

ĐÁNH GIÁ TÍNH ỔN ĐỊNH CỦA DUNG DỊCH NANO BẠC BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH PHỔ HẤP PHỤ UV-Vis VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN TRÊN *ESCHERICHIA COLI* VÀ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Nguyễn Thị Trang^{1,✉}, Đỗ Thị Thảo², Nguyễn Thị Nga², Nguyễn Thị Cúc²

¹Viện Công nghiệp thực phẩm, Bộ Công thương

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: trangvan@firi.vn

Ngày nhận bài: 03.9.2020

Ngày nhận đăng: 18.4.2021

TÓM TẮT

Ngày nay, các phương pháp tổng hợp "xanh" tạo hạt nano kim loại đang được quan tâm bởi sự phát triển của các ngành công nghệ thân thiện với môi trường. Ở nghiên cứu trước đây, các mẫu nano bạc đã được tổng hợp thành công bởi tác nhân khử hóa trong dung dịch gelatin (Ag/Gelatin) gelatin/chitosan (Ag/Gelatin/Chitosan) và chitosan (Ag/Chitosan). Tuy nhiên, để nano bạc được ứng dụng sâu hơn trong thực tiễn thì tính ổn định của dung dịch nano vẫn là một trong những thách thức đang được đặt ra. Chính vì vậy, các mẫu nano được tiến hành đánh giá độ ổn định thông qua phổ hấp phụ UV-Vis và khả năng kháng khuẩn trên chủng vi khuẩn *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*. Kết quả đo phổ hấp phụ UV-Vis của các mẫu nano bạc được bảo quản sau 3 tháng cho thấy đỉnh hấp phụ cực đại của 2 mẫu có sự dịch chuyển đáng kể từ 435 sang 440 của mẫu Ag/Chitosan và từ 423 sang 425 của mẫu Ag/Gelatin. Bước sóng hấp phụ cực đại của mẫu Ag/Gelatin/Chitosan vẫn được duy trì ổn định với giá trị đạt 423 nm. Đồng thời, mẫu Ag/Gelatin/Chitosan vẫn duy trì được hiệu quả kháng khuẩn tốt hơn hẳn 2 mẫu còn lại và đạt hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất với kích thước vòng vô khuẩn giảm không đáng kể, đạt $21,5 \pm 0,25$ mm trên chủng *Escherichia coli* và $15,5 \pm 0,25$ mm trên chủng *Staphylococcus aureus*. Kết quả nghiên cứu cho thấy nano bạc được tổng hợp trong gelatin/chitosan có tính ổn định và hiệu quả kháng khuẩn tốt có tiềm năng ứng dụng lớn trong thực tiễn.

Từ khóa: Chitosan, gelatin, tính ổn định, hạt nano bạc, UV-Vis

MỞ ĐẦU

Nhờ tính kháng khuẩn mạnh mà nano bạc đã được ứng dụng rất nhiều trong các lĩnh vực của đời sống. Việc nghiên cứu chế tạo nano bạc đang là mục tiêu thu hút nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học trên thế giới. Có thể nói, sau khi đã tạo được hạt nano có kích thước mong muốn, với tính kháng khuẩn mạnh thì vấn đề cốt lõi hiện nay phải đối mặt đó là sự ổn định của hạt nano bạc sau khi tổng hợp. Dung dịch nano được cho là ổn định khi nồng độ và kích thước hạt nano trong dung dịch là không đổi (Yu, Xie, 2012). Sự ổn định về cấu trúc và hình dạng sẽ giúp cho hạt nano duy trì được các đặc tính sinh học vốn quý của nó. Tuy nhiên, qua thời gian, việc kết tụ thành đám của các hạt nano trong quá trình bảo quản gây phá vỡ cấu trúc nano, thay đổi các đặc tính hóa lí của dung dịch là nguyên nhân làm giảm hoạt tính sinh học của nano bạc.

Có rất nhiều phương pháp được xây dựng để đánh giá tính ổn định của hạt nano. Trong đó, phương pháp đơn giản nhất là phương pháp lắng. Sự kết tụ của hạt nano thể hiện bởi sự lắng cặn các hạt trong dung dịch có thể quan sát được qua thời gian là một dấu hiệu để đánh giá tính ổn định của dung dịch nano (Li *et al.*, 2007; Wei, Wang, 2010). Tuy nhiên, phương pháp này có nhược điểm là thời gian quan sát dài, do đó phương pháp ly tâm đã được xây dựng để đánh giá sự ổn định của dung dịch nano bạc (Li, Kaner, 2005). Trong những năm gần đây việc phân tích đánh giá tính ổn định của keo nano thông qua thế Zeta và qua phổ hấp phụ UV-Vis là những công cụ hữu hiệu đang được sử dụng rộng rãi. Các dung dịch keo nano có thế Zeta cao được cho là có tính ổn định điện cao trong khi ở dung dịch có thế Zeta thấp, các hạt nano thường cho thấy xu hướng kết tụ thành đám. Thông thường các dung dịch với thế Zeta trong khoảng 40-60 mV được cho là có độ ổn định tốt (Zhu *et al.*, 2009). Đối với

phổ hấp phụ UV-Vis, mối quan hệ chặt chẽ giữa độ hấp phụ quang học và nồng độ các hạt nano được thể hiện một cách chính xác thông qua đường cong trên đồ thị. Nếu các hạt nano nằm phân tán trong dung dịch có dải hấp phụ nằm trong khoảng từ 190-1100 nm thì việc đo phổ hấp phụ UV-Vis là một trong các phương pháp hiệu quả và thuận tiện nhất để đánh giá tính ổn định của dung dịch nano. Điểm nổi trội của nó so với các phương pháp khác là thông qua việc phân tích UV-Vis có thể xác định được nồng độ của các hạt nano trong dung dịch (Huang *et al.*, 2009; Chen, Xie, 2010; Balachandran *et al.*, 2013). Chính vì vậy, trong bài báo này, các mẫu nano bạc sau khi được tổng hợp bằng các polymer tự nhiên như gelatin, chitosan sẽ được tiến hành nghiên cứu đánh giá tính ổn định sau 3 tháng bằng phương pháp đo phổ hấp phụ UV-Vis và kiểm tra hoạt tính kháng sinh trên một số chủng vi sinh vật kiểm định. Các kết quả nghiên cứu cụ thể sẽ được trình bày ở báo cáo dưới đây.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

AgNO₃ được cung cấp bởi hãng Merck (Merck, Germany). Chủng vi sinh vật kiểm định *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* do ngân hàng ATCC cung cấp (Manassas, VA, USA). Gelatin type B, chitosan khối lượng phân tử thấp, axit acetic (99%) và các hóa chất thông dụng khác được mua từ hãng Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Nước khử ion được sử dụng để làm dung môi pha các hóa chất trong nghiên cứu.

Phương pháp tổng hợp hạt nano bạc và xác định một số tính chất hóa lý

Tổng hợp nano bạc bằng chitosan

Hòa tan 3 g chitosan vào trong cốc sạch có chứa 50 ml dung dịch acetic acid 1%, khuấy từ trong 30 phút để thu được dung dịch đồng nhất. 314 mg AgNO₃ hòa tan trong 50 ml H₂O được nhỏ từ từ vào dung dịch chitosan. Quá trình tổng hợp được thực hiện ở nhiệt độ 60°C trong 48 h để thu được dung dịch nano bạc Ag/Chitosan.

Tổng hợp nano bạc bằng chitosan/gelatin

Chuẩn bị dung dịch A bằng cách cho 1,5 g chitosan vào trong cốc sạch có chứa 25 ml dung dịch axit acetic 1%, khuấy từ trong 30 phút. Chuẩn bị dung dịch B bằng cách cho 1,5 g gelatin vào 25 ml nước, khuấy từ trong 30 phút để thu được dung dịch đồng nhất. Trộn đều dung dịch A và B. Tiếp đó, 314 mg

AgNO₃ hòa trong 50 ml H₂O được nhỏ từ từ vào dung dịch chitosan/gelatin. Tiếp tục khuấy khuấy từ ở nhiệt độ 60°C trong 48 h để thu được dung dịch nano bạc Ag/Gelatin/Chitosan.

Tổng hợp nano bạc bằng gelatin

Hòa tan 3 g gelatin vào trong cốc sạch có chứa 50 ml nước khử ion, khuấy từ trong 30 phút để thu được dung dịch đồng nhất. 314 mg AgNO₃ được hòa tan vào 50 ml H₂O được nhỏ từ từ vào dung dịch gelatin. Tiếp tục khuấy từ ở nhiệt độ 60°C trong 48 h để thu được dung dịch nano bạc Ag/Gelatin.

Các mẫu nano bạc tạo ra được bảo quản trong các lọ thủy tinh tránh sáng, ở nhiệt độ thường và tiến hành xác định độ ổn định của hạt nano bạc bằng phương pháp đo quang phổ hấp phụ UV-Vis trên hệ thống máy UV-Vis-UV 2550 (USA) và khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch ở 2 thời điểm khi mới tổng hợp và sau tổng hợp 3 tháng (Ahmad *et al.*, 2011).

Phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch

Sử dụng pipet vô trùng lấy 0,1 ml môi trường lỏng có chứa vi sinh vật kiểm định nhỏ vào đĩa petri có chứa môi trường dinh dưỡng tương ứng cho các vi sinh vật. Dùng que trang vô trùng dàn đều giọt dịch vi sinh vật kiểm định trên bề mặt môi trường thạch. Giữ đĩa thạch ở 4°C trong 10 phút, chờ cho đĩa thạch thật khô, dùng đầu tip đã tiệt trùng có đường kính 6 mm đục các lỗ trên môi trường có chứa vi sinh vật kiểm định. Dùng pipet vô trùng nhỏ 0,05 ml mẫu nghiên cứu vào các lỗ và ủ đĩa ở 30°C trong 24 giờ. Đo đường kính các vòng kháng khuẩn tạo thành xung quanh các giếng thạch. Kiểm tra kết quả: Hoạt tính kháng sinh = D - d (mm) (*D*: đường kính vòng phân giải, *d*: đường kính lỗ thạch) (Hadacek *et al.*, 2000).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tính ổn định về kích thước của các mẫu nano bạc

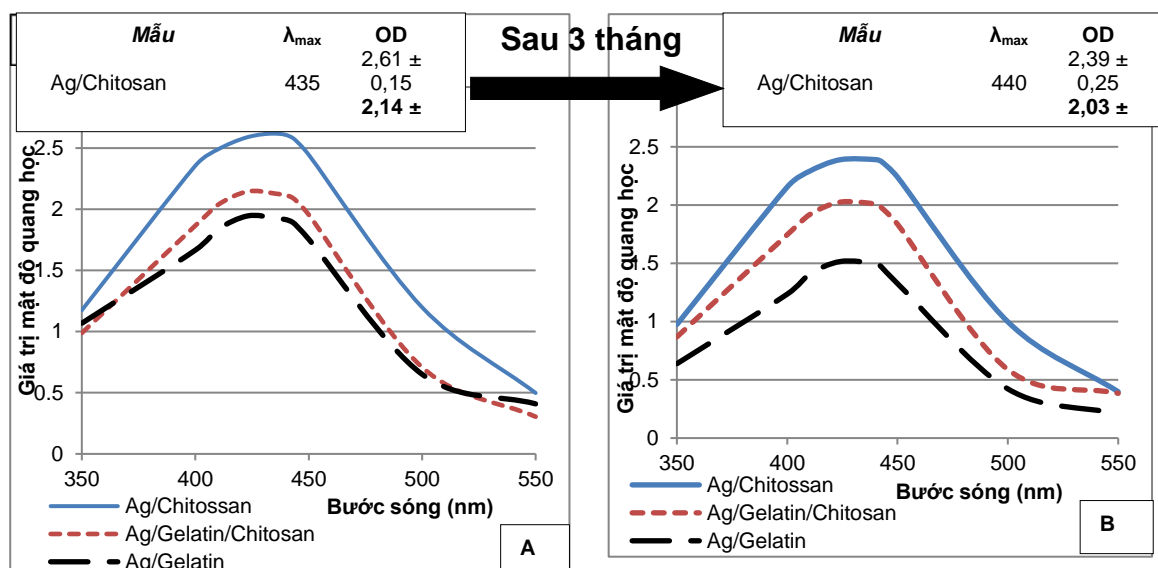
Trong báo cáo trước đây, nano bạc đã được tổng hợp thành công bằng việc sử dụng gelatin, chitosan làm chất khử và chất ổn định với kích thước hạt nhỏ nằm trong khoảng 8-12 nm (kết quả không được trình bày ở đây). Tuy nhiên, để nano bạc được ứng dụng rộng rãi trong thực tiễn thì khả năng ổn định về kích thước và sự phân bố là đặc tính vô cùng quan trọng giúp cho nano bạc duy trì được các hoạt tính sinh học quý của chúng như: khả năng kháng khuẩn, diệt tế bào ung thư... Vì vậy, 3 mẫu nano bạc là Ag/Chitosan, Ag/Gelatin và Ag/Chitosan/Gelatin được tiến hành

