



Preparation of Carboxymethyl Cellulose/Calcium Alginate/Polyvinyl Alcohol/Silver Nanocomposite by Electrospinning Method and Its Performance as Wound Dressing

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Farbodi M.^{*1} PhD,
Khoshkbar Sadeghi A.R.² MSc

How to cite this article

Farbodi M, Khoshkbar Sadeghi A R. Preparation of Carboxymethyl Cellulose/Calcium Alginate/Polyvinyl Alcohol/Silver Nanocomposite by Electrospinning Method and Its Performance as Wound Dressing. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(4):593-601.

ABSTRACT

Aims In medicine, nanofiber can be used in wound dressing. The aim of this study was to prepare carboxymethyl cellulose/calcium alginate/polyvinyl alcohol/silver (CMC/Alg/PVA/Ag) nanocomposite by electrospinning method and to investigate its performance as wound dressing.

Materials & Methods In the present experimental study, CMC biofilm was prepared by solution method. Then, calcium alginate/polyvinyl alcohol/silver (Alg/PVA/Ag) nanofiber was prepared by electrospinning method in the optimal conditions and deposited on CMC film. Finally, the possible application of the product as wound dressing and its antibacterial and morphological properties, as well as permeability to water vapor were investigated.

Findings CMC/Alg/PVA/Ag film had more permeability in comparison to Alg/PVA/Ag nanofibers and less water vapor permeability value in comparison to CMC film. The most sensitivity belonged to *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* gram-negative bacteria with inhibition zone diameter of 23mm and 24mm, respectively, and *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus saprophyticus* gram-positive bacteria with inhibition zone diameter of 21mm and 17mm, respectively, for CMC/Alg/PVA/Ag film. Also, the wound with CMC/Alg/PVA/Ag dressing significantly showed more healing speed in comparison to CMC dressings and CMC/Ag.

Conclusion The use of CMC/Alg/PVA/Ag nanocomposite as wound dressing is possible. This dressing, with pores, allows the vapors to flow through the wound secretions, is impermeable to liquids and bacteria, but is permeable to oxygen and vapor; it is not allergenic and does not cause toxicity and chemical stimulation, transparent dressing and the possibility of seeing the wound is easily possible, it provides the moisture level needed for wound healing, it does not stick to the wound and as a result, its replacement is without pain and cheap.

Keywords Carboxymethyl Cellulose; Calcium Alginate; Polyvinyl Alcohol; Silver; Electrospinning; Antibacterial

CITATION LINKS

[1] The effects of montmorillonite and cellulose nanocrystals on physical properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blend films [2] Cellulose nanocrystal-filled carboxymethyl cellulose nanocomposites [3] Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells [4] Controlling of silver nanoparticles structure by hydrogel networks [5] Review on polymer, hydrogel and microgel metal nanocomposites: A facile nanotechnological approach [6] Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles [7] Alginates [8] Handbook of textile fibres, man-made fibres [9] Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films [10] Alginate fibers modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosans for wound dressings [11] Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial-thickness burns [12] Preparation of antimicrobial ultrafine cellulose acetate fibers with silver nanoparticles [13] Antimicrobial effects of silver nanoparticles [14] Antimicrobial and wound healing activity of silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces aureofaciens* [15] The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity [16] Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing [17] Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity [18] Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles

¹Chemistry Department, East Azarbaijan Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
²Chemistry Department, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Correspondence

Address: Chemistry Department, East Azarbaijan Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
Phone: -
Fax: -
m.farbodi@iaut.ac.ir

Article History

Received: July 31, 2016

Accepted: April 26, 2017

ePublished: December 21, 2018

تهیه نانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز/ کلسیم آلژینات/ پلی وینیل الکل/نقره با روش الکتروریسندگی و بررسی عملکرد آن به عنوان پانسمان زخم

مریم فرودی* PhD

گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات آذربایجان شرقی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

علیرضا خشکبارصادقی MSC

گروه شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

چکیده

اهداف: در پزشکی می‌توان از نانوالیاف در ساخت باند زخم استفاده کرد. هدف مطالعه حاضر، تهیه نانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز/کلسیم آلژینات/پلی وینیل الکل/نقره (CMC/Alg/PVA/Ag) با روش الکتروریسندگی و بررسی عملکرد آن به عنوان پانسمان زخم بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر بیوفیلم کربوکسی متیل سلولز در شرایط بهینه به روش ریخته‌گری تهیه شد، سپس نانوالیاف کلسیم آلژینات/پلی وینیل الکل/نقره با روش الکتروریسندگی در شرایط بهینه تهیه و روی فیلم کربوکسی متیل سلولز نشاند. در نهایت امکان کاربرد محصول به عنوان پانسمان در بهبود زخم و ویژگی‌های ضدباکتریایی، مورفولوژیکی و قابلیت نفوذپذیری آن نسبت به بخار آب بررسی شد.

یافته‌ها: فیلم CMC/Alg/PVA/Ag نسبت به فیلم CMC نفوذپذیری کمتری به بخار آب و نسبت به نانوالیاف Alg/PVA/Ag نفوذپذیری بیشتری داشت. بیشترین حساسیت مربوط به باکتری‌های گرم منفی /شریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب با قطر هاله‌های ۲۳ و ۲۴ میلی‌متر و باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس و /استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس با قطر هاله‌های ۲۱ و ۱۷ میلی‌متر برای فیلم CMC/Alg/PVA/Ag مشاهده شد. زخم با پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag به صورت معنی‌داری سرعت بهبودی بهتری نسبت به پانسمان CMC و همچنین پانسمان CMC/Alg نشان داد.

نتیجه‌گیری: استفاده از نانوکامپوزیت CMC/Alg/PVA/Ag به عنوان پانسمان امکان‌پذیر است. این پانسمان با داشتن منافذ اجازه عبور بخارات ناشی از ترشحات زخم را می‌دهد، نسبت به مایعات و باکتری‌ها غیرقابل نفوذ، اما نسبت به اکسیژن و بخار آب نفوذپذیر است، حساسیت‌زا نبوده و سمیت و تحریک شیمیایی ایجاد نمی‌کند، پانسمان شفاف و امکان دیدن زخم زیرین آن به آسانی امکان‌پذیر است، سطح مرطوب مورد نیاز برای ترمیم زخم را فراهم می‌کند، به زخم نمی‌چسبد در نتیجه تعویض آن بدون درد و از نظر هزینه نیز مقرون به صرفه است.

کلیدواژه‌ها: کربوکسی متیل سلولز، آلژینات کلسیم، پلی وینیل الکل، نقره، الکتروریسندگی، ضدباکتری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۶

*نویسنده مسئول: m.farbodi@iaut.ac.ir

مقدمه

بیوپلیمرها توسط سیستم‌های بیولوژیکی مانند میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات تولید می‌شوند و مزایایی مانند مشابهت و یکسانی با بافت میزبان و از طرف دیگر توانایی ارتباط با محیط بیولوژیکی، سمی نبودن و کاهش واکنش‌های التهابی را دارند. پلی‌ساکاریدها از مهمترین بیوپلیمرهای مورد استفاده در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر هستند که از آنها می‌توان سلولز، آلژینات‌ها، کیتوسان و غیره را نام برد[1].

سلولز فراوان‌ترین بیوپلیمر موجود در طبیعت است. سهولت تولید، قیمت کم، زیست‌تخریب‌پذیری بالا و غیره موجب توجه روزافزون به این بیوپلیمر شده است. کربوکسی متیل سلولز (CMC) بیوپلیمری خطی، محلول در آب و یکی از مشتقات سلولز است.

این بیوپلیمر توانایی تشکیل فیلم‌های پایدار، شفاف، پیوسته و یکنواخت را دارد[2]. مطالعات متعددی روی ویژگی‌های فیلم‌های حاصل از کربوکسی متیل سلولز انجام شده است که از آن جمله می‌توان به تولید هیدرژل حاوی نانوذرات فلز (مناسب برای کاربردهای زیست‌پزشکی به‌ویژه پانسمان زخم) اشاره کرد. از معایب عمده CMC برای کاربردهای بالینی و پزشکی می‌توان مقاومت مکانیکی ضعیف فیلم‌های تهیه‌شده از آن و حساسیت زیاد نسبت به رطوبت (به دلیل ماهیت آبدوستی) را نام برد. یکی از راهکارهای ارایه‌شده برای بهبود خواص مذکور استفاده از نانوذرات فلزی در ساختار کربوکسی متیل سلولز است، در صورتی که نانوذرات نقره انتخاب شوند موجب ایجاد خاصیت آنتی‌باکتریایی نیز خواهند شد[3-6].

در این راستا یکی از روش‌های جذاب که در سال‌های اخیر توسعه فراوانی پیدا کرده، ترکیب نانوذرات فلزی با نانوالیاف پلیمری برای تهیه بافت الکتروریسی با روش الکتروریسندگی است. از طرف دیگر، آلژینات کلسیم (Alg) یک پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر و پلی‌ساکاریدی خطی است که معمولاً از جلبک‌های دریایی قهوه‌ای استخراج می‌شود. آلژینات کلسیم از دو واحد مونومری β D-مانورونیک اسید و α -L-گلورونیک اسید تشکیل شده است و بیشتر به‌منظور قوام‌دهندگی، تثبیت، تعلیق، تشکیل فیلم، فیبر و تولید ژل و پایدارسازی امولسیون به کار می‌رود[7-9]. همچنین الیاف تولیدشده از پلیمر طبیعی آلژینات به شکل پارچه‌های بی‌بافت یا بافته‌شده در کاربردهای خاص مانند منسوجات پزشکی استفاده می‌شوند. زخم‌پوش‌های تولیدشده از آلژینات بسیار جذاب رطوبت، سازگار با بدن و زیست‌تخریب‌پذیر هستند و سرعت بهبود و ترمیم زخم‌های پوستی را افزایش می‌دهند[10, 11].

تولید نانوالیاف از پلیمرهای طبیعی مانند آلژینات به روش الکتروریسی معمولاً مشکل‌تر از پلیمرهای مصنوعی است، به‌طوری که الکتروریسندگی آلژینات خالص امکان‌پذیر نیست و گزارشات محدودی در زمینه الکتروریسی آلژینات همراه با پلیمرهای مصنوعی وجود دارد[10].

پلی وینیل الکل (PVA)، پلی‌هیدروکسی محلول در آب است و توانایی تشکیل فیبر سازگار با بدن و با مقاومت شیمیایی و قابلیت تجزیه بیولوژیکی را دارد و می‌تواند با بیوپلیمرهای طبیعی برای بهبود خواص مکانیکی برای فرایند الکتروریسی به کار گرفته شود. از طرف دیگر، نانوفلرات و نانواکسیدهای فلزی مانند نانونقره، نانواکسیدروی، نانودی‌اکسیدتیتانیوم و غیره قابلیت‌های ویژه و منحصر به فردی از جمله قابلیت مهارکنندگی باکتری و قارچ دارند که همین موضوع سبب شده است در سال‌های اخیر این نانومواد گوی سبقت را از مواد شیمیایی ضدباکتری گرفته و خود را به عنوان بی‌نظیرترین مواد ضدباکتری معرفی کنند. کاربرد این نانومواد رواج یافته و امروزه در صنعت نساجی با استفاده از نانوذرات نقره، منسوجات با خاصیت فوق‌العاده قوی ضدباکتری و ضدبو و نیز باثبات در برابر شست‌وشوهای مکرر تولید شده است. در پزشکی نیز می‌توان از نانوالیاف در ساخت باند زخم استفاده کرد. در این باندها معمولاً از پلیمرهای طبیعی خاص استفاده می‌شود که به‌صورت الیاف نانو درآمده‌اند. باندها، هم خاصیت ضدعفونی دارند و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش می‌دهند و هم زخم را سریع‌تر التیام می‌دهند و حتی در صورتی که این پلیمرها به بافت‌های بدن جذب شوند مشکلی برای بیمار ایجاد نمی‌کنند، زیرا زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهند معمولاً در ساخت پانسمان‌های زخم آنتی‌باکتریایی به روش الکتروریسندگی

پلی وینیل الکل محلول‌های پلیمری با غلظت‌های گوناگون در آب مقطر (۲، ۴، ۶ و ۱۰٪ وزنی/وزنی) تهیه و پس از الکتروریسی، ساختارشان به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل MIRA-TESCAN3 (Tescan؛ جمهوری چک) مشاهده شد.

الکتروریسی پلی وینیل الکل/کلسیم آلزینات: الکتروریسی محلول کلسیم آلزینات خالص امکان‌پذیر نیست. بنابراین به منظور تهیه نانوالیاف، این پلیمر با پلی وینیل الکل ترکیب شد. مخلوط‌های آبی از آلزینات کلسیم و پلی وینیل الکل با نسبت‌های مختلف به طور جداگانه آماده شد. برای تهیه نانوالیاف، نسبت‌های ۷۰:۳۰ و ۸۰:۲۰ و ۹۰:۱۰ از آلزینات کلسیم و پلی وینیل الکل آماده و به کار رفت. محلول‌های تلفیقی از پلی وینیل الکل و آلزینات کلسیم با غلظت‌های ۴٪ وزنی برای آلزینات کلسیم و ۷، ۸، ۹٪ وزنی برای پلی وینیل الکل، الکتروریسی شدند.

بنابراین برای تهیه حلال آلزینات کلسیم، به میزان ۲ گرم سدیم کربنات در ۲۵ سی‌سی آب مقطر حل و محلول ۸٪ وزنی/وزنی تهیه شد. سپس یک گرم از پودر آلزینات کلسیم، در محلول سدیم کربنات حل شد و محلول ۴٪ وزنی/وزنی به دست آمد. همان طور که اشاره شد برای تهیه نانوالیاف، نسبت‌های ۷۰:۳۰ و ۸۰:۲۰ و ۹۰:۱۰ از آلزینات کلسیم و پلی وینیل الکل آماده و در سرنگ الکتروریسی ۵ سی‌سی ریخته شد. متغیرهای دستگاه تنظیم (جدول ۱) و سپس فرآیند الکتروریسی شروع شد.

جدول ۱) متغیرهای دستگاه الکتروریسی برای آلزینات کلسیم-پلی وینیل الکل

متغیرها	میزان
ولتاژ	۱۸ کیلوولت
فاصله نازل تا جمع کننده	۱۸ سانتی‌متر
سرعت چرخش درام	۵۰۰ دور بر دقیقه
مسافت اسکن نازل	۱۵۰ سانتی‌متر
دما	۲۵.۰°C
نرخ تزریق	M/h/۲۵

تهیه نانوذرات نقره: برای تهیه نانوذرات نقره، از دستگاه انفجار الکتریکی سیم در محیط پلازما (PNC) مدل PNC8K (پیام‌آوران نانو فناوری فردانگر؛ ایران) استفاده شد. یک سیم نقره به قطر ۰/۲ میلی‌متر با وزن ۵ گرم در ولتاژ ۳۰۰ کیلوولت و با سرعت خوراک دهی ۵/۰ میلی‌متر بر دقیقه و در مدت زمان ۶ دقیقه به منظور تهیه نانوکلوئید نقره به کار رفت و محلول نانوذره (نانوکلوئید نقره) به حجم یک لیتر حاصل شد.

الکتروریسی پلی وینیل الکل/کلسیم آلزینات/نانونقره: چون بهترین شرایط الکتروریسی با محلول ۸٪ وزنی از PVA به دست آمده بود، از همین درصد وزنی برای الکتروریسی پلی وینیل الکل/کلسیم آلزینات/نقره استفاده شد. محلول آلزینات کلسیم به طور جداگانه با ۴٪ وزنی/وزنی در حلال کربنات سدیم تهیه شد با این تفاوت که حلال کربنات سدیم در محلول نانوکلوئید نقره آماده شده است، همچنین برای تهیه محلول پلی وینیل الکل نیز، به جای آب مقطر از نانوکلوئید نقره استفاده شد. هر دو محلول با نسبت ۹۰:۱۰ از آلزینات کلسیم و پلی وینیل الکل به مدت ۶ ساعت روی همزن مغناطیسی به منظور همگن شدن مخلوط، قرار گرفت. سپس محلول ترکیبی از پلی وینیل الکل، آلزینات کلسیم و نانونقره آماده شد. محلول آماده در سرنگ الکتروریسی ۵ سی‌سی ریخته و متغیرهای دستگاه تنظیم (جدول ۲)، سپس فرآیند الکتروریسی شروع شد.

از نانوذرات نقره و یا اکسیدروی استفاده شده است. نانوذرات نقره که به عنوان یک آنتی‌بیوتیک، با خاصیت ضدباکتری قوی شناخته شده موجب علاقه روزافزون پژوهشی در این زمینه شده است [12]. تحقیقات مربوطه نشان می‌دهد که رادیکال‌های آزاد رها شده از سطح نانوذرات نقره می‌توانند به ساختار باکتری‌ها آسیب رساند [13]. علاوه بر این، نانوذرات نقره روی سلول‌های زنده تاثیر منفی ندارد. بنابراین به طور گسترده به عنوان مواد افزودنی در محصولات زیست‌پزشکی، به منظور افزایش توانایی ضد میکروبی مواد استفاده می‌شوند [15، 16]. در پژوهش حاضر بیوفیلم کربوکسی متیل سلولز در شرایط بهینه به روش ریخته‌گری تهیه شد. در مرحله بعد، نانوالیاف کلسیم آلزینات/پلی وینیل الکل/نقره با استفاده از روش الکتروریسندگی در شرایط بهینه تهیه و روی فیلم کربوکسی متیