JARC

علمی-پژوهشی

تهیه، شناسایی و بررسی فعالیت پادباکتری چندسازه‌های فیبری چندجزئی پلی‌اکریلونیتریل/چارچوب فلز-آلی نقره/نانوذره‌های کیتوسان/N-استیل‌سیستیئن

زینب انصاری اصل[۱و*]، حدیث رشیدی‌کیا[۲] و اسماعیل داراب‌پور[۳]

۱. دانشیار گروه شیمی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیمی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

دریافت: بهمن ۱۴۰۲ بازنگری: شهریور ۱۴۰۲ پذیرش: شهریور۱۴۰۳

https://doi.org/10.30495/JACR1.1403.1044875

چکیده

در این کار پژوهشی، چندسازه‌های فیبری با ویژگی پادباکتری شامل پلی‌اکریلونیتریل، نانوذره‌های کیتوسان (CSNPs)، چارچوب فلز-آلی نقره و N-استیل‌سیستیئن (NAC) به‌روش الکتروریسی تهیه شدند. فیبرهای تهیه‌شده با روش‌های طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، پراش پرتو ایکس (XRD)، میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM) و نگاشت عنصری شناسایی شدند. نتیجه‌های به‌دست‌آمده از بررسی ویژگی پادباکتری ترکیب‌های تهیه‌شده در برابر باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلی* و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد افزودن چارچوب فلز-آلی نقره و همچنین، ترکیب‌های پادباکتری کیتوسان و NAC منجر به بهبود ویژگی پادباکتری فیبرها شدند؛ به‌گونه‌ای‌که نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC بیشترین اثر را در کاهش تعداد سلول‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد. ازاین‌رو، می‌توان گفت این ترکیب‌ها قابلیت کاربرد در زمینه‌های پزشکی مانند استفاده به‌عنوان زخم‌پوش را دارند.

واژه‌های کلیدی: چارچوب فلز-آلی، کیتوسان، N-استیل‌سیستئین، پلی‌اکریلونیتریل، چندسازه، فعالیت پادباکتری.

مقدمه

فرایند ترمیم زخم در بدن موجودات زنده، فرایندی پیچیده است که پس از وارد آمدن آسیب آغاز می‌شود. این فرایند بسیار زمان‌بر است و اثر طولانی‌مدت زخم بر بدن بیمار، مشکل‌های بسیاری ایجاد می‌کند. در برخی موردها، به‌دلیل شرایط محیطی، بدن به تنهایی قادر به ترمیم زخم نیست. بنابراین، به‌کارگیری تجهیزات کمکی الزامی است. زخم‌پوش‌ها از زخم در برابر عفونت و ریزاندامگان‌ها محافظت و حذف کامل اجسام خارجی از اطراف بافت‌های آسیب‌دیده و عفونی را فراهم می‌کنند [۱ و ۲]. در طول چند دهه گذشته، یون‌ها و اکسیدهای فلزی مبتنی

* عهده‌دار مکاتبات: z.ansari@scu.ac.ir

بر مس، روی و نقره با ویژگی پادباکتری برای از بین‌بردن یا مهار باکتری‌ها در اطراف زخم استفاده شده‌اند. با این‌حال، استفاده از این ترکیب‌ها به دلیل سمیت ناشی از آزادسازی سریع یون‌های فلزی محدود است. مطالعه در زمینه مواد جدیدی که امکان آزادسازی واپایش‌شده یون‌های با فعالیت پادباکتری را فراهم کند، حوزه‌ای است که چارچوب‌های فلز–آلی می‌تواند در آن بسیار امیدوارکننده باشند [۳ و ۴].

چارچوب‌های فلز–آلی به‌عنوان گروهی از بسپارهای کوئوردیناسیونی متخلخل شناخته می‌شوند که دارای ویژگی‌هایی مانند مساحت سطح بالا، ساختار متخلخل، حفره‌های بسیار، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری هستند. این ترکیب‌ها از یون فلزی (گره) و لیگاند کوئوردیناسیونی تشکیل شده‌اند. در سال‌های اخیر چارچوب‌های فلز–آلی به دلیل عملکردهای متفاوت مانند تجزیه واپایش‌شده اجزاء با فعالیت پادباکتری، برهم‌کنش‌های قوی با غشای باکتری‌ها و همچنین، قابلیت بارگذاری بالا، نتیجه‌های امیدوارکننده‌ای برای کاربردهای پادباکتری نشان داده‌اند. افزون‌براین، لیگاندهای آلی موجود در این ساختارها می‌توانند پادزیست‌ها یا حساس‌کننده‌های نوری باشند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) را تولید می‌کنند و باکتری‌ها را بر اثر نور از بین می‌برند. ازاین‌رو، چارچوب‌های فلز–آلی به‌عنوان حامل، با بارگذاری ترکیب‌های پادباکتری مانند پادزیست‌ها، حساس کننده‌های نوری، پپتیدهای پادباکتری و سایر موارد می‌توانند به بهبود اثر پادباکتری کمک کنند [۵ تا ۷]. یون نقره دارای سمیت سلولی و پاسخ ایمنی کمتر، پایداری و ویژگی پادباکتریایی بهتری نسبت به سایر فلزها است. بنابراین، برای اهداف متفاوت مانند دارورسانی، تصویربرداری پزشکی و تشخیص مولکولی استفاده می‌شود. چارچوب‌های فلز–آلی نقره شامل لیگاندهای آلی کربوکسیلات به دلیل اینکه تشکیل پیوندهای کوئوردیناسیونی فلز–کربوکسیلات به ساختارهای بلوری بسیار منظم کمک می‌کند، بیشترین توجه را به خود جلب کرده‌اند. در سال ۲۰۱۱ میلادی برچل[2] و همکارانش، چارچوب فلز–آلی نقره متشکل از یون نقره و لیگاند ۳–فسفونوبنزوئیک اسید حاوی دو گروه عاملی کربوکسیلیک اسید و فسفونیک اسید را معرفی و گزارش کردند. که با آزادسازی مداوم یون نقره منجر به از بین بردن موثر باکتری‌ها شد [۸ تا ۱۰]. با وجود مزایای بارز چارچوب‌های فلز–آلی، این ترکیب‌ها به‌طور معمول به شکل پودر بلوری، شکننده و نامحلول وجود دارند که استفاده از آن‌ها در صنایع را محدود می‌کند. چارچوب‌های فلز–آلی پودری شکل را نمی‌توان به‌راحتی از زخم جدا کرد. همچنین، تماس مستقیم پودر با بستر زخم ممکن است موجب التهاب پوست و در نتیجه آهسته‌شدن روند بازسازی آن شود. تثبیت این ترکیب‌ها روی بسپارها و منسوجات (مانند الیاف و گاز) به‌عنوان روشی کارامد برای بهبود پایداری و ویژگی مواد MOF[3] درنظرگرفته می‌شود [۱۱ تا ۱۳]. پلی‌اکریلونیتریل، بسپار آلی مصنوعی نیم‌بلوری سفید رنگ است که برای نخستین بار توسط رین[4] در سال ۱۹۳۱ تهیه شد. این بسپار به‌عنوان یک بسپار ترموپلاستیک، دارای مقاومت شیمیایی خوب و ویژگی مکانیکی عالی است. الیاف به‌دست‌آمده از این بسپار در جذب فلزهای سنگین، هوافضا، کاتالیست‌ها و زخم‌پوش‌ها استفاده شده‌اند [۱۴ و ۱۵].

ژانگ[5] و همکارانش در سال ۲۰۲۰ میلادی، نانوچندسازه فیبری چارچوب فلز–آلی شامل نقره و پلی‌لاکتیک اسید را به‌عنوان زخم‌پوش پادباکتری در برابر باکتری *اشریشیا کلی*[6]، *استافیلوکوکوس اورئوس*[7]، *سودموناس آئروژینوسا*[8] و *مایکوباکتریوم اسمگماتیس*[9] گزارش کردند [۱۳]. در سال ۲۰۲۲ میلادی انصاری اصل و همکارانش، نانوچندسازه اسفنجی از

1. Reactive oxygen species 2. Burchel 3. Metal-Organic Framework 4. Rein 5. Zhang
6. *Escherichia coli* (*E. coli*) 7. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) 8. *Pseudomonas aeruginosa* 9. *Mycobacterium smegmatis*

چارجوب فلز–آلی شامل یون مس و پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان (Cu-MOF@PDMS) را تهیه کردند. سپس لایه‌ای از کیتوسان به‌روش غوطه‌وری روی اسفنج‌های Cu-MOF@PDMS پوشانده شد. بررسی‌ها نشان داد کیتوسان اثر پادباکتریایی اسفنج‌های Cu-MOF@PDMS را در برابر باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* افزایش می‌دهد [۱۶].

N–استیل‌سیستئین یک اسید آمینه با ویژگی پادانعقادی و فعالیت پاداکسندگی است که به بازسازی بافت کمک می‌کند و برای چندین دهه در اقدامات درمانی به‌عنوان مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن، استفاده شده است [۱۷]. بسیاری از پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که نانوذره‌های کیتوسان (CSNPs)[1] و مشتق‌های آن نیز یکی از بهترین نانومواد برای فعالیت پادباکتری است که استفاده زیستی از آن به تنهایی یا در ترکیب با سایر ترکیب‌ها، دارای اثرهای بازدارنده در برابر هر دو گروه از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت هستند [۱۸].

در این کار پژوهشی، چندسازه‌های فیبری با ویژگی پادباکتری شامل پلی‌اکریلونیتریل، چارچوب فلز–آلی نقره، نانوذره‌های کیتوسان و N–استیل‌سیستئین (NAC[2]) تهیه شدند. پس از شناسایی چندسازه‌های فیبری موردنظر با طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، پراش پرتو ایکس (XRD)، میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM) و نگاشت عنصری[3] (با به‌کارگیری طیف‌شناسی تفکیک انرژی (EDS))، فعالیت پادباکتری آن‌ها دربرابر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شد. زخم‌پوش‌های تهیه‌شده فعالیت پادباکتری مناسبی نشان دادند.

بخش تجربی

مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

مواد و حلال‌های استفاده‌شده در این کار پژوهشی از شرکت مرک تهیه شدند. طیف‌های FTIR مواد جامد تهیه‌شده با دستگاه طیف‌نورسنج FTIR مدل BOME/MB 102 و قرص KBr ثبت شد. پراش پرتو ایکس نمونه‌ها با دستگاه X Pert Pro و تابش CuKα با طول موج ۱٫۵۴۱۸۴ آنگستروم انجام شد. تصویرهای SEM و نگاشت عنصری نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل‌های TESCAN MIRA3 و KYKY-EM3200 تهیه شدند.

تهیه چارچوب فلز–آلی Ag_2-[HBTC]-[im] به روش آب‌گرمایی

برای تهیه Ag_2-[HBTC]-[im]، سه محلول شامل ۰٫۳۳ گرم (۱٫۹ میلی‌مول) نقره نیترات در ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده (محلول اول)، ۰٫۲ گرم (۰٫۹۵ میلی‌مول) لیگاند H_3BTC در ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده (محلول دوم) و ۰٫۰۶۶ گرم (۰٫۹۷ میلی‌مول) ایمیدازول در ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده (محلول سوم) به‌صورت جداگانه تهیه، به ظرف دم‌فشار منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی به‌خوبی مخلوط شدند. سپس، واکنش در دمای ۸۵ درجه سلسیوس به مدت سه شبانه روز در آون انجام شد. پس از گذشت این مدت، دم‌فشار از آون خارج و تا رسیدن به دمای محیط ثابت نگه‌داشته شد. در پایان بلورهای فراورده جدا و در آون خشک شدند [۱۳].

تهیه نانوذره‌های کیتوسان با روش ژل یونی

برای تهیه نانوذره‌های کیتوسان، مقدار ۰٫۰۳ گرم (۰٫۰۸۲ میلی‌مول) از سدیم تری‌پلی‌فسفات (STPP[4]) در ۵ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده حل و به‌صورت قطره‌قطره به ۰٫۰۲ گرم از کیتوسان حل‌شده در ۵ میلی‌لیتر محلول اسیدی (۱ درصد حجمی/حجمی استیک اسید) افزوده شد و با همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت در دمای اتاق هم‌زده شد. رسوب ژله‌ای شیری رنگ

1. Chitosan nanoparticles (CSNPs)
2. N-acetylcysteine (NAC)
3. Elemental mapping
4. Sodium tripolyphosphate (STPP)

به‌دست‌آمده، به کمک گریزانه جدا و سه بار با آب یون‌زدوده و یک بار با اتانول شسته شد [۱۹].

تهیه نانوالیاف PAN

برای تهیه نانوالیاف پلی‌اکریلونیتریل، ۰/۶ گرم از پلی‌اکریلونیتریل در ۵ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید (DMF) حل و ۲۴ ساعت در دمای اتاق با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. سپس، محلول به‌دست آمده در شرایط دستگاهی مناسب (ولتاژ kV ۱۸، سرعت تزریق $ml\ h^{-1}$ ۱/۵، فاصله نازل تا جمع کننده ۱۰ میلی‌متر)، دو ساعت الکتروریسی شد. در پایان فیبرهایی با ضخامت مناسب روی فویل آلومینیمی تشکیل شد.

تهیه نانوچندسازه‌های فیبری PAN/x%Ag-MOF

نانوچندسازه‌های فیبری پلی‌اکریلونیتریل شامل چارچوب‌های فلز–آلی Ag-MOF (با درصدهای متفاوت ۰/۵، ۱/۲۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰) به‌وسیله دستگاه الکتروریسی تهیه شدند. برای مثال، به‌منظور تهیه نمونه ۵ درصد جرمی، مقدار ۰/۰۳ گرم از Ag-BTC در ۵ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید تحت تابش‌دهی امواج فراصوت به مدت ۲۲ دقیقه پراکنده شد. سپس ۰/۶ گرم از بسپار پلی‌اکریلونیتریل افزوده و برای همگن شدن مخلوط، به‌مدت یک شبانه روز در دمای اتاق با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. نمونه به‌دست‌آمده برای فرایند الکتروریسی، به سرنگ منتقل و تحت شرایط یادشده، الکتروریسی شد. بقیه نمونه‌ها با درصدهای جرمی متفاوت از چارچوب فلز–آلی Ag-MOF نیز با این روش تهیه شدند.

تهیه نانوچندسازه‌های فیبری PAN/x%CSNPs

برای تهیه نانوچندسازه PAN/5%CSNPs، ابتدا ۰/۰۳ گرم نانوذره‌های کیتوسان در ۲ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید به مدت ۲۲ دقیقه درون حمام فراصوت قرار داده شد. سپس، این نمونه به ۰/۶ گرم از بسپار پلی‌اکریلونیتریل حل‌شده در ۳ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌فرمامید افزوده شد و در شرایط محیط به مدت یک شبانه روز هم‌زده شد. در پایان تعلیقه موردنظر برای انجام فرایند الکتروریسی با شرایط دستگاهی یادشده، به سرنگ منتقل شد. نانوچندسازه‌های فیبری PAN/5%CSNPs به‌مدت ۲ ساعت روی فویل آلومینیم جمع‌آوری شد. نمونه‌هایی با درصد جرمی ۱۰ و ۲۰ از کیتوسان نیز با این روش تهیه شدند.

تهیه نانوچندسازه‌های فیبری PAN/x%Ag-MOF/x%CSNPs

به‌منظور تهیه نانوچندسازه‌های PAN/0.5%Ag-MOF/20%CSNPs، ابتدا ۳ میلی‌گرم از چارچوب فلز–آلی Ag-MOF در ۳ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌فرمامید به‌مدت ۲۲ دقیقه زیر امواج فراصوت قرار گرفت. نانوذره‌های کیتوسان (۲۰ درصد جرمی) به محلول ۰/۶ گرم از PAN حل‌شده در ۳ میلی‌لیتر از حلال دی‌متیل‌فرمامید، افزوده شد. این مخلوط تا به‌دست‌آمدن نمونه به‌طورکامل همگن، هم‌زده شد. در پایان، نانوچندسازه‌های فیبری مخلوط به‌دست‌آمده، با فرایند الکتروریسی در شرایط یادشده با ضخامت دلخواه تهیه شدند.

تهیه نانوچندسازه‌های فیبری PAN/x%NAC

برای تهیه نمونه با غلظت ۱۰ درصد جرمی از N– استیل-سیستیئن، PAN/10%NAC، مقدار ۰/۰۷ گرم از N–استیل‌سیستئین در ۱ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌فرمامید حل و به ۰/۶ گرم PAN حل‌شده در ۵ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌فرمامید افزوده و هم‌زده شد. در پایان، نانوچندسازه‌های فیبری با انجام فرایند الکتروریسی در شرایط یادشده با ضخامت دلخواه تهیه شد. نمونه با غلظت ۵ درصد جرمی از NAC نیز مشابه روش شرح داده‌شده تهیه شد.

تهیه نانو چند سازه‌های فیبری PAN/0.5%Ag-MOF/10%NAC

برای تهیه این نانوچندسازه، مقدار ۳ میلی‌گرم از چارچوب‌های فلز–آلی Ag-MOF در ۳ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌فرمامید به مدت ۲۲ دقیقه زیر امواج فراصوت پراکنده شد. در ادامه ۰/۰۷ گرم از N–استیل‌سیستئین در ۱ میلی‌لیتر از دی‌متیل‌فرمامید حل شد. سپس، نمونه‌های فوق به ۰/۶ گرم از

PAN حل‌شده در ۵ میلی‌لیتر از حلال دی‌متیل‌فرمامید افزوده شد و در پایان نانوچندسازه فیبری با ضخامت دلخواه با انجام فرایند الکتروریسی در شرایط یادشده تهیه شد.

تهیه نانوچندسازه‌های فیبری PAN/x%CSNPs/x%NAC

برای تهیه این نانوچندسازه‌ها، درصدهای متفاوتی از NAC و نانوذره‌های کیتوسان (۱۰ و ۱۰، ۵ و ۱۰، ۱۰ و ۵) تهیه شدند. برای مثال، برای تهیه نانوچندسازه PAN/10%CSNPs/10%NAC، مقدار ۰/۰۷ گرم از NAC در ۱ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌فرمامید حل و همراه با نانوذره-های کیتوسان با غلظت ۱۰ درصد جرمی به ۰/۶ گرم از PAN حل‌شده در ۵ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل‌فرمامید افزوده شد و تا همگن‌شدن نمونه، با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. برای تهیه نانوچندسازه فیبری، دستگاه الکتروریسی با شرایط یادشده به‌کارگرفته شد.

تهیه نانوچندسازه فیبری PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC

برای تهیه نانوچندسازه PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC، سه نمونه شامل نانوذره‌های کیتوسان با غلظت ۱۰ درصد جرمی (۱)، ۳ میلی‌گرم از چارچوب‌های فلز–آلی Ag-MOF پراکنده‌شده در ۳ میلی‌لیتر DMF (۲) و ۰/۰۳ گرم از NAC حل‌شده در ۱ میلی‌لیتر حلال دی‌متیل فرمامید (۳)، به ۰/۶ گرم از PAN حل‌شده در ۲ میلی-لیتر حلال دی‌متیل‌فرمامید افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت برای همگن‌شدن، با همزن مغناطیسی هم‌زده شد. در پایان، نانوچندسازه‌های فیبری با ضخامت دلخواه با دستگاه الکتروریسی و شرایط دستگاهی یادشده، تهیه شدند.

بررسی اثر پادباکتری نانوچندسازه‌های تهیه‌شده

اثر پادباکتری نانوچندسازه‌های فیبری تهیه‌شده در برابر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد. در این آزمایش، ابتدا باکتری‌های مذکور در محیط کشت نوترینت آگار به‌مدت ۲۴ ساعت دمای ۳۷ درجه سلسیوس رشد داده شدند. سپس، تعلیقه‌های از کلنی‌های باکتری با کدورت ۰/۵ مک فارلند (حدود 1.5×10^{8} CFU ml^{-1}) در فسفات بافر سالین[1] (pH برابر با ۷/۴) تهیه شد. به هر لوله آزمایش حاوی ۴ میلی‌لیتر از تعلیقه سلول‌های باکتری، نمونه‌ای از نانوچند سازه‌های فیبری با ابعاد 2×2 cm^2 افزوده شد. در مرحله بعد، گرمادهی در گرم‌خانه تکاننده با دور ۱۷۰ rpm به‌مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، انجام شد. برای محاسبه واحدهای شمارش کلنی، از تعلیقه‌های سلولی تیمارشده و تیمارنشده، رقت‌های سریال (با نسبت ۱/۱۰) تهیه و روی نوترینت آگار کشت داده شد. در نهایت پس از انکوباسیون به-مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، کلنی‌های رشد کرده و بر سطح محیط کشت شمارش شدند [۲۰ تا ۲۲].

نتیجه‌ها و بحث

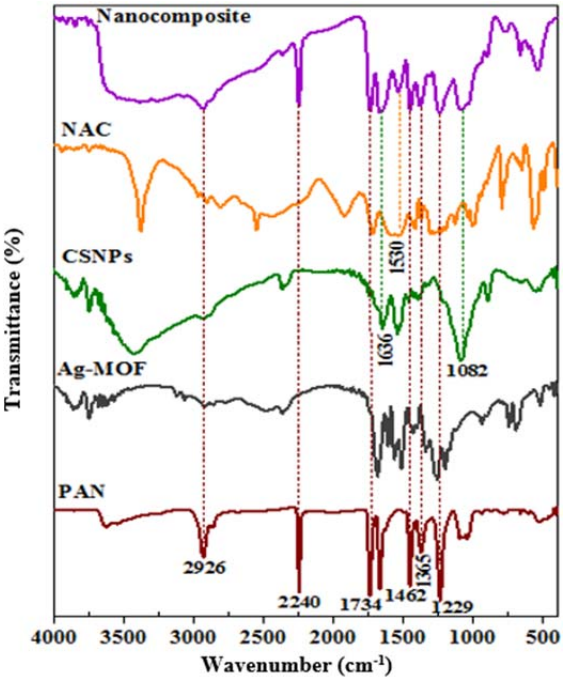
در این کار پژوهشی، ابتدا چارچوب فلز–آلی Ag-MOF با لیگاند BTC و ایمیدازول با روش آب‌گرمایی سنتز شد. سپس نانوچندسازه‌های فیبری این چارچوب فلز–آلی با بسپار پلی‌اکریلونیتریل و ترکیب‌های پادباکتری شامل نانوذره‌های کیتوسان و N–استیل‌سیستئین با درصدهای وزنی متفاوت به‌صورت جداگانه و ترکیبی، با دستگاه الکتروریسی تهیه شدند. روش‌های XRD، FTIR، SEM و نگاشت عنصری برای شناسایی این ترکیب‌ها به‌کارگرفته شد. آزمون‌های ویژگی پادباکتری آن‌ها در برابر دو باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد.

بررسی طیف‌های فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)

طیف فروسرخ تبدیل فوریه نانوچندسازه فیبری PAN/0.5% Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC و ترکیب‌های اولیه آن در

1. Phosphate-Buffered Saline (PBS)

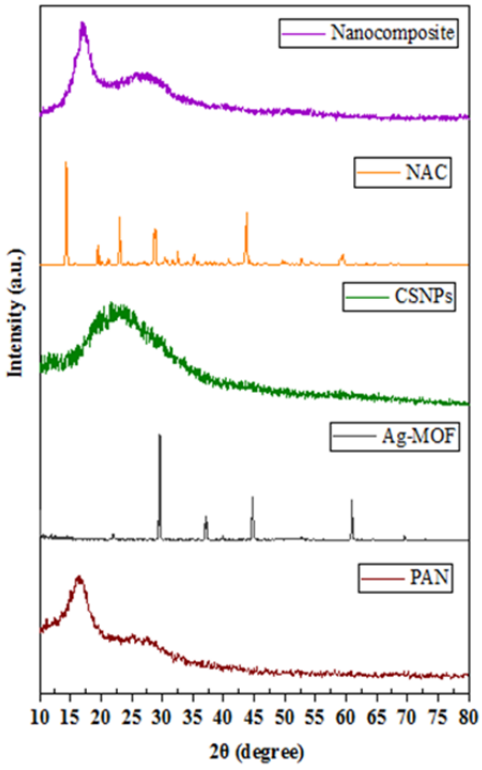
شکل ۱ آورده شده است. در طیف FTIR فیبر خالص PAN، نوارهای موجود در ۱۲۲۹، ۱۷۳۴ و ۲۲۴۰ cm^{-1} به‌ترتیب به ارتعاش‌های کششی پیوند C-H، C=O و گروه نیتریل (C≡N) واحدهای اکریلونیتریل در زنجیره‌های بسپار نسبت داده می‌شوند. همچنین، نوارهای پدیدارشده در ۱۴۶۲ و ۱۳۶۵ cm^{-1} به ارتعاش‌های خمشی و گهواره‌ای CH_2 مربوط هستند. نوارهای مربوط به ارتعاش‌های گروه آمیدی و CH_2- نیز به‌ترتیب در ۱۶۶۲ و ۲۹۲۶ cm^{-1} نمایان شده‌اند [۲۳ و ۲۴]. در طیف Ag-MOF، نوارهای پدیدارشده در ۱۴۲۸ و ۱۵۶۰ cm^{-1} به‌ترتیب به ارتعاش کششی C-C و C-O لیگاند کربوکسیلاتی نسبت داده می‌شوند. نوارهای بارز پدیدارشده در ۷۵۰ و ۳۱۲۶ cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی Ag-O و C-H هستند. نوار مربوط به ارتعاش‌های کششی گروه‌های C=O و C=N مربوط به لیگاند ایمیدازول در cm^{-1} ۱۶۷۷ مشاهده شده است (۱۳). در طیف FTIR کیتوسان، نوارهای ۳۴۳۵ و ۱۰۷۷ cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های کششی OH- و C-O-C هستند. ارتعاش‌های همین پیوندها در طیف FTIR نانوذره-های کیتوسان، به‌ترتیب در ۳۴۰۴ و ۱۰۸۲ cm^{-1} پدیدار می‌شوند. نوارهای نمایان‌شده در ۱۶۴۲ و ۱۵۴۲ cm^{-1} به‌ترتیب به ارتعاش خمشی گروه آمین ($-NH_2$) نسبت داده می‌شوند. نوار مشخصه پدیدارشده در ۱۶۳۶ cm^{-1} به برهم‌کنش الکترواستاتیکی بین گروه فسفات سدیم تری‌پلی‌فسفات و گروه آمین کیتوسان مربوط هستند (۲۵). در طیف NAC، نوار مربوط به ارتعاش کششی پیوند N-H در ۳۳۷۱ cm^{-1} و ارتعاش کششی پیوند S-H در ناحیه ۲۵۴۶ cm^{-1} پدیدار شده‌اند. نوارهای نمایان‌شده در ۱۷۱۴، ۱۵۶۰ و ۱۵۳۰ cm^{-1} به‌ترتیب به ارتعاش‌های کششی گروه کربوکسیلیک اسید C=O، آمید I و آمید II مربوط می‌شوند که در طیف مربوط به نانوچندسازه‌های نهایی نیز برخی از این نوارهای بارز نمایان شده‌اند که گواه تهیه موفقیت آمیز چندسازه‌ها هستند [۲۶]. نوارهای مشخصه چارچوب فلز–آلی نقره به‌دلیل درصد وزنی کم آن، در طیف نانوچندسازه‌ها قابل مشاهده نیستند.



شکل ۱ طیف‌های FTIR نانوچندسازه فیبری PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC و ترکیب‌های اولیه آن

بررسی الگوهای پراش پرتو ایکس (XRD)

شکل ۲ الگوهای XRD ترکیب‌های تهیه‌شده را نشان می‌دهد. الگوی پراش پرتو ایکس PAN خالص، حاکی از ساختار به‌تقریب آریخت بسپار است [۲۷ و ۲۸]. الگوی پراش پرتو ایکس ترکیب NAC همان‌گونه که انتظار می رود به روشنی بیانگر بلوری بودن NAC است [۲۹]. در الگوی پراش پرتو ایکس چندسازه نهایی، چون مقدار چارچوب فلز–آلی و NAC نسبت به بسپار پلی‌اکریلونیتریل بسیار کمتر است و الگوهای این اجزا قابل مشاهده نیست.



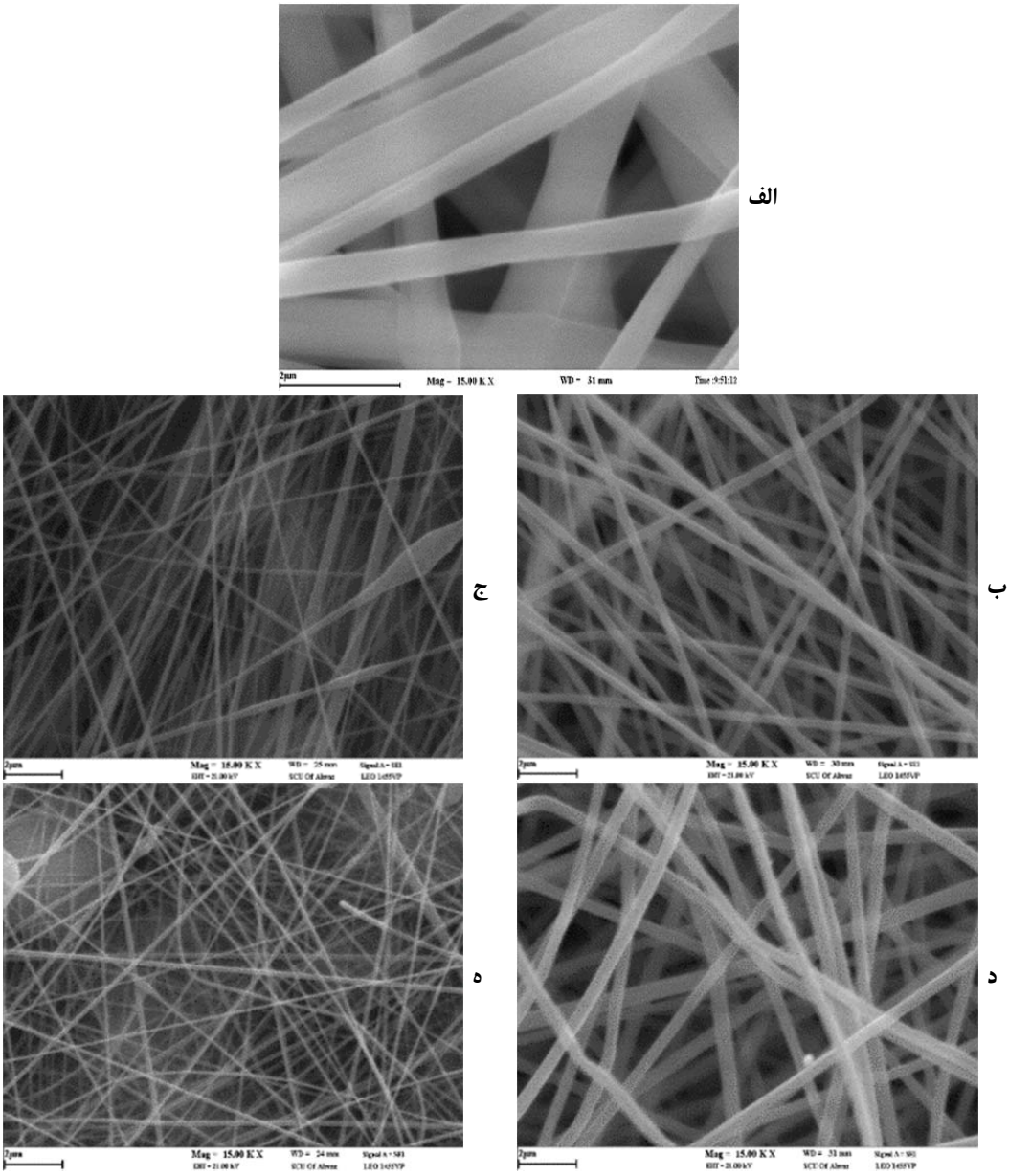
شکل ۲ الگوهای پراش پرتو ایکس نانوچندسازه فیبری PAN/0.5% Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC و ترکیب‌های اولیه آن

بررسی تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

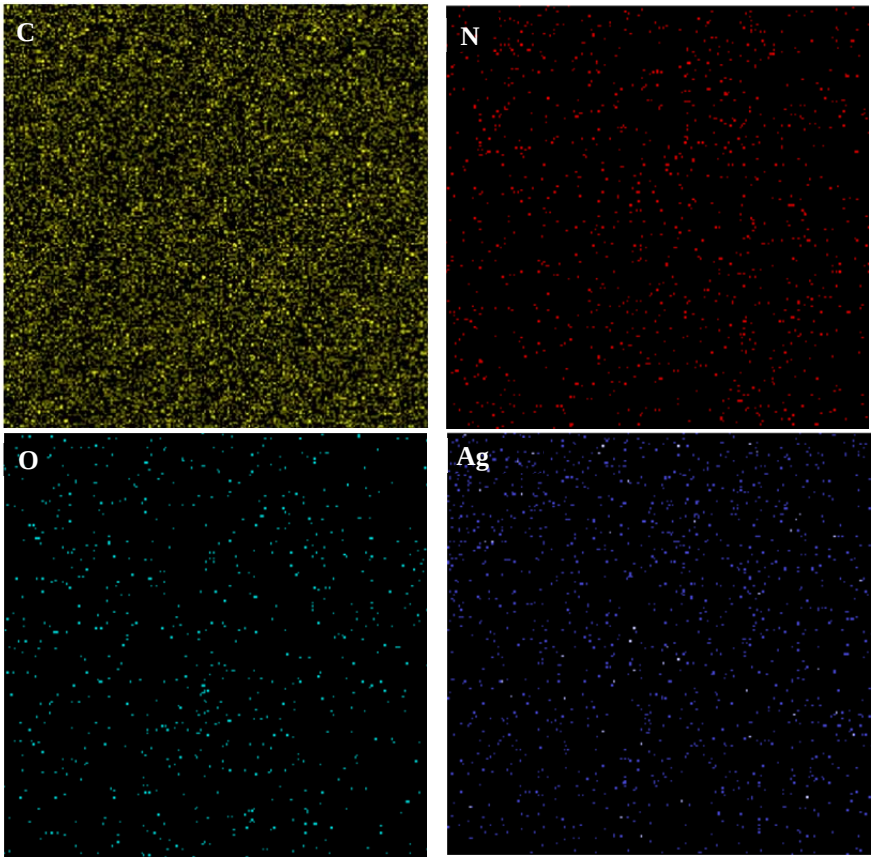
بررسی ریخت و شکل ظاهری ترکیب‌های تهیه‌شده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) صورت گرفت (شکل ۳). با توجه به تصویرهای SEM، نانوفیبر تهیه‌شده از PAN ساختار همگن، سطح صاف با میانگین قطر ۴۰۰ نانومتر داشت (شکل ۳-الف). تصویر چندسازه حاوی چارچوب فلز-آلی نقره و PAN (شکل ۳-ب) نیز ساختاری همگن و متراکم را نشان می‌داد. تصویر ترکیب حاوی PAN، چارچوب فلز-آلی نقره و نانوذره‌های کیتوسان (شکل۳-ج) بیانگر این بود که بارگذاری نانوذره‌ها موجب کاهش قطر ساختار فیبر شده بود. تصویر SEM ترکیب شامل PAN، NAC و چارچوب فلز-آلی نقره (شکل ۳ -د) نشان داد که افزودن NAC می‌تواند گران‌روی تعلیقه را افزایش داده، موجب درهم‌تنیدگی زنجیره بسپار و در نتیجه افزایش میانگین قطر فیبر شود. در تصویر SEM ترکیب شامل چهار جزء PAN، چارچوب فلز-آلی نقره، نانوذره‌های کیتوسان و NAC (شکل ۳ -ه)، به دلیل اینکه NAC و نانوذره‌های کیتوسان با درصد کمتر بارگذاری شده بودند، تفاوتی در ساختار فیبر مشاهده نشد.

بررسی نگاشت‌های عنصری نانوچندسازه فیبری PAN/0.5%Ag-MOF

نگاشت‌های عنصری نانوچندسازه فیبری PAN/0.5%Ag-MOF در شکل ۴ نشان داده شده است. هر نقطه روشن، حضور عنصر موردنظر در آن ناحیه را مشخص می‌کند. با توجه به نگاشت‌های عنصری، پراکندگی عنصر کربن نسبت به عناصر دیگر بیشتر دیده شده است. همچنین، عدم تجمع ذره‌های چارچوب فلز-آلی نقره در بستر بسپار پلی‌اکریلونیتریل و پراکندگی به‌نسبت یکنواخت عنصر نقره نیز با وجود درصد پایین قابل مشاهده است.



شکل ۳ تصویرهای SEM فیبر خالص PAN (الف)، PAN/0.5%Ag-MOF (ب)، PAN/0.5%Ag-MOF/20%CSNPs (ج)، PAN/0.5%Ag-MOF/10%NAC (د) و PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC (ه)



شکل ۴ نگاشت‌های عنصری نانوچندسازه فیبری PAN/0.5%Ag-MOF

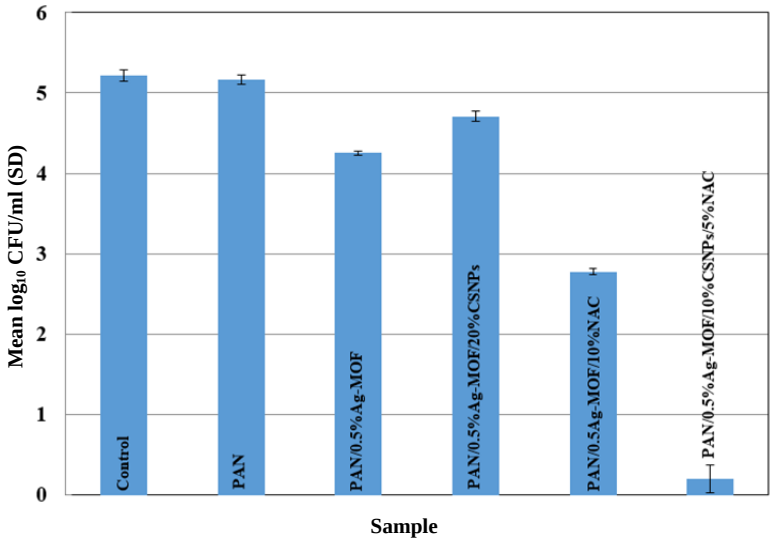
بررسی اثر پادباکتری

در این کار پژوهشی، برای بهینه‌سازی چندسازه شامل PAN و چارچوب فلز–آلی نقره، نمونه‌هایی با درصدهای وزنی متفاوت ۰/۵، ۱/۲۵، ۵ ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد از چارچوب فلز–آلی نقره تهیه شدند. نتیجه‌های به‌دست‌آمده از آزمون‌های پادباکتری نشان داد نانوفیبرهای تهیه‌شده برای باکتری‌های موردآزمون کشنده هستند و به‌علت اینکه استفاده از بالاترین غلظت‌های یون فلزی سمیت بارزی خواهند داشت، نمونه ۰/۵ درصد به‌عنوان نمونه اصلی برای ادامه کار انتخاب شد. در ادامه از ترکیب‌های پادباکتری دیگر مانند نانوذره‌های کیتوسان و N–استیل‌سیستئین استفاده شد تا چندسازه نهایی به‌دست‌آمده افزون بر اثر پادباکتری، زیست‌سازگاری مناسب‌تری نیز داشته باشد. با توجه به این توضیحات، غلظت ۲۰ درصد جرمی از نانوذره‌های کیتوسان به نمونه PAN/0.5%Ag-MOF افزوده شد، با افزودن این ترکیب تعداد سلول‌های زنده باکتری افزایش یافت. در ادامه کار ترکیب NAC با غلظت ۱۰ درصد جرمی به نمونه PAN/0.5%Ag-MOF افزوده شد که نتیجه‌های بررسی‌ها، افزایش مرگ سلول‌های باکتری را نشان داد. در نهایت برای بررسی اثر چارچوب فلز–آلی نقره بر دو ترکیب پادباکتری، با نصف‌کردن درصد نانوذره‌های کیتوسان و NAC نمونه PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC تهیه

شد که نتیجه این بررسی موجب حذف کامل سلول‌های باکتری شد.

نتیجه‌های اثر پادباکتری فیبرهای تهیه‌شده در برابر باکتری اشریشیا کلی

با توجه به نتیجه‌های اثر پادباکتری فیبرهای تهیه‌شده در برابر باکتری اشریشیا کلی، فیبر PAN خالص در برابر سلول‌های باکتری اشریشیا کلی اثر پادباکتری نداشت (شکل ۵). بیشترین اثر در کاهش تعداد سلول‌های این باکتری مربوط به نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC است. نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF اثر پادباکتری چشمگیری در برابر سلول‌های باکتری اشریشیا کلی نشان نداد. درحالی‌که تعداد سلول‌های زنده باکتری در روبه‌رو شدن با نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF/10%NAC نسبت به کنترل مقدار زیادی کاهش یافت. با توجه به این نمودار، با افزودن نانوذره‌های کیتوسان به نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF، کارایی پادباکتری کاهش یافته است. در مورد سازوکار اثر پادباکتری این فیبر، به نظر می‌رسد اثر هم‌افزایی سه جزء Ag-MOF (به واسطه آزادشدن یون‌های Ag^+ و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و آسیب به غشای سلول باکتری)، CSNPs (از راه برهم‌کنش میان گروه‌های NH_3^+ کیتوسان (بار مثبت) با غشای سلولی باکتری (بار منفی) و در پی آن اختلال در نفوذپذیری سلول) و NAC (به کمک برهم‌کنش میان گروه تیول (-SH) با پروتئین‌های دیواره سلولی) منجر به مرگ سلول باکتری *اشریشیا کلی* می‌شود [۳۰ و ۳۱].

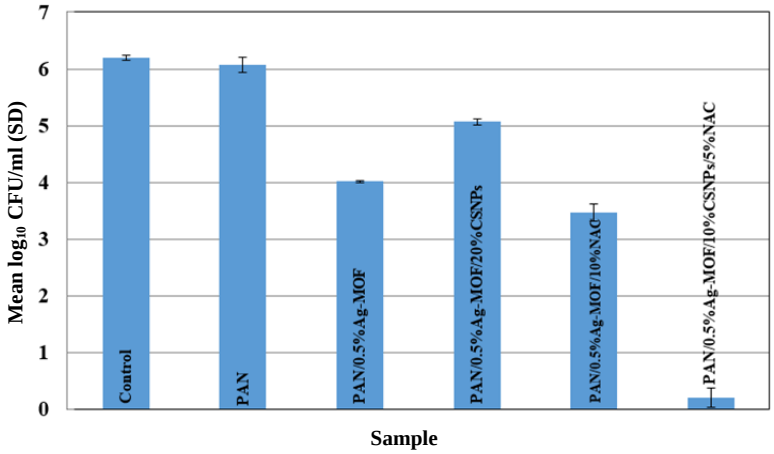


شکل ۵ بررسی اثر پادباکتری فیبر PAN خالص و نانوچندسازه‌های شامل Ag-MOF، CSNPs و NAC در برابر باکتری *اشریشیا کلی*

نتیجه‌های اثر پادباکتری فیبرهای تهیه‌شده در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

نتیجه‌های پادباکتری فیبرهای تهیه‌شده در برابر سلول‌های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در شکل ۶ نشان داده شده است. بیشترین کاهش تعداد سلول‌های این باکتری، برای نانوفیبر PAN/0.5%Ag-MOF/10%CSNPs/5%NAC مشاهده شد. همچنین، مقدار بقای سلول‌های این باکتری برای نانوچندسازه‌های فیبری PAN/0.5%Ag-MOF، PAN/0.5%Ag-

MOF/20%CSNPs و PAN/0.5%Ag-MOF/10%NAC نیز نسبت به کنترل کاهش یافت.



شکل ۶ بررسی اثر پادباکتریایی نانوفیبرهای حاوی PAN، Ag-MOF، CSNPs، NAC و فیبر PAN خالص در برابر سلول‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*

نتیجه‌گیری

در این کار پژوهشی، چارچوب فلز–آلی نقره (I) از یون‌های نقره و لیگاندهای بنزن‌تری‌کربوکسیلات و ایمیدازول تهیه شد. چندسازه‌های فیبری چارچوب فلز–آلی نقره (I) و پلی‌اکریلونیتریل (PAN) نیز برای بررسی قابلیت استفاده به‌عنوان زخم‌پوش، از راه الکتروریسی تهیه شدند. به‌منظور افزایش عملکرد نانوفیبرهای تهیه‌شده، نانوذره‌های کیتوسان و N–استیل‌سیستئین نیز به مخلوط چارچوب فلز–آلی نقره و بسپار PAN افزوده و سپس الکتروریسی شد. بهترین اثر پادباکتری نانوفیبرهای تهیه‌شده در حضور سه ترکیب با ویژگی پادباکتری (چارچوب فلز–آلی، نانوذره‌های کیتوسان و N–استیل‌سیستئین) مشاهده شد. با این حال، افزودن نانوذره‌های کیتوسان موجب کاهش کارایی پادباکتری نانوفیبر حاوی PAN و MOF شد. با افزودن N–استیل‌سیستئین، نانوفیبر چهارجزئی به‌دست‌آمده کارایی پادباکتری چشمگیری نشان داد. مقایسه نتیجه‌های به‌دست‌آمده برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از دید حساسیت به نانوفیبرهای موردآزمون، نشان داد باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، حساسیت بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* داشت.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر از دانشگاه شهید چمران اهواز بخاطر حمایت‌های معنوی و مادی (SCU.SC1401.29011) را اعلام می‌دارند.

مراجع

[1] Cancio LC, Wolf SE. A History of Burn Care. In: Jeschke MG, Kamolz LP, Sjobrg F, Wolf SE, **editors**. Handbook of Burns Volume 1. New York: Springer; 2019. p. 3-17.

[2] Liu X, Xu H, Zhang M, Yu DG. Electrospun Medicated Nanofibers for Wound Healing: Review. Membranes. 2021;11(10):770. **doi: 10.3390/membranes1110077**

[3] Wang S, Yan F, Ren P, Li Y, Wu Q, Fang X, et al. Incorporation of metal-organic frameworks into electrospun chitosan/poly (vinyl alcohol) nanofibrous membrane with enhanced antibacterial activity for wound dressing application. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;158:9-17. **doi: 10.1016/ j.ijbiomac.2020.04.116**

[4] Ahmed R, Tariq M, Ali I, Asghar R, Noorunnisa Khanam P, Augustine R, et al. Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nanofibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;120:385-93. **doi: 10.1016 /j.ijbiomac.2018.08.057**

[5] Terzopoulou A, Nicholas JD, Chen XZ, Nelson BJ, Pané S, Puigmartí-Luis J. Metal-Organic Frameworks in Motion. Chem Rev. 2020;120(20):11175-93. **doi: 10.1021/acs. chemrev.0c00535**

[6] Li R, Chen T, Pan X. Metal–Organic-Framework-Based Materials for Antimicrobial Applications. ACS Nano. 2021;15(3):3808-48. **doi: 10.1021/acsnano.0c09617**

[7] Mendiratta S, Usman M, Lu KL. Expanding the dimensions of metal–organic framework research towards dielectrics. Coordination Chemistry Reviews. 2018;360:77-91. **doi: 10.1016/j.ccr.2018.01.005**

[8] Samuel MS, Jose S, Selvarajan E, Mathimani T, Pugazhendhi A. Biosynthesized silver nanoparticles using Bacillus amyloliquefaciens; Application for cytotoxicity effect on A549 cell line and photocatalytic degradation of p-nitrophenol. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2020;202:111642. **doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111642**

[9] Shanmuganathan R, Karuppusamy I, Saravanan M, Muthukumar H, Ponnuchamy K, Ramkumar VS, et al. Synthesis of Silver Nanoparticles and their Biomedical Applications - A Comprehensive Review. Current pharmaceutical design. 2019;25(24):2650-60. **doi: 10.2174/13816 12825666190708185506**

[10] Berchel M, Gall TL, Denis C, Hir SL, Quentel F, Elléouet C, et al. A silver-based metal–organic framework material as a 'reservoir' of bactericidal metal ions. New Journal of Chemistry. 2011;35(5):1000-3. **doi: 10.1039/C1NJ20202B**

[11] Pastore VJ, Cook TR. Coordination-Driven Self-Assembly in Polymer–Inorganic Hybrid Materials. Chemistry of Materials. 2020;32(9):3680-700. **doi: 10.1021/acs. chemmater.0c00851**

[12] Han H, Yang J, Li X, Qi Y, Yang Z, Han Z, et al. Shining light on transition metal sulfides: New choices as highly efficient antibacterial agents. Nano Research. 2021;14(8):2512-34. **doi: 10.1007/s12274-021-3293-3**

[13] Zhang S, Ye J, Sun Y, Kang J, Liu J, Wang Y, et al. Electrospun fibrous mat based on silver (I) metal-organic frameworks-polylactic acid for bacterial killing and antibiotic-free wound dressing. Chemical Engineering Journal. 2020;390:124523. **doi: 10.1016/j.cej. 2020.124523**

[14] Huang C, Xu X, Fu J, Yu D-G, Liu Y. Recent Progress in Electrospun Polyacrylonitrile Nanofiber-Based Wound Dressing. Polymers (Basel). 2022;14(16):3266. **doi: 10.3390/polym14163266**

[15] Anyaegbu CE, Zhang H, Xiao J, Tao M, Ma N, Zhang W. Tertiary amine-bisquaternary ammonium functionalized polyacrylonitrile fiber for catalytic synthesis of pyran-annulated heterocycles. Reactive and Functional Polymers. 2022;172:105201. **doi: 10. 1016/j. reactfunctpolym.2022.105201**

[16] Ansari-Asl Z, Shahvali Z, Sacourbaravi R, Hoveizi E, Darabpour E. Cu(II) metal-organic framework@Polydimethylsiloxane nanocomposite sponges coated by chitosan for antibacterial and tissue engineering applications. Microporous and Mesoporous Materials. 2022;336:111866. **doi: 10.1016/j. micromeso .2022.111866**

[17] Gomez-Aparicio LS, Bernáldez-Sarabia J, Camacho-Villegas TA, Lugo-Fabres PH, Díaz-Martínez NE, Padilla-Camberos E, et al. Improvement of the wound healing properties of hydrogels with N-acetylcysteine through their modification with methacrylate-containing polymers. Biomaterials science. 2021;9(3):726-44. **doi: 10.1039/d0bm01479f**

[18] Chandrasekaran M, Kim KD, Chun SC. Antibacterial Activity of Chitosan

Nanoparticles: A Review. Processes. 2020;8(9):1173. **doi: 10.3390/pr8091173**

[19] Zhang M, Wang G, Wang D, Zheng Y, Li Y, Meng W, et al. Ag@MOF-loaded chitosan nanoparticle and polyvinyl alcohol/sodium alginate/chitosan bilayer dressing for wound healing applications. Int J Biol Macromol. 2021;175:481-94. **doi: 10.1016/j.ijbiomac. 2021.02.045**

[20] Sharma S, Khan IA, Ali I, Ali F, Kumar M, Kumar A, et al. Evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for its potential use as an oral care agent. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2009;53(1):216-22. **doi: 10.1128/aac.00045-08**

[21] Miao W, Wang J, Liu J, Zhang Y. Self-Cleaning and antibacterial zeolitic imidazolate framework coatings. Advanced Materials Interfaces. 2018;5(14):1800167. **doi: 10.1002/admi.201800167**

[22] Yuan Y, Zhang Y. Enhanced biomimic bactericidal surfaces by coating with positively-charged ZIF nano-dagger arrays. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2017;13(7):2199-207. **doi: 10.1016/j.nano. 2017.06.003**

[23] Li W, Yang Z, Zhang G, Fan Z, Meng Q, Shen C, et al. Stiff metal–organic framework–polyacrylonitrile hollow fiber composite membranes with high gas permeability. Journal of Materials Chemistry A. 2014;2(7):2110-8. **doi: 10.1039/C3TA13781C**

[24] Karbownik I, Rac-Rumijowska O, Fiedot-Toboła M, Rybicki T, Teterycz H. The preparation and characterization of polyacrylonitrile-polyaniline (PAN/PANI) fibers. Materials. 2019;12(4):664. **doi: 10.3390/ma12040664**

[25] Behl G, Iqbal J, O'Reilly NJ, McLoughlin P, Fitzhenry L. Synthesis and characterization of poly(2-hydroxyethylmethacrylate) contact lenses containing chitosan nanoparticles as an ocular delivery system for dexamethasone sodium phosphate. Pharmaceutical Research. 2016;33(7):1638-48. **doi: 10.1007/s11095-016-1903-7**

[26] Ercan UK, Smith J, Ji H-F, Brooks AD, Joshi SG. Chemical changes in nonthermal plasma-treated N-acetylcysteine (NAC) solution and their contribution to bacterial inactivation. Scientific Reports. 2016;6(1):20365. **doi: 10.1038/srep20365**

[27] Dang W, Liu J, Huang X, Liang J, Wang C, Miao P, et al. Effects of γ-Ray irradiation on the radial structure heterogeneity in polyacrylonitrile fibers during thermal stabilization. Polymers (Basel). 2018;10(9):943. **doi: 10.3390/polym10090943**

[28] Kuang Y, He H, Chen S, Wu J, Liu F. Adsorption behavior of CO_2 on amine-functionalized polyacrylonitrile fiber. Adsorption. 2019;25(4):693-701. **doi: 10.1007/s10450-019-00070-0**

[29] Su Y, Hessou EP, Colombo E, Belletti G, Moussadik A, Lucas IT, et al. Crystalline structures of l-cysteine and l-cystine: A combined theoretical and experimental characterization. Amino Acids. 2022;54(8):1123-33. **doi: 10.1007/s00726-022-03144-6**

[30] Manoharan A, Das T, Whiteley GS, Glasbey T, Kriel FH, Manos J. The effect of N-acetylcysteine in a combined antibiofilm treatment against antibiotic-resistant Staphylococcus aureus. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2020;75(7):1787-98. **doi: 10.1093/jac/dkaa093**

[31] Guarnieri A, Triunfo M, Scieuzo C, Ianniciello D, Tafi E, Hahn T, et al. Antimicrobial properties of chitosan from different developmental stages of the bioconverter insect Hermetia illucens. Scientific Reports. 2022;12(1):8084. **doi: 10.1038/s41598-022-12150-3**

Preparation, characterization, and investigation of antibacterial activity of polyacrylonitrile/silver metal-organic framework/chitosan nanoparticles/N-acetylcystine multi-component fibrous composites

Z. Ansari-Asl[1,*], H. Rashidi-Kia[2], E. Darabpour[3]

1. Associate Prof. of Department of Chemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. MSc Student of Department of Chemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Assistant Prof. of Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Abstract: In this research, fibrous composites with antibacterial activities including polyacrylonitrile (PAN), chitosan nanoparticles (CSNPs), silver metal-organic framework, and N-acetylcysteine (NAC) were prepared by electrospinning method. The prepared fibers were studied using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and elemental mapping using energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The obtained results of the antibacterial studies against *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) showed that the addition of silver metal-organic framework as well as the antibacterial compounds such as CSNPs and NAC led to the improvement of the antibacterial properties of the fibers. Therefore, these compounds have the potential to be used in medical fields such as wound healing.

Keywords: Metal-organic framework, Chitosan, N-acetylcysteine, Polyacrylonitrile, Composite, Antibacterial activity

*** Corresponding author Email:**
z.ansari@scu.ac.ir