

سنتز نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل و بررسی خواص ضدباکتریایی آنها بر روی باکتری های گرم منفی و گرم مثبت

نادر نضافتی^{۱*} و سودا پورآقایی^۲

^۱ استادیار مهندسی پزشکی (بیومواد) - پژوهشگاه مواد و انرژی - پژوهشکده نانو تکنولوژی و مواد پیشرفته

^۲ دانشجوی دکتری مهندسی پزشکی - دانشگاه صنعتی امیرکبیر - دانشکده مهندسی پزشکی

تاریخ ثبت اولیه: ۹۲/۴/۳۰، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۹۲/۱۰/۲۶، تاریخ پذیرش قطعی: ۹۲/۱۰/۳۰

چکیده برهمکنش های نانوذرات نقره با باکتری ها به اندازه و شکل نانوذرات بستگی دارد. اگرچه تاکنون بررسی های قابل توجهی در خصوص سنتز و بررسی برهمکنش نانوذرات نقره به صورت کروی شکل با باکتری ها انجام شده است، اما مطالعات کمی در مورد شکل نانوذرات بر فعالیت باکتری صورت گرفته است. در این پژوهش، نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل سنتز و اثر ضدباکتریایی آنها بر روی سه نوع باکتری شایع ای.کولای، آرتوس و آرجینوزا بررسی شدند. ابتدا محلول نیترات نقره و آب دیونیزه شده در حضور پلی وینیل پیرولیدون تهیه شد. سپس، سدیم سیترات و سدیم بوروهیدرات به محلول اضافه شدند. از هیدروژن پروکساید به عنوان عامل اکسنده استفاده شد. با توجه به آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری، توزیع اندازه ذرات مثلثی شکل نقره وسیع و در محدوده ۷ تا ۶۵ نانومتر بود؛ نانوذرات حاصل در این پژوهش دارای لبه ها و رئوس تیز بودند. دو پیک محدودده ۳۳۱ و ۶۲۷ نانومتر در طیف فرابنفش از محلول آبی رنگ نقره، به خوبی ناهمسانگرد بودن و تشکیل نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل را تأیید کرد. نتایج حاصل از تست هاله نشان داد که قطر هاله تشکیل شده برای باکتری گرم مثبت آرتوس نسبت به دو باکتری دیگر گرم منفی کمتر بود.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، ساختار مثلثی شکل، تست هاله، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی

Synthesis and evaluation of triangular shaped silver nanoparticles on antibacterial properties of gram-positive and gram-negative bacterium

N. Nezafati^{1*} and S. Pouraghaei²

¹ Nanotechnology and Advanced Materials Department, Materials and Energy Research Center

² Biomaterials Group, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology

Abstract Interaction of silver nanoparticles with bacterium depends on their size and shape. Although many studies have been recently done about synthesis and investigating reaction of spherical silver nanoparticles to bacterium, few studies have been performed in terms of shape of such nanoparticles. In this research, triangular structure nanosilver particles were synthesized and their antibacterial behavior on three conventional bacterium i.e. Escherichia Coli, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa were assessed. At first, silver nitrate solution and deionized water in the presence of polyvinyl pyrrolidone were prepared. Sodium citrate and sodium borohydrate were then added to the solution. Hydrogen peroxide acted as an oxidizing agent. Transmission Electron Microscope (TEM) analysis showed that distribution of triangular shaped nanosilver particle size was broad and in the range of 7-65 nm. This triangular formed nanosilver had a sharp edges and vertexes. The UV spectroscopy of blue-color solution showed two peaks in the range of 331nm and 627 nm which reflected anisotropic and the formation of triangular structure of silver nanoparticles. The halo test results represented that halo diameter for gram positive S. aureus was smaller than the other gram negative bacterium.

Keywords: Silver nanoparticles, Triangular structure, Halo test, Gram positive bacteria, Gram negative bacteria.

* عهده دار مکاتبات

نشانی: پژوهشگاه مواد و انرژی - پژوهشکده نانو تکنولوژی و مواد پیشرفته - گروه بیومواد

تلفن: (۴۷۵) ۰۲۶۳۶۲۸۰۰۴۰، دورنگار: --، پیام نگار: n.nezafati@merc.ac.ir

۱- مقدمه

ایجاد شود که تبدیل قابل کنترل ذرات کروی به ذرات غیر کروی از نقطه نظر سینتیکی اتفاق افتد. این اتفاقها می‌تواند در مراحل آغازین سنتز زمانیکه ذرات اولیه (جوانه‌ها) تحت کنترل ترمودینامیکی تشکیل شدند، روی دهد بدین ترتیب که این ذرات با کنترل سینتیکی، آرام آرام به محصول نهایی تبدیل شوند. عوامل مؤثر بر رشد ناهمسانگرد ذره و تبدیل شدن به ذرات غیر کروی از دو طریق صورت می‌گیرد: اول، منطقه مربوط به رشد ذره از نظر فضایی بواسطه اجزای محیطی محدود می‌شود؛ دوم، رشد در جهت مشخصی، به دلیل جذب سطحی انتخابی ماده پایدارساز (مورد استفاده در فرایند سنتز) روی صفحات معین کریستالوگرافی متوقف می‌شود [۱۷].

از نانو ذرات نقره برای ساخت کامپوزیت‌ها به عنوان فیلترهای تصفیه کننده، مواد پوشش دهنده و غیره بهره گرفته شده است. البته آنچه که بسیار اهمیت دارد، پایداری مناسب این نوع نانوذرات در محیط رشد باکتری برای برهمکنش بیشتر نانوذره با باکتری است [۱۸ و ۱۹].

با وجود آنکه تحقیقات گسترده‌ای در خصوص سنتز و بررسی برهمکنش نانوذرات نقره به صورت کروی شکل با باکتری‌ها انجام شده است، اما مطالعات کمی در مورد شکل نانوذرات بر فعالیت باکتری صورت گرفته است. در این پژوهش، نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل سنتز و اثر ضدباکتریایی آن بر روی سه نوع باکتری شایع ای.کولای، آرئوس و آرجینوزا بررسی شده است.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد مورد استفاده

نیترات نقره (Applichem Company Inc., No. 6132)، تری سدیم سیترات بدون آب (No. 22384298)، سدیم بوروهیدرات (Sigma-Aldrich, No. 04-3)، آب اکسیژنه، پلی وینیل پیرولیدون (Aldrich, No. 452874)، (با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰) (Merck, No. 5295)، خریداری شدند. سه نوع باکتری ای. کولای، سودوموناس آروجینوزا و استفیلوکوکوس آرئوس از دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شدند.

نانو فناوری، کنترل مواد در مقیاس اتمی به منظور دستیابی به ویژگیهای منحصر بفردی است که می‌تواند به سمت کاربردهای مورد نیاز مدیریت شود. اکثر فرایندهای طبیعی نیز در مقیاس نانومتری اتفاق می‌افتد. بنابراین، تلاقی نانو فناوری و بیوفناوری خواهد توانست بسیاری از مسائل مربوط به زیست پزشکی را برطرف سازد و تحولی در زمینه سلامت ایجاد کند. کاهش اندازه ذرات مواد در ابعاد نانو می‌تواند سبب بهبود ویژگیهای بیولوژیکی و رشد استخوان شود. از نانوذرات نقره در فناوریهای جدید مهندسی بواسطه مورفولوژی‌ها و خصوصیات جدید حاصل از آنها استفاده می‌شود [۱-۴].

مقالات اخیر بر روی سنتز و خصوصیات ضدباکتریایی نانوذرات نقره متمرکز شده است. روشهای متعددی برای تهیه نانوذرات نقره ارائه شده است که بسته به نوع روش، بر شکل نهایی ذره (اعم از کروی یا غیرکروی) اثرگذار است. برخی از مثالهای مربوط به تکنیکهای فیزیکی تهیه نانوذرات نقره عبارتند از: سنتز فوتوشیمیایی، کندگی لیزر، فرایندهای انتقال فازی، میکرومولوسیون، عملیات مایکروویو و تابش اشعه گاما برای تولید نانوذرات نقره هم از فاز جامد و هم محلول [۵-۱۰]. روشهای فیزیکوشیمیایی و بیوسنتزی نیز به طور وسیعی برای ساخت نانوذرات نقره با هدف بهبود روشهای متداول به کار گرفته شده است [۱۱-۱۴]. همانطور که اشاره شد، اگرچه یکی از تکنیکهای ساخت نانو ذرات نقره، روشهای فازی جامد-مایع است اما روشهای شیمیایی همه گیرتر و قابل استفاده تر است. از روشهای احیای شیمیایی برای تولید نانوذرات با اندازه‌های قابل کنترل استفاده می‌شود که در آن یونهای نقره به کمک کاهنده‌ها و پایدارسازها و یا کمک بازدارنده‌ها احیا می‌شوند تا از کلوخه‌ای شدن این نوع نانوذرات جلوگیری شود [۱۵ و ۱۶]. از روشهای نامبرده شده، برای تهیه نانوذرات کروی شکل نقره استفاده شده است. اصولاً ذرات کروی که حداقل سطح نسبت به حجم مشخص دارند، از نظر ترمودینامیکی پایدار هستند. چنانچه احیای یونهای نقره تک ظرفیتی با کنترل شرایط ترمودینامیکی پیش رود، شکل محصول کروی خواهد بود. اما، بسته به نوع روش سنتز و مواد مورد استفاده در فرایند سنتز، این امکان وجود دارد تا شرایطی

۲-۲- سنتز نانو ذرات نقره با ساختار مثلثی

محلول پیش سازه نانوذره نقره از طریق واکنش احیای نیترات نقره در آب دیونیزه شده در حضور پلی وینیل پیرولیدون (به عنوان عامل پایدارساز) تهیه شد. نسبت مولی پلی وینیل پیرولیدون به نیترات نقره از ۰/۲ به ۱ تا ۱۰ به ۱ تغییر کرد. سوسپانسیون در دمای اتاق هم زده شد تا انحلال کامل نیترات نقره اتفاق بیافتد. تری سدیم سیترات و آب اکسیژنه به ترتیب یکی پس از دیگری، به محلول ۱۰۰ میلی‌لیتری پیش سازه (در ظرف شیشه‌ای ۲۰۰ میلی‌لیتری) افزوده شدند. سپس، سدیم بوروهیدرات (به عنوان عامل کاهشده قوی) به محلول در دمای اتاق تزریق شد.

۲-۳- ارزیابی مشخصات

مشخصات جذب اپتیکی کلئیدهای نقره در محدوده مرئی-فرابنفش با طول موج ۲۰۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه و مورفولوژی نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل Philips CM120 تحت ولتاژ ۲۰۰ کیلوولت مورد مطالعه قرار گرفت. در مورد آماده سازی نمونه برای انجام آنالیز میکروسکوپ عبوری، بخشی از کلئید نقره با سرعت ۲۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه ساتریفوژ شد تا نانوذرات نقره در مایع اشباع شوند. یک قطره از محلول در اتانول دیسپرس شد و روی صفحه پوشش داده شده با کربن قرار داده شد و اجازه داده شد تا خشک شود.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره در محیط کشت آگار حاوی سه نوع باکتری ای.کولای^۱ (کد ATCC 25922)، سودوموناس آروجینوزا^۲ (کد ATCC 27833) و آرتوس^۳ (کد ATCC 25923) انجام شد. دو باکتری مهم که عفونت‌های پس از کاشت ایمپلنت را سبب می‌شوند، ای.کولای و سودوموناس آروجینوزا هستند. از طرفی باکتری آرتوس مسئول اصلی عفونت‌های ناشی از وسایل پروتز و عفونت‌های ناشی از عمل جراحی است. در این روش، در ابتدا سوسپانسیونی از باکتری برابر با ۰/۵ استاندارد مک فارلند^۴ تهیه شد و در صفحه

آگار مولر-هیلتون^۵ کشت داده شد. سپس، نمونه نقره در وسط صفحه آگار مولر-هیلتون قرار داده شد. قطر هاله شکل گرفته اطراف نمونه قرصی شکل پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون صفحه آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

۳- نتایج و بحث

با توجه به آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری، توزیع اندازه ذرات مثلثی شکل نقره وسیع و در محدوده ۷ تا ۶۵ نانومتر شد؛ نانوذرات حاصل در این پژوهش دارای لبه‌ها و رئوس تیز بودند (شکل ۱). همچنین، اثری از کلوخه شدن بعد از گذشت ۲ ماه پیرسازی، مشاهده نشد. اندازه‌گیری‌های مرئی-فرابنفش، از نانو ذرات کلئیدی با ساختار مثلثی به خوبی و به طور واضح ناهمسانگرد بودن شکل آنها را منعکس می‌کند. دو پیک ۳۳۱ و ۶۲۷ مربوط به مشخصات ساختار مثلثی شکل نانو ذرات نقره می‌باشد (شکل ۲) که ناشی از پلاسمون دوقطبی و رزونانس چهارقطبی صفحه‌ای است [۲۰]. این تفسیر با مشاهدات میکروسکوپ الکترونی عبوری همخوانی دارد. زمانیکه سدیم سیترات و آب اکسیژنه قبل از سدیم بوروهیدرات به محلول اضافه می‌شوند، در ابتدا محلول به رنگ زرد درمی‌آید اما پس از حدود ۱ ساعت رنگ همانطور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود به رنگ آبی تبدیل می‌شود. شکل (۴)، ناحیه بازدارنده اطراف نمونه قرصی شکل نانوذرات نقره را نسبت به سه نوع باکتری کشت شده در آگار مولر-هیلتون نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تست هاله نشان داد که قطر هاله تشکیل شده برای باکتری گرم مثبت آرتوس نسبت به دو باکتری دیگر گرم منفی کمتر بود.

نانو ذرات نقره به علت وجود یونهای سیترات جذب شده در سطحشان دارای بار منفی می‌شوند که سبب ایجاد نیروی دافعه بین ذرات و جلوگیری از آگلومره شدن می‌شوند. بنابراین، ذرات موجود در محلول بدون استفاده از دیگر عوامل پایدارساز می‌توانند در شرایط پایدار باقی بمانند. اما برای تولید نانوذرات نقره به صورت کاملاً ریز، از سدیم بوروهیدرات استفاده شد. هدف از انجام این کار بهبود توزیع اندازه نانو ذرات نقره بود که منجر به تولید ذرات بسیار ریز شد. واکنش

¹ - *Escherichia coli*

² - *Pseudomonas aeruginosa*

³ - *Staphylococcus aureus*

⁴ - McFarland standard

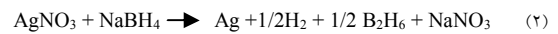
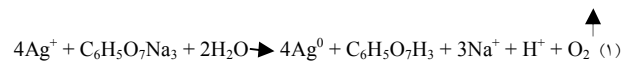
⁵ - Mueller-Hinton agar plate (MHA)

در واقع به دلیل استفاده از سدیم بوروهیدرات (به عنوان کاهنده قوی) و متعاقب آن اکسیداسیون بیشتر ذرات کوچک به یونهای Ag^+ ، امکان تبدیل ذرات کروی به ذرات با ساختار مثلثی امکان پذیر شد. بنابراین، حضور و تقابل آب اکسیژنه در کنار سدیم سیترات، پیرولیدون و سدیم بوروهیدرات باعث سنتز نانوذرات نقره با ساختار مثلثی می شود.

تغییر رنگ از حالت زرد به آبی می تواند به خاطر تغییر در رزونانس پلاسمون سطحی نانوساختارهای فلزی باشد.

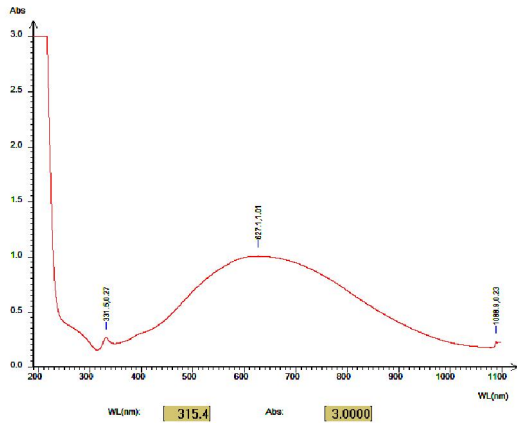
نقره به عنوان بهترین عامل ضدباکتریایی، فعالیت ضدباکتریایی خود را به چهار حالت اصلی انجام می دهد: این حالتها عبارتند از: بازدارندگی از سنتز دیواره سلول باکتری، جلوگیری از سنتز پروتئین، جلوگیری از ساخت RNA و DNA باکتری و یا جلوگیری از انجام یک مسیر متابولیکی. یونهای نقره با اجزای هسته دوست آمینو اسید موجود در پروتئینهای باکتری واکنش می دهند و به گروههای سولفوهدریل، آمینو، ایمیدازول، فسفات و کربوکسیل غشاهای یا آنزیمها متصل می شوند و سبب تخریب پروتئین می شوند. در واقع نقره با دیواره سلول و سیتوپلاسم باکتری در ارتباط است. چپل^۱ و گرویل^۲ تصدیق کردند که مقادیر کم یون نقره تعادل نیروی محرک پروتونی روی غشای باکتری را از بین می برد و بنابر تحقیقات دیبروف^۳ و همکارانش، این میزان، موجب ترشح فراوان پروتون دیواره باکتری می شود که در نهایت سبب از بین رفتن انرژی کامل سلول و در نتیجه مرگ آن می شود [۲۲-۲۵]. پس می توان نتیجه گرفت که اتصال به سطح و از بین بردن عملکرد غشا، مهمترین مکانیزم مرگ باکتری توسط یونهای نقره است. در مجموع می توان اینگونه بیان کرد که مکانیزم اصلی ویژگیهای ضدباکتریایی نانوذرات نقره لنگرانداختن و رسوخ کردن ذرات نقره به دیواره سلول باکتری است؛ سپس، درون سلول، این نانوذرات نقره سیگنال دهی سلولی را از طریق فسفرزدایی لایه های پیتیدی اصلی تعدیل می کنند که بر روی حیات و تکثیر سلول تأثیرگذار است [۲۶].

احیای نیترات نقره توسط سدیم سیترات و سدیم بوروهیدرات به ترتیب در معادلات (۱) و (۲) آمده است:



اما برای آنکه واکنش به درستی پیش رود، بایستی میزان سدیم بوروهیدرات به قدرکافی باشد تا ذرات را پایدار نگه دارد که کنترل این میزان کار دشواری است؛ از طرفی استفاده زیاد از سدیم بوروهیدرات مقاومت یونی را افزایش می دهد و سبب کلوخه شدن ذرات می شود. بنابراین زمان ماندگاری و پایداری محلول کوتاه خواهد بود. استفاده از پلی وینیل پیرولیدون سبب جذب این ماده بر روی سطح ذرات نقره می شود (وزن مولکولی و مقدار پیرولیدون بر روی اندازه میانگین ذرات اثر می گذارد [۱۰]). ساز و کار استفاده از این نوع ماده می تواند شامل دو مرحله باشد: نخست، یونهای نقره توسط سدیم بوروهیدرات به اتمهای نقره احیا می شوند و سپس اتمهای نقره به هم متصل می شوند (به اصطلاح کلوخه می شوند) که این کلوخهها نانوذرات اولیه نقره را شکل می دهند. در نهایت این ذرات اولیه با دیگر ذرات اولیه آمیخته شده و کلوخه های بزرگتری را ایجاد می کنند که به عنوان نانوذرات ثانویه در نظر گرفته می شوند [۲۱]. در این حین، پلی وینیل پیرولیدون از کلوخه شدن بیشتر نانوذرات نقره جلوگیری می کند [۱۰] و نانوذرات دیسپرس شده نقره در محلول را برای مدت بیش از دو ماه (حتی در دمای اتاق) پایدار نگه می دارد. مدت زمان این پایداری بیشتر از شرایطی خواهد بود که تنها از سدیم سیترات و سدیم بوروهیدرات بدون کمک پایدارساز استفاده شود.

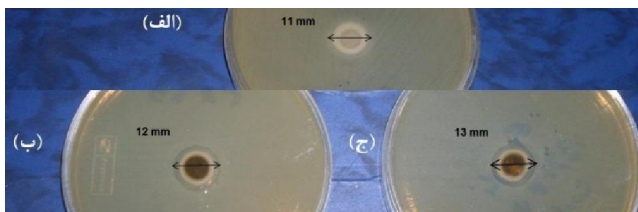
علت ناهمسانگرد بودن شکل نانو ذرات نقره با ساختار مثلثی، می تواند به دلیل استفاده از کاهنده قوی (سدیم بوروهیدرات) باشد که سبب احیای نیترات نقره و تبدیل آن به نانوذرات نقره ریز کروی در دمای اتاق می شود (زمانیکه بلافاصله پس از سدیم سیترات و آب اکسیژنه به محلول افزوده شد). این موضوع، سبب اکسیداسیون بیشتر ذرات کوچک به یونهای نقره و تبدیل آنها به نانوذرات مثلثی شکل در دمای اتاق می شود.



شکل ۲. طیف سنجی مرئی-فرابنفش از نانوذرات نقره با ساختار مثلثی شکل



شکل ۳. تصویر نوری که نشان دهنده روند مشخص تغییر رنگ محلول کلئوئیدی نانوذرات نقره کروی شکل (زرد رنگ) و محلول نانوذرات مثلثی شکل نقره (آبی رنگ) حاصل در دمای اتاق است.



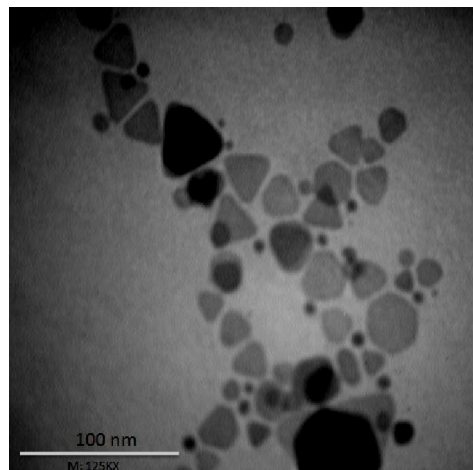
شکل ۴. اندازه هاله ایجاد شده اطراف نانوذرات نقره با ساختار مثلثی نسبت به ۳ نوع باکتری کشت شده در آگار مولر-هیلتون؛ الف) آرئوس، ب) آروجینوزا، ج) ای کولای

۴- نتیجه گیری

روش‌های شیمیایی متنوعی برای آماده سازی محلول‌های گوناگون حاوی نانوذرات نقره مورد بررسی قرار گرفته است. در هر مورد، توجه بخصوصی به تغییر اندازه و شکل ذرات شده است. این ویژگی‌ها از طریق دستگاه‌هایی نظیر میکروسکوپ الکترونی عبوری، اسپکتروسکوپی مرئی-فرابنفش قابل تشخیص‌یابی است. در این پژوهش، نانوذرات نقره با لبه‌ها و رئوس تیز در محلول آبی و در دمای اتاق در

دیواره سلول باکتری گرم-منفی از فسفولیپیدها، لیپوپلی ساکاریدها^۲ و یک تا دو لایه پپتیدوگلیکان^۳ تشکیل شده است درحالیکه دیواره سلول باکتری گرم-مثبت از اسید تیکوئیک^۴ و حدود ۴۰ لایه پپتیدوگلیکان تشکیل شده است [۲۷ و ۲۸]. این موضوع، می‌تواند تفاوت اثر ضدباکتریایی نمونه نانوذره نقره را برای دو نوع باکتری گرم-منفی و گرم-مثبت توجیه کند.

مطابق با بررسی‌های ضدباکتریایی انجام شده توسط دیگر محققین بر روی نانوذرات نقره با شکل‌های مختلف (اعم از کروی، بیضوی و میله‌ای) ثابت شده است که رویه‌های اتمی از نوع (۱۱۱) نانوذرات نقره نانو قوی‌ترین فعالیت ضدباکتریایی را نسبت به دیگر رویه‌های اتمی (به عنوان مثال از نوع (۱۰۰)) دارند چراکه این رویه‌ها، چگالی اتمی صفحه‌ای بالایی دارند [۲۹]. متعاقب آن، شکل نانوذره نیز بر فعالیت ضدباکتریایی اثر خواهد گذاشت؛ بدین معنی که نانو ذرات کروی با توجه به شکل هندسی شان، رویه‌های (۱۱۱) کمتری نسبت به ساختار منشوری (مثلثی) دارد، بنابراین فعالیت و واکنش‌پذیری کمتری نیز دارند. علاوه بر مطالب گفته شده، ذکر این نکته نیز حائز اهمیت است که وجود رئوس و گوشه‌های تیز نانوذرات نقره با ساختار مثلثی (منشوری) حاصل در این تحقیق، می‌تواند این مزیت را داشته باشند تا دیواره غشای سلول باکتری را به راحتی بشکافند و در آن نفوذ کنند.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از محلول حاوی نانوذرات نقره با ساختار مثلثی به کمک احیای نیترات نقره در دمای اتاق

- 1 - Phospholipids
- 2 - Lipopolysaccharides (LPS)
- 3- Peptidoglycan
- 4 -Teichoic acid

- Australian Journal of Basic Applied Science. 6[1] (2012) 86-88.
14. Dawy, M., Rifaat H.M., Moustafa S.A., Mousa H.A., Physicochemical studies on nano silver particles prepared by different techniques, Australian Journal of Basic Applied Science. 6[3] (2012) 257-262.
 15. Prabhu, N., Divya T.R., Yamuna G., Synthesis of silver phyto nanoparticles and their antibacterial efficacy, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 5 (2010) 185-189.
 16. Khan, Z., Al-Thabaiti S.A., Obaid A.Y., Al-Youbi A.O., Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method, Colloids and Surface B: biointerfaces. 82 (2011) 513-517.
 17. Krutyakov, Y.A., Kudrinskiy A.A., Olenin A.Y., Lisichkin G.V., Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects, Russian Chemical Reviews. 77 [3] (2008) 233- 257.
 18. Jain, P., Pradeep T., Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter, Biotechnology Bioengineering. 90 (2005) 59-63
 19. Li, Y., Leung P., Yao L., Song Q.W., Newton E., Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles, Journal of Hospital Infection. 62 (2006) 58-63.
 20. Jin, R.C., Cao Y.W., Mirkin C.A., Kelly K.L., Schatz G.C., Zheng J.G., Photoinduced Conversion of Silver Nanospheres to Nanoprisms, Science. 294 (2001) 1901.
 21. Pastoriza-Santos, Liz-Marzan L.M., Formation of PVP-protected metal nanoparticles in DMF, Langmuir. 18 (2002) 2888-2894.
 22. Percival, S.L., Bowler P.G., Russell D., Bacterial resistance to silver in wound care, Journal of Hospital Infection. 60 (2005) 1-7.
 23. Goddard, P.A., Bull A.T., Accumulation of silver by growing and non-growing populations of *Citrobacterintermedius* B6, Applied Microbiology Biotechnology. 31 (1989) 314.
 24. Chappell, J.B., Greville G.D., Effect of Silver Ions on Mitochondrial Adenosine Triphosphatase, Nature. 174 (1954) 930-931.
 25. Dibrov, P., Dzioba J., Gosink K.K., Hase C., Chemiosmotic Mechanism of Antimicrobial Activity of Ag⁺ in *Vibrio cholera*, Antimicrobial Agents Chemotherapy. 8 (2002) 2668-2670.
 26. Shrivastava, S., Bera T., Roy A., Singh G., Ramachandrarao P., Dash D., Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles, Nanotechnology. 18 (2007) 225103.
 27. Hu, S., Chang J., Liu M., Ning C., Study on antibacterial effect of 45S5 Bioglass®, Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 20[1] (2009) 281-286.
 28. Rundegren, J., Delmopinol interactions with cell walls of gram-negative and gram-positive oral bacteria, Oral microbiology immunology. 10[2] (1995) 102-109.
 29. Morones, J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramirez J.T., Yacaman M.J., The bactericidal effect of silver Nanoparticles, Nanotechnology. 16 (2005) 2346-2353.
- حضور آب اکسیژنه سنتز شدند. محدوده اندازه ذرات ۷ تا ۶۵ نانومتر بود. در طیف مرئی- فرابنفش، دو پیک در محدوده ۳۳۱ و ۶۲۷ نانومتر مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که قطر هاله تشکیل شده برای باکتری گرم مثبت نسبت به دو باکتری دیگر تفاوت داشت. سنتز و مشخصه‌یابی نانوذرات نقره با چنین مورفولوژی خاصی می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده به عنوان مواد ضدباکتریایی به صورت پوشش و یا ماده پر کننده در علم پزشکی و نانو فناوری باشد.
- ### مراجع
1. Eddvardsson, I.R., HRM and Knowledge Management and Creative, Journal of Employee Relations. 30[1] (2008) 553-561.
 2. Gleiter, H., Nanostructured materials, basic concepts and microstructure, Acta Materiala. 48 (2000) 1-12.
 3. Curtis, A., Wilkinson C., Nanotechniques and approaches in biotechnology Trends, Biotechnology. 19 (2001) 97-101.
 4. Zhang, L., Webster T.J., Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration, Nano Today. 4 (2009) 66.
 5. Mallick, K., Witcomb M.J., Scurrill M.S., Polymer stabilized silver nanoparticles: a photochemical synthesis route, Journal of Materials Science. 39 (2004) 4459- 4463.
 6. Dolgaev, S.I., Simakin A.V., Voronov V.V., Shafeev G.A., Bozon-Verduraz F., Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment, Applied Surface Science. 186 (2002) 546-551.
 7. Li, D., Chen S., Zhao S., Hou X., Ma H., Yang X., A study of phase transfer processes of Ag nanoparticles, Applied Surface Science. 200 (2002) 62-67.
 8. Husein, M., Rodil E., Vera J.H., Formation of silver bromide precipitate of nanoparticles in a single microemulsion utilizing the surfactant counterion, Journal of Colloid Interface Science. 273 (2004) 426-434.
 9. Salkar, R.A., Jeevanandam P., Aruna S.T., Koltypin Y., Gedanken A., The sonochemical preparation of amorphous silver nanoparticles, Journal Materials Chemistry. 9 (1999)1333-1335.
 10. Shin, H., Yang H., Kim S., Lee M., Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in γ -irradiated silver nitrate solution, Journal of Colloid Interface Science. 274 (2004) 89-94.
 11. Chaudhari, P.R., Masurkar S.A., Shidore V.B., Kamble S.P., Antimicrobial activity of extracellularly synthesized silver nanoparticles using lactobacillus species obtained from VIZYLAC capsule, Journal of Applied Pharmaceutical Science. 02 (2012) 25- 29.
 12. Masurkar, S.A., Chaudhari P.R., Shidore V.B., Kamble S.P., Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and its antimicrobial activity, Nano-Micro Letters. 3 (2011) 189-194.
 13. Chan, Y.S., Mashitah M.D., Instantaneous biosynthesis of silver nanoparticles by selected macro fungi,