



دانشگاه گوارزی و منابع طبیعی گران

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل

جلد بیست و سوم، شماره دوم، ۱۳۹۵

<http://jwfst.gau.ac.ir>

اثر آسیاب کردن نانورس بر جذب نانو نقره و بررسی اثر ضدباکتری آن در کاغذ

* پروانه نارچین^۱، الیاس افرا^۲، احمدرضا سرائیان^۳، حسین رسالتی^۴ و پونه ابراهیمی^۵

^۱ دانشجوی دکتری صنایع خمیر و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲ استادیار صنایع خمیر و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۳ دانشیار صنایع خمیر و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۴ استادیار صنایع خمیر و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ^۵ استادیار شیمی، دانشگاه گلستان

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۱/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: توسعه جهانی و استانداردهای زندگی بالاتر موجب توجه بیشتر مردم به بهداشت محیط زندگی و کار شده است. کاغذهایی نظیر کاغذهای اسکناس و چاپ و تحریر جزء کاغذهایی هستند که روزانه به میزان زیادی در بین مردم دست به دست می‌شوند و از جمله عوامل مهم در انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشند. نانوذرات نقره از جمله عوامل ضد میکروب می‌باشند که در حضور اکسیژن و نور اکسید شده و ساختار ناپایداری دارند، همچنین تمایل شدیدی به توده شدن دارند. مشخصات ساختاری نانورس‌ها آن‌ها را گزینه‌ای مناسب برای رفع نواقص نانوذرات نقره می‌سازد. با توجه به جذب الکترواستاتیکی نانوذرات نقره روی سطح نانورس انتظار می‌رود که با افزایش بار سطحی نانورس در نتیجه عمل آسیاب، میزان جذب نقره افزایش یابد.

مواد و روش‌ها: پس از آسیاب نانورس از روش احیاء با سدیم بورهیدرید برای نشست نانوذرات نقره روی سطح نانورس (و نانورس آسیاب‌شده) استفاده گردید. از تصاویر SEM برای بررسی اثر آسیاب روی ابعاد نانورس و از آزمون جذب اتمی و طیف‌سنجی پلاسمای جفت شده القایی برای اندازه‌گیری مقدار نقره جذب‌شده توسط نانورس‌ها در تولید نانوهیبرید نقره-رس و نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده استفاده گردید. نمونه‌های کاغذ با هریک از دو هیبرید در ۳ سطح ۱۰ درصد، ۱۵ درصد و

* مسئول مکاتبه: parynaan1369@yahoo.com

۲۰ درصد تیمار گردید. آزمون ضدباکتری به روش کدورت‌سنجی صورت پذیرفت. پراکنش و میزان حضور نانوهیبریدها در کاغذهای موردنظر توسط تصاویر FESEM- MAP و آزمون آنالیز عنصری بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که میزان نانوذرات جذب‌شده روی سطح نانورس آسیاب‌شده دوبرابر نانورس بوده است اما در هنگام ساخت کاغذ به‌خاطر جذب سطحی بیشتر نانوذرات نقره روی سطح رس آسیاب‌شده نسبت به نانورس که بیشتر جذب منفذی داشته است تقریباً نیمی از نانوذرات نقره آبتشویی شدند. نتایج آزمون ضدباکتری به‌دست آمده نشان داد که خواص ضدباکتری در کاغذهای تیمارشده با هردو نانوهیبرید بالا بوده و میزان رشد هردو نوع باکتری به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: باتوجه به نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های FESEM، آنالیز عنصری و ضدباکتری می‌توان اذعان داشت که نانوهیبرید نقره- رس می‌تواند به‌عنوان یک ماده ضدباکتری مناسب در ساختار کاغذ استفاده گردد. همچنین به‌علت سطحی بودن جذب نانوذرات نقره روی سطح رس آسیاب‌شده در مقایسه با نانورس پایه بهتر است که از نانوهیبرید نقره- رس آسیاب‌شده به‌عنوان یک عامل پوشش‌دهی در سطح کاغذ استفاده گردد، به‌طوری که با مصرف نانونقره کمتر اثر ضدباکتری بالاتری در کاغذ ایجاد نمود که از نظر اقتصادی به‌صرفه می‌باشد و مشکلات زیست‌محیطی کمتری را در پی خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: نانوهیبرید نقره- رس، آسیاب کردن، کاغذ ضدباکتری

مقدمه

توسعه جهانی و استانداردهای بالاتر زندگی، مردم را راغب به توجه بیشتر به بهداشت محیط زندگی و کار ساخته است. دراین راستا، در نتیجه تحقیقات و توسعه کاربردی، فناوری تولید و استفاده از مواد ضد میکروبی به‌طور قابل ملاحظه‌ای پیشرفت کرده است (۹). ازجمله این محصولات کاربردی، کاغذهایی با خواص ضد میکروبی می‌باشند (۱۷، ۱۹، ۷). کاغذهای ضدباکتری تأثیر به‌سزایی بر شرایط بهداشتی و محیطی زندگی انسان‌ها دارند و ازجمله این

کاغذها می‌توان به کاغذهای بهداشتی، کاغذهای بیمارستانی، پوشش‌های غذایی، کاغذهای اسکناس و همچنین کاغذهای چاپ و تحریر اشاره نمود (۱۲). کاغذهایی نظیر کاغذهای اسکناس و چاپ و تحریر جزء کاغذهایی هستند که روزانه به میزان زیادی در بین افراد مختلف دست‌به‌دست می‌شوند و از جمله عوامل مهم در انتقال میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشند. ترکیب ساختارهای کاغذ عمدتاً متشکل از الیاف سلولزی می‌باشد که این الیاف کاغذ به‌خودی خود دارای خواص ضد میکروبی نبوده و در نتیجه برای ایجاد این خواص در کاغذها باید موادی را که در بردارنده این ویژگی می‌باشند به آن افزود. سلولز که جزء اصلی ترکیبات سازنده کاغذ می‌باشد، یک پلی ساکارید خطی است که از واحدهای $D-\beta$ -گلوکز با اتصال ۴-۱ تشکیل شده است که توسط انواع گیاهان و جلبک‌ها و همچنین برخی از باکتری‌ها فرآوری می‌شود (۱۸). سلولز قادر به اتصال الکتروپوزی티브 به اتم‌های فلزی انتقالی مانند نقره بر اثر فعل و انفعالات الکترواستاتیک می‌باشد (۲). همچنین ساختار نانومتخلخل و تراکم بالای اکسیژن در الیاف سلولزی آن‌ها را به واکنش‌گرهای مؤثری برای ترکیب درون ساختاری با نانوذرات فلزی تبدیل می‌سازد (۵).

اخیراً بررسی‌های مختلف، نانوذرات نقره (AgNP)^۱ را به‌عنوان یک ماده ضد میکروب جدید برای کاربردهای پزشکی معرفی کرده‌اند. نانوذرات نقره دارای خصوصیتی همچون تأثیر بسیار زیاد و سریع، قابلیت تحمل شرایط مختلف، سازگاری با محیط زیست، عدم ایجاد و افزایش مقاومت و سازگاری در میکروارگانیسم‌ها و خاصیت میکروب‌کشی برای مدت زمان طولانی می‌باشد که در غلظت‌های پایین برای انسان‌ها غیرسمی هستند (۱۰، ۱۵). در مقابل ایجاد خواص ضد میکروبی در نتیجه حضور نانوذرات نقره در ساختارهای مختلف این ذرات در حضور اکسیژن و نور اکسید می‌شوند و به‌خودی خود ساختار ناپایداری دارند. علاوه بر این ویژگی‌ها، تمایل شدیدی به توده شدن دارند که در این شرایط اثربخشی ضد میکروبی آن‌ها نیز کاهش می‌یابد (۴). با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات مختلف و مشخصات ساختاری نانورس‌ها می‌توان به‌کارگیری آن‌ها را به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای برطرف نمودن معایب حاصل از نانوذرات نقره معرفی نمود. رس‌ها موادی طبیعی می‌باشند که از ذرات ریزدانه (زیر ۲ میکرون) متشکل از ورق‌های سیلیکات با بار منفی که معمولاً به‌عنوان لایه‌های نازک سیلیکات اشاره می‌شوند، ساخته شده‌اند. به‌منظور تعادل باری، سطح رس با بار منفی به‌طور

1- Ag nanoparticles

آزادانه کاتیون‌های بارمثبت موجود در لایه‌های مختلف را مبادله می‌کند و یا از محیط تولید می‌کند که موجب ایجاد رفتار تبادل یونی در این مواد می‌گردد (۱۳). بارسطحی منفی رس‌ها به آن‌ها اجازه جذب آب، باکتری‌ها، سموم، و داروها را می‌دهد. علاوه بر این نانورس‌ها موادی با واکنش‌پذیری سطحی بالا هستند که این ویژگی‌ها، می‌توانند همراه با فراوانی گسترده آن‌ها، رس‌ها را موادی جذاب در زمینه توسعه داروهای ضدباکتری سازند (۱). مونت‌موریلونیت (MMT)^۱ از جمله نانورس‌هایی می‌باشد که به‌عنوان یک نانو واکنشگر دو بعدی به‌طور گسترده در حال استفاده می‌باشد که به‌خاطر اثرات محبوس‌کننده درون لایه‌ای که دارد قادر به ایجاد استحکامی خوب برای نانوذرات نقره می‌باشد (۶، ۱۶). واحدهای سلولی MMT به‌صورت لایه‌هایی با ضخامت ۱-۲ nm و قطر ۱۰۰-۲۰۰ nm ترسیم می‌شوند. باوجود نامحلول بودن MMT در آب، لایه‌های انباشته‌شده آن در نتیجه جذب آب کاتیون‌های بین لایه‌ای به‌طور قابل توجه‌ای واکنشیده می‌شوند. علاوه بر این، بارهای موجود روی ذرات MMT می‌توانند اتصالات مشترکی را با یون‌های فلزی داشته باشند. با توجه به منفی بودن بارسطحی رس و مثبت بودن بار نانوذرات نقره این ذرات می‌توانند به‌جای کاتیون‌های موجود در ساختار رس قرار گیرند و نانو هیبرید نقره- رس را ایجاد نمایند. در نتیجه، این ویژگی‌ها MMT را به یک کلوئید محافظتی مؤثر برای نانوذرات نقره می‌سازند. پیش‌بینی می‌شود در ساختار نانو هیبرید نقره- رس (رس آراسته شده به نقره) پایداری فیزیکی نانورس نانوذرات نقره را حمایت می‌کند و منجر به افزایش پایداری آن‌ها می‌گردد (۳). مکانیسم این ساختار نانو هیبریدی به‌گونه‌ای است که رس سطحی را برای تجمع و رسوب نانوذرات نقره فراهم می‌کند که بتواند ماندگاری نانوذرات نقره را افزایش دهد، زیرا نانوذرات نقره در حالت تنها ناپایدار هستند و در این حالت زمان اثربخشی آن‌ها به‌عنوان یک عامل ضد میکروب کاهش می‌یابد. با توجه به این‌که جذب نانوذرات نقره عموماً بخاطر بارمنفی سطحی نانورس و ایجاد یک ویژگی تبادل یونی بین این دو ماده می‌باشد، انتظار می‌رود که با افزایش بارسطحی نانورس باید جذب بیشتری از نانوذرات نقره روی سطح نانورس را داشته باشیم. از این‌رو، چنانچه فرآیندی نظیر آسیاب کردن روی نانورس‌ها اعمال شود ساختار لایه‌ای آن تا حدودی باز شده و سطح بیشتری برای جذب نانوذرات نقره فراهم می‌شود. نانورس‌ها تنها در یک بعد (بعد ضخامتی) دارای ابعاد نانومتری می‌باشند که این پدیده می‌تواند منجر به این شود که در فرآیند ساخت کاغذ قرار

1- Montmorillonite

گرفتن نانورس‌ها در بین الیاف بواسطه افزایش فاصله بین الیاف و کاهش پیوندهای دوران فیبری باعث کاهش مقاومت در کاغذ نهایی گردد. از این‌رو انتظار می‌رود که در مقایسه با اصلاح سطحی نانورس برای افزایش بار سطحی و در نتیجه افزایش جذب نانوذرات نانوقره بتوان با کاهش ابعاد نانورس و افزایش بار سطحی آن بواسطه افزایش سطح ویژه هیبریدی مناسب به‌عنوان یک عامل ضد میکروب فراهم نمود. این پژوهش با هدف تولید نانوهیبرید نقره-رس با حداکثر میزان جذب نانوذرات نقره روی سطح نانورس انجام گردید که بدین منظور نانوهیبرید نقره-رس از دو نوع رس آسیاب نشده و رس آسیاب شده تهیه و مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

مواد: برای ساخت کاغذهای دست ساز از خمیر الیاف بلند بهداشتی مورد استفاده در کارخانه لطیف واقع در هشتگرد کرج استفاده گردید. نانورس مونت‌موریلونیت K10 با فرمول مولکولی $Al_2O_3 \cdot 4SiO_2 \cdot H_2O$ ، سطح ویژه ۲۷۰-۲۲۰ مترمربع بر گرم، pH ۳/۵-۲/۵ و ظرفیت تبادل کاتیونی ۹۲ میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم از شرکت سیگما آلدریج (آمریکا) تهیه گردید. از نیترات نقره با فرمول $AgNO_3$ ، دانسیته ۴/۳۵ گرم بر مترمکعب، pH ۶/۴-۵/۴ و قابلیت انحلال ۲۱۶۰ گرم بر لیتر تولیدی شرکت مرک آلمان استفاده گردید. عامل احیاء کننده مورد استفاده در این آزمایش بورهیدرید سدیم به فرمول $NaBH_4$ با دانسیته ۱/۰۷ گرم بر مترمکعب، pH ۱۱ و قابلیت انحلال ۵۵۰ گرم بر لیتر تولیدی شرکت مرک آلمان بود. از محیط کشت مایع (BHIB)^۱ برای آزمون ضدباکتری استفاده گردید. باکتری‌های مورد آزمون شامل باکتری اشرشیاکولای^۲ و باکتری باسیلوس سوبتیلیس^۳ به‌عنوان باکتری‌های گرم منفی و از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس^۴ به‌عنوان باکتری گرم مثبت استفاده گردید که سوش این باکتری‌ها از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گرگان تهیه گردیدند.

آسیاب کردن مونت‌موریلونیت: عمل آسیاب کردن نانورس مونت‌موریلونیت باهدف تخریب لایه‌های سیلیکاتی و افزایش سطح مؤثر در حجم و در نتیجه افزایش بار سطحی نانورس و جذب بیشتر نانوذرات نقره در طی فرآوری نانوهیبرید صورت پذیرفت. برای این منظور مونت‌موریلونیت با استفاده

1- Brain Heart Infusion Broth

2- Escherichia coli

3- Bacillus subtilis

4- Staphylococcus aureus

از دستگاه آسیاب گلوله‌ای^۱ مدل *Narya MPM 2250/Aminco* ساخت شرکت رنجبر امین ساخت ایران مورد آسیاب قرار گرفت. عمل آسیاب کردن تحت شرایط متناوب ۱۰ دقیقه آسیاب، ۱۰ دقیقه استراحت و با سرعت ۳۵۰ دور در دقیقه و برای مدت ۲۰ ساعت صورت پذیرفت.

بررسی اثر آسیاب کردن بر اندازه ذرات مونت‌موریلونیت: به منظور بررسی اثر عمل آسیاب کردن بر اندازه ذرات نانورس از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۲ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده گردید.

فرآوری نانو هیبرید نقره- رس (آسیاب شده): نانو هیبرید نقره- رس با استفاده از دو نوع نانورس آسیاب نشده و نانورس آسیاب شده فرآوری گردید. به منظور تولید هر دو نوع نانو هیبرید نقره- رس ابتدا ۱ گرم نانورس به ۱۰۰ cc محلول نیترات نقره ۰/۰۲ مولار افزوده شد. ترکیب فوق برای مدت ۸ ساعت تحت شرایط دمایی ۶۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از یک دستگاه همزن مغناطیسی به شدت هم‌زده شد. سپس مخلوط حاصل برای ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه تحت شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و مخلوط حاصل در این حالت تا دو بار شستشو گردید. در این حالت یون‌های نقره در منافذ نانورس و روی سطح آن مستقر شدند. به منظور احیاء یون‌های نقره ۲۰ cc محلول بورهیدرید سدیم ۰/۰۴ مولار به صورت قطره‌های بسیار ریز به محلول نقره و رس در حال هم‌زده شدن اضافه گردید. ظرف حاوی ترکیب حاصل با فویل پیچیده شده و برای مدت ۲۴ ساعت در یک محیط تاریک قرار گرفت. پس از این مدت ترکیب حاصل برای مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس یک مرحله شستشو ترکیب مذکور انجام گردید.

بررسی مشخصات نانو هیبریدهای نقره- رس: به منظور ارزیابی میزان نقره جذب شده روی نانورس‌ها و بررسی تأثیر عمل آسیاب کردن روی جذب میزان نانوذرات نقره از دو آزمون طیف‌سنجی پلاسما جفت شده القایی (ICP)^۳ با استفاده از دستگاه مدل *Varian 720-ES* و آزمون طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS)^۴ با استفاده از دستگاه مدل *GBC932+* استفاده گردید.

1- Ball mill

2- Scanning Electron Microscope

3- Inductively coupled plasma- atomic emission spectrometry

4- Atomic Absorption Spectrometer

ساخت کاغذهای دست‌ساز: پس از فرآوری نانوهیبرید نقره- رس (نانورس / نانورس آسیاب‌شده) کاغذهای دست‌ساز با گراماژ ۶۰ گرم بر مترمربع با استفاده از دستگاه شکل‌دهنده کاغذ مدل 200-1 ساخت شرکت PTI اتریش و براساس استاندارد T ۲۰۵ sp -۰۲ آئین‌نامه‌تاپی ساخته شدند. درجه روانی خمیر کاغذ توسط استاندارد ۸۵- T ۲۲۷ mo اندازه‌گیری شد که براساس این روش درجه روانی اولیه خمیر CSF ۶۰۰ بوده است. به‌منظور رساندن درجه روانی خمیر کاغذ به CSF 20 ± 360 ، خمیر کاغذ براساس آیین‌نامه شماره ۸۵- T ۲۴۸ om استاندارد تاپی پالایش گردید. پس از آماده‌سازی خمیر کاغذهای مربوطه ابتدا به‌منظور تعیین میزان جذب و ماندگاری پرکننده‌ها، کاغذهایی با سطوح مصرفی ۰، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی نسبت به وزن خشک خمیر پلی آمونیوم کلراید (PAC) به‌عنوان کمک نگهدارنده، با سطح مصرف ثابت ۱۰ درصد نانوهیبرید نقره- رس تهیه شدند. سپس درصد خاکستر کاغذهای حاصل طبق استاندارد T ۴۱۳ om-۹۳ آیین‌نامه تاپی اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج حاصل از این بخش سطح مصرف ۰/۵ درصد وزنی نسبت به وزن خشک خمیر از PAC به‌عنوان کمک‌نگهدارنده در تمام کاغذها استفاده گردید. سپس کاغذهای موردنظر از دو نوع نانوهیبرید نقره- رس و نانوهیبرید نقره- رس آسیاب‌شده در ۳ سطح مصرف ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد وزنی نسبت به وزن خشک به خمیر اضافه گردید و از هریک کاغذ دست‌ساز ساخته شد. به‌منظور تهیه کاغذهای موردنظر پس از آماده‌سازی خمیر، محلول PAC به خمیر در حال هم‌خوردن اضافه گردید و به‌مدت ۱۵ دقیقه با خمیر هم‌زده شد. سپس محلول نانوهیبرید نقره- رس (نانورس / نانورس آسیاب‌شده) به مخلوط مذکور اضافه گردید و فرآیند اختلاط به‌مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت. نانوهیبریدها قبل از اضافه شدن به خمیر ابتدا تحت یک تیمار فراصوتی با دستگاه مدل Topsonics / مافوق صوت ساخت شرکت تحقیقاتی آرا- ایران قرار گرفتند. هدف از این تیمار فراصوتی یکنواخت‌سازی محلول نانوهیبریدها بود. پس از آماده‌سازی سوسپانسیون‌های موردنظر کاغذهایی با گراماژ ۶۰ گرم بر مترمربع ساخته شدند و طبق استاندارد شماره ۲۶:۷۹ T ۲۰۵ sp آیین‌نامه تاپی تحت پرس قرار گرفتند. در نهایت کاغذهای تهیه شده برای مدت زمان ۳ روز در دمای محیط در آزمایشگاه قرار گرفتند تا خشک شوند.

آنالیز و بررسی کاغذهای تولید شده: به‌منظور بررسی ساختار کاغذهای تیمار شده با دو نوع نانوهیبرید نقره- رس و نانوهیبرید نقره- رس آسیاب‌شده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی^۱، آنالیز

عنصری و نقشه پراکنش عناصر (MAP) استفاده گردید. برای این منظور نمونه‌های کاغذ تیماری حاوی ۲۰ درصد نانوهیبرید بعد از پوشش‌دهی یونی با طلا با استفاده از دستگاه FESEM مدل MIRA3 TESCAN-XMU (پژوهشگاه متالوژی رازی) مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون ضدباکتریایی: آزمون ضدباکتری کاغذهای فرآوری شده روی هردونوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت صورت پذیرفت. آزمون ضدباکتری روی همه کاغذها با هردونوع باکتری در ۳ تکرار انجام گرفت. در این آزمون به میزان ۰/۰۵ گرم وزن خشک از هرکاغذ (متشکل از کاغذهای تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس (نانورس/ نانورس آسیاب‌شده) و کاغذ شاهد) در فویل پیچیده شدند و برای استریل شدن در آون تحت دمای ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتند.

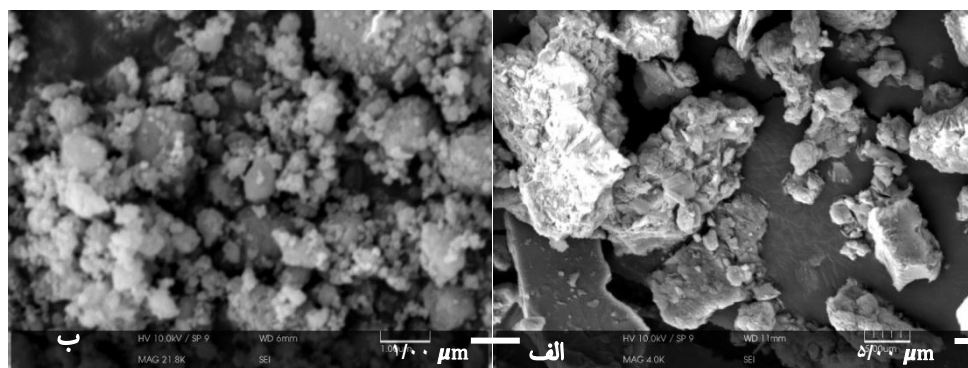
آماده‌سازی باکتری‌ها: از محیط کشت مالت اکستراکت آگار به‌منظور رشد سوش باکتری‌ها استفاده گردید. برای این منظور ۳۷ گرم مالت اکستراکت آگار در ۱۰۰۰ ml آب مقطر برای ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار گرفتند تا به خوبی ترکیب شوند، سپس میزان موردنظر (۶۰ CC) به پتری‌دیش‌ها منتقل شدند. پتری‌دیش‌ها برای ۲۴ ساعت تحت شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. پس از گذشت زمان موردنظر، محیط کشت‌ها آماده رشد باکتری‌ها بودند. به‌منظور فعال‌سازی سوش باکتری‌های موردنظر به‌صورت جداگانه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی محیط کشت جامد کشت داده‌شدند تا باکتری‌ها به‌طور کامل رشد یابند. مقداری از باکتری‌های رشدیافته با استفاده از لوپ برداشته و در داخل محیط کشت مایع کشت داده شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور قرار داده شدند. محیط کشت مایع مورد استفاده در این آزمون محیط کشت BHIB بود. به‌منظور آماده‌سازی محیط کشت مایع، ۳۷ گرم از BHIB به ۱۰۰۰ ml آب مقطر افزوده گشت. پس از یکنواخت شدن محلول روی حرارت و شفاف شدن محیط کشت مایع، ۵ ml از محیط کشت به هریک از لوله‌های آزمایش منتقل شد. سپس لوله‌های حاوی محیط کشت با استفاده از دستگاه اتوکلاو تحت شرایط دمایی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار بخار ۱۵ پوند برای مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند.

آزمون ضدباکتری کاغذها: پس از گذشت دوره نهفتگی باکتری‌ها غلظت باکتری‌ها به نیم مک‌فارلند (تعداد تقریبی باکتری‌ها حدود $10^8 \times 1/5$ باکتری) رسانده شد. پس از انتقال کاغذهای مختلف به داخل لوله‌های حاوی محیط کشت استریل میزان ۵۰ μL از سوسپانسیون باکتری تهیه‌شده با استفاده از

یک نمونه‌گیر^۱ به هر لوله اضافه گشت. نمونه‌ها برای ۲۴ ساعت تحت دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. پس از گذشت دوره نهفتگی موردنظر میزان کدورت ایجاد شده در هر لوله که نشان دهنده میزان رشد باکتری‌ها بوده است با استفاده از دستگاه کدورت‌سنج^۲ اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

بررسی ساختاری نانورس و نانورس آسیاب‌شده: اثر عمل آسیاب کردن بر اندازه ذرات نانورس توسط تصاویر SEM بررسی گردید. شکل ۱ تصاویر SEM مربوط به نانورس (الف) و نانورس آسیاب‌شده (ب) را نشان می‌دهد.



شکل ۱- تصاویر SEM از نانورس (الف) در مقیاس ۴۰۰۰ برابر و نانورس آسیاب‌شده (ب) در مقیاس ۲۱۰۰۰ برابر.

Figure 1. SEM images of a) clay (x4.00K) and b) milled clay (x21.00K).

تصاویر فوق نشان دادند که عمل آسیاب کردن به‌طور قابل توجهی توانسته روی اندازه ذرات نانورس اثر گذار باشد. این تصاویر نشان دادند که طی عمل آسیاب لایه‌های نانورس از هم جدا شده و اندازه ذرات به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است. در شکل ۱ (الف) مشاهده می‌شود که ابعاد اولیه نانورس‌ها در محدود ۵ تا ۲۰ میکرون قرار داشته‌اند. در حالی که در شکل ۱ (ب) مشاهده می‌شود با اعمال عمل آسیاب کردن اندازه ذرات به‌شدت کاهش یافته و اکثر ذرات در محدوده زیر ۱۰۰ نانومتر قرار گرفته‌اند. این کاهش ابعاد در نانورس‌ها موجب افزایش سطح ویژه آن‌ها می‌شود که به‌طبع افزایش بارمنفی در دسترس آن‌ها برای شرکت در واکنش‌های تبادل یونی را در پی خواهد داشت.

1- Sampler

2- Biophotometer

ترکیب و خصوصیات نانو هیبرید نقره- رس (نانورس / نانورس آسیاب شده): جانشینی یونی یا فضا‌های خالی در ورق‌های تتراهیدرال ویا اوکتاهیدرال میزان بار منفی سطحی در ساختار نانورس را افزایش می دهند. تبادل کاتیونی در میان لایه‌ها موجب تعادل بار منفی در ساختار نانورس‌ها می‌گردد، این کاتیون‌ها ممکن است به آسانی با دیگر کاتیون‌های فلزی جانشین شوند که این پدیده بیانگر ظرفیت تبادل یونی بالای این مواد معدنی می‌باشد (۱۱). ویژگی‌هایی چون اندازه ذرات کلئیدی، ساختار کریستالی، سطح ویژه بالا، ظرفیت باری و واکنش‌دگی، رفتار رئولوژیکی بهینه و ظرفیت رونشینی مواد آلی و معدنی فوق‌العاده‌ای را به نانورس‌ها می‌دهد. به ویژه به‌طور الکتریکی سطح باردار شده نانورس بر هم‌کنش با یون‌ها، مولکول‌ها، پلیمرها، میکروارگانیزم‌ها و ذرات دیگر محیطی را کنترل می‌کند (۱۴). نتایج آزمون ICP در جدول ۱ و ۲ و نتایج آزمون AAS در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱- نتایج آزمون ICP جهت محاسبه میزان نقره موجود در نانو هیبرید نقره- رس.

Table 1. Results of ICP test for measuring the amount of silver in silver- clay nanohybrid.

غلظت: ۱۰	حجم: ۲۵	وزن: ۰/۲۵۰۸		
درصد نانونقره	غلظت محاسبه شده	واحد	طول موج	عنصر
5.30	13250 ppm	ppm	328.068	Ag

جدول ۲- نتایج آزمون ICP جهت محاسبه میزان نقره موجود در نانو هیبرید نقره- رس آسیاب شده.

Table 2. Results of ICP test for measuring the amount of silver in silver- milled clay nanohybrid.

غلظت: ۲۵	حجم: ۲۰	وزن: ۰/۲۵۰۷		
درصد نانونقره	غلظت محاسبه شده	واحد	طول موج	عنصر
10.85	ppm 54250	ppm	328.068	Ag

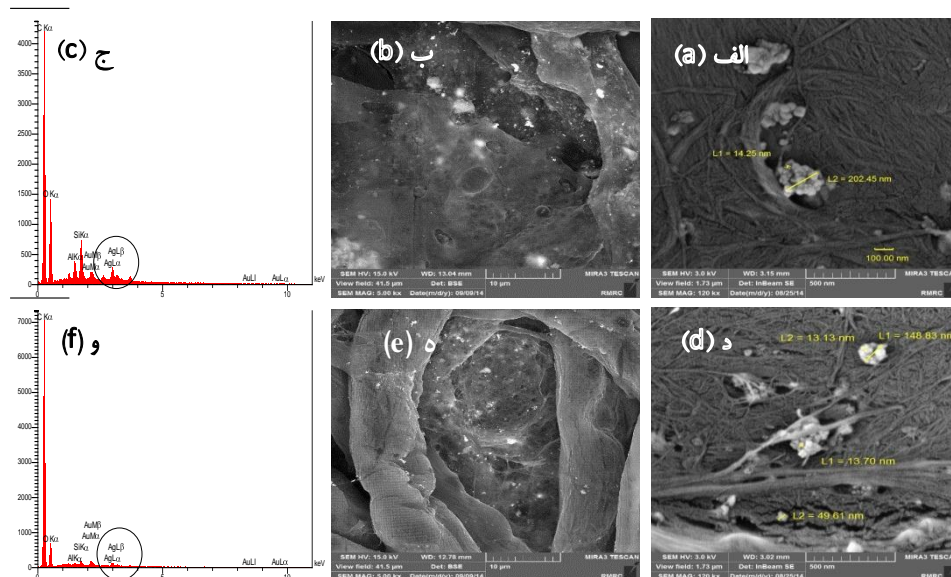
جدول ۳- نتایج جذب اتمی (AAS).

Table 3. Results of Atomic Absorption Spectrometer (AAS).

واحد	نقره	نمونه
درصد نسبت به وزن رس	5.25	نانو هیبرید نقره- رس
درصد نسبت به وزن رس آسیاب شده	10.08	نانو هیبرید نقره- رس آسیاب شده

نتایج مربوط به آزمون‌های ICP و AAS برای دو نانو هیبرید فرآوری شده نشان دادند که میزان نقره جذب شده روی سطح نانورس آسیاب شده تقریباً دو برابر نانورس آسیاب نشده بوده است. این نتایج نشان دادند که عمل آسیاب کردن در نانورس‌ها توانسته موجب جذب بیشتر و تقریباً دو برابری

نانوذرات نقره شود به طوری که نتایج آزمون جذب اتمی نشان دادند که میزان نانوذرات نقره جذب شده روی سطح نانورس ۵/۲۵ درصد وزنی نانوهیبرید نقره- رس بوده است این درحالی است که آزمون جذب اتمی مربوط به نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده نشان دادند که میزان نانوذرات نقره نشست داده شده روی سطح نانورس آسیاب شده ۱۰/۸ درصد وزنی نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده بوده است. نتایج مربوط به آزمون ICP نیز این نتایج را تأیید کردند. اختلاف اندک قابل مشاهده مربوط به درصد نانونقره در دو آزمون ICP و AAS می تواند مربوط به خطای آزمون باشد. همان طور که تصاویر SEM تهیه شده از نانورس ها نشان دادند علت افزایش جذب نانوذرات نقره روی سطح نانورس آسیاب شده را می توان به افزایش سطح ویژه نانوذرات رس و در نتیجه افزایش بارسطحی (بار منفی) موجود در سطح آن ها برای تماس با نانوذرات نقره و ایجاد اتصال الکترواستاتیکی با این نانوذرات دانست. با اعمال آسیاب گلوله ای همراه با کاهش ابعاد نانورس، لایه های نانورس از هم باز شدند و میزان بارسطحی در دسترس نانورس افزایش یافت که در نتیجه برای رسیدن به تعادل باری قادر به ایجاد اتصالات بیشتر و در نتیجه جذب بیشتر نانوذرات نقره شده است.



شکل ۲- تصویر FESEM و آنالیز عنصری به ترتیب از سطح کاغذهای تیمار شده (الف)، (ب) و (ج) با نانوهیبرید نقره- رس، (د)، (ه) و (و) با نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده در سطح ۲۰ درصد وزنی.

Figure 2. FESEM image and elemental analysis of surface of treated papers with (a), (b) and (c) silver- clay nanohybrid, (d), (e) and (f) silver- milled clay nanohybrid respectively in level of 20 %wt.

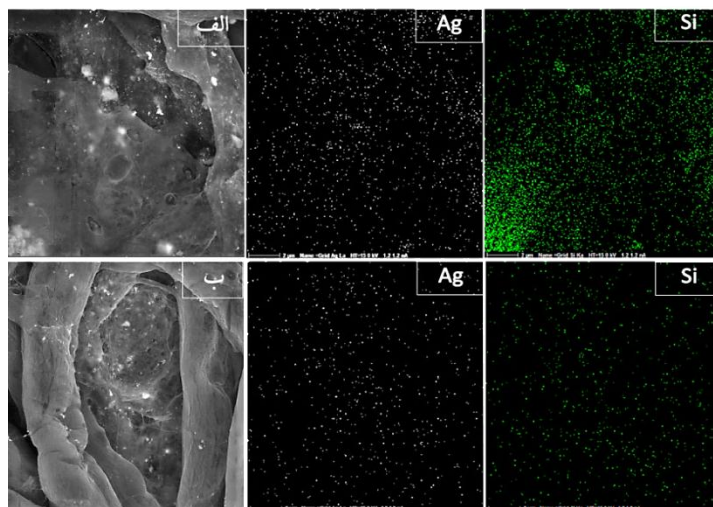
جدول ۴- نتایج آنالیز عنصری عناصر سیلیس (معرف میزان رس) و نقره از سطح کاغذهای اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس و نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده در سطح ۲۰ درصد وزنی.

Table 4. Results of elemental analysis of elements of silica (represents the amount of clay) and silver from surface of treated papers with silver- clay nanohybrid and silver- milled clay nanohybrid in level of 20 %wt.

HConf	LConf	Class	Pk/Bg	A%	W%	Error	Int	عناصر
9.98	9.36	A	8.79	8.19	9.67	5.8401	65.4	Si در نانوهیبرید نقره- رس
1.65	1.51	A	5.16	0.18	1.058	5.8401	27.4	Ag در نانوهیبرید نقره- رس
6.87	5.77	A	4.14	5.11	6.32	2.5789	23.0	Si در نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده
1.89	1.41	A	5.82	0.19	1.65	2.5789	22.1	Ag در نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده

تصاویر FESEM (شکل ۲، الف و د) نشان دادند که ابعاد نانوذرات نقره در هردو نانوهیبرید در ابعاد نانومتری بوده و عموماً زیر ۲۰ نانومتر می‌باشند. آنالیز عنصری مربوط به کاغذهای تیمار شده با نانوهیبرید نقره- رس (شکل ۲، ج) و نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده (شکل ۲، و) نشان دادند که میزان نانوذرات نقره باقی مانده در کاغذها متفاوت از میزان نانوذرات نقره نشست داده شده روی سطح نانورس‌ها بوده است. جدول ۴ میزان نانوذرات نقره و سیلیس باقی مانده در کاغذهای تیمار شده با نانوهیبریدها را نشان می‌دهد. نتایج مربوط به میزان سیلیس در کاغذهای اصلاح شده با نانوهیبریدها نشان دادند که اگرچه درصد وزنی نانوهیبریدهای مورد استفاده در دو کاغذ برابر بوده است اما میزان نانورس در نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده در کاغذ ۶/۳۲ درصد وزنی بوده است که در مقایسه با کاغذ اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس ۳/۳۵ درصد کاهش یافته است. علت این پدیده را می‌توان به کاهش ابعاد در نانورس طی عملیات آسیاب نسبت داد که موجب کوچک شدن ذرات نانورس آسیاب شده و کاهش مقاومت آن به فشار اعمال شده طی فرآیند آبگیری شده است. این نتایج درحالی مشاهده شده‌اند که غلظت بهینه کمک نگذارنده (PAC) استفاده شده بود (با توجه به مصرف سطوح مختلف PAC و انتخاب سطح ۰/۵ به عنوان سطح بهینه با استفاده از آزمون تعیین درصد خاکستر). نتایج مربوط به نانوذرات نقره نشان دادند که میزان نانوذرات نقره موجود در کاغذهای اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس ۱/۵۸ درصد وزنی سطح کاغذ و میزان نانوذرات نقره در کاغذ اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس

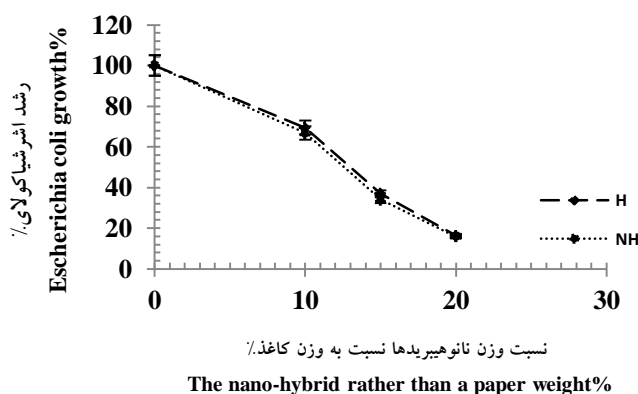
آسیاب شده ۱/۶۵ درصد وزنی سطح کاغذ بوده است. این درحالی است که باتوجه به برابر بودن سطح مصرف نانوهیبریدها در کاغذها (۲۰ درصد وزنی) و نتایج آزمون ICP و AAS که نشان دادند میزان نانوذرات نقره جذب شده روی سطح نانورس آسیاب شده دوبرابر نانورس آسیاب نشده بوده است، انتظار می رفت میزان نانوذرات نقره باقی مانده در کاغذهای اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده دوبرابر کاغذهای اصلاح شده با نانوهیبرید نقره- رس باشد اما نتایج نشان دادند که تقریباً میزان نانوذرات نقره باقی مانده در دو کاغذ برابر بوده است. دلیل این مشاهده را می توان این گونه بیان نمود، اولاً با توجه به نتایج مربوط به درصد سیلیس در دو کاغذ می توان اذعان داشت که میزان ماندگاری نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده در مقایسه با نانوهیبرید نقره- رس در کاغذ کمتر بوده است، ثانیاً ممکن است نانوذرات نقره در هنگام ساخت کاغذ از سطح نانورس آسیاب شده جدا شده و آبشویی شده باشند. این پدیده می تواند به این خاطر باشد که نانوذرات نقره در نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده عموماً جذب سطح نانورس آسیاب شده شده اند و کمتر در منافذ نانورس آسیاب شده قرار گرفته اند، در نتیجه در هنگام فرآیند کاغذسازی تحت نیروی مکش اعمال شده به کاغذها در مرحله آبیگری نانوذرات نقره از سطح رس جدا شده و همراه آب از الیاف خارج شده اند.



شکل ۳- تصویر FESEM و MAP مربوط به نانوذرات نقره (Ag) و سیلیس (Si) از سطح کاغذهای تیمار شده با نانوهیبرید نقره- رس (الف) و نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده (ب).

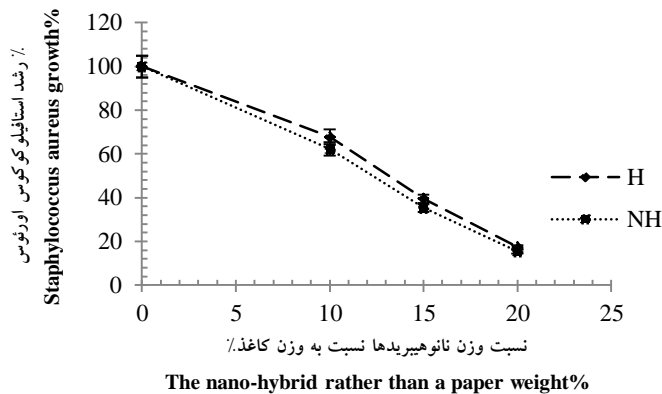
Figure 3. FESEM image and MAP of silver nanoparticles (Ag) and silica (Si) from surface of treated papers with (a) silver- clay nanohybrid and (b) silver- milled clay nanohybrid.

شکل ۳ تصویر FESEM و نقشه پراکنش عناصر نقره و سیلیس از سطح کاغذهای تیمارشده با نانوهیبریدها را نشان می‌دهد. تصاویر نشان دادند که در هر دو کاغذ تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس (الف) و نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده (ب) نقره و سیلیس دارای پراکنش یکنواختی روی سطح کاغذها بوده‌اند. اگرچه، میزان سیلیس باقی‌مانده در کاغذ تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس بیشتر از سیلیس باقی‌مانده در کاغذ تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده بوده است که می‌تواند به دلیل بزرگ‌تر بودن اندازه نانورس‌ها در کاغذ تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس نسبت به نانورس آسیاب‌شده در نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده باشد که آن‌ها را قادر به محبوس شدن در بین الیاف می‌سازد. ازین‌رو درمقایسه با نانورس آسیاب‌شده انرژی بیشتری برای خارج شدن نانورس آسیاب‌نشده در مرحله آگیری کاغذ نیاز می‌باشد. همچنین مشاهده شد که پراکنش نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده در مقایسه با پراکنش نانوهیبرید نقره-رس در کاغذهای تیمارشده یکنواخت‌تر بوده است. **آزمون ضدباکتری:** آزمون ضدباکتری برای دو نوع باکتری گرم منفی اشرشاکولای و استافیلوکوکوس اورئوس و گرم مثبت باسیلوس سوتیلیس انجام شد. اثر ضدباکتریایی کاغذهای تیمارشده با نانوهیبریدهای نقره-رس و نقره-رس آسیاب‌شده روی میزان رشد باکتری‌ها به ترتیب در شکل‌های ۴، ۵ و ۶ نشان داده شده است. نتایج مربوط به آزمون‌های آنالیز واریانس مربوط به نمونه‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است و این نشان می‌دهد که نانوهیبریدهای نقره-رس توانسته‌اند به‌طور قابل توجه‌ای روی رشد باکتری‌ها اثر گذار باشند.

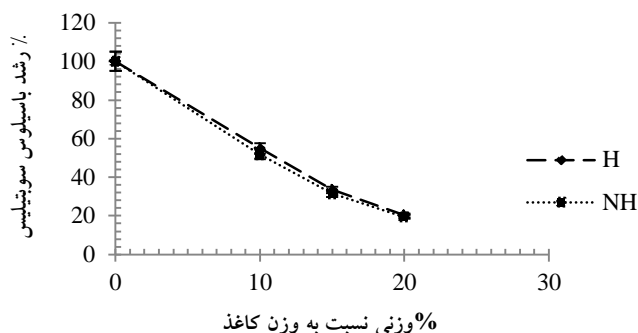


شکل ۴- تغییرات میزان رشد باکتری اشرشیاکولای در کاغذهای حاوی نانوهیبریدها (با نسبت وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد نسبت به وزن کاغذ)، (H) نانوهیبرید نقره-رس و (NH) نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده می‌باشد.

Figure 4. Changes of the bacterial growth of E. coli in papers containing nano-hybrids (At a weight ratio of 10, 15 and 20% wt.), (H) silver- clay nano-hybrid and (NH) silver- milled clay nano-hybrid.



شکل ۵- تغییرات میزان رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در کاغذهای حاوی نانوهیبریدا (با نسبت وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد نسبت به وزن کاغذ)، (H) نانوهیبرید نقره رس و (NH) نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده می باشد.
 Figure 5. Changes of the bacterial growth of S.aureus in papers containing nanohybrids (At a weight ratio of 10, 15 and 20% wt.), (H) silver- clay nano hybrid and (NH) silver- milled clay nano hybrid.



شکل ۶- تغییرات میزان رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس در کاغذهای حاوی نانوهیبریدا (با نسبت وزنی ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد نسبت به وزن کاغذ)، (H) نانوهیبرید نقره- رس و (NH) نانوهیبرید نقره- رس آسیاب شده می باشد.
 Figure 6. Changes of the bacterial growth of B.subtilis in papers containing nanohybrids (At a weight ratio of 10, 15 and 20% wt.), (H) silver- clay nano hybrid and (NH) silver- milled clay nano hybrid.

نتایج حاصل از آزمون ضدباکتری نشان دادند که نانوهیبرید نقره- رس توانست به طور قابل توجهی رشد هر سه باکتری را کاهش دهد. کاهش رشد باکتریها در هر سه باکتری با افزایش سطح مصرف نانوهیبرید نقره- رس در کاغذ افزایش یافت. به طوری که در سطح مصرف ۲۰ درصد کاهش رشد تا ۸۰ درصد رسید. همچنین نتایج نشان دادند که میزان اثربخشی نانوهیبرید نقره- رس

آسیاب‌شده در تمام سطوح مصرف بسیار نزدیک به اثربخشی ضد میکروبی کاغذ تیمارشده با نانوهیبرید نقره-رس بوده است.

نتایج به دست آمده از آزمون ضدباکتری با نتایج حاصل از آنالیز عنصری به دست آمده از سطوح کاغذ مطابقت داشت. اگرچه میزان جذب نانوذرات نقره روی سطح نانورس آسیاب‌شده دوبرابر نانورس آسیاب‌نشده بوده است اما نتایج مربوط به آنالیز عنصری نمونه‌های کاغذ اصلاح شده نشان دادند که علاوه بر کاهش ماندگاری بیشتر نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده در کاغذ نسبت به ماندگاری نانوهیبرید نقره-رس، تقریباً نیمی از ذرات نقره در فرآیند ساخت کاغذ از سطح رس آسیاب‌شده جدا شدند و ماندگاری آن‌ها در کاغذها تا نزدیک به سطح ۵۰ درصد کاهش یافت. در نتیجه، نتایج مربوط به آزمون ضدباکتری در هر دو نوع کاغذ در هر سه سطح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد وزنی خشک خمیر اختلاف قابل توجه‌ای نداشته‌اند و میزان رشد باکتری‌ها بسیار نزدیک به هم بوده است. تصاویر MAP مربوط به کاغذها نیز نشان دادند که نانوذرات رس و به تبعیت از آن نانوذرات نقره دارای پراکنش یکنواختی روی کاغذ بوده‌اند (۸) که این خود باعث افزایش خواص ضدباکتری کاغذها شده است. نتایج نشان دادند که تأثیر نانوهیبریدها روی رشد باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری گرم مثبت بوده است. زیرا بیشترین اثر ضدباکتری ایجاد شده به علت حضور نانوذرات نقره می‌باشد که تحقیقات نشان داده‌اند اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد (۱۰).

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر آسیاب کردن رس بر میزان جذب نانوذرات نقره به منظور افزایش زمان ماندگاری و اثربخشی ضدباکتری این نانوذرات انجام شد. برای این منظور از نانورس و نانورس آسیاب‌شده در حضور نیترات نقره به روش احیاء، نانوهیبرید نقره-رس تهیه گردید. نتایج مربوط به آنالیزهای AAS و ICP نشان دادند که میزان جذب نانوذرات نقره روی سطح رس آسیاب‌شده به دلیل افزایش سطح ویژه و بار منفی آن طی عمل آسیاب کردن دوبرابر نانورس بوده است. تصاویر FESEM و MAP کاغذهای تیمارشده نشان دادند که میزان ماندگاری نانوهیبرید نقره-رس آسیاب‌شده نصف نانوهیبرید نقره-رس بوده است و هر دو نانوهیبرید دارای پراکنش یکنواختی در ساختار کاغذها بوده‌اند. همچنین نتایج آزمون ضدباکتری نشان دادند که هر دو نانوهیبرید توانستند به طور قابل توجه‌ای

رشد هردو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت را کاهش دهند. به طور کلی نتایج نشان دادند که نانوهیبرید نقره-رس و نانوهیبرید نقره-رس آسیاب شده به عنوان پرکننده از نظر عملکرد ضدباکتری در کاغذ تفاوت زیادی نداشته و تقریباً عملکرد مشابهی از خود نشان داده‌اند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نانوهیبریدهای نقره-رس فرآوری شده را یک پرکننده مناسب برای ایجاد خواص ضدباکتری در کاغذها دانست و با توجه به جذب بیشتر نانوذرات نقره روی سطح نانورس آسیاب شده و در مقابل آبشویی نانوذرات نقره از سطح رس آسیاب شده در فرآیند کاغذسازی، کاربرد این ذرات به صورت پوشش‌دهی نسبت به کاربرد در سوسپانسیون خمیر را مناسب‌تر دانست و بیان نمود که نانوهیبرید نقره-رس آسیاب شده می‌تواند یک ماده ضد میکروب مناسب برای ایجاد خواص ضد میکروبی در کاغذ در قالب پوشش‌دهی باشد.

منابع

1. Ashley, R.H., Matthew, R., Gillian, A.H., and Elsie, E.G. 2013. *Clays and tetracyclines: composite formulation and Antibacterial properties*. XV International Clay Conf.
2. Fernandez, A., Picouet, P., and Lloret, E. 2010. *Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon*. International Journal of Food Microbiology, 142: 222-228.
3. Giannelis, E.P. 1996. *Polymer layered silicate nanocomposites*. Advanced Materials, 8: 29-35.
4. Girase B., Depan D., Shah J.S., Xu W., and Misra R.D.K. 2011. *Silver-clay nanohybrid structure for effective and diffusion-controlled antimicrobial activity*. Materials Science and Engineering C 31, 1759-1766.
5. He J., Kunitake T., and Nakao A. 2003. *Facile In Situ Synthesis of Noble Metal Nanoparticles in Porous Cellulose Fibers*. Chem. Mater., 15: 4401-4406.
6. Huang, R.H., Chao, W.K., Yu, R.S., Huang, R.T., Hsueh, K.L., and Shieu, F.S. 2012. *Facile synthesis of silver nanoparticles by electrochemical method in the presence of sodium montmorillonite*. J. Electrochem. Soc, 159: 122-126.
7. Imani R., Talaiepour M., Dutta J., Ghobadinezhad M.R., Hemmasi A.H., and Nazhad M.M. 2011. *Production of antibacterial filter paper from wood cellulose*. BioResources, 6(1): 891-900.
8. Kumar, S.A., He, Y.L., Ding, Y.M., Le, Y., Kumaran, M.G., and Thomas, S. 2008. *Gas transport through nano poly (ethylene-co-vinyl acetate) composite membranes*. Industrial and Engineering Chemistry Research, 47: 4898-4904.
9. Ling, Y., Luo, Y., Luo, J., Wang, X., and Sun, R. 2013. *Novel antibacterial paper*

- based on quaternized carboxymethylchitosan/organic montmorillonite/Ag NP nanocomposites. *Industrial Crops and Products*, 51: 470–479.
10. Mohammadi Komroodi, M. 2013. Nano Silver Preparation and Evaluation of Its Effect on Sanitary Pulp Antibacterial Properties. Thesis M.Sc. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
 11. Moore, D.M., and Reynolds, R.C. 1997. *X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*. Second ed., Oxford University Press, New York.
 12. Nassar, M.A., and Youssef, A.M. 2012. *Mechanical and antibacterial properties of recycled carton paper coated by PS/Ag nanocomposites for packaging*. *Carbohydr. Polym.*, 89: 269–274.
 13. Nesse, W.D., and Schulze, D.J. 2004. *Sheet silicates*. In: Neese WD, ed. *Introduction to Mineralogy*. USA: Oxford University Press, 235-260.
 14. Parolo, M.E., Fernández, L.G., Zajonkovsky, I., Sánchez, M.P., and Baschini, M. 2011. *Antibacterial activity of materials synthesized from clay minerals*. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 144-151.
 15. Rai, M., Yadav, A., and Gade, A. 2009. *Silver nanoparticles as a new generation of antibacterials*. *Biotechnology Advances*, 27: 76-83.
 16. Shameli, K., Bin Ahmad, M., Zargar, M., Yunus, W.M.Z.W., Ibrahim N.A., Shabanzadeh, P., and Moghaddam, M.G. 2011. *Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity*. *International Journal Nanomed*, 6: 271–284.
 17. Shankar, S., Reddy, J.P., Rhim, J.W., and Kim, H.Y. 2015. *Preparation, characterization, and antimicrobial activity of chitinnanofibrils reinforced carrageenan nanocomposite films*. *Carbohydrate Polymers*, 117: 468–475.
 18. Sirvio, J.A., Kolehmainen, A., Liimatainen, H., Niinimäki, J., and Hormi, O.E.O. 2014. *Biocomposite cellulose-alginate films: Promising packaging materials*. *Food Chemistry* 151: 343–351.
 19. Tankhiwale, R., and Bajpai, S.K. 2009. *Graft co-polymerization onto cellulose-based filter paper and its further development as silver nanoparticles-loaded antibacterial food packaging material*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 69(2): 164-168.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 23 (2), 2016
<http://jwfst.gau.ac.ir>

Effect of milling of clay on the absorption of nano-silver and investigation of its antibacterial effect in the paper

¹P. Narchin¹, E. Afra², A.R. Saraean³, H. Resalati⁴ and P. Ebrahimi⁵

¹Ph.D. Student of Pulp and Paper Industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Assistant Prof., of Pulp and Paper Industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ³Associate Prof., of Pulp and Paper Industries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ⁴Professor of Pulp and Paper Industries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ⁵Assistant Prof., of Chemistry, Golestan University

Received: 09/11/2015; Accepted: 03/26/2015

Abstract

Background and objectives: Global development and higher living standards have caused people pay more attention to health and environment. Papers such as bills and printing and writing are daily exposing to a lot of among people; hence, were to important agents in the transmission of pathogenic microorganisms. Silver-nanoparticles are including antimicrobial agents that become oxidized in the presence of oxygen and light, and their structure is unstable. They also have a strong tendency to aggregation. The structural properties of nanoclay make it the perfect choice for removing deficiencies of silver-nanoparticles. According to the electrostatic adsorption of silver nanoparticles on the surface of clay, it is expected that increasing clay surface charge as a result of mill operation, lead to increasing the absorption rate of silver

Materials and methods: After milling clay from, sodium boron hydride reduction method was used to deposit silver-nanoparticles on the surface of clay (milled clay). SEM images were used to evaluate the effect milling on clay dimensions and Atomic Absorption Spectrometer and inductively coupled plasma- atomic emission spectrometry test to measure the amount of silver absorbed by the nanoclay in the production of silver-clay nanohybrid and silver-milled clay. The samples of paper were treated with both hybrids in three levels 10, 15 and 20 wt%. Antibacterial test was carried out by biophotometry. Distribution and the amount of present of nanohybrids in target papers were determined by FESEM-MAP images and elemental analysis (EDX) test.

*Correspondence author: parynaan1369@yahoo.com

Results: The results showed that the amount of nanoparticles adsorbed on surface of clay was two-fold of milled clay, but during paper making because of more adsorption of silver nanoparticles on the surface of milled clay compared with the clay, that it has more absorption of pore, almost half of silver-nanoparticles were leaching. Antibacterial results obtained showed that the antibacterial properties of paper treated with both nanohybrids were high and growth rate of both types of bacteria (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) significantly decreased.

Conclusion: According to the results of FESEM, elemental analysis and antibacterial tests could be confirmed that, silver -clay nanohybrid can be used as an appropriate antibacterial agent in the paper. Also, due to superficial absorption of silver nanoparticles on milling clay compared with original clay, is better silver-milled clay nanohybrid to be used as a coating agent on the surface of the paper, so that using less nanosilver, creates higher antibacterial effect in paper that is efficient in terms of economic and environmental problems will follow lower.

Keywords: Silver-clay nanohybrid, Milling, Antibacterial paper