đánh giá tính ổn định về kích thước và hiệu quả kháng khuẩn sau 3 tháng được bảo quản ở điều kiện thường và tránh sáng.

Kết quả UV-Vis (Hình 1) cho thấy giá trị mật độ quang học (OD) thu được ở cả 3 mẫu nano bạc sau tổng hợp 3 tháng có sự sụt giảm đáng kể. Tuy nhiên điều đáng chú ý là, bước sóng hấp phụ cực đại của mẫu Ag/Gelatin/Chitosan vẫn được duy trì ổn định với giá trị λ_{max} đạt tại 423 nm trong khi 2 mẫu còn lại giá trị này có sự dịch chuyển đáng kể từ 435 sang 440 của mẫu Ag/Chitosan và từ 423 sang 425 của mẫu Ag/Gelatin. Điều này có thể giải thích qua thời gian các hạt nano của 2 mẫu Ag/Chitosan, Ag/Gelatin có thể có hiện tượng kết tụ thành đám dẫn đến kích thước hạt to hơn làm thay đổi giá trị λ_{max} và giá trị OD.

Kết quả này phù hợp với tài liệu công bố rằng khi nano bạc được tổng hợp bằng gelatin và chitosan thì

sản phẩm thu được có kích thước nhỏ và sau vài tháng bảo quản sản phẩm có độ ổn định hơn so với nano bạc chỉ được giữ ổn định trong gelatin hoặc chitosan. Điểm khác biệt trong nghiên cứu này là việc sử dụng NaBH_4 là một chất hóa học tương đối độc làm tác nhân khử để tạo nano bạc, trong khi nghiên cứu của chúng tôi hướng đến việc “tổng hợp xanh” sử dụng các hóa chất an toàn và thân thiện với môi trường (Ahmad *et al.*, 2011). Hướng nghiên cứu về tổng hợp nano bạc bằng phương pháp “tổng hợp xanh” đồng thời đánh giá tính ổn định của sản phẩm nano bạc thu được cũng được Mohammadinejad và đồng tác giả công bố khi sử dụng chiết xuất từ hạt *S. Marianum* làm tác nhân khử và ổn định. Tác giả đã tổng hợp được hạt nano với kích thước nhỏ trong khoảng 1-25 nm và giữ được đặc tính ổn định về kích thước trong khoảng thời gian 6 tháng (Mohammadinejad *et al.*, 2013).



Hình 1. Kết quả đo UV-Vis của các mẫu nano bạc sau tổng hợp (A) và sau tổng hợp 3 tháng (B).

Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu nano bạc qua thời gian

Có thể nói, nhờ khả năng kháng khuẩn mạnh mà nano bạc đã được ứng dụng rất nhiều trong thực tế đời sống. Đồng thời, các hướng ứng dụng đều đi sâu, khai thác triệt để hiệu quả kháng khuẩn vượt trội của nano bạc. Chính vì vậy, hạt nano bạc tạo ra muốn được ứng dụng trong thực tế phải đáp ứng được 2 tiêu chí đó là có hoạt tính kháng khuẩn mạnh đồng thời hoạt tính này phải được duy trì ổn định theo thời gian. Theo đó, 3 mẫu nano bạc tạo ra được hành đánh giá hiệu quả kháng khuẩn trên 2 chủng vi khuẩn

Escherichia coli và *Staphylococcus aureus* bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch.

Kết quả (Bảng 1 và Hình 2) cho thấy ở thời điểm sau vài giờ tổng hợp các mẫu nano bạc đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên cả hai chủng vi khuẩn *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*. Trong đó, mẫu Ag/Gelatin cho hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất với đường kính vòng vô khuẩn trên chủng vi khuẩn *Escherichia coli* là $23,25 \pm 1,5$ mm và *Staphylococcus aureus* là $15,75 \pm 0,25$ mm. Hai mẫu còn lại Ag/Gelatin/Chitosan, Ag/Chitosan có giá trị này đạt thấp hơn với đường kính vòng vô khuẩn trên chủng

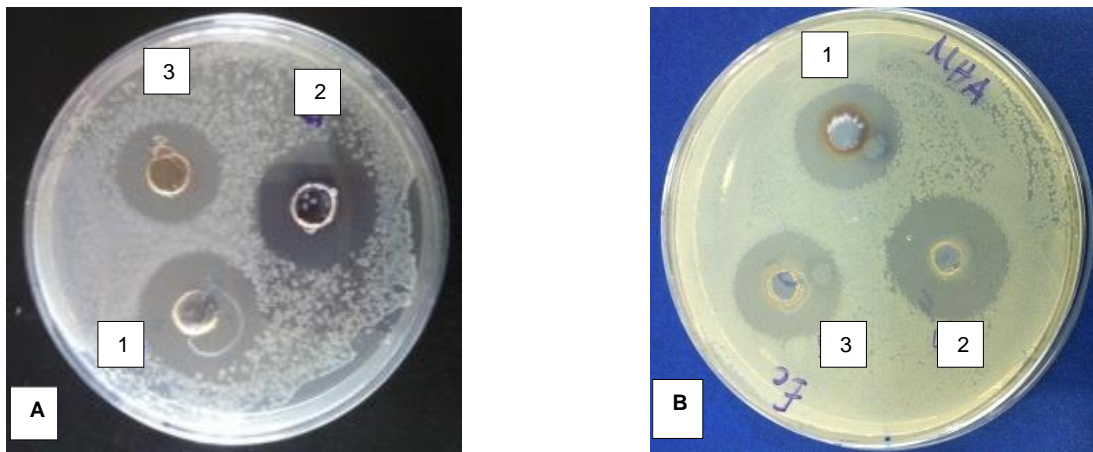
Escherichia coli tương ứng là $21,75 \pm 0,5$ mm và $17,25 \pm 0,75$ mm; trên chủng *Staphylococcus aureus* tương ứng là $15,75 \pm 0,5$ mm và $9,25 \pm 0,5$ mm. Điều đáng ngạc nhiên là sau 3 tháng bảo quản sản phẩm và tiến hành đánh giá hiệu quả kháng khuẩn, kết quả cho thấy mẫu nano bạc được tổng hợp bằng gelatin và chitosan (Ag/Gelatin/Chitosan) vẫn duy trì được hiệu quả kháng khuẩn tốt hơn hẳn 2 mẫu còn lại và đạt hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất với độ giảm kích thước vòng vô khuẩn là không đáng kể đạt $21,5 \pm 0,25$ mm trên chủng *Escherichia coli* và $15,5 \pm 0,25$ mm trên chủng *Staphylococcus aureus*. Trong khi đó ở 2 mẫu còn lại giá trị này giảm thấp rõ rệt. Kết quả trên cho thấy mẫu Ag/Gelatin/Chitosan có kích thước hạt nano nhỏ và hoạt tính kháng khuẩn mạnh trên chủng vi sinh vật kiểm định. Đồng thời, thể hiện tính ưu việt hơn hẳn 2 mẫu còn lại về khả năng ổn định kích thước và hiệu quả kháng khuẩn sau 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ thường.

Như vậy, có mối liên hệ chặt chẽ giữa tính ổn định

về kích thước của nano bạc và hiệu quả kháng khuẩn của chúng. Bởi lẽ nano bạc được biết đến với hiệu quả kháng khuẩn mạnh thì phần lớn đều do hiệu ứng kích thước mang lại. Qua đó có thể nhận thấy sau 3 tháng tổng hợp mẫu nano bạc Ag/Gelatin/Chitosan vẫn thể hiện hiệu quả kháng khuẩn tốt trên các chủng vi sinh vật kiểm định. Kết quả mà chúng tôi thu được cũng hoàn toàn phù hợp với một số tài liệu công bố rằng sản phẩm nano bạc vẫn cho hiệu quả kháng khuẩn tốt từ vài tháng đến 1 năm sau tổng hợp (Ahmad *et al.*, 2011; Niakan *et al.*, 2013). Mẫu nano bạc được tổng hợp bằng việc dùng kết hợp gelatin/chitosan thể hiện những ưu điểm vượt trội về hiệu quả tổng hợp nano bạc cũng như duy trì được sự ổn định về kích thước và khả năng kháng khuẩn của chúng theo thời gian. Hạt nano bạc được tạo ra bằng việc sử dụng những chất không độc hại trong cả 3 yếu tố dung môi chất khử và chất ổn định sẽ mang lại rất nhiều ứng dụng thiết thực trong cuộc sống nhất là trong lĩnh vực bảo quản thực phẩm.

Bảng 1. Đường kính vòng vô khuẩn của các mẫu nano bạc ở thời điểm sau vài giờ tổng hợp và sau 3 tháng.

Tên mẫu	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)			
	Trên chủng <i>Escherichia coli</i>		Trên chủng <i>Staphylococcus aureus</i>	
	Sau vài giờ	Sau 3 tháng	Sau vài giờ	Sau 3 tháng
Ag/Chitosan	$17,25 \pm 0,75$	$16,75 \pm 1,5$	$9,25 \pm 0,5$	$6,5 \pm 0,5$
Ag/Gelatin/Chitosan	$21,75 \pm 0,5$	$21,5 \pm 0,25$	$15,75 \pm 0,5$	$15,5 \pm 0,25$
Ag/Gelatin	$23,25 \pm 1,5$	$17,25 \pm 0,25$	$15,75 \pm 0,25$	$10,25 \pm 0,25$
Amoxicillin (ĐC +)	$22,98 \pm 0,55$	$22,56 \pm 0,5$	$15,18 \pm 0,55$	$15,23 \pm 0,25$



Hình 2. Hoạt tính kháng khuẩn của các mẫu nano bạc trên chủng *E. coli* sau vài giờ tổng hợp (A) và sau tổng hợp 3 tháng (B). Mẫu nano bạc Ag/Gelatin (1); Ag/Gelatin/Chitosan (2); Ag/chitosan (3).

KẾT LUẬN

Mẫu nano bạc Ag/Gelatin/Chitosan thu được có độ ổn định về kích thước hạt và hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất sau 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ thường với đường kính vòng vô khuẩn đạt $21,5 \pm 0,25$ nm trên chủng *Escherichia coli* và $15,5 \pm 0,25$ nm trên chủng *Staphylococcus aureus*.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài nghiên cứu dành cho cán bộ trẻ cấp Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmad MB, Lim JJ, Shameli K, Ibrahim NA, Tay MY (2011) Synthesis of silver nanoparticles in chitosan, gelatin and chitosan/gelatin by a chemical reducing agent and their characterization. *Molecules* 16: 7237-7248.

Balachandran YL, Girija S, Selvakumar R, Tongpim S, Gutleb AC, Suriyanarayanan S (2013) Differently environment stable bio-silver nanoparticles: Study on their optical enhancing and antibacterial properties. *Plos one* 8(10): 77043.

Chen L, Xie H (2010) Properties of carbon nanotube nanofluids stabilized by cationic gemini surfactant. *Thermo Acta* 506(1-2): 62-66.

Hadacek F, Greger H (2000) Testing of antifungal natural

products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochem Anal* 11: 137-147.

Huang J, Wang X, Long Q, Wen X, Zhou Y, Li L (2009) Influence of pH on the stability characteristics of nanofluids. *Sym on Photo & Optoelec*:1-4.

Li D, Kaner R B (2005) Processable stabilizer-free polyaniline nanofiber aqueous colloids. *Chem Commun* 26: 3286-3288.

Li X, Zhu D, Wang X (2007) Evaluation on dispersion behavior of the aqueous copper nano-suspensions. *J Colloid Interface Sci* 310(2): 456-463.

Mohammadinejad R, Pourseyedi S, Baghizadeh A, Ranjbar S, Mansori GA (2013) Synthesis of silver nanoparticles using silybum marianum seed extract. *Int J Nanosci Nanotechnol* 9: 221-226.

Niakan M, Azimi HR, Jafarian Z, Mohammadtaghi G, Niakan S, Mostafavizade SM (2013) Evaluation of nanosilver solution against *Streptococcus mutan*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol* 6(6): 8570.

Wei X, Wang L (2010) Synthesis and thermal conductivity of microfluidic copper nanofluids. *Particuology* 8(3): 262-271.

Yu W, Xie H (2012) A review on nanofluids: Preparation, stability mechanisms and applications. *J Nanomat* 1-18.

Zhu D, Li X, Wang N, Wang X, Gao J, Li H (2009) Dispersion behavior and thermal conductivity characteristics of Al₂O₃-H₂O nanofluids. *Cur Appl Phys* 9(1): 131-139.

EVALUATION OF NANOSILVER SOLUTION STABILITY USING UV-Vis SPECTRAL ABSORBENCY ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ON *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Nguyen Thi Trang¹, Do Thi Thao², Nguyen Thi Nga², Nguyen Thi Cuc²

¹Food Industries Research Institute, Ministry of Industry and Trade

²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Recently, the use of nanomaterials in industrial and technological applications for various fields is quickly growing. The “green” synthesis of metallic nanoparticles has received increasing attention due to the development of eco-friendly technologies. In our previous research, silver nanoparticles have been successfully prepared in gelatin (Ag/Gelatin sample), Gelatin/Chitosan (Ag/Gelatin/Chitosan sample) and chitosan (Ag/Chitosan sample) suspensions using a chemical reducing agent. For this purpose, biological grade gelatin and chitosan were used as reducing and stabilizing agents without special physical conditions. The most advantage of this work is using a renewable material like gelatin as a reducing factor, which is eco-friendly agent. However, one of the most important issues related to those nanofluids is their stability, and it remains as a big challenge to achieve desired applications in future. Thus, all obtained nanosilver samples were characterized by UV-Vis spectroscopy and evaluated the stability of antibacterial activity on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. The absorption spectra results of the samples, which were measured after storage for three months, illustrated that the absorption peaks of the silver nanoparticles in Ag/Gelatin and Ag/Chitosan had shifted slightly from 423 to 425 nm and 435 to 440

nm, respectively. Whereas, the absorption peak for the Ag/Gelatin/Chitosan remained the same at 423 nm. In addition, after storage for three months, Ag/Gelatin/Chitosan sample showed antibacterial activity better than the two remaining samples with the reduction of inhibition zones is insignificant at 21.5 ± 0.25 mm while testing on *Escherichia coli* and at 15.5 ± 0.25 mm on *Staphylococcus aureus*. The results suggested that silver nanoparticles were prepared in Gelatin/Chitosan composition showing promising stability and antibacterial activity which are beneficial for various/diversed/further applications.

Keywords: *Chitosan, Gelatin, Stability, Silver nanoparticle, UV-Vis*