lia. Functional silver nanoparticle as a benign antimicrobial agent that eradicates antibiotic-resistant bacteria and promotes wound healing. ACS Appl. Mater. Interfaces. 2016; 1-46.

[24] Mousavi-Kamazani M. The effect of silver nanoparticles on antimicrobial activity of Syrian rue alcoholic Extract against Escherichia coli bacteria. Journal of applied chemistry. 2019; 14(51), 277- 286.

[25] Mollania N, Gharib F, Rostami- Taghi Dizaj R, Kheirabadi M. Study on the antibacterial effects of silver nanoparticles produced by α-amylase enzyme. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2016; 23(2), 214-220.

[26] Narayanan, K.B. and N. Sakthivel, Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Advances in colloid and interface science, 2010. 156(1): 1-13.

[27] Kavoosi S, Yaghoubi H. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Green Method of Plant Extract European Marjoram (Origanum majorana) and Their Antibacterial Effects. Journal of Molecular and Cellular Research (Iranian Journal of Biology). 2008; 30 (2).

www.SID.ir

Archive of SID

Microbial synthesis of silver nanoparticles and its antimicrobial activity

Fereshteh Jookar Kashi[1*], Zohreh Boroumand[2]

1. Associate Professor of Microbiology, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran
2. Head of NanoBioEarth department, applied research center of geological survey of Iran

Abstract

Introduction: The bacteria with a remarkable ability to regenerate heavy metal ions are considered biological factories or important nano-factories to produce nanoparticles. The bacterial production of nanoparticles as a green and one-step method can overcome production problems and disadvantages through physical and chemical methods.

Materials and Methods: In this study, bacteria isolates were taken from soil samples of Nakhlak mine. One silver resistant bacterial strain was selected for the production of silver nanoparticles. This strain synthesized silver nanoparticles with supernatant and biomass. The nanoparticles synthesized were characterized using XRD and SEM. The antimicrobial activity of the nanoparticles was determined.

Results: The silver resistance bacteria were isolated from soil samples**.** One silver resistant bacterial strain was selected for the production of silver nanoparticles. The nanoparticles showed good antimicrobial activity against standard strains of tested microorganisms.

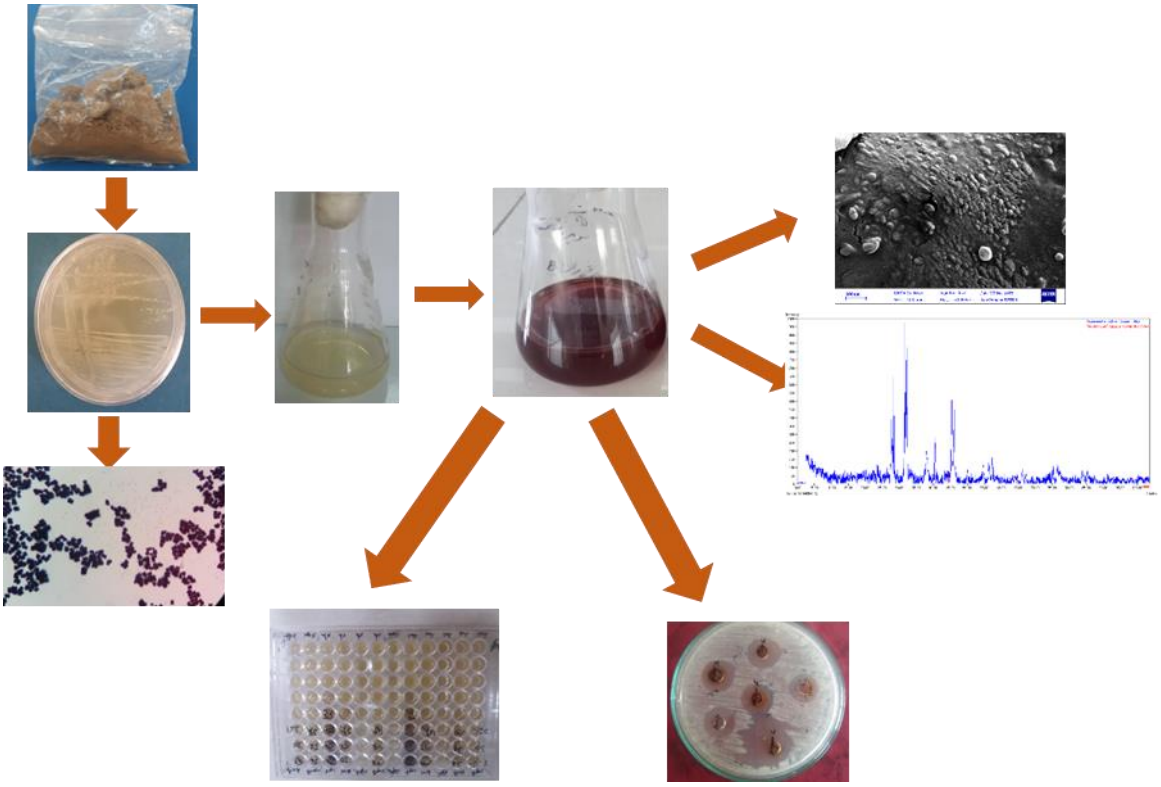
Conclusion: The nanoparticle synthesized by bacterial strain isolated from Nakhlak mine is a promising new biological source for synthesizing silver nanoparticles with potent antimicrobial activity. According to the results, this compound can be used to make disinfectants.

Received: 2019/07/07
Accepted: 2019/09/16

Keywords: Antimicrobial effect, Silver nanoparticles, Microorganism, Green synthesis.

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir