

## Physicochemical and Antibacterial Properties of Synthesized Polyaniline-Chitosan-Nanosilver Hybrid Nanocomposite

Reza Abbas Farmand<sup>1,2</sup> and Maryam Farbodi<sup>3,4,\*</sup>

1. Department of Chemical Engineering, East Azarbayjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, P.O. Box: 5157944533, Iran
2. Department of Chemical Engineering, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, P.O. Box: 5157944533, Iran
3. Department of Chemistry, East Azarbayjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, P.O. Box: 5157944533, Iran
4. Department of Chemistry, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, P.O. Box: 5157944533, Iran

Received: 2 October 2015, accepted: 30 May 2016

### ABSTRACT

Chitosan (Chito) as a biopolymer with high antibacterial, biocompatibility and biodegradability and polyaniline (PANI) as a conductive polymer and silver (Ag) nanoparticles to enhance antibacterial property were used to prepare polyanilin-chitosan-silver (PANI-Chito-Ag) nanocomposites. The synthesis of PANI-Chito composite and PANI-Chito-Ag nanocomposite was performed through aniline polymerization in the presence of Chito and Ag. In order to evaluate the physicochemical and antibacterial properties of synthesized composite and nanocomposites, several combinations of components with different weight ratios were used. Antibacterial tests were performed using two different types of bacteria: *Escherichia coli* (gram-negative bacteria) and *Staphylococcus aureus* (gram-positive bacteria) to determine the antibacterial capability of the PANI-Chito-Ag nanocomposite. The obtained results showed that higher Chito and silver contents produced stronger antibacterial property. The biodegradability test results confirmed that, the biodegradability increased as the content of Chito increased. Also, by increasing *Streptomyces* (gram-positive bacteria) concentration in natural soil, the biodegradability rate of nanocomposite was enhanced. The results obtained from thermogravimetric analysis (TGA) tests also indicated improvement in thermal stability of PANI-Chito-Ag nanocomposite compared to that of pure Chito. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) were used to analyze and characterize the composition and structure of PANI-Chito-Ag triple hybrid nanocomposite. The results confirmed uniform distribution of Ag nanoparticles within the polymer matrix.

#### Keywords:

chitosan,  
antibacterial,  
biodegradable,  
polyaniline,  
nanocomposites

(\*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: [m.farbodi@iaut.ac.ir](mailto:m.farbodi@iaut.ac.ir)

Please cite this article using:

Farmand R.A., and Farbodi M., Physicochemical and Antibacterial Properties of Synthesized Polyaniline-Chitosan-Nanosilver Hybrid Nanocomposite, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **29**, 323-333, 2016.

# تهیه نانوکامپوزیت هیبریدی پلی آنیلین-کیتوسان-نانونقره و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ضدباکتری آن

رضا عباس فرمند<sup>۱،\*</sup>، مریم فربودی<sup>۳،۴</sup>

- ۱- گروه مهندسی شیمی، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، صندوق پستی ۵۱۵۷۹۴۴۵۳۳  
۲- گروه مهندسی شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، صندوق پستی ۵۱۵۷۹۴۴۵۳۳  
۳- گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، صندوق پستی ۵۱۵۷۹۴۴۵۳۳  
۴- گروه شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، صندوق پستی ۵۱۵۷۹۴۴۵۳۳

دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۰، پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۰

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،  
سال بیست و نهم، شماره ۳،  
صفحه ۳۳۳-۳۲۳، ۱۳۹۵  
ISSN: 1016-3255  
Online ISSN: 2008-0883

## چکیده

در پژوهش حاضر، از پلی آنیلین (PANI) به عنوان پلیمر رسانا و کیتوسان (Chito) به علت داشتن خواص ضدباکتری و نیز زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری مناسب، به عنوان زیست پلیمر استفاده شد. نانوذرات نقره (Ag) نیز به عنوان تقویت کننده خواص ضدباکتری برای تهیه نانوکامپوزیت PANI-Chito-Ag در نظر گرفته شد. کامپوزیت PANI-Chito و نانوکامپوزیت PANI-Chito-Ag، از پلیمر شدن آنیلین در مجاورت کیتوسان و نقره تهیه شدند. برای بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ضدباکتری کامپوزیت و نانوکامپوزیت های تهیه شده، درصدهای وزنی مختلف از اجزای سازنده استفاده شد. برای بررسی خواص ضدباکتری نانوکامپوزیت PANI-Chito-Ag، آزمون های ضدباکتری با استفاده از دو نوع باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد، افزایش مقدار کیتوسان و نقره به ترکیب مدنظر باعث افزایش خاصیت ضدباکتریایی نسبت به دو باکتری می شود. نتایج آزمون زیست تخریب پذیری نشان داد، بیشتر بودن مقدار کیتوسان در نانوکامپوزیت، باعث افزایش زیست تخریب پذیری آن شده و همچنین بیشتر بودن غلظت باکتری *استریپتومایسیس* در خاک طبیعی باعث تخریب زود هنگام نمونه می شود. نتایج آزمون گرمایزنی (TGA) حاکی از بهبود پایداری گرمایی نانوکامپوزیت PANI-Chito-Ag نسبت به کیتوسان خالص است. طیفسنجی زیرقرمز تبدیل فوریه، میکروسکوپی الکترونی پویشی و پراش انرژی پرتو X برای مشخص کردن ترکیب و ساختار نانوکامپوزیت سه جزئی هیبریدی PANI-Chito-Ag به کار گرفته شد. با این روش ها وجود و پراکنش یکنواخت نانوذرات نقره در ماتریس پلیمر تأیید شد.

## واژه های کلیدی

کیتوسان،  
ضدباکتری،  
زیست تخریب پذیر،  
پلی آنیلین،  
نانوکامپوزیت

\* مسئول مکاتبات، پیام نگار:  
[m.farbodi@iaut.ac.ir](mailto:m.farbodi@iaut.ac.ir)

## مقدمه

پلیمرهای رسانا زمینه پژوهشی جالبی در دو دهه اخیر بوده‌اند. متداول‌ترین این پلیمرها پلی تیوفن‌ها، پلی استیلن، پلی آنیلین، پلی پیرول و پلی پرافنیلین هستند. از میان پلیمرهای رسانا پلی آنیلین به دلیل داشتن ویژگی‌هایی از قبیل سنتز راحت، قیمت کم، کاربرد گسترده و بازده زیاد پلیمرشدن توجه ویژه‌ای به خود جلب کرده است. خواص الکتریکی، الکتروشیمیایی و نوری پلی آنیلین آن را به ماده‌ای جذاب برای کاربرد در صنایع الکترونیکی، پوشش‌های ضدالکتریسته ساکن و ضد خوردگی تبدیل کرده است [۱،۲]. اما، پلی آنیلین در برخی خواص نظیر خواص مکانیکی، گرمایی و فرایندپذیری ضعف دارد. از راهکارهای موجود برای تقویت این خواص، به‌ویژه خاصیت فرایندپذیری (انحلال‌پذیری در حلال و قابلیت قالب‌گیری) تهیه کامپوزیت آن با پلیمرها و زیست‌پلیمرهای متداول، با خاصیت فرایندپذیری زیاد است. به‌عنوان مثال، تهیه کامپوزیت آن با پلیمرهایی چون اپوکسی [۳]، پلی استیرن [۴]، پلی وینیل کلرید [۵]، پلی وینیل الکل [۶] و کیتوسان [۷] گزارش شده است.

از میان زیست‌پلیمرها، کیتوسان فراوان‌ترین پلی‌ساکارید طبیعی پس از سلولوز است که از استیل‌زدایی کیتین با استفاده از سدیم هیدروکسید به‌دست می‌آید [۸،۹]. این پلی‌ساکارید طبیعی دارای ساختار منحصر به‌فرد با خواص چندبعدی و کاربردهای بسیار گسترده در زمینه دارویی و پزشکی از جمله مهندسی بافت است. قیمت کم، زیست‌سازگاری زیاد، سمیت کم و حتی خواص ضدباکتریایی آن موجب توجه روزافزون به این زیست‌پلیمر شده است [۱۰].

امروزه با ظهور نانوفناوری، استفاده از نانوذرات در ساختار پلیمرها به‌عنوان راهکار نوین برای بهبود خواص مواد پلیمری مدنظر است که می‌توان به تهیه نانوکامپوزیت‌های پلی آنیلین با اکسیدهای فلزی [۱۱]، نانولوله کربن [۱۲]، گرافیت [۱۳]، مونت‌موریلونیت [۱۴] و به‌ویژه نقره [۱۵] اشاره کرد.

از این میان، نانوذرات نقره به علت خواص ضدباکتری کاربرد گسترده پیدا کرده‌اند. این ذرات بسته به نوع کاربرد، خواص فیزیکی و سامانه زنده درگیر، در اندازه و شکل‌های مختلف به‌کار می‌روند. البته استفاده از آن‌ها باید در محدوده‌ای باشد که ضمن تحریک ریزموجودات و عوامل بیگانه بر سلول‌های انسانی بی‌اثر باشد. نانوذرات نقره افزون بر خواص ضدباکتری، ویژگی‌هایی از قبیل اثرهای ضدقارچی و ضدالتهابی، سازگاری با محیط‌زیست، غیرمحرک و غیرحساسیت‌زا بودن، عدم ایجاد مقاومت در برابر ریزموجودات، مقاومت در برابر گرما و پایداری زیاد دارند. خواص ضدباکتری ذرات باعث شده است که در پانسمان‌های زخم و تمام وسایلی که در

فرایند ترمیم زخم نقش دارند، کاربرد گسترده‌ای داشته باشند. استفاده از این ذرات در زیست‌حسگرها برای تشخیص و درمان بیماری‌هایی نظیر سرطان نیز بسیار ارزشمند است. افزون بر به‌کارگیری نقره در کاتترها و پروتزهای عروقی ضمن کاهش کلون‌زایی، مقاومت باکتری را افزایش می‌دهند [۱۶].

به‌نظر می‌رسد، تلفیق دو راهکار ارائه شده یعنی استفاده هم‌زمان از پلیمرهای عایق و نانوساختارهایی مانند نقره برای تهیه نانوکامپوزیت‌های هیبریدی سه‌جزئی، با تقویت اثر یکدیگر می‌تواند در بهبود خواص مکانیکی و فرایندپذیری پلی آنیلین نتایج مطلوب‌تری در پی داشته باشد. بررسی مراجع نشان می‌دهد، گزارش‌های محدودی در زمینه تهیه نانوکامپوزیت‌های هیبریدی سه‌جزئی از پلی آنیلین وجود دارد که با هدف بررسی خواص ضدخوردگی مطالعه شده است. به‌عنوان مثال، نانوکامپوزیت‌های هیبریدی پلی آنیلین-پلی وینیل کلرید-روی اکسید و پلی آنیلین-اپوکسی-روی را اولاد و همکاران تهیه و عملکرد آن‌ها را به‌عنوان روکش ضدخوردگی با ایجاد پوشش‌های لایه نازک روی کوپن آهن در محیط‌های خوردنده مختلف بررسی کردند نتایج به‌دست آمده حاکی از عملکرد بهتر روکش‌های سه‌جزئی هیبریدی در مقایسه با پلی آنیلین خالص بوده است [۱۷،۱۸].

از این‌رو در پژوهش حاضر، برای بهبود خواص ضدباکتری، پایداری گرمایی و فرایندپذیری پلی آنیلین و با هدف گسترش دامنه کاربرد آن، برای اولین بار تهیه نانوکامپوزیت هیبرید سه‌تایی پلی آنیلین-کیتوسان-نقره با درصد‌های وزنی مختلف انجام شد. همچنین، خواص ضدباکتری، زیست‌تخریب‌پذیری، شکل‌شناسی و فیزیوشیمیایی آن بررسی و با خواص کیتوسان خالص، کامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان و نانوکامپوزیت کیتوسان-نقره با درصد‌های وزنی مشابه مقایسه شد.

## تجربی

### مواد

آنیلین تقطیر شده، کیتوسان، نانوذرات نقره، آمونیوم پرسولفات، کلریدریک اسید ۳۷٪ همه از نوع آزمایشگاهی و از شرکت Merck تهیه شدند. آنیلین پیش از استفاده تا بی‌رنگ شدن کامل، تقطیر شد. کیتوسان از شرکت Sigma-Aldrich با وزن متوسط مولکولی بود که در پژوهش‌های آزمایشگاهی بیشتر از این نوع استفاده می‌شود. از محیط کشت مولر هینتون آگار ساخت شرکت Liofile Hem ایتالیا و باکتری *اشرشیاکلی* (E. coli PTCC1338) و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (S. aureus ATCC25923) استفاده شد.

## دستگاه‌ها

برای ثبت طیف‌های FTIR از طیف‌سنج Bruker مدل Tensor 27 استفاده شد. برای مطالعه شکل‌شناسی سطح نانوکامپوزیت، میکروسکوپ الکترونی پویشی مدل Vegall ساخت شرکت Tescan به کار گرفته شد. آزمون گرماوزن‌سنجی با دستگاه TGA مدل PL-TGA ساخت شرکت Polymer Laboratories آلمان انجام شد. بدین منظور، نمونه‌ها به شکل پودر و به مقدار ۱۰ mg تهیه و آزمون با سرعت ۱۰°C/min تا دمای ۷۰۰°C در جو هوا انجام شد. برای سترون‌سازی از دستگاه اتوکلاو مدل Tomy-SX 700، ساخت آلمان استفاده شد. همچنین، برای قراردادن باکتری‌ها در شرایط مناسب از دستگاه محفظه رشد مدل Innova-CO 170، ساخت آلمان استفاده شد.

## روش‌ها

## تهیه فیلم کیتوسان

مقدار ۰/۶ g کیتوسان در ۴۰ mL کلریدریک اسید ۰/۲ مولار حل شد. سپس، به داخل پلیتی با قطر ۱۰ cm که قبلاً تراز شده بود، منتقل و پس از گذشت دو روز و خشک‌شدن کامل در دمای محیط، فیلم کیتوسان برداشت شد (نمونه ۱ در جدول ۱).

## ستز پلی آنیلین

مقدار ۳ g مونومر آنیلین خالص دوبار تقطیر شده، به ۲۵ mL کلریدریک اسید ۰/۵ مولار اضافه شد و به مدت ۳۰ min با همزن مغناطیسی همزده شد تا به طور کامل حل شود. ۷/۵ g آمونیم پرسولفات به عنوان آغازگر در ۲۵ mL کلریدریک اسید ۰/۵ مولار حل و قطره‌قطره به محلول اسیدی آنیلین در حال همزدن در دمای ۰°C اضافه شد. افزودن آغازگر به مدت ۱/۵ h انجام شد. پس از افزایش کامل آغازگر به داخل محلول، ۲ h فرصت داده شد تا واکنش حین هم‌خوردن محلول با همزن مغناطیسی کامل شود. در نهایت، محلول پلی آنیلین به رنگ سبز تیره با ظاهری همگن و یکنواخت به دست آمد. محصول با کیف بوختر صاف شد. برای حذف اولیگومرها و پلیمرهای با طول زنجیر کوتاه محصول چند مرتبه با آب مقطر شست‌وشو داده شد. پس از آن، در دمای ۴۰°C تا رسیدن به وزن ثابت، درون گرم‌خانه خشک شد [۴].

## تهیه کامپوزیت پلی آنیلین - کیتوسان

برای تهیه کامپوزیت پلی آنیلین ۱۰٪-کیتوسان ۹۰٪ وزنی، ۰/۵۴ g کیتوسان در کلریدریک اسید ۰/۲ مولار حل شد. سپس، ۰/۰۶ g پلی آنیلین به محلول اضافه و ۱ h روی همزن مغناطیسی همزده

جدول ۱- درصد وزنی فیلم‌های تهیه شده.

ردیف	کیتوسان (%wt)	پلی آنیلین (%wt)	نقره (%wt)
۱	۱۰۰	-	-
۲	۹۰	۱۰	-
۳	۸۰	۲۰	۱
۴	۹۰	۹	۳
۵	۹۰	۷	۵
۶	۹۰	۵	۱
۷	۸۰	۱۹	۳
۸	۸۰	۱۷	۵
۹	۸۰	۱۵	۵
۱۰	۹۵	-	۳
۱۱	۹۷	-	۱
۱۲	۹۹	-	-

شد. در ادامه، برای پخش پلی آنیلین در محلول کیتوسان از حمام فراصوت مدل Lbs2 ساخت شرکت FALC به مدت ۳۰ min استفاده شد. از روش گفته شده برای تهیه کامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان با درصد وزنی ۸۰ به ۲۰ استفاده و فقط مقدار مواد اولیه متناسب با درصد‌های وزنی جدید تغییر داده شد. کامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان با درصد‌های وزنی ۷۰ به ۳۰ نیز تهیه شد، ولی به علت خواص مکانیکی ضعیف و تشکیل نشدن فیلم بررسی نشد. گفتنی است، تهیه پلی آنیلین خالص به روش گفته شده و در نبود کیتوسان انجام شد.

## تهیه فیلم کامپوزیت پلی آنیلین - کیتوسان

پس از تهیه کامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان، محلول‌های به دست آمده به داخل پلیت تراز شده با قطر ۱۰ cm منتقل و پس از تبخیر حلال مدنظر و خشک‌شدن کامل، فیلم مربوط از پلیت‌های ۲ و ۳ در جدول ۱ تهیه شد.

## تهیه نانوکامپوزیت کیتوسان-نانونقره

مقدار ۰/۵۹۴ g (۹۹٪ وزنی) کیتوسان، در ۴۰ mL کلریدریک اسید ۰/۲ مولار حل شد. سپس، به آن ۱٪ وزنی معادل ۰/۰۰۶ g نانوذرات نقره اضافه شد. به مدت ۱ h روی همزن مغناطیسی همزده شد و در ادامه برای پخش نانونقره در محلول کیتوسان از حمام فراصوت به مدت ۳۰ min استفاده شد. برای تهیه ۳ و ۵٪ وزنی نانوذرات نقره نیز به ترتیب از ۹۷٪ و ۹۵٪ وزنی برابر با ۰/۵۸۲ g و ۰/۵۷ g کیتوسان استفاده شد و نمونه‌های ۱، ۳ و ۵٪ وزنی نانونقره به همراه کیتوسان به دست آمد.

## تهیه فیلم کیتوسان-نانونقره

محلول نانوکامپوزیت‌های کیتوسان-نانونقره به دست آمده به پلیتی با قطر ۱۰ cm که قبلاً تراز شده، منتقل و در دمای محیط، پس از تبخیر حلال و خشک شدن کامل، فیلم‌های مربوط از پلیت جدا شدند (نمونه‌های ۴، ۵ و ۶ در جدول ۱).

## تهیه نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نانونقره

مقدار ۸۰ و ۹۰٪ وزنی کیتوسان معادل با ۰/۴۸ و ۰/۵۴ g در ۴۰ mL کلریدریک اسید ۰/۲ مولار حل شد. سپس، پلی آنیلین سنتز شده به مقدار ۰/۰۵۴ و ۰/۱۱۵ g به ترتیب برای تهیه ۹ و ۱۹٪ وزنی پلی آنیلین به محلول اضافه شد. پس از افزایش ۱٪ وزنی (۰/۰۰۶ g) نانونقره، به مدت ۱ h دیگر همزده شد. سپس، برای پخش ذرات در محلول، در حمام فراصوت قرار گرفت. برای تهیه نانوکامپوزیت با ۳٪ وزنی نانونقره، از پلی آنیلین سنتز شده، مقادیر متناسب برای تهیه ۷ و ۱۷٪ پلی آنیلین نسبت به کیتوسان با توجه به روش کار گفته شده به محلول اضافه شد. همچنین، برای تهیه نانوکامپوزیت با ۵٪ وزنی نانونقره، از پلی آنیلین سنتز شده مقادیر متناسب برای تهیه ۵ و ۱۵٪ وزنی پلی آنیلین به محلول افزوده شد.

## تهیه فیلم نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نانونقره

نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نانونقره تهیه شده با درصدهای وزنی مختلف از اجزای تشکیل دهنده، به پلیت با قطر ۱۰ cm منتقل شده و در دمای محیط قرار گرفت. پس از تبخیر حلال، فیلم نانوکامپوزیت-پلی آنیلین-کیتوسان نانونقره از پلیت جدا شد (نمونه‌های ۷ تا ۱۲ در جدول ۱).

## آزمون ضدباکتری

بررسی اثر ضد میکروبی نمونه‌های تهیه شده در برابر باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز گرم منفی بیماری‌زای *شرشیاکلی* با استفاده از دو روش مختلف انجام شد.

## آزمون ضدباکتری به روش شمارش میکروبی

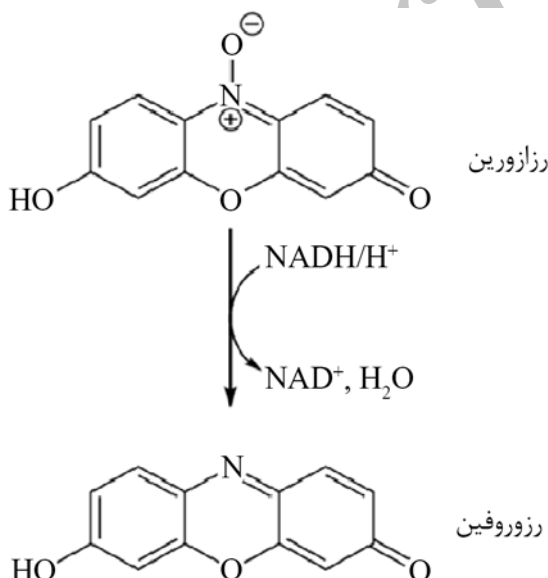
در این روش، نیز تعلیق میکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شرشیاکلی* مطابق ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد. سپس، سطح پلیمرها با الکل ۷۰٪ ضد عفونی شد و پس از خشک شدن به مقدار ۲۰۰  $\mu\text{L}$  از باکتری‌های موجود به شکل قطره روی پلیمر قرار داده و در دمای ۳۷°C در محیط مرطوب نگهداری شد. پس از ۲۴ h قطره باکتری برداشته شده و در نوترینت آگار کشت داده شد (Lioflichem, 610037) و شمارش میکروبی انجام شد.

## آزمون ضدباکتری با استفاده از ماده رنگی رزازورین (Resazurin)

در این روش، ابتدا مقدار ۱۰۰ mL محیط کشت نوترینت برات با مقدار یک حبه از ماده رزازورین (Camlab chemicals, CB4WE) مخلوط و در چاهک‌های کشت ۲ mL پخش شد. هر یک از پلیمرها به اندازه پوشش سطحی اضافه شد. سپس، در هر چاهک ۰/۵ مک‌فارلند باکتری اضافه شد. با رشد باکتری ماده رزازورین رنگ آبی خود را در اثر فعالیت آنزیم احیاکننده باکتری از دست می‌دهد. اگر رنگ آبی حفظ شود، حاکی از وجود خاصیت ضدباکتری است، یعنی باکتری رشد نکرده است (طرح ۱). پس از نهفتگی (incubation) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ h به کمک طیف‌بینی چگالی نوری (OD optical density) نمونه‌ها اندازه‌گیری و نمودار مربوط رسم شد.

## بررسی زیست تخریب پذیری

برای انجام آزمون زیست تخریب پذیری، از فیلم‌های ۱، ۶، ۱۰ و ۱۱ (طبق جدول ۱) دو تکه با ابعاد ۱×۲ cm بریده و به وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن شد. فیلم‌های مزبور به وزن ۰/۱۵ g داخل خاک جلوی نور خورشید قرار گرفت و روزانه به آن آب داده شد. این نمونه‌ها هفته‌ای یکبار پس از تمیز و خشک کردن، وزن شده و دوباره در خاک قرار داده شدند. در آزمون دیگر که مطابق روش گفته شده انجام گرفت، مقداری باکتری *استرپتومایسیس* نیز به خاک تزریق و نمونه هر سه روز یکبار توزین شد. سپس، نتایج حاصل با یکدیگر مقایسه شد [۱۹].



طرح ۱- ساختار رزازورین.

## نتایج و بحث

تشکیل پلیمر است. نوارهای جذب در  $1476$  و  $1558$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به حلقه‌های بنزوئیدی و کینوئیدی است [۱۷].

## طیف‌سنجی FTIR کیتوسان

در طیف FTIR نمونه کیتوسان (شکل ۱-ب) جذب در ناحیه  $3367$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه‌های N-H و O-H، جذب در ناحیه  $2876$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه C-H، جذب در  $1601$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه‌های C=O و ارتعاش کششی  $\text{NH}_2$  (به‌عنوان پیوند آمید I)، جذب در نواحی  $1420$   $\text{cm}^{-1}$  و  $1383$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به پیوندهای متیل ( $\text{CH}_3$ ) و نیز جذب در  $1265$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به پیوندهای C-O-C یا O-H است. جذب مربوط به ارتعاش‌های CH- و گروه‌های C-O به ترتیب در  $1157$  و  $1092$   $\text{cm}^{-1}$  مشخص است. افزون بر این جذب‌ها، جذب مربوط به پیوند C-H در ناحیه  $658$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر می‌شود که حاکی از احتمال وجود گروه‌های عاملی همچون هیدروکسیل، آمین و کربوکسیل است که وجود پلیمر کیتوسان را نشان می‌دهد [۲۰].

## طیف‌سنجی FTIR نانونقره

طیف FTIR نانونقره در شکل ۱-ج نشان داده شده است. جذب در ناحیه  $3447$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی O-H است و در  $1555$   $\text{cm}^{-1}$  به پیوند کششی C=C اختصاص داده می‌شود [۲۱].

## طیف‌سنجی FTIR نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نانونقره

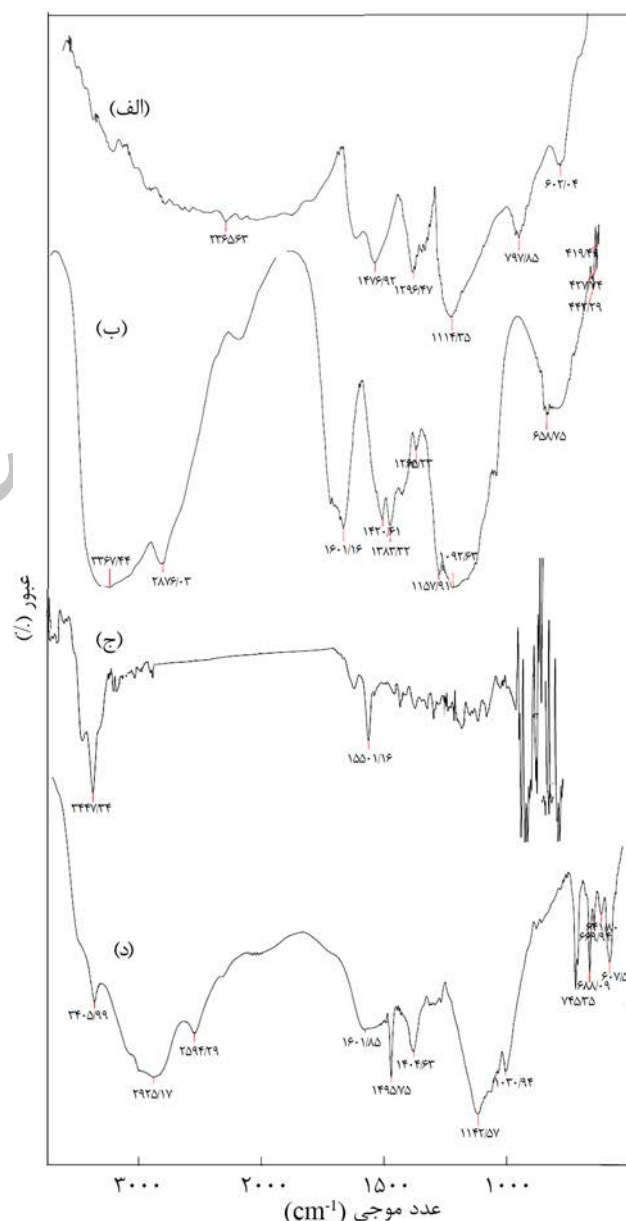
پیک‌های شاخص در طیف FTIR نانوکامپوزیت پلی آنیلین ۱۵٪-کیتوسان ۸۰٪-نقره ۵٪ (شکل ۱-د) در محدوده  $600-750$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به پیوند C-H بوده که احتمال وجود گروه‌های عاملی هیدروکسیل، آمین و کربوکسیل و نشانگر وجود پلیمر کیتوسان است. همچنین، پیک‌های جذب در محدوده  $1495$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی پیوند C-N بوده که نشانگر حلقه‌های بنزوئیدی است. ارتعاش خمشی پیوند C-H در محدوده  $1142$   $\text{cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود که از ویژگی‌های پلی آنیلین خالص است. پیک جذب قابل مشاهده در  $2935$   $\text{cm}^{-1}$  نشانگر ارتعاش کششی O-H مربوط به نقره است. نتایج نشان می‌دهد، سه جزء تشکیل‌دهنده نانوکامپوزیت به‌طور سازگار در ساختار نانوکامپوزیت وجود دارند.

## بررسی پایداری گرمایی با آزمون TGA

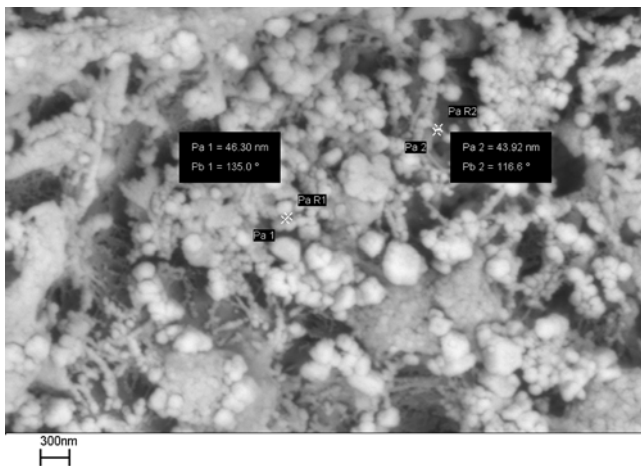
برای بررسی پایداری گرمایی نانوکامپوزیت پلی آنیلین ۱۵٪-کیتوسان ۸۰٪-نانونقره ۵٪، آزمون TGA انجام و با نتایج آزمون TGA برای پلی آنیلین، کیتوسان و نانوذرات نقره خالص مقایسه شد (شکل ۲).

## طیف‌سنجی FTIR پلی آنیلین

در طیف FTIR پلی آنیلین شکل ۱-الف، ارتعاش کششی پیوند C-H آروماتیک حدود  $2965$   $\text{cm}^{-1}$ ، ارتعاش کششی پیوند C-N در  $1296$   $\text{cm}^{-1}$  که بیانگر حلقه بنزوئیدی است و ارتعاش خمشی پیوند C-H حدود  $1114$   $\text{cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود که از مشخصه‌های پلی آنیلین خالص است. پیک‌های جذب در محدوده  $602$  و  $797$   $\text{cm}^{-1}$  از مشخصه‌های پاراجانیشینی حلقه آروماتیک است که نشان‌دهنده



شکل ۱- طیف FTIR: (الف) پلی آنیلین، (ب) کیتوسان، (ج) نانوذرات نقره و (د) نمونه ۹ طبق جدول ۱.



شکل ۳- تصویر SEM نمونه ۹ با بزرگ‌نمایی ۳۰۰ nm.

۸۰٪- نقره ۵٪ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوذرات نقره با ابعاد ۱۴۰-۴۰ nm در تمام منطقه سطح فیلم پخش شده و به شکل نقاط درخشانی دیده می‌شوند. در آزمون EDX در **شکل ۴-الف** نیز، مقدار عناصر کربن (C)، نیتروژن (N)، اکسیژن (O) و نقره (Ag) موجود در نانوکامپوزیت مزبور نشان داده شده و مقدار درصد هریک از این عناصر در **جدول ۲** آمده است. همچنین، نقشه پراکنش نانوذرات نقره حاصل از آزمون EDX در **شکل ۴-ب** نشان داده شده است که نشان‌دهنده پراکنش یکنواخت نانوذرات نقره در نانوکامپوزیت پلی آنیلین ۱۵٪- کیتوسان ۸۰٪- نقره ۵٪ است.

### بررسی خواص ضدباکتری

خواص ضدباکتری نمونه‌های تهیه شده با دو روش شمارش میکروبی و استفاده از ماده رنگی رزازورین بررسی شد.

### بررسی خاصیت ضدباکتری با روش شمارش میکروبی

نتایج این روش نشان داد، فیلم‌های نانوکامپوزیت پلی آنیلین کیتوسان نقره و فیلم‌های پلی آنیلین کیتوسان با درصد‌های وزنی مختلف این

جدول ۲- درصد عناصر موجود در نمونه ۹ طبق جدول ۱.

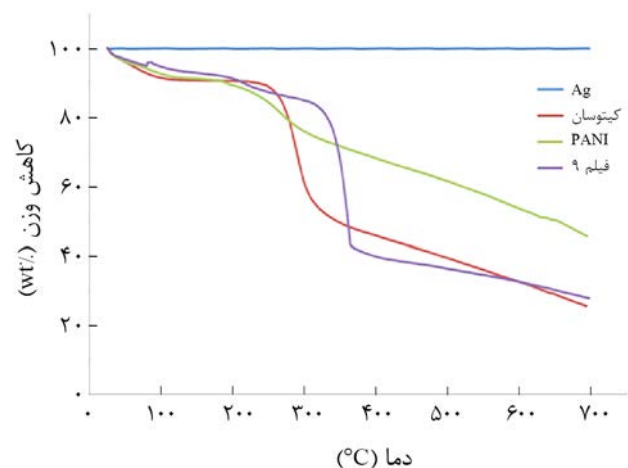
عناصر	مقدار (%)
کربن (C)	۴۱/۴۱
نیتروژن (N)	۱۷/۱۱
اکسیژن (O)	۳۸/۲۱
نقره (Ag)	۳/۲۷
کل عناصر	۱۰۰

با بررسی دمانگاشت گرماوزن‌سنجی مشخص شد، نانوذرات نقره پایداری گرمایی بسیار زیادی دارند و ساختار آن‌ها دست‌خوش تخریب نمی‌شود. در دمانگاشت TGA پلی آنیلین کاهش وزنی بین دمای ۵۰°C تا ۱۰۰°C وجود دارد که می‌تواند به حذف آب، خروج عامل دوپه‌کننده یا حلال نسبت داده شود. کاهش وزن در نزدیکی ۲۵۰°C و بیشتر را نیز می‌توان به تخریب ساختار پلیمر نسبت داد. در دمانگاشت TGA کیتوسان کاهش وزنی بین دمای ۵۰°C تا ۱۵۰°C وجود دارد که می‌تواند به حذف آب یا خروج حلال نسبت داده شود. کاهش وزن حدود ۴۰٪ نیز نزدیکی ۳۱۰°C اتفاق افتاد که مربوط به تجزیه زنجیرهای پلیمری است و دماهای بیشتر از آن را نیز می‌توان به تخریب ساختار پلیمر نسبت داد.

مقایسه TGA نانوکامپوزیت پلی آنیلین کیتوسان نانوذرات نقره با نمودار TGA گونه‌های خالص پلی آنیلین، کیتوسان و نانوقره نشان می‌دهد، تا نزدیکی دمای ۲۵۰°C الگوی تخریب مشابه پلیمرهای خالص کیتوسان و پلی آنیلین بوده و وجود نانوذرات نقره به مقدار جزئی باعث بهبود پایداری گرمایی آن در این محدود شده است. در نزدیکی ۲۵۰°C تخریب جزء پلی آنیلین باعث کاهش وزن نانوکامپوزیت می‌شود، ولی چون پلی آنیلین فقط ۱۵٪ وزن نانوکامپوزیت را تشکیل می‌دهد، این کاهش شدید نیست. در حالی که در نزدیکی ۳۵۰°C، تخریب حدود ۴۰٪ بوده و الگوی تخریب نانوکامپوزیت به علت داشتن درصد وزن زیادی از کیتوسان (۸۵٪) مشابه نمودار TGA مربوط به کیتوسان است.

### بررسی میکروسکوپی الکترونی پویشی

در **شکل ۳** تصویر SEM نانوکامپوزیت پلی آنیلین ۱۵٪- کیتوسان



شکل ۳- دمانگاشت TGA برای نمونه ۹ طبق جدول ۱ (فیلم ۹)، کیتوسان (Chito)، پلی آنیلین (PANI) و نانوذرات نقره (Ag).

پلی پتیدوگلیکان نسبت به باکتری /شرشیاکلی است که سبب پایداری آن شده است [۲۳].

کامپوزیت های پلی آنیلین-کیتوسان نیز اثرهای ضدباکتری مشابه نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره دارند. در مجاورت این کامپوزیت درصد زیادی از باکتری /شرشیاکلی از بین رفته که این اثر ناشی از وجود پلی آنیلین در ترکیب کامپوزیت است. در مراجع، اثر ضدباکتری پلی آنیلین را ناشی از واکنش عامل دوپه کننده اسیدهای قرارگرفته روی زنجیر پلیمر با باکتری یا احتمال وجود برهم کنش الکتروستاتیکی بین درشت مولکول های PANI و باکتری دانسته اند [۲۴].

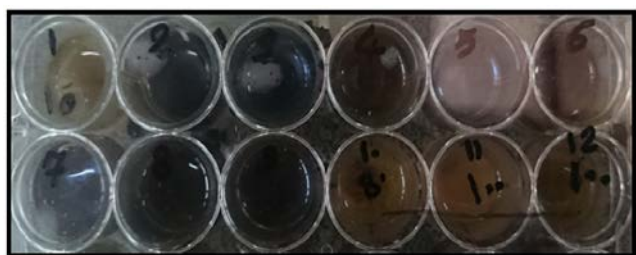
### بررسی خاصیت ضدباکتری با استفاده از ماده رنگی رزازورین

در روش سوم از ماده آبی رنگ رزازورین استفاده شد که نتیجه این آزمون با روش دوم مطابقت دارد. بدین ترتیب که طبق شکل ۶ پلیت های ۲ تا ۹ که مربوط به فیلم های نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره و نیز فیلم های پلی آنیلین-کیتوسان بودند، در برابر باکتری /شرشیاکلی بیشترین کشندگی را داشتند، چون رنگ آبی خود را حفظ کردند و ماده رنگی رزازورین بدون کاهش باقی مانده است. ولی نمونه های کیتوسان نقره که در پلیت های ۱۰ تا ۱۲ است، اثر ضدباکتری /شرشیاکلی نشان نداده و رنگ آبی خود را حفظ نکرد.

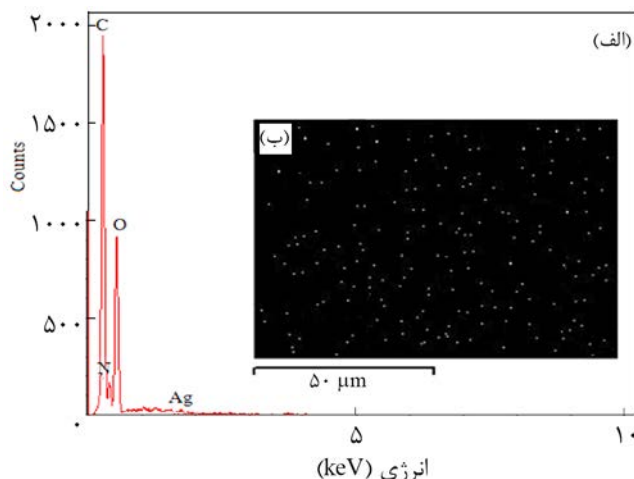
در واقع ماده آبی رنگ رزازورین فقط برای باکتری های گرم منفی به کار می رود و تغییر رنگ حاصل فقط در برابر باکتری های گرم منفی است. پس در نتیجه چون پلیت های ۲ تا ۹ در برابر /شرشیاکلی خاصیت ضدباکتری دارند، رنگ آبی از بین نرفته است. ولی در پلیت های ۱۰ تا ۱۲ چون در برابر /شرشیاکلی خاصیت ضدباکتری ندارند، رنگ آبی از بین رفته است. برای اطمینان از نتایج حاصل، آزمون طیف بینی نیز انجام و نتایج در شکل ۶ رسم شده است

### بررسی زیست تخریب پذیری

شکل ۷ روند تخریب کیتوسان خالص، نانوکامپوزیت-کیتوسان-



شکل ۵- روش کشت در مجاورت رزازورین. نمونه های ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بدون اثر ضدباکتری و نمونه های ۲ تا ۹ با اثر ضدباکتری.



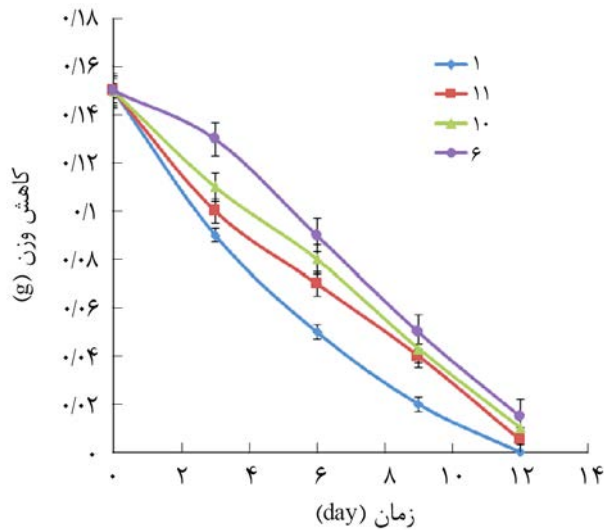
شکل ۴- (الف) الگوی EDX نمونه ۹ و (ب) نقشه پراکنش نانوذرات نقره.

قابلیت را دارد که باکتری /شرشیاکلی را نسبت به استافیلوکوک بیشتر از بین ببرد. گفتنی است، خاصیت ضدباکتری هر سه جزء تشکیل دهنده نمونه ها در مراجع گزارش شده است [۲۲-۲۴]. طبق این گزارش ها کیتوسان دارای خاصیت ضدباکتری بسیار قوی در برابر استافیلوکوک و عملکرد ضدباکتری ضعیف در برابر /شرشیاکلی است [۲۲]. اما، نانوذرات نقره بیشترین اثر مهارکنندگی رشد را روی باکتری های /شرشیاکلی نشان داده اند و نسبت به باکتری /استافیلوکوک چندان مؤثر نیستند [۲۳].

طبق نتایج مطالعه حاضر، نانوکامپوزیت های کیتوسان-نقره (با ۳، ۱ و ۵٪ نقره) اثر ضدباکتری قوی نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده اند و اثر ناچیزی روی باکتری /شرشیاکلی داشته اند که مقدار این اثر نیز وابسته به درصد نانوذرات استفاده شده است. بیشتر بودن درصد کیتوسان در این نانوکامپوزیت ها، مقدار بار مثبت ناشی از وجود گروه های آمینی را افزایش داده و سبب تشکیل پیوندهای الکتروستاتیک قوی و محکم تری می شود. این موضوع باعث ایجاد برهم کنش قوی بین کیتوسان و دیواره سلولی باکتری و در نتیجه افزایش خاصیت ضد میکروبی کیتوسان می شود [۲۲].

همچنین با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می رسد، در نانوکامپوزیت های پلی آنیلین-کیتوسان-نقره خاصیت ضدباکتری بیشتر در نتیجه فعالیت نقره است، زیرا با وجود این نانوکامپوزیت باکتری /شرشیاکلی به طور شایان توجهی از بین رفته، ولی روی استافیلوکوکوس اورئوس اثر محسوسی نداشته است. به عبارت دیگر، باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مقاومت بیشتری را نسبت به باکتری گرم منفی /شرشیاکلی نشان داده است. این موضوع می تواند به سبب تفاوت در دیواره سلولی باکتری گرم مثبت و منفی باشد. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای دیواره ضخیم تری از





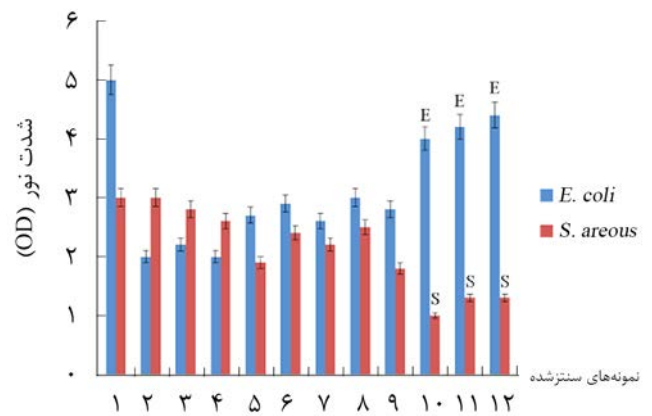
شکل ۸- روند تخریب نانوکامپوزیت‌ها در مجاورت باکتری استرپتومایسیس (نمونه‌های ۱-۱۲ در جدول ۱).

ترکیب مدنظر، مدت زمان تخریب را کمی افزایش می‌دهد.

### نتیجه‌گیری

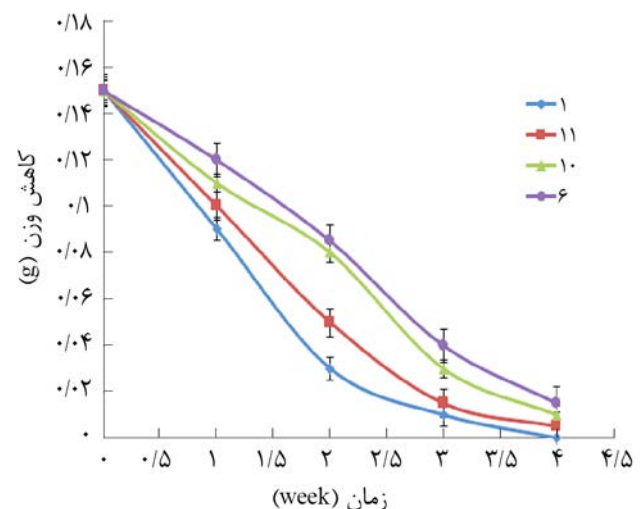
برای بهبود خواص فرایندپذیری و ضدباکتری پلی آنیلین نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره به روش محلول تهیه شد. برای بررسی اثر اجزای سازنده نانوکامپوزیت در خاصیت ضدباکتری آن از درصد‌های وزنی مختلف پلی آنیلین، کیتوسان و نقره بهره گرفته شد. با بررسی طیف FTIR به دست آمده برای نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره و مقایسه آن با طیف‌های FTIR اجزای خالص سازنده نانوکامپوزیت مشخص شد، پیک‌های شاخص اجزای سازنده خالص در طیف نانوکامپوزیت قابل شناسایی است که این موضوع حاکی از سازگاری اجزای سازنده نانوکامپوزیت است. نتایج آزمون TGA نشان داد، وجود نانوذرات نقره و پلی آنیلین در ساختار نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره، باعث بهبود پایداری گرمایی آن نسبت به کیتوسان خالص شده است. تصاویر SEM نانوکامپوزیت کیتوسان-نقره نشان داد، نانوذرات نقره در ساختار سطحی نانوکامپوزیت قابل تشخیص است. تصاویر SEM و نقشه پراکنش نانوذرات نقره حاصل از آزمون EDX برای نانوکامپوزیت هیبریدی پلی آنیلین-کیتوسان-نقره نشان‌دهنده پراکنش یکنواخت نانوذرات در ساختار سطح نانوکامپوزیت است.

بررسی خاصیت ضدباکتری نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره و نانوکامپوزیت کیتوسان-نقره و نیز کامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان نشان



شکل ۶- اثر ضدباکتری نمونه‌های مطالعه شده (نمونه‌های ۱-۱۲ در جدول ۱).

نقره و نانوکامپوزیت پلی آنیلین-کیتوسان-نقره را در خاک مرطوب و در معرض نور خورشید نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان داد، نمونه‌ها تقریباً در مدت یک ماه کاملاً تجزیه می‌شوند. شکل ۸ روند تخریب نمونه‌های مورد آزمون را در حاکی نشان می‌دهد که باکتری استرپتومایسیس به آن تزریق شده بود. نتایج نشان داد، نمونه‌ها تقریباً در مدت ۱۲ روز کاملاً تجزیه می‌شوند. عامل تخریب نمونه‌های زیست تخریب‌پذیر در خاک باکتری استرپتومایسیس است که با افزایش غلظت آن در خاک، سرعت تخریب نیز افزایش می‌یابد. همچنین، طبق نمودارهای به دست آمده، چون گونه زیست تخریب‌پذیر پلیمر کیتوسان است، نمونه‌ای که حاوی مقدار بیشتری کیتوسان است، زودتر تخریب می‌شود. وجود نانوذرات نقره و نیز پلی آنیلین در



شکل ۷- روند تخریب نمونه‌ها در خاک مرطوب (نمونه‌های ۱-۱۲ در جدول ۱).

بررسی خاصیت زیست تخریب پذیری نشان داد، وجود هر چه بیشتر کیتوسان در نانوکامپوزیت تهیه شده، باعث زیست تخریب پذیری بیشتری شده و نیز بیشتر بودن غلظت باکتری استریتومایسیس در خاک طبیعی باعث تخریب زودهنگام نمونه می شود.

داد، نانوکامپوزیت پلی آنیلین - کیتوسان - نقره و کامپوزیت پلی آنیلین - کیتوسان در برابر باکتری بیماری زای *اشرشیاکلی* بیشترین کشندگی میکروبی را دارد و نیز نانوکامپوزیت کیتوسان - نقره در برابر باکتری بیماری زای *استافیلوکوک* بیشترین اثر کشندگی را ایجاد می کند.

## مراجع

1. Araujo J.R., Adamo C.B., Costa e Silva M.V., and De Paoli M.A., Antistatic-Reinforced Biocomposites of Polyamide-6 and Polyaniline-Coated Curauá Fibers Prepared on a Pilot Plant Scale, *Polym. Compos.*, **34**, 1081-1090, 2013.
2. Nooshabadi M.S., Ghoreishi S.M., and Behpour M., Electropolymerized Polyaniline Coating on Aluminum Alloy 3004 and Their Corrosion Protection Performance, *Electrochim Acta*, **54**, 6989-6995, 2009.
3. Tsoira P. and Friedrich K., Thermal, Mechanical, and Electrical Properties of Epoxy Resin/Polyaniline-Dodecyl Benzene Sulfonic Acid Blends, *Synt. Metal.*, **143**, 237-242, 2004.
4. Mirmohseni A., Oladegaragoze A., and Farbodi M., Synthesis and Characterization of Processable Conducting Polyaniline/Polystyrene Composite, *Iran. Polym. J.*, **17**, 135-140, 2008.
5. Asma B., Afzal M., Akhtar J., Nadeema M., and Hassan M.M., Dielectric and Impedance Studies of DBSA Doped Polyaniline/PVC Composites, *Current Appl. Phys.*, **10**, 601-606, 2010.
6. Eisazadeh H. and Zahiri A.R., Investigating the Characteristics of Polyaniline and Its Composite Films, Prepared by Chemical Method, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **4**, 203-209, 2005.
7. Yavuz A.G., Uygun A., and Bhethanabotla V.R., Substituted Polyaniline/Chitosan Composites: Synthesis and Characterization, *Carbohydr. Polym.*, **75**, 448-453, 2009.
8. Yaghoobi N., Mirzadeh H., and Hormozi F., Optimization of Chitin Extraction from Shrimp's Shell and Chitosan Preparation: Study of Parameters Influence on Chitin Deacetylation Reaction and Biocompatibility Evaluation (In vitro), *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **15**, 55-64, 2002.
9. Taghizadeh S.M., Takrousta M., Davari G., and Yousefi M., Preparation of Chitosan with Different Degree of Deacetylation and Comparison of Its Different Characterization Methods, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **17**, 291-297, 2005.
10. Mahdavi H., Taghizadeh S.M., Mivehchi H., and Ahmad Khan Beigi F., The Effect of Chitosan Molecular Weight on the Rate of Drug Release of Prednisolone Sodium Phosphate from Chitosan Microspheres Prepared by Spray Dryer, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **19**, 225-232, 2006.
11. He Z., Xiong L., Liu W., Wu X., Chen S., and Huang K., Synthesis and Electrochemical Properties of SnO<sub>2</sub>-Polyaniline Composite, *J. Central South University Technol.*, **15**, 214-217, 2008.
12. Wu T. and Lin Y., Doped Polyaniline/Multi-Walled Carbon Nanotube Composites: Preparation, Characterization and Properties, *Polymer*, **47**, 3576-3582, 2006.
13. Bourdo S.E. and Viswanathan T., Graphite/Polyaniline (GP) Composites: Synthesis and Characterization, *Carbon*, **43**, 2983-2988, 2005.
14. Srivastav N., Singh Y., and Singh R.A., Preparation of Intercalated Polyaniline/Clay Nanocomposite and Its Exfoliation Exhibiting Dendritic Structure, *Bull. Mater. Sci.*, **34**, 635-638, 2011.
15. Li Z., Li Y., Lu J., Zheng F., Laven J., and Foyet A., Polyaniline/Ag Nanocomposite Synthesized by Using Aniline as Dispersant and Stabilizer of Nanosilver Sol, *J. Appl. Polym. Sci.*, **128**, 3933-3938, 2013.
16. Gorbani F., Application of Silver Nanoparticles in Medicine, <http://nano.ir/index.php>, Available in February 2016.
17. Olad A. and Nosrati R., Preparation and Corrosion Resistance of Nanostructured PVC/ZnO-Polyaniline Hybrid Coating, *Prog. Org. Coat.*, **76**, 113-118, 2013.
18. Olad A., Barati M., and Behboudi S., Preparation of PANI/Epoxy/Zn Nanocomposite Using Zn Nanoparticles and Epoxy Resin as Additives and Investigation of Its Corrosion Protection Behavior on Iron, *Prog. Org. Coat.*, **74**, 221-227, 2012.
19. Gautam N. and Kaur I., Soil Burial Biodegradation Studies of

- Starch Grafted Polyethylene and Identification of Rhizobium Meliloti Therefrom, *J. Environ. Chem. Ecotoxicology*, **5**, 147-158, 2013.
20. Zainoha Z., Jawaid M., and Izzah Z., Chitosan Deacetylation, *Bioresourees*, **7**, 5572, 2012.
21. Mohd Rafie J., and Roslina A., FTIR Studies on Silver-Poly(methylmethacrylate) Nanocomposites Via In-situ Polymerization Technique, *Int. J. Electrochem.*, **7**, 5596-5603, 2012.
22. Taheri A., Seyfan A., and Jalalinezhad S., Antimicrobial and Antifungal Effects of Acid and Water-Soluble Chitosan Extracted from Indian Shrimp (*Fenneropenaeus Indicus*) Shell, *J. Fasa University Med. Sci. (JFUMS)*, **3**, 49-55, 2013.
23. Alimohammadi F., Montazer M., Shamei A., and Rahimi M. K., Synthesis of Silver Nanoparticles in Cotton Fabric by Polyvinyl-2-Pyrrolidone as a Reducing and Stabilizing Agent, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **25**, 265-275, 2012.
24. Kucekova Z., Kasparkova V. Humpelicek P., and Serckava P., Antibacterial Proper Ties of Polyaniline-Silver Films, *Chem. Papers*, **67**, 1103-1108, 2013.

Archive of SID