Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 32, No. 1, Spring 2022 **ORIGINAL ARTICLE**

Investigation on cross-linked nanomicrobial cellulose properties as modern wound dressing

Sahar Abbasi Geravand[1], Ramin Khajavi[2], Mohammad Karim Rahimi[3], Manouchehr Shamsini Ghiyasvand[4], Amin Meftah[5]

[1] PhD Student, Department of Biomedical Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Polymer and Textile Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medical, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, ehran, Iran
[4] Assistant Professor, Faculty of Biomedical Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Polymer and Textile Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Nanomicrobial cellulose is an important biopolymer with a three-dimensional structure that is produced by some microorganisms and has been widely used in medicine. One of the unique properties of microbial cellulose is its very high water absorption, which can be used to produce modern wound dressings. But after drying, it's three-dimensional structure collapses and the amount of water reabsorption decreases. Accordingly, the aim of this project was to preserve the three-dimensional structure of nanomicrobial cellulose by networking it and improving the water reabsorption properties of this biopolymer. In addition, the cell viability, proliferation, and cell growth of the modified structure and untreated microbial cellulose were also studied.

Materials and methods: In this study, microbial cellulose was produced, purified, and neutralized using stationary culture. The samples were then treated with different concentrations of citric acid/sodium hypophosphite and crosslinked. Finally, the characteristics of treated and raw samples were studied by various tests including ATR-FTIR, MTT, SEM, water absorption and in vitro and in vitro tests.

Results: According to the results, it was found that the cross-linking operation prevents the collapse of the structure and not only does not cause toxicity, but in addition to increasing water uptake, it also increases viability, adhesion, and cell proliferation in the modified cellulose.

Conclusion: Cross-linked nanomicrobial cellulose has high potential as a modern wound dressing.

Keywords Nanomicrobial cellulose, Cross-linking, Modern wound dressing, Cell viability, Proliferation, High water absorption.

Cited as: Abbasi Geravand S, Khajavi R, Rahimi MK, Shamsini Ghiyasvand M, Meftah A. Investigation on cross-linked nanomicrobial cellulose properties as modern wound dressing. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 32(1): **11-20.**

Correspondence to: *Ramin Khajavi*
Tel: *+98 9126359223*
E-mail: Khajavi@azad.ac.ir
ORCID ID: 0000-0003-0375-2550
Received: 1 Sep 2021; **Accepted:** 12 Jan 2022

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، صفحات ۱۱ تا ۲۰

Original Article

بررسی خواص نانوسلولز میکروبی شبکه‌ای شده به عنوان زخم پوش نوین

سحر عباسی گراوند[۱]، رامین خواجوی[۲]، محمد کریم رحیمی[۳]، منوچهر شمسینی غیاثوند[۴]، امین مفتاحی[۵]

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران
[۲] پروفسور، گروه مهندسی پلیمر و نساجی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران
[۳] دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران
[۴] استادیار، گروه مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران
[۵] استادیار، گروه مهندسی پلیمر و نساجی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *نانوسلولز میکروبی نوعی بیوپلیمر مهم دارای ساختار سه بعدی است که توسط برخی میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود و در پزشکی کاربرد زیادی یافته است. یکی از خصوصیات منحصر به فرد سلولز میکروبی، جذب آب بسیار بالای آن است که می‌تواند برای تولید زخم پوش‌های مدرن استفاده شود؛ اما پس از خشک شدن، ساختار سه بعدی آن فرو می‌ریزد و مقدار باز جذب آب آن کاهش می‌یابد. هدف این پژوهش، حفظ ساختار سه بعدی نانو سلولز میکروبی به کمک شبکه‌ای کردن آن و ارتقاء خصوصیات باز جذب آب این بیوپلیمر است. به علاوه، بررسی میزان زنده مانی، تکثیر و رشد سلولی بر روی ساختار سلولز میکروبی اصلاح شده و عمل نشده نیز مطالعه شد.*

روش بررسی: *در این تحقیق، سلولز میکروبی با استفاده از کشت ساکن تولید، تخلیص و خنثی سازی شد. سپس نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت اسید سیتریک/ هیپوفسفیت سدیم عمل شده و شبکه‌ای شدند. در نهایت خصوصیات نمونه‌های عمل شده و خام با آزمون‌های مختلف شامل ATR-FTIR، MTT، SEM، جذب آب و آزمایشات برون و درون تنی بررسی شد.*

یافته‌ها: *بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد عملیات ایجاد پیوند عرضی از فروپاشی ساختار جلوگیری می‌کند و نه تنها باعث سمیت نمی‌شود، بلکه علاوه بر افزایش میزان جذب آب، میزان زنده مانی، چسبندگی و تکثیر سلولی را نیز در سلولز اصلاح شده افزایش می‌دهد.*

نتیجه‌گیری: *سلولز میکروبی شبکه ای شده، دارای پتانسیل بالایی به عنوان زخم پوش مدرن است.*

واژگان کلیدی: *نانوسلولز میکروبی، پیوند عرضی، زخم پوش مدرن، زنده مانی، تکثیرسلولی، جذب آب بالا.*

مقدمه

پانسمان زخم برای تسریع التیام زخم وجلوگیری از عفونی شدن آن انجام می‌شود. پانسمان‌های مرسوم اکثراً پنبه‌ای هستند و باعث خشک شدن زخم، چسبیدن به آن و ایجاد حساسیت در برخی افراد می‌شوند و در نتیجه باعث طولانی شدن زمان ترمیم، تعویض دردناک پانسمان و مشکلات دیگر برای بیمار خواهند شد (۱).

بنابراین محققان با کشف سلولز میکروبی که دارای ویژگی‌های مطلوب به عنوان یک پانسمان ایده آل است، دری تازه بر روی پانسمان های بیولوژیکی گشودند. سلولز میکروبی (MC: Bacterial Cellulose) یکی از برجسته‌ترین پلی ساکاریدهای میکروبی است (۲) که در بسیاری از بخش‌های صنعتی و تحقیقاتی، از جمله نساجی، صنایع غذایی، لوازم آرایشی، الکترونیک و صنایع پزشکی مورد توجه قرار گرفته است (۷-۳).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه مهندسی پلیمر و نساجی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، رامین خواجوی (**email**: Khajavi@azad.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0003-0375-2550
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۶/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

این بیوپلیمر، به شکل یک زیست فیلم، توسط باکتری‌های مختلفی مانند استوباکتر زایلینوم که یک باکتری گرم منفی است، تولید می‌شود (**Error! Bookmark not defined.**).

در طی فرآیند بیوسنتز باکتری‌ها، آنها ترکیبات مختلف محیط کشت را مصرف کرده و زنجیره‌های خطی بتا ۱و ۴- گلوکان را تولید می‌نمایند. زنجیره‌ها توسط منافذی از سطح سلول به خارج ترشح و با به هم پیوستن آنها نانو الیاف در محیط کشت پراکنده می‌گردند. با افزایش میزان نانو الیاف و نهایتاً اتصالشان به یکدیگر، یک لایه سه بعدی لطیف و ژلاتینی با مقاومت مکانیکی بالا تشکیل می‌شود (**Error! Bookmark not defined.**). در واقع سلولز میکروبی، از لحاظ شیمیایی ساختاری مشابه سلولز گیاهی دارد، اما از خلوص بالاتر، ترکیب الیاف ظریف‌تر، استحکام منحصر به فرد و سازگاری زیستی بیشتری برخوردار است (۸).

سلولز میکروبی، یک ساختار سه بعدی الیافی است که می‌تواند در ترکیب با انواع مختلف مواد به راحتی اصلاح شود و آن را به یک نانوکامپوزیت مناسب برای کاربردهای پزشکی تبدیل کند (۹). همچنین یک بستر سه بعدی مناسب برای اتصال سلول و رشد آن را فراهم می‌نماید (۱۰، ۱۱). غشاءهای سلولز میکروبی، روند اپیتلیالیزاسیون را تسریع می‌کنند و از ایجاد عفونت جلوگیری می‌کنند (**Error! Bookmark not defined.**). بر همین اساس در سال‌های اخیر این بیوپلیمر به عنوان بستری مناسب برای رشد انواع مختلف سلول مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۲).

در واقع بهبود زخم با هدف بازیابی عملکرد ساختاری و بیولوژیکی پوست انجام می‌شود. همانطور که بیان شد، پانسمان‌های پنبه‌ای به دلیل ظرفیت پایین نگهداری آب بعد از مدت زمان کوتاهی آب درون زخم را جذب کرده و باعث کاهش رطوبت موضع مورد نظر می‌شوند و منجر به چسبیدن پانسمان به زخم خواهند شد. این در حالی است که سلولز میکروبی، ماده‌ای مناسب در کنترل خونریزی، جذب خون و ترشحات زخم است و از بافت آسیب دیده در مقابل حمله میکروب‌ها و ویروس محافظت می‌کند و اثر مفیدی بر روی تکثیر سلولی نیز دارد (۱۳).

بر همین اساس به نظر می‌رسد که سلولز میکروبی برای ایجاد مانع محافظتی و رساندن ترکیبات درمانی بر روی زخم، جایگزین مناسبی برای پوست انسان است (۱۴). سلولز میکروبی به عنوان یک پلی ساکارید حاوی سلولز ماده‌ای استثنایی در آب دوستی است. نانو الیاف موجود در سلولز میکروبی دارای نسبت سطح به حجم بالاتری در مقایسه با میکروفیبریل‌های متشکل از سلولز گیاهی هستند و قادرند که ظرفیت جذب آب بالاتری از خود نشان دهند؛ به طوری‌که یک غشاء سلولزی هیدراته بیش از ۹۰٪ وزنش آب است. به همین دلیل می‌توان حجم قابل توجهی از ترشحات زخم را با توجه به نسبت سطح به حجم زیاد، جذب کرد. همچنین به علت وجود پیوندهای هیدروژنی بین الیاف، استحکام بسیار بالایی در سلولز میکروبی وجود دارد که از تغییر شکل آن جلوگیری به عمل می‌آورد. به علاوه، با توجه به وجود منافذ نانومتری موجود در ساختار آن، می‌تواند به عنوان مانعی طبیعی در برابر حمله انواع باکتری‌های عفونی به حساب آید و با تنظیم شرایط رشد استوباکتر می‌توان اندازه، شکل، تخلخل و ضخامت لایه سلولز میکروبی را کنترل کرد (۱۵).

با وجود خواص منحصر به فرد سلولز میکروبی برای کاربردهای زیست پزشکی، این بیوپلیمر با از دست دادن آب خود، ساختار سه بعدی اش در هم فرو رفته و از بین می‌رود و این اتفاق تأثیر منفی بر باز جذب و ظرفیت نگهداری آب آن دارد. بنابراین، می‌توان آن را به عنوان یک نقطه ضعف در تولید پانسمان از سلولز میکروبی دانست. برهمین اساس خواجوی و همکارانش (۱۶) برای غلبه بر این ضعف، کوشیدند تا با ایجاد اتصال عرضی و شبکه‌ای نمودن ساختار سلولز میکروبی با استفاده از پلی‌کربوکسیلیک اسیدها، ساختار سه بعدی نانوالیافی سلولز میکروبی را حفظ کنند. با توجه به نتایج به دست آمده، ظرفیت نگهداری آب، میزان تورم و تخلخل سلولز میکروبی اصلاح شده نسبت به نمونه خام افزایش قابل توجهی نشان داد.

به همین دلیل در این پژوهش، در ادامه تحقیقات گذشته، تلاش شده است علاوه بر بررسی خواص شیمیایی، فیزیکی و مورفولوژیکی سلولز میکروبی شبکه‌ای شده، به مطالعه خواص بیوپزشکی آن با استفاده از ارزیابی‌های برون تنی و درون تنی به عنوان یک زخم پوش نوین پرداخته شود.

مواد و روشها

سنتز و خالص سازی سلولز میکروبی

برای تولید سلولز میکروبی از سویه *BPR2001* *Komagataeibacter xylinus* (تهیه شده از مجموعه میکروارگانیسم‌ها، دانشگاه تهران) استفاده شد. باکتری تولیدکننده سلولز، جهت تولید آن به منابع غذایی مختلفی نیازمند است؛ به همین منظور در این پژوهش از محیط کشت ساکن شارم-هیسترین (Hestrin–Schramm :HS) شامل ترکیبات سدیم هیدروژن فسفات (۳/۳ گرم در لیتر) ، اسید سیتریک (۱/۱۵ گرم در لیتر) ، پپتون (۵ گرم در لیتر) و سولفات منیزیم (۰/۵ گرم در لیتر) استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت، به منظور از بین بردن آلودگی های میکروبی و استریل کردن آن، از اتوکلاو (دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد/ ۶۰ دقیقه) بهره گرفته

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

شد. سپس افزودن سوسپانسیون باکتری و مایه تلقیح بـه ظـروف کشت در زیر هود انجام شد و درب ظـروف کـاملاً بسـته شـد. در مرحله بعد، ظـروف کشـت در دمـای ۳۷ درجـه سـانتی‌گـراد بـه صـورت سـاکن در انکوبـاتور نگهـداری شـدند و پـس از ۱۰ روز، لایـه‌هـای سـلولزی از سـطح محـیط کشـت جمـع آوری شـدند (ضخامت متوسط لایه‌ها حدود ۱ سانتی متر بود). در مرحلـه بعـد به منظور تخلیص لایه‌های سـلولز میکروبـی از بـاکتری‌هـای گیـر افتاده در بین نانوالیاف و همچنین سایر مواد اضافی بـاقی مانـده از محیط کشـت در درون سـاختار سـه بعـدی سـلولز میکروبـی، از شستشوی قلیایی بهره گرفته شـد. بـه همـین منظـور از محلـول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به مدت ۹۰ دقیقه در دمای جـوش، استفاده شد و در نهایت نمونه‌ها با آب مقطر شستشـو داده شـدند. در مرحله آخر نیز، نمونه ها با استیک اسید خنثـی سـازی شـدند تا ۷-۶ :pH به دست آیـد (**Error! Bookmark not defined.**). لازم به ذکر است که مواد سازنده محیط کشـت از شـرکت مـرک خریداری شد و سایر مواد شیمیایی از شرکت سیگما-آلدریچ تهیه شد.

شبکه‌ای کردن سلولز میکروبی

اسید سیتریک (CA: Citric Acid) به عنوان مـاده اتصـال دهنـده عرضـی و هیپوفسـفیت سـدیم (SHP: Sodium hypophosphite) به عنوان کاتالیزور برای اتصـال زنجیـره‌هـای نانوسـلولز میکروبـی استفاده شد. سلولز میکروبی خنثی شده در غلظـت‌هـای مختلـف CA / SHP غوطه ور شدند (درصـدهای وزنـی/ حجمـی ۲/۵، ۵ و ۱۰ اسید سـیتریک و سـدیم هیپوفسـفیت بـا نسـبت ۲:۱، در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت). سـپس بـرای اتصـال لایـه های سلولز میکروبی، نمونه‌ها در دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گـراد بـه مدت ۵ دقیقه عمل شدند و پس از آن، با آب مقطر شستشـو داده شدند تا ۶-۵ : pH به دست آید. بعد از این مرحلـه، نمونـه‌هـا در دمای اتاق خشـک شـدند (شـکل ۱) (**Error! Bookmark not defined.**).

بررسی خصوصیات سلولز میکروبی

برای مطالعه خصوصیات شیمیایی سـلولز میکروبـی عمـل شـده و خـام از تکنیـک ATR-FTIR (Perkin Elmer model Frontier; USA) استفاده شد.

بـرای مشـاهده مشخصـات سـطحی و مورفولـوژی نمونـه‌هـا از میکروسـکوپ الکترونـی روبشـی (SEM VEGA \\ TESCAN ، جمهوری چک) استفاده شد. برای آماده سـازی نمونـه‌هـا، سـلولز میکروبی عمل شده و معمولی تحت شرایط خلاء، با فلـزات طـلا-پالادیوم پوشانده شدند.

از میکرومتر دیجیتال (محدوده اندازه گیری: ۰ تـا ۲۵ میلـی متـر؛ شرکت ACCUD) برای محاسبه ضخامت استفاده شـد. ضـخامت در ۱۰ نقطه مختلف نمونه اندازه گیری و سپس میانگین آنها ذکـر شد.

به منظور بررسی قابلیت ترشوندگی و میزان جذب آب نمونه‌هـا، از روش آزمون غوطه وری استاتیک (BS 3449: 1990) بهره گرفتـه شد. در این روش، نمونه هـای خشـک وزن شـده و سـپس بـرای مدت زمان مشخصی در آب مقطر غوطه ور شدند. سپس نمونه‌هـا جمع آوری و آب اضافی به وسیله آویزان نمودن نمونـه‌هـا گرفتـه شد و سپس نمونه‌هـای مرطـوب تـوزین شـدند و بـرای محاسـبه میـــزان جـــذب آب (WA: Water absorption) از معادلـــه (۳) استفاده شد.

$$WA = ((W_2-W_1) / W_1) * 100 \quad (۱)$$

W_1 نشان دهنده وزن خشک و W_2 نشان دهنده وزن تر نمونـه‌هـا است.

شکل ۱. تصویر سلولز میکروبی خام و پیوند عرضی شده با درصدهای متفاوت

بخش برون تنی

کشت سلول

از بانک سلول موسسه پاسـتور ایـران سـلول‌هـای NCBI) L929 C161) تهیه شد. سلول‌ها پس از دیفریـز شـدن در فلاسـک قـرار گرفتند. فلاسک حاوی محیط کشتی با ۱۰٪ سـرم جنـین گـاوی (FBS: Fetal Bovine Serum) بود. سپس آن را در انکوباتور با ۵٪ اکسیژن و ۹۰٪ رطوبت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قـرار دادنـد (۱۷).

بررسی زنده مانی سلول‌ها

زنده مـانی سـلولی نمونـه‌هـا از طریـق روش غیرمسـتقیم MTT بررسی شد. این آزمایش در سـه مرحلـه انجـام گرفـت. ابتـدا $۱۰^۴$ سلول و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت در هر چاهک ریخته شـد و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سـانتی‌گـراد بـا شـرایط محیطـی، اکسیژن ۵ ٪ و CO_2 قرار داده شد و پس از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ سـاعت

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

انکوباسیون، مورفولوژی عمومی و زنده مانی سلول‌ها زیر میکروسکوپ نوری مشاهده و مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۵). در مرحله بعد، محیط سطحی سلول خارج شده و پس از افزودن ۵۰ میکرولیتر محلول MTT در دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت، به سلول‌ها اجازه داده شد تا تترازولیوم را متابولیزه کنند. سپس مایع رویی برداشته شد و ۵۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO: Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک اضافه گردید تا فرمازان حل شود و سپس نمونه‌ها جمع آوری شدند.

سرانجام رنگ هر چاهک، متناسب با تعداد سلول‌ها، با دستگاه ریزخوان با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد (۱۸، ۱۹). لازم به ذکر است که محیط رشد کامل در یک چاهک خالی در نظر گرفته شد. یافته‌ها به عنوان درصدی از زنده مانی سلول(CV: Cell Viability) بیان و در معادله ۲ محاسبه شده‌اند (۲۰، ۲۱):

$$CV\ (\%) = (OD\ Sample - OD\ Blank) / (OD\ Control - OD\ Blank) \times 100\% \quad (۲)$$

بخش درون تنی

القا سوختگی پوستی

مطالعات حیوانی توسط دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران با کد اخلاق (IR.IAU.PS.REC.1400.101) تایید شد. موش‌های نر (CrTac: NCr-Foxn1nu) با تزریق مخلوطی از کتامین، زیلازین و زولتیل بیهوش شدند. نواحی راست و چپ پاهای عقبی با الکل ۷۰٪ ضد عفونی شدند و سوختگی با ضخامت جزئی در ناحیه پوست با استفاده از قالب فولادی ضد زنگ به قطر ۱ سانتی متر که به مدت ۱ دقیقه در آب جوش گرم شد، ایجاد شد.

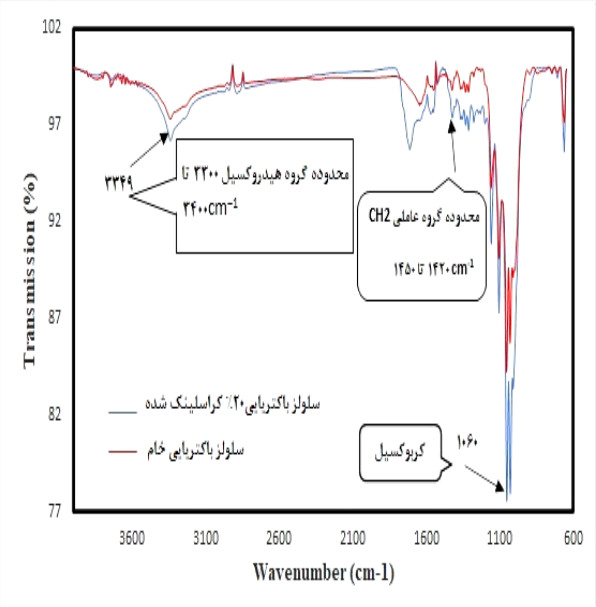
درمان زخم های سوختگی

دو موش (سوری) اندکی پس از ایجاد زخم سوختگی از آنها استفاده شد. برای درمان بعد از به وجود آمدن سوختگی، با بتادین رقیق شده (۱٪ حجمی بتادین و ۵٪ درصد حجمی سرم نرمالی سالین) محل زخم ضدعفونی شد. موش اول، با سلولز میکروبی خام و موش دوم، با سلولز میکروبی شبکه ای شده تیمار شدند و تحت درمان قرار گرفتند. موش‌ها در یک سیستم قفس تهویه شده به صورت جداگانه نگهداری شدند. در روز سیزدهم، بافت از ناحیه زخم سوختگی هر یک از موش‌ها نمونه برداری شد و سپس بررسی هیستوپاتولوژی بر روی آنها صورت گرفت (۲۲).

یافته‌ها

طیف سنجی مادون قرمز

از طیف سنجی ATR-FTIR برای شناسایی گروه‌های عملکردی قبل و بعد از شبکه‌ای شدن سلولز میکروبی استفاده شد. شکل ۲ طیف نمونه‌هایی را نشان می دهد که دارای پیک‌های مشابه در cm^{-1} ۳۳۰۰–۳۴۰۰ برای گروه‌های هیدروکسیل، cm^{-1} ۱۴۲۰–۱۴۵۰ مربوط به گروه عاملی CH_2 ، cm^{-1} ۱۱۰۰-۱۲۰۰ برای پیوند اتر و cm^{-1} ۱۰۶۰ سیکلوهگزان در زنجیره های سلولزی هستند. در همین حال، در طیف نمونه‌های کراس‌لینک شده (CA / SHP) به دلیل پیوند استر (–COO) که پس از فرآیند اتصال عرضی ظاهر شد، یک پیک مشخص در cm^{-1} ۱۷۳۰ وجود دارد (۱۶، ۲۷-۲۳).

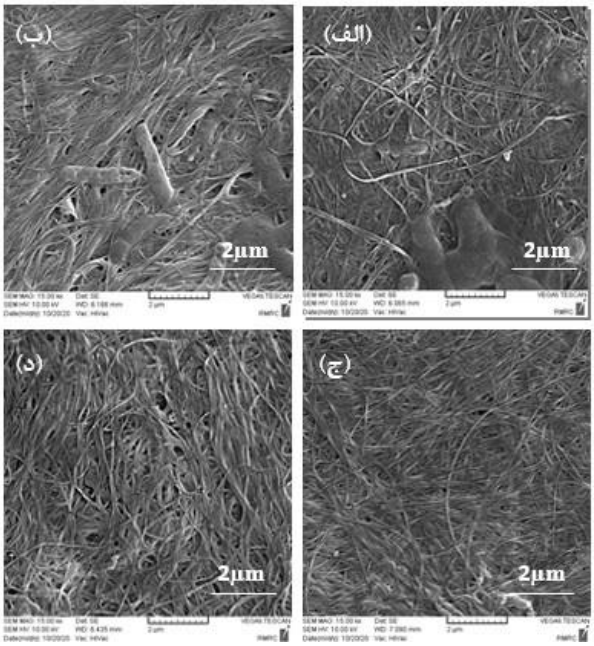


شکل ۲. اسپکتروفوتوگرام مادون قرمز سلولز میکروبی۲۰٪ کراس-لینک شده و سلولز میکروبی خام

میکروسکوپ الکترونی روبشی

شکل ۳ نشان دهنده آرایش نانوالیاف‌های سلولز میکروبی است. تصاویر الف و د نشان می‌دهند که قطرهای متوسط الیاف نانو سلولزها کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. به علاوه، همان طور که در تصاویر نشان داده شده است، با افزایش غلظت CA، قطر منافذ سطح افزایش می‌یابد (**Error! Bookmark not defined.**). علاوه بر آن، اسید سیتریک به دلیل ماهیت اسیدی خود می‌تواند بر روی نانوسلولز در طی فرآیند اتصالات عرضی تأثیر بگذارد و سبب می شود سطح نانوالیاف‌های سلولز میکروبی که با اسید سیتریک ۲۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۱۰٪ عمل شده‌اند، براق تر از سلولز میکروبی خام باشد.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]



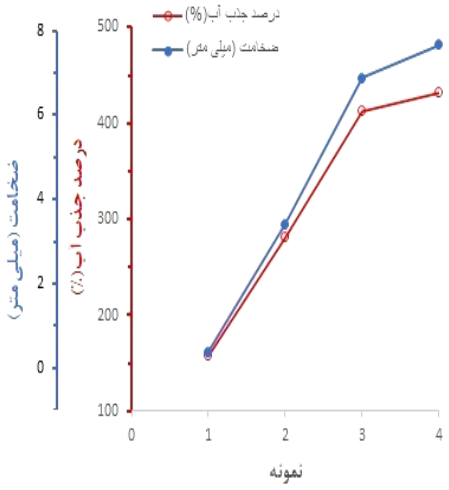
شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوسلولز میکروبی خام و شبکه‌ای شده. الف) سلولز میکروبی خام، ب) سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۵٪ و سدیم هیپوفسفیت ۲/۵٪، ج) سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۱۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۵٪، د) سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۲۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۱۰٪)

بررسی جذب آب و ضخامت

همان گونه که در شکل ۱ نیز مشاهده شد، با افزایش درصد اسید سیتریک، ضخامت نمونه‌ها بیشتر شده و میزان تخلخل نیز افزایش می‌یابد. همین امر موجب می‌گردد تا فضای بیشتری در لایه های سلولز میکروبی عمل شده برای جذب آب به وجود آید و منجر به افزایش میزان جذب آب نمونه‌های عمل شده در مقایسه با سلولز میکروبی خام می‌شود (شکل۴).
بر همین اساس سلولز میکروبی کراسلینک شده، آب بیشتری را در خود حبس نموده و دیرتر خشک می‌شود و بنابراین آب بیشتری پیرامون زخم وجود دارد که منجر به تسریع مدت درمان زخم می‌شود.
نتایج نشان داد که واکنش با استفاده از اسید سیتریک بر ساختار شیمیایی و آب دوستی سلولز میکروبی تأثیر دارد. بنابراین، با جایگزین شدن گروه‌های استر با هیدروکسیل سلولز، ویژگی آبدوستی سلولز میکروبی به صورت فیزیکی و شیمیایی افزایش یافت و این امر می‌تواند در استفاده از سلولز میکروبی به عنوان جاذب مزایایی ایجاد کند (شکل ۵).

سمیت سلولی

از این روش، برای ارزیابی زنده ماندن سلول پانسمان زخم و داربست در مهندسی بافت استفاده می‌شود. سمیت بستر، از تکثیر سلول جلوگیری می‌کند و با گذشت زمان باعث مرگ سلول می‌شود. در نتیجه، تعداد سلول‌های زنده بر روی نمونه ها در ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد. شکل ۶ نشان می‌دهد که اتصالات عرضی بر زنده ماندن سلول بر روی نمونه‌های کراسلینک شده اثر سوء ندارند. علاوه بر این، هیچ سمیتی در نمونه ها مشاهده نشد و زنده ماندن فیبروبلاست L929 بر روی نمونه های کراسلینک شده بیشتر از سلولز میکروبی خام بود.

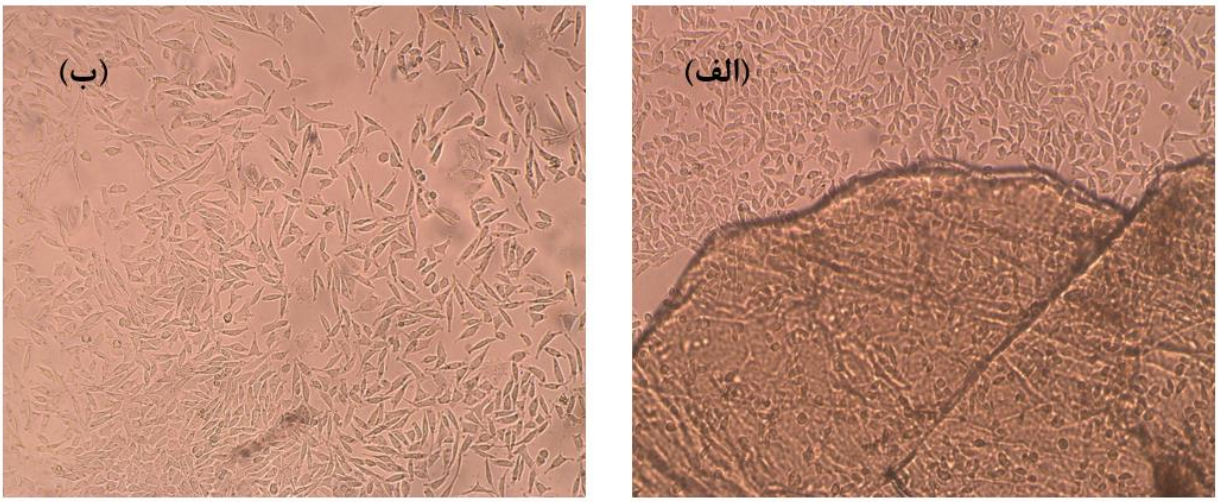


شکل ۴. مقایسه ضخامت و جذب آب نمونه ۱ (سلولز میکروبی خام)، نمونه ۲(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۵٪ و سدیم هیپوفسفیت ۲/۵٪)، نمونه ۳(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۱۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۵٪) و نمونه ۴(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۲۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۱۰٪)

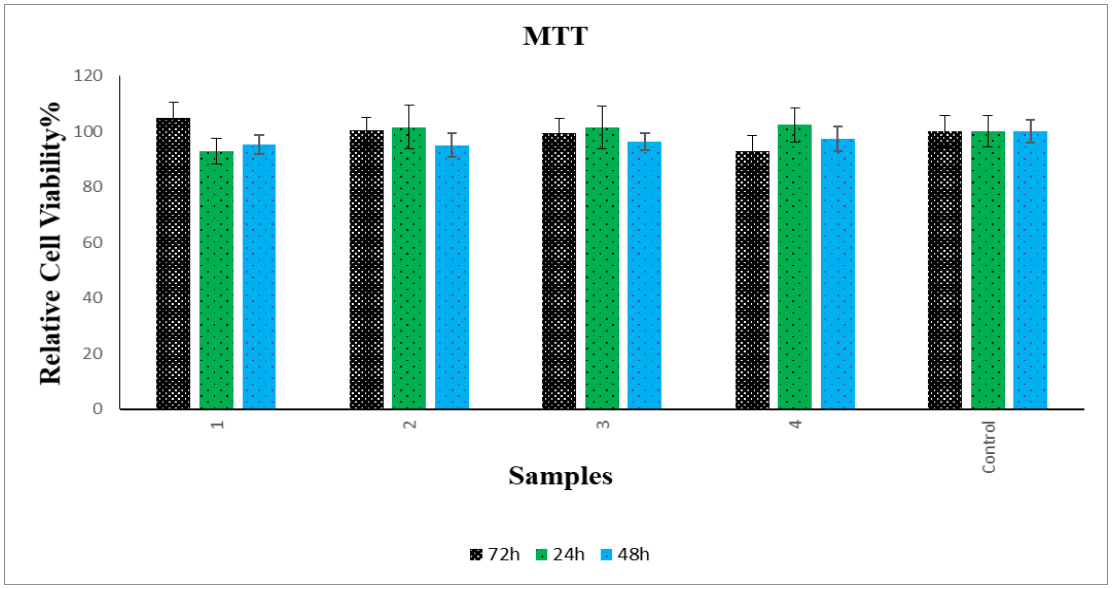
مطالعات بالینی

زخم‌ها را در دو محیط می‌توان درمان کرد: محیط خشک و محیط مرطوب. اما در حال حاضر، در بسیاری از مطالعات به این نتیجه رسیدند که بهبود زخم در یک محیط مرطوب فیزیولوژیکی سریع‌تر صورت می‌گیرد و با حفظ و کنترل رطوبت در زخم فرآیند بهبودی را تسهیل می‌کند. روند اپیتلیزاسیون و بسته شدن زخم در روش مرطوب، دو برابر سریع‌تر شده، تولید کلاژن افزایش یافته و تشکیل بافت گرانوله سرعت می‌یابد و تشکیل عروق خونی جدید با سرعت و شدت بیشتری صورت می‌گیرد (۲۸).
همان‌طور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، روند درمان سلولز میکروبی خام نسبت به پانسمان سریع‌تر صورت گرفته است و نیز سلولز میکروبی ۲۰ درصد کراسلینک شده سریع‌تر از سلولز میکروبی خام درمان را انجام داد؛ در نتیجه سلولز میکروبی ۲۰ درصد کراسلینک شده، آب بیشتری در محیط قرار دارد و محیط دارای رطوبت بیشتری است.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]



شکل ۵. تصاویر میکروسکوپ نوری داربست به همراه سلول (الف) و چاهک کنترل (ب)



شکل ۶. بررسی سمیت سلولی داربست‌های نانوسلولز میکروبی خام و شبکه‌ای شده؛ نمونه ۱(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۵٪ و سدیم هیپوفسفیت ۲/۵٪)، نمونه ۲(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۱۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۵٪)، نمونه ۳(سلولز میکروبی + اسید سیتریک ۲۰٪ و سدیم هیپوفسفیت ۱۰٪) و نمونه ۴(سلولز میکروبی خام)

شکل ۷. تصاویر بهبود زخم (کاهش زخم) در فاصله زمانی روزهای سوم تا پانزدهم و بسته شدن زخم‌های سوختگی نمونه های سلولز میکروبی خام و ۲۰ درصد کراسلینک شده

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

بحث

التیام زخم‌ها، از جمله زخم‌های ناشی از سوختگی در حال حاضر فشار زیادی را بر سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی در سراسر جهان وارد می‌کنند. از میان مواد مختلفی که برای درمان این نوع زخم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، هیدروژل‌ها به طور گسترده‌ای به عنوان پانسمان زخم و در زمینه مهندسی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرند. در واقع رطوبت محتوی هیدروژل‌ها، یک عامل اساسی در روند بهبود زخم است. برهمین اساس، محبوبیت سلولز میکروبی به عنوان یک هیدروژل طبیعی، به دلیل خواص منحصر بفردی چون جذب آب بالا و سازگاری زیستی آن افزایش یافته است. این ویژگی‌های ساختاری سلولز میکروبی، آن را به عنوان پانسمانی مطلوب تضمین می‌کند، در حالی که جایگزین مقرون به صرفه‌ای برای سایر پانسمان های مرطوب و معمولی نیز است؛ چرا که ایجاد محیط مرطوب توسط پانسمان زخم سلولز میکروبی می‌تواند روند بهبود را تسریع کرده و درد بیمار را کاهش دهد.

به کمبود مواد بیولوژیکی مناسب برای پانسمان زخم‌های خاص، سلولز میکروبی این امکان را دارد که در آینده به طور گسترده به عنوان ماده اولیه در مراقبت از زخم مورد استفاده قرار گیرند.

شبکه نانو الیافی سلولز میکروبی، هیدروژل منحصر به فرد است که با توجه به ساختار سه بعدی خود کاربردهای متنوعی را در درمان زخم و مهندسی بافت یافته است. این بیوپلیمر پس از خشک شدن، به دلیل تبخیر آب از فضای بین الیافی و در نتیجه درهم تنیدگی زنجیره‌های پلیمری سلولز، ساختار سه بعدی خود را از دست می‌دهد و منجر به از دست رفتن قابلیت نگهداری آب آن می‌شود و در نتیجه استفاده از آن را با چالش‌هایی روبرو کرده است.

در حال حاضر، مطالعاتی در جهت اصلاح این مشکل انجام شده است تا بتوان سلولز میکروبی را به عنوان پانسمان قوی استفاده کرد؛ از جمله با تغییرات ساختاری، واکنش‌های شیمیایی یا گنجاندن اجزای ثانویه در ساختار سلولز میکروبی که این اصلاحات را می توان در طول فرآیند بیوسنتز و یا پس از آن انجام داد (۲۹).

در واقع در این روش‌ها تلاش شده است تا ظرفیت نگهداری آب در سلولز میکروبی را از طریق افزودن ترکیبات ثانویه آب‌دوست یا تغییر ویژگی‌های ساختاری سلولز میکروبی از جمله افزایش تخلخل و اندازه‌ی حفره‌ها بهبود یابد.

با توجه مطالعاتی که در سال های اخیر در زمینه سلولز میکروبی به عنوان پانسمان زخم انجام شد (۲۱، ۲۲، ۳۶-۳۰)، در این پژوهش تلاش شد با ایجاد اتصالات عرضی بین زنجیره‌های سلولز با استفاده از اسید سیتریک، توانایی این بیوپلیمر در باز جذب آب آن ارتقا یابد تا آن را به پانسمان ایده آل زخم تبدیل کند و سرعت بهبود زخم سوختگی را افزایش دهد. از نتایج به دست آمده مشخص شد که حفظ منافذ و ساختار سه بعدی در ماتریس سلولز میکروبی، نقش اساسی در تسهیل باز جذب آب دارد. این خصوصیت باعث می‌شود که سلولز میکروبی برای استفاده به عنوان پانسمان زخم، نه تنها برای زخم های مزمن، بلکه برای زخم های خشک بسیار امیدوار کننده باشد و محیط مناسبی را برای بهبود سریع این نوع زخم ها فراهم نماید و در عین حال ترشحات اضافی احتمالی را نیز جذب کند. بنابراین سلولز میکروبی کراسلینک شده یک ماده کاربردی منحصر به فرد است که پتانسیل بالایی برای کاربردهای پزشکی از جمله پانسمان زخم دارد.

REFERENCES

1. Czaja W, Krystynowicz A, Bielecki S, Brown RM Jr. Microbial cellulose--the natural power to heal wounds. Biomaterials 2006;27:145-51.
2. Meftahi A, Khajavi R, Rashidi A, Sattari M, Yazdanshenas ME, Torabi M. The effects of cotton gauze coating with microbial cellulose. Cellulose 2010;17:199-204.
3. Gorgieva S, Trček J. Bacterial cellulose: Production, modification and perspectives in biomedical applications. Nanomaterials 2019;9:1-20.
4. Khajavi R, Meftahi A, Alibakhshi S, Samih L. Investigation of Microbial cellulose/Cotton/Silver nanobiocomposite as a modern wound dressing. Adv Mater Res 2014;829:616-621.
5. Lin D, Liu Z, Shen R, Chen S, Yang X. Bacterial cellulose in food industry: Current research and future prospects. Int J Biol Macromol 2020;158:1007-1019.
6. Bianchet RT, Vieira Cubas AL, Machado MM, Siegel Moecke EH. Applicability of bacterial cellulose in cosmetics – bibliometric review. Biotechnol Reports 2020;27:e00502-e00502.
7. Kumar A, Cardia R, Cappellini G. Electronic and optical properties of chromophores from bacterial cellulose. Cellulose 2018;25:2191-2203.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

8. Rosyida VT, Indrianingsih AW, Hayati SN, Apriyana W. The effect of different drying temperature on crystallinity and morphology structure of bacterial cellulose. IOP Conf Ser Earth Environ Sci 2020;462.

9. Cao Y meng, Liu M yu, Xue Z wei, et al. Surface-structured bacterial cellulose loaded with hUSCs accelerate skin wound healing by promoting angiogenesis in rats. Biochem Biophys Res Commun 2019;516:1167-1174.

10. Eslahi N, Mahmoodi A, Mahmoudi N, Zandi N, Simchi A. Processing and Properties of Nanofibrous Bacterial Cellulose-Containing Polymer Composites: A Review of Recent Advances for Biomedical Applications. Polym Rev 2020;60:144-170.

11. Picheth GF, Pirich CL, Sierakowski MR, Woehl MA, Sakakibara CN, de Souza CF, et al. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. Int J Biol Macromol 2017;104:97-106.

12. Sharma C, Bhardwaj NK. Bacterial nanocellulose: Present status, biomedical applications and future perspectives. Mater Sci Eng C 2019;104:109963.

13. Lynd LR, Weimer PJ, Zyl WH Van, Isak S. Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology Microbial Cellulose Utilization : Fundamentals and Biotechnology. Microbiol Mol Biol Rev 2002;66:506-577.

14. 1 .Huang Y, Zhu C, Yang J, Nie Y, Chen C, Sun D. Recent advances in bacterial cellulose. Cellulose 2014;21:1-30.

15. Wang J, Zhu Y, Du J. Bacterial cellulose: A natural nanomaterial for biomedical applications. J Mech Med Biol 2011;11:285-306.

16. Meftahi A, Khajavi R, Rashidi A, Rahimi MK, Bahador A. Preventing the collapse of 3D bacterial cellulose network via citric acid. J Nanostructure Chem 2018;8:311-320.

17. Zahedi E, Esmaeili A, Eslahi N, Shokrgozar MA, Simchi A. Fabrication and characterization of core-shell electrospun fibrous mats containing medicinal herbs for wound healing and skin tissue engineering. Mar Drugs 2019;17:1-13.

18. Qiu Y, Qiu L, Cui J, Wei Q. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-vaccarin membranes for wound healing. Mater Sci Eng C 2016;59:303-309.

19. Mosmann T, DNAX. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65:55–63.

20. Sayed SM, Jia H, Jiang Y, Zhu Y, Ma L, Yin F. Supporting Information Photostable AIE Probes for Wash-Free, Ultrafast, and High-Quality. J Mater Chem B 2021;9: 4303-4308.

21. Ciecholewska-Juśko D, Żywicka A, Junka A, Drozd R, Sobolewski P, Migdał P, et al. Superabsorbent crosslinked bacterial cellulose biomaterials for chronic wound dressings. Carbohydr Polym 2021;253:117247.

22. Mohamad N, Loh EYX, Fauzi MB, Ng MH, Mohd Amin MCI. In vivo evaluation of bacterial cellulose/acrylic acid wound dressing hydrogel containing keratinocytes and fibroblasts for burn wounds. Drug Deliv Transl Res 2019;9:444-452.

23. Gil Giraldo GA, Mantovan J, Marim BM, Kishima JOF, Mali S. Surface Modification of Cellulose from Oat Hull with Citric Acid Using Ultrasonication and Reactive Extrusion Assisted Processes. Polysaccharides 2021; 2:218-233.

24. Awada H, Montplaisir D, Daneault C. Cross-Linking of Papers Based on Thermomechanical Pulp Fibers by Polycarboxylic Acids: In fl uence on the Wet Breaking Length. Ind Eng Chem Res 2014; 11: 4312–4317.

25. Widsten P, Dooley N, Parr R, Capricho J, Suckling I. Citric acid crosslinking of paper products for improved high-humidity performance. Carbohydr Polym 2014;101:998-1004.

26. Grande CJ, Torres FG, Gomez CM, Troncoso OP, Canet-ferrer J, Martínez-pastor J. Development of self-assembled bacterial cellulose – starch nanocomposites. Mater Sci Eng C 2009;29:1098-1104.

27. Wang J, Wan YZ, Luo HL, Gao C, Huang Y. Immobilization of gelatin on bacterial cellulose nano fi bers surface via crosslinking technique. Mater Sci Eng C 2012;32:536-541.

28. Herndon DN, Editor. Total Burn Care. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2012. P.808.

29. Sulaeva I, Henniges U, Rosenau T, Potthast A. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications: A review. Biotechnol Adv 2015;33:1547-1571.

30. Khalid A, Khan R, Ul-Islam M, Khan T, Wahid F. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. Carbohydr Polym 2017;164:214-221.

31. Dmitrović S, Matović B, Tasić N, Maksimović V, Sosnin M, Radotić K. Bacterial cellulose-lignin composite hydrogel as a promising agent in chronic wound healing. Int J Biol Macromol 2018;118:494-503.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]

[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]

32. Rodrigues P, Sousa F De, Saska S, Barud H, Lima LR De, Amaro Martins V De, et al. Bacterial Cellulose / Collagen Hydrogel for Wound Healing. Materials Research 2016; 19: 106-116.

33. Lin WC, Lien CC, Yeh HJ, Yu CM, Hsu SH. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications. Carbohydr Polym 2013;94:603-611.

34. Volova TG, Shumilova AA, Nikolaeva ED, Kirichenko AK, Shishatskaya EI. Biotechnological wound dressings based on bacterial cellulose and degradable copolymer P(3HB/4HB). Int J Biol Macromol 2019;131:230-240.

35. Cacicedo ML, Pacheco G, Islan GA, Alvarez VA, Barud HS, Castro GR. Chitosan-bacterial cellulose patch of ciprofloxacin for wound dressing: Preparation and characterization studies. Int J Biol Macromol 2020;147:1136-1145.

36. Wichai S, Chuysinuan P, Chaiarwut S, Ekabutr P, Supaphol P. Development of bacterial cellulose/alginate/chitosan composites incorporating copper (II) sulfate as an antibacterial wound dressing. J Drug Deliv Sci Technol 2019;51:662-671.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-10-20]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.11.6]

[DOI: 10.52547/iau.32.1.11]