

Investigating the properties of clove eco-printed bacterial nanocellulose as novel wound dressing

Mahshad Sadat Kashef Sabery¹, Amin Meftahi^{2,3}, Mohammad Karim Rahimi⁴

¹ Master of Art, Department of Textile and Clothing Design, Faculty of Art and Architecture, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Textile and Clothing Design, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Nanotechnology Research Center, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medical, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background: Bacterial nanocellulose as a natural hydrogel with unique properties such as high biocompatibility, and non-toxicity has been investigated as a modern dressing in recent years. Accordingly, this research aimed to improve the physical and chemical properties of this biopolymer for biomedical uses by eco-printing clove plant on bacterial cellulose.

Materials and methods: For this purpose, the purified layers of bacterial nanocellulose were printed using different amounts of clove in an eco-print method, and consequently, the properties were investigated with ATR-FTIR, XRD, FESEM, hydrophilicity, and antibacterial activity tests.

Results: The characterization tests confirmed the chemical nature, crystal structure and nanofibrous substrate of bacterial cellulose. Also, the eco-print process did not have a negative effect on the surface hydrophilic properties of the finished samples, and in addition, the water absorption capacity of the sample treated with 10 grams of clove plant was increased by two times compared to the untreated sample. Additionally, all the samples showed antibacterial properties against two Gram-negative (*Escherichia coli*) and positive (*Staphylococcus aureus*) bacteria, while increasing the amount of clove active substance on the samples intensified the antimicrobial properties of the layers. Accordingly, the treated samples with 10 gr of clove resulted in the formation of a 30-mm diameter inhibition zone for both bacteria mentioned above.

Conclusion: Based on the findings of this research, it can be concluded that the bacterial nanocellulose treated with clove plant has a high capacity as a modern environmentally friendly wound dressing.

Keywords: Eco-print, Bacterial cellulose, Modern wound dressing, Clove, Natural dye.

Cited as: Kashef Sabery MS, Meftahi A, Karim Rahimi M. Investigating the properties of clove eco-printed bacterial nanocellulose as novel wound dressing. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2024; 34(2): 112-120.

Correspondence to: Amin Meftahi

Tel: +98 9127758649

E-mail: a_meftahi@azad.ac.ir

ORCID ID: 0000-0003-0375-2550

Received: 31 Jul 2023; **Accepted:** 22 Nov 2023

بررسی خواص لایه نانوسلولز باکتریایی اکوپرینت شده با گیاه میخک به عنوان پانسمن نوین

مهشاد سادات کاشف صابری^۱، امین مفتاحی^{۲،۳}، محمد کریم رحیمی^۴

^۱ کارشناسی ارشد، گروه طراحی پارچه و لباس، دانشکده هنر و معماری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران.

^۲ استادیار، گروه طراحی پارچه و لباس، دانشکده هنر و معماری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

^۳ استادیار، مرکز تحقیقات نانو، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

^۴ دانشیار، گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: نانو سلولز باکتریایی به عنوان یک هیدروژل طبیعی با خواص منحصر به فردی چون زیست سازگاری بالا و عدم سمیت به عنوان یک پانسمن مدرن در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. بر همین اساس، در این پژوهش تلاش شد تا با استفاده از روش چاپ دوستدار محیط زیست (اکوپرینت) گیاه میخک بر روی این بیوپلیمر به بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی آن جهت مصارف بیوپزشکی پرداخته شود.

روش بررسی: بدین منظور لایه های تخلیص شده نانوسلولز باکتریایی با استفاده از غلظت های مختلف گیاه میخک و روش اکوپرینت چاپ شده و خواص آنها با آزمون های *ATR-FTIR*، *FESEM*، *XRD*، سنجش آبدوستی و فعالیت ضد باکتریایی بررسی شد.

یافته ها: نتایج بدست آمده از آزمون های مشخصه یابی ماهیت شیمیایی، ساختار کریستالی و بستر نانوالیافی سلولز باکتریایی را تایید کرد. بر اثر فرآیند چاپ اکوپرینت ظرفیت جذب آب نمونه های عمل شده نسبت به نمونه عمل نشده بیش از دو برابر افزایش و زمان جذب قطره آب را تا تقریباً ۵۰ درصد کاهش داشت. همچنین، همه نمونه های عمل شده دارای خاصیت ضدباکتریایی در برابر دو باکتری گرم منفی (اشریشیا کلای) و مثبت (استفیلوکوکوس اورئوس) بودند و با افزایش مقدار ماده موثره میخک خاصیت ضد میکروبی لایه ها تشدید شد، به طوری که نمونه عمل شده با ۱۰ گرم میخک هاله عدم رشد به قطر تقریبی ۳۰ میلیمتر را برای هر دو باکتری نشان داد.

نتیجه گیری: بر اساس یافته ها می توان گفت که لایه نانو سلولز میکروبی عمل شده با گیاه میخک ظرفیت بالایی را به عنوان یک پانسمن مدرن دوستدار محیط زیست دارد.

واژگان کلیدی: پانسمن نوین، اکوپرینت، سلولز باکتریایی، زخم پوش، میخک، رنگزای طبیعی.

مقدمه

از منابع زیستی است. در همین راستا سلولز باکتریایی با قابلیت تجدیدپذیری، زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری، قادر است طیف گسترده ای از کاربردها را به عنوان یک پانسمن منحصر به فرد ایجاد نماید (۱).

نانوسلولز باکتریایی یک هیدروژل طبیعی متشکل از واحدهای کربوهیدرات است که بیش از ۹۸٪ وزن آن از آب تشکیل شده است. توانایی بالا در جذب مایعات، استحکام بالا در حالت مرطوب و خلوص شیمیایی زیاد از دیگر خواص مطلوب آن برای

بیوتکنولوژی انقلابی در تولید و عرضه مواد با ظرفیت کاربردهای صنعتی در مقیاس بزرگ، به ویژه برای پزشکی، ایجاد کرده است. یکی از کاربردهای مطلوب بیوتکنولوژی تولید زخم پوش

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه طراحی پارچه و لباس، دانشکده هنر و معماری، دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تهران جنوب، امین مفتاحی (email: a_meftahi@azad.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0003-0375-2550

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱

تولید پانسمان به شمار می‌رود (۱). علاوه بر این، فرآیندهای استریلیزاسیون بدون هیچ تغییر ساختاری در این بیوپلیمر انجام می‌گیرد (۲). سلولز باکتریایی ساختاری شبیه به پوست انسان دارد و می‌تواند به عنوان جایگزین پوست در درمان زخم‌های مختلف، بویژه زخم‌های سوختگی استفاده شود (۳، ۴).

فرآیند تولید سلولز باکتریایی یک فرآیند طبیعی است و باکتری‌های مختلفی قادرند با مصرف منبع کربنی محیط کشت سلولز تولید نمایند. در واقع در فرآیند سنتز سلولز ۵ مرحله شناخته شده آزمایشی وجود دارد که در طی آن‌ها با تبدیل گلوکز ۶ فسفات و گلوکز ۱ فسفات به اوریدین دی‌فسفات گلوکز تبدیل می‌شود. در مرحله بعد سلولز سنتتاز اوریدین دی‌فسفات گلوکز را به انتهای زنجیره پلیمری در حال گسترده شدن اضافه کرده و بر طول آن می‌افزاید. باکتری با مصرف مواد کربنی مغزی، مانند قند، زنجیره خطی بتاگلوکز را تولید و از حفره‌های موجود در دیواره سلول باکتری زنجیره گلوکزی را به خارج از سلول منتقل می‌نماید. این عمل دقیقاً مشابه یک نانواکسترودر عمل می‌کند که فیبریل‌های سلولزی را از محیط داخل سلول به فضای خارج سلولی ترشح می‌کند. قطر فیبریل خارج شده ارتباط مستقیمی با اندازه حفره خروجی دارد که منجر به تولید نانومقیاس زنجیره‌ها در رنج ۱۰ تا ۵۰ نانومتری و طول ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر می‌گردد (۵). ساختار شیمیایی این مولکول‌ها همانند سلولز گیاهی است (۶). اما از خلوص بسیار بالایی برخوردار بوده و به خاطر خواص منحصر بفردی چون استحکام مکانیکی بالا، شکل‌پذیری آسان، زیست‌سازگاری مطلوب، قابلیت جذب و نگهداری از مایعات و عدم سمیت از آن در زمینه‌های مختلف پزشکی مانند سیستم‌های انتقال دارو، پوشش زخم، تولید بافت‌های سلولی، بیوسنسور و داربست بافت استفاده می‌شود (۷-۹).

با این وجود، به علت عدم وجود خاصیت ضد باکتریایی در این بیوپلیمر محدودیتهایی در استفاده از آن برای مصارف پزشکی وجود دارد و تحقیقات گسترده‌ای برای رفع این نقصان صورت گرفته است. بر همین اساس محققان متعددی با استفاده از مواد طبیعی همانند کیتوسان، عسل و روغن کنجد و همچنین ترکیبات بشرساخته مانند نانومواد اقدام به تولید انواع پانسمان مدرن با استفاده از سلولز باکتریایی کرده‌اند (۳، ۸، ۱۰-۱۳).

در این میان گیاه میخک به عنوان یک گیاه ضد میکروب مطرح در داروسازی مورد توجه حوزه پزشکی است. میخک یک گیاهان دارویی است که درخت این گیاه در تمام طول سال سبز است. گل‌های این گیاه دارای بوی معطر قوی است و ارتفاع درخت ۱۰ تا ۱۲ متر و گاهی تا ۲۰ متر هم رشد

می‌کند و دارای برگ‌هایی بزرگ با گل‌هایی سرخ است (۱۴). علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی و ضد ویروسی اسانس میخک و برگ میخک نیز گزارش شده است. میخک ضد جهش زایی و ضد التهابی است و اثرات ضد انعقادی و ضد انگلی قابل توجهی نیز دارد (۱۵). عصاره میخک حاوی ۷۲ تا ۹۰ اوژنول است که بیشترین سهم را در عطرآگین بودن میخک دارد. فعالیت ضد باکتریایی را بیشتر به فنل موجود در اوژنول نسبت می‌دهند (۱۶).

بر این اساس، در این مطالعه به بررسی خواص ضدباکتریایی میخک عمل شده بر روی نانو سلولز باکتریایی با استفاده از روش چاپ اکوپرینت (چاپ دوستدار محیط زیست بدون استفاده از سایر مواد شیمیایی و تنها با استفاده از کوبش و بخار) پرداخته شده است. هدف از این کار افزایش توانایی لایه نانو سلولزی در حفظ رطوبت و جلوگیری از رشد پاتوژن‌های باکتریایی در سطح و داخل آن است و ترکیب نانوسلولز باکتریایی و گیاه میخک و همچنین استفاده از روش اکوپرینت برای نفوذ ماده موثره گیاه به داخل لایه سلولزی به عنوان نوآوری این پژوهش شناخته می‌شوند.

مواد و روشها

کشت سلولز میکروبی

جهت آماده سازی محیط کشت از باکتری *استوباکترز/ایلینیوم* PTCC ۱۷۳۴ (تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران) از محیط کشت ساکن هیسترین-شارم (شرکت سیگما آلمان) استفاده شد که از معروف‌ترین محیط های کشت این سویه به شمار می‌رود. به همین منظور پس از آماده سازی محیط کشت، سویه مورد نظر به آن اضافه گردید. سپس درب ظروف بسته شده و محیط کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۴ روز انکوبه شد. پس از سپری شدن زمان مذکور، لایه سلولزی حاصله از محیط کشت خارج و با آب مقطر شستشو گردید (۱۷).

روش تخلیص

لایه‌های سلولز باکتریایی خام همواره دارای ناخالصی‌هایی مانند سلول‌های باقی مانده و ترکیبات محیط کشت هستند و در نتیجه فرآیند تخلیص، این ناخالصی‌ها از فیلم نانوسلولزی تشکیل شده خارج می‌شوند. به همین منظور پلیکل‌های چهارده روزه با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال (شرکت سیگما آلمان) به مدت ۹۰ دقیقه در دمای جوش تخلیص و سپس بعد از خنثی سازی با اسید استیک غیر گلاسیال (شرکت مرک آلمان) با آب

۲,۴,۲ تفرق اشعه ایکس (XRD: X-ray Differentiation) همچنین به منظور شناسایی ساختار کریستالی سلولز باکتریایی از پراش اشعه ایکس (XRD) (شرکت SEIFERT، مدل PTS۳۰۰۳ ساخت آلمان) استفاده گردید.

بررسی ریخت شناسی

به علاوه در این مطالعه برای بررسی ساختار و ریخت شناسی سطح و سطح مقطع نمونه ها از میکروسکوپ SEM (شرکت Philips مدل ۳۰XL ساخت هلند) بهره گرفته شد. همچنین از نرم افزار ImageJ 1.53m جهت ترسیم نمودار هیستوگرام اندازه نانوالیاف استفاده گردید.

ارزیابی خواص ترشوندگی

میزان ظرفیت جذب آب (Water Absorption Capacity)

بر طبق استاندارد BS۳۴۴۹، نمونه ها در شرایط استاندارد محیطی (دمای 21 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۶۵٪) به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و سپس وزن خشک هر یک توزین شده (با ترازو به دقت ۰/۰۰۱) و به مدت یک دقیقه درون بشر حاوی آب مقطر غوطه ور شدند. پس از خروج نمونه ها از درون بشر، به مدت ۱ دقیقه آویزان شده تا آب اضافی از آن ها خارج شود و در مرحله آخر وزن کشتی لایه های خیس انجام گردید و درصد وزن آب جذب شده (W) طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$W = (M_2 - M_1) / M_1 \times 100$$

M₁: وزن نمونه در شرایط استاندارد

M₂: وزن نمونه مرطوب

آزمون سرعت جذب قطره آب

آب دوستی نمونه ها با اندازه گیری زمان لازم برای پخش شدن قطرات آب روی سطوح نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، آب از فاصله ۱ سانتی متری به آرامی بر روی سطح سلولز باکتریایی توسط قطره چکان ریخته شد. میانگین زمان جذب کامل قطره آب با ۵ بار تکرار اندازه گیری و ثبت شد (۸).

آزمون زمان غرق شدن

در آزمون زمان غرق شدن نمونه ها به آرامی روی سطح آب رها شدند و زمان سپری شده تا غرق شدن نمونه و فرو رفتن آن به داخل ظرف ثبت شد. برای اطمینان از نتایج، آزمون با سه بار تکرار انجام گردید و میانگین زمان ثبت شد (۱۰).

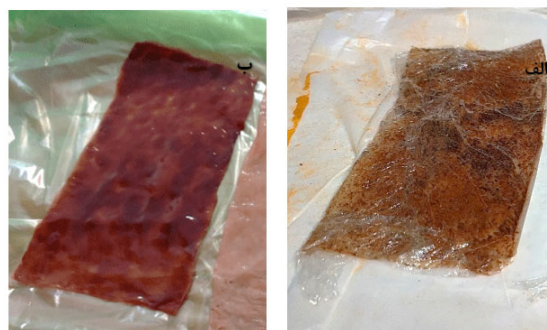
مقطر شستشو شدند تا به pH خنثی رسیدند (۱۸). شکل ۱ لایه های سلولزی خام (دارای رنگ تیره و غیر شفاف به واسطه وجود ناخالصی محیط کشت) و تخلیص شده (رنگ روشن و شفاف) را نمایش می دهد.



شکل ۱. الف) لایه سلولز باکتریایی خام و ب) لایه سلولز باکتریایی شده

روش چاپ

از پودر آسیاب شده میخک (برند سحرخیز) با مقادیر ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم وزن کشتی و به صورت یکنواخت توسط الک با مش شماره ۴۰ بر روی لایه های مرطوب پخش شد به طوریکه کل سطح پوشش داده شد و سپس توسط تیغه فلزی عملیات هم سطح سازی انجام شد (۱۹، ۲۰). هر لایه مطابق شکل ۲ به صورت مجزا در سلفون پیچیده و در مدت زمان ۲ ساعت به صورت باندل در معرض بخار آب قرار گرفت. سپس لایه ها با آب مقطر شسته شده تا مواد اضافه از آن ها جدا و سپس در دمای محیط خشک گردیدند.



شکل ۲. الف) لایه سلولز تخلیص شده حاوی پودر میخک و ب) لایه نانوسلولزی پس از اکوپرینت

مشخصه یابی نمونه ها

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

در این تحقیق به منظور بررسی ساختار شیمیایی نمونه از (Perkin Elmer model Frontier; USA ATR-FTIR) با دقت 1 cm^{-1} و ۱۶ بار اسکن بهره گرفته شد.

آزمون هاله عدم رشد

در این آزمون که از روش‌های سنجش فعالیت آنتی باکتریالی در منسوجات به شمار می‌رود، در شرایط استریل توسط سواپ پنبه‌ای مقداری از کشت سویه های /شریشیاکلائی ATCC ۲۵۹۲۲ و /ستفیلوکوکوس/ورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ (پادتن طب) با درجه کدورت ۰/۵ مک فارلند (حاوی 1.5×10^8 باکتری) در پلیت های حاوی ۵ میلی‌متر نوترینت آگار (کیولب) به صورت چمنی کشت گردید و متعاقباً قطعات ۰/۵×۰/۵ سانتی متری از لایه های اکوپرینت شده، به همراه نمونه خام برش زده شد و به وسیله پنس استریل در سطح پلیت ۱۰ سانتی متری قرار گرفت و با کمی فشار از تماس تمام سطح قطعه مربوطه با آگار اطمینان حاصل گشت. هر پلیت به چهار بخش تقسیم شده است و لایه ها به همراه نمونه خام در هر یک از این قسمت‌ها قرار گرفتند. پلیت ها سپس به صورت وارونه در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و پس از طی دوره انکوباسیون، با استفاده از خط کش، قطر هاله عدم رشد در اطراف نمونه‌ها اندازه گیری و ثبت گردید (۱۰).

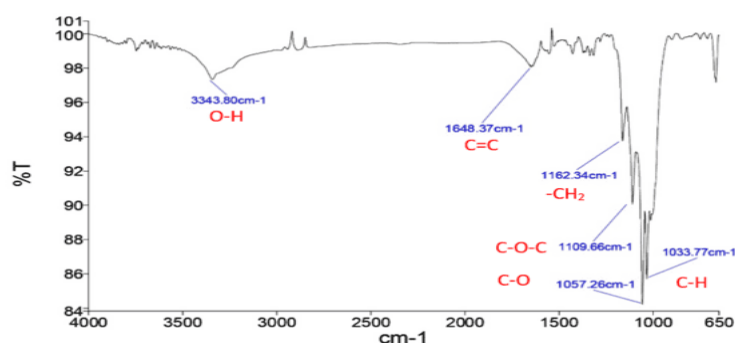
روش های آماری

نتایج حاصله پس از پنج بار تکرار با استفاده از برنامه آماری SPSS و تست آماری ANOVA و در اختلاف سطح آماری معنی دار $p < 0.05$ بررسی شد.

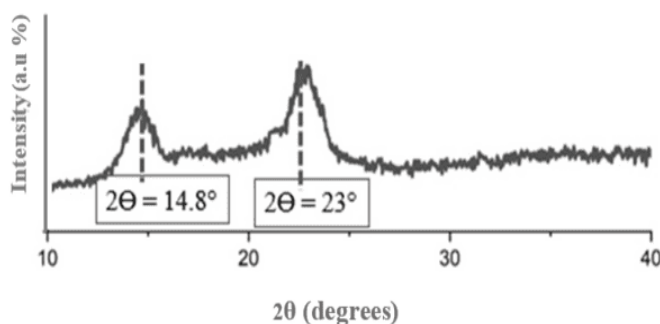
یافته‌ها

نتایج آزمون ATR-FTIR

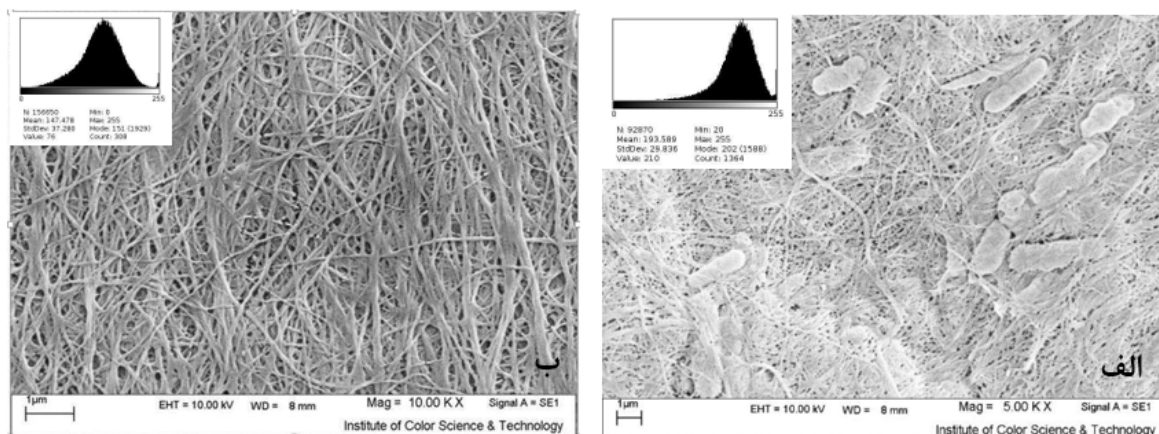
این آزمون که جهت اثبات ساختار سلولزی لایه چاپ شده صورت پذیرفت، با ارائه پیک های مربوطه موید ساختار سلولزی لایه تشکیل شده است. بر اساس پیک های به دست آمده در شکل ۳، پیک‌های شاخص در نواحی $3500-3200$ (مبین جذب بالا و بیانگر وجود عامل $-OH$) و $2800-3000$ cm^{-1} (نیروی کشش پیوند $H-C$) مربوط به ساختار پلی الکل سلولز و پیک های مشاهده شده در $1050-1060$ cm^{-1} و $1100-1200$ cm^{-1} و $900-690$ به ترتیب بیانگر پیوندهای اتری، حلقه سیکلو هگزان و طیف $H-C$ خمشی خارج از صفحه هستند (۴،۸).



شکل ۳. تصویر طیف ATR-FTIR سلولز باکتریایی تخلیص شده



شکل ۴. تصویر نمودار پراش اشعه ایکس سلولز باکتریایی تخلیص شده



شکل ۵. تصویر SEM از سلولز باکتریایی به همراه هیستوگرام اندازه الیاف: الف) نمونه خام، ب) نمونه تخلیص شده

جدول ۱. نتایج حاصل از آزمون‌های تعیین خواص آب‌دوستی

نمونه	ظرفیت جذب آب (%)	زمان جذب قطره (دقیقه)	زمان غرق شدن (دقیقه)
شاهد (عمل نشده)	۴۰.۱	> ۱۵	۴۷
میخک (۲/۵ گرم)	۹۹۲	> ۱۵	۳۹
میخک (۵ گرم)	۹۰۶	> ۱۵	۳۱
میخک (۱۰ گرم)	۸۴۸	> ۱۵	۲۴



شکل ۶. آزمون هاله عدم رشد نمونه‌های سلولز باکتریایی عمل شده با میخک الف) باکتری اشیریشیا کلائی و ب) استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج آزمون XRD

شکل ۴ به ارائه نتایج به دست آمده از آنالیز تفرق اشعه ایکس می‌پردازد. نتایج حاصل از این آنالیز شامل پیک‌های شاخصی در زوایای ۱۴.۸ و ۲۳ (زاویه θ) است که بر وجود ساختار سلولز α (JCPDS NO. 50-2241) دلالت دارد (۲۱، ۲۲).

نتایج آزمون SEM

در شکل‌های ۵ و ۶ تصاویر حاصل از SEM سلولز میکروبی خام و تخلیص شده به همراه هیستوگرام مربوطه قابل مشاهده است. در تصویر الف مورفولوژی سلولز باکتریایی

خام و باکتری‌های موجود در سطح و باقی مانده سایر ناخالصی‌های محیط کشت قابل مشاهده است. تصویر ب سطح لایه تخلیص شده و نحوه قرارگیری نانوالیاف و تخلخل بین آنها نمایان شده است. متوسط قطر الیاف کمتر از ۱۰۰ نانو بوده و تخلخل نیز بر همین مبنا نانومقیاس است. لازم به ذکر است که تخلخل سلولز باکتریایی امکان جذب بالای مایعات را فراهم می‌نماید (۴، ۸، ۲۳، ۲۴).

خواص ترشوندگی

همچنین آزمایش‌های ترشوندگی برای بررسی اثر میخک بر پتانسیل جذب رطوبت نمونه‌ها انجام و نتایج آن در جدول

درصد قابلیت جذب آب بیشتری نسبت به نمونه عمل نشده نشان داد. البته با افزایش میزان رنگزایی میخک میزان جذب آب در نمونه ها اندکی کاهش داشت که علت آن را می توان به حضور ذرات میخک در سطح و کاهش تخلخل سطحی نسبت داد. به علاوه، با افزایش غلظت میخک سرعت غرق شدن نمونه ها نیز افزایش یافت که نشان دهنده بهبود خاصیت آبدوستی سطحی پس از انجام اکوپرینت است. بر اساس نتایج بدست آمده لازم به ذکر است که زمان مورد نیاز برای غرق شدن نمونه عمل شده با ۱۰ گرم میخک، حدود نصف زمان لازم برای فرورفتن نمونه شاهد شد (۲۴، ۲۳).

بر این اساس خاصیت ضد باکتریایی ماده موثره میخک نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت ضد باکتریایی بیشتری را در مقایسه با باکتریایی گرم منفی *شریشیاکلا* نشان داد. این در حالی است که قطر هاله عدم رشد در برابر باکتری گرم مثبت بیشتر از باکتری گرم منفی است و با افزایش غلظت ماده موثره میخک بر روی لایه ها قابلیت بازدارندگی نمونه ها در برابر باکتری های عفونت زا افزایش می یابد. از آنجایی که ماده موثره میخک انژونول این ماده دارای در مواجهه با سلول باکتریایی بر اثر ایجاد پیوند، موجب تخریب ساختار دیواره گشته و منجر به هیدرولیز آن و در نتیجه کاهش بار میکروبی میگردد. همچنین نمونه ها در حضور رطوبت در محیط قادر هستند تا فرآیند رهایش دارو را انجام داده و با افزایش میزان غلظت میخک، میزان انتشار ماده موثره در محیط کشت افزایش یافته و باعث رشد خاصیت ضد باکتریایی نمونه های عمل شده می گردد (۲۸). نمونه های چاپ شده در مواجهه با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز دارای خواص ضدباکتریایی بودند، به طوری که تشکیل هاله های عدم رشد با قطر ۲۶، ۲۷ و ۳۱ میلیمتر به ترتیب برای مقادیر ۲،۵، ۵ و ۱۰ گرم از رنگزا مشاهده شد که با نتایج سایر تحقیقات دارای همبستگی بود (۸، ۱۵، ۲۹، ۳۰).

باتوجه به افزایش نیاز دنیای پزشکی به راه کارهای کم هزینه و پربازده، بیوتکنولوژی به عنوان پاسخی مناسب در حل این نیاز قدم برداشته است. سلولز باکتریایی به عنوان یک پلیمر زیستی توانسته است از سایر بیوپلیمرها در بسیاری از زمینه های پزشکی و بیوپزشکی پیشی بگیرد. خواص آبدوستی قابل توجه که منجر به تامین نیازهای رطوبتی بستر زخم می گردد به همراه زیست سازگاری، استحکام بالا و عدم سمیت زایی، این بیوپلیمر را تبدیل به گزینه ای مناسب برای کنترل شرایط محیطی زخم های مزمن نموده است. بر همین اساس در این پژوهش تلاش شد تا با روش دوستدار محیط زیست

۱ مشخص شده است. بر اساس نتایج مندرج در این جدول، خواص آبدوستی نمونه های چاپ شده با میخک در مقایسه با نمونه عمل نشده افزایش چشمگیری داشته است.

خاصیت ضد باکتریایی

مطالعات انجام شده بر روی سلولز باکتریایی نشان می دهد که این ماده هیچ گونه خاصیت ضد باکتریایی ندارد و برای ایجاد این قابلیت باید از مواد ضد میکروب استفاده نمود (۲۷-۲۵). شکل ۶ و جدول ۲ نتایج به دست آمده از آزمون هاله عدم رشد نمونه های عمل شده با مقادیر ۲،۵، ۵ و ۱۰ گرم میخک را نشان می دهد. نمونه های چاپ شده در مواجهه با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای خواص ضدباکتریایی بودند، به طوری که تشکیل هاله های عدم رشد با قطر ۲۶، ۲۷ و ۳۱ میلیمتر به ترتیب برای مقادیر ۲،۵، ۵ و ۱۰ گرم از رنگزا مشاهده شد. همچنین در مواجهه با باکتری *شریشیاکلا* نیز مقادیر ۲/۵ و ۵ گرم رنگزا، منجر به ایجاد هاله عدم رشد با قطر مشابه به ترتیب ۲۵ و ۲۶ میلیمتر تشکیل شد. قطر هاله عدم رشد در نمونه میخک چاپ شده توسط ۱۰ گرم رنگزا افزایش چشمگیری داشت و به ۳۰ میلی متر رسید.

جدول ۲. نتایج آزمون هاله عدم رشد سلولز باکتریایی عمل شده با میخک

نمونه	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	
	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	<i>شریشیاکلا</i>
شاهد (عمل نشده)	-	-
میخک (۲/۵ گرم)	۲۶	۲۵
میخک (۵ گرم)	۲۷	۲۶
میخک (۱۰ گرم)	۳۱	۳۰

بحث

نتایج به دست آمده در آزمون های مشخصه یابی، ماهیت سلولز باکتریایی را از لحاظ ساختار شیمیایی و ماهیت کریستالی تایید نمود و دارای تطابق کامل با تحقیقات پیشین است (۴، ۸، ۲۱). همچنین، تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی نیز ساختار نانو الیاف و تخلخل نمونه ها را نشان داد (۴، ۸، ۲۳، ۲۴). در بررسی آزمون جذب قطره، سرعت جذب آب برای نمونه خام و نمونه های عمل شده با میخک تغییر خاصی را نداشت اما در آزمون های قابلیت جذب آب و زمان غرق شدن تفاوت آشکاری بین نمونه ها مشاهده می شود؛ بطوریکه نمونه عمل شده با ۱۰ گرم میخک، حدود ۱۱۱

ضدباکتریایی لایه‌های سلولزی می‌گردد. بنابراین با توجه به یافته‌های پژوهش می‌توان گفت که استفاده از روش اکوپرینت گیاه میخک بر روی لایه نانو سلولز میکروبی قادر است ظرفیت بالایی برای تولید پانسمان‌های زخم دوست دار محیط زیست ایجاد نماید.

اکوپرینت و رنگزای طبیعی میخک خواص ضدباکتریایی و آبدوست نانوسلولز باکتریایی برای مصارف پزشکی ارتقا یابد. از این رو در نتیجه این عملیات، لایه حاصله دارای قابلیت‌هایی همچون افزایش خاصیت آبدوستی و ضد باکتریایی گردید. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد افزایش میزان رنگزای میخک در فرآیند اکوپرینت باعث تشدید خاصیت

REFERENCES

- Samyn P, Meftahi A, Geravand SA, Heravi MEM, Najarzadeh H, Sabery MSK, et al. Opportunities for bacterial nanocellulose in biomedical applications: Review on biosynthesis, modification and challenges. *Int J Biol Macromol* 2023;231:123316.
- Klemm D, Schumann D, Udhardt U, Marsch S. Bacterial synthesized cellulose—artificial blood vessels for microsurgery. *Prog Polym Sci* 2001;26:1561–1603.
- Maneering T, Tokura S, Rujiravanit R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydr Polym* 2008;72:43–51.
- Abbasi Geravand S, Khajavi R, Rahimi MK, Shamsini Ghiasvand M, Meftahi A. Investigation on cross-linked nanomicrobial cellulose properties as modern wound dressing. *Medical Sciences* 2022;32:11-20. [In Persian]
- Wang SS, Han YH, Chen JL, Zhang DC, Shi XX, Ye YX, et al. Insights into Bacterial Cellulose Biosynthesis from Different Carbon Sources and the Associated Biochemical Transformation Pathways in *Komagataeibacter* sp. W1. *Polymers (Basel)* 2018;10:963.
- Moradi M, Jacek P, Farhangfar A, Guimarães JT, Forough M. The role of genetic manipulation and in situ modifications on production of bacterial nanocellulose: A review. *Int J Biol Macromol* 2021;183:635-650.
- Blanco Parte FG, Santoso SP, Chou CC, Verma V, Wang HT, Ismadji S, et al. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Crit Rev Biotechnol* 2020;40:397-414
- Meftahi A, Shahriari HR, Khajavi R, Rahimi M.K, Sharifian A. Investigation on nano microbial cellulose/honey composite for medical application. *Mater Res Express* 2020;7: 85003.
- Meftahi A, Samyn P, Geravand SA, Khajavi R, Alibakhshi S, Bechelany M, et al. Nanocelluloses as skin biocompatible materials for skincare, cosmetics, and healthcare: Formulations, regulations, and emerging applications. *Carbohydr Polym* 2022;278:118956.
- Meftahi A, Nasrolahi D, Babaeipour V, Alibakhshi S, Shahbazi S: Investigation of nano bacterial cellulose coated by sesame oil for wound dressing application. *Procedia Mater Sci* 2015;11:212–16.
- Portela R, Leal CR, Almeida PL, Sobral RG. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microb Biotechnol* 2019;12:586-610.
- Khajavi R, Meftahi A, Alibakhshi S, Samih L. Investigation of Microbial cellulose/Cotton/Silver nanobiocomposite as a modern wound dressing. *Adv Mater Res* 2014;829:616–21.
- Gupta A, Briffa SM, Swingle S, Gibson H, Kannappan V, Adamus G, et al. Synthesis of Silver Nanoparticles Using Curcumin-Cyclodextrins Loaded into Bacterial Cellulose-Based Hydrogels for Wound Dressing Applications. *Biomacromolecules* 2020;21:1802-1811.
- Otunola GA. Culinary Spices in Food and Medicine: An Overview of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and L. M. Perry [Myrtaceae]. *Front Pharmacol* 2022;12:793200.
- Parham S, Zargar Kharazi A. Cellulosic textile/clove nanocomposite as an antimicrobial wound dressing: In vitro and in vivo study. *Colloids Surf B Biointerfaces* . 2022;217:112659.
- Hu Q, Zhou M, Wei S. Progress on the Antimicrobial Activity Research of Clove Oil and Eugenol in the Food Antisepsis Field. *J Food Sci* 2018;83:1476-83.
- Angela C, Young J, Kordayanti S, Devanthi PVP. Isolation and screening of microbial isolates from kombucha culture for bacterial cellulose production in sugarcane molasses medium. *KnE Life Sci* 2020:111-27.
- Chawla PR, Bajaj IB, Survase SA, Singhal RS. Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technol Biotechnol* 2009;47:107-24.
- Jallo LJ, Ghoroi C, Gurumurthy L, Patel U, Davé RN. Improvement of flow and bulk density of pharmaceutical powders using surface modification. *Int J Pharm* 2012;423:213-25.

20. Hussin NSM, Ismail AR, Hasbullah SW, Kadir NA, Hassan H. Technology in Textile Dyeing: Resurgence of Natural Dyes from *Adonidia Merillii* (Betel Nuts) Fruits Husk. International Conference on Technology, Engineering and Sciences (ICTES). IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 2023;917:012013.
21. Geravand SA, Khajavi R, Rahimi MK, Ghiyasvand MS, Meftahi A. Improving some structural and biological characteristics of bacterial cellulose by cross-linking. *J Appl Polym Sci* 2022; 139: 52056.
22. Song S, Liu Z, Zhang J, Jiao C, Ding L, Yang S. Synthesis and Adsorption Properties of Novel Bacterial Cellulose/Graphene Oxide/Attapulgite Materials for Cu and Pb Ions in Aqueous Solutions. *Materials (Basel)* 2020;13:3703.
23. 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.
24. Meftahi A, Khajavi R, Rashidi A, Rahimi MK, Bahador A. Enhancement of bacterial cellulose rehydration via BTCA cross-linking. *Bulg Chem Commun* 2018:50.
25. Dincă V, Mocanu A, Isopencu G, Busuioc C, Brajnicov S, Vlad A, et al. Biocompatible pure ZnO nanoparticles-3D bacterial cellulose biointerfaces with antibacterial properties. *Arab J Chem* 2020; 13: 3521–33.
26. Asanarong O, Quan VM, Boonrungsiman S, Sukyai P. Bioactive wound dressing using bacterial cellulose loaded with papain composite: Morphology, loading/release and antibacterial properties. *Eur Polym J* 2021;143: 110224.
27. Lahiri D, Nag M, Dutta B, Dey A, Sarkar T, Pati S, et al. Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *Int J Mol Sci* 2021;22:12984.
28. Mak KK, Kamal M, Ayuba S, Sakirolla R, Kang YB, Mohandas K, et al. A comprehensive review on eugenol's antimicrobial properties and industry applications: A transformation from ethnomedicine to industry. *Pharmacogn Rev* 2019; 19:1–9.
29. Shehabeldine AM, Hashem AH, Wassel AR, Hasanin M. Antimicrobial and Antiviral Activities of Durable Cotton Fabrics Treated with Nanocomposite Based on Zinc Oxide Nanoparticles, Acyclovir, Nanochitosan, and Clove Oil. *Appl Biochem Biotechnol* 2022;194:783-800.
30. Lee YH, Hwang EK, Kim HD. Colorimetric Assay and Antibacterial Activity of Cotton, Silk, and Wool Fabrics Dyed with Peony, Pomegranate, Clove, Coptis chinensis and Gallnut Extracts. *Materials (Basel)* 2009;2:10–21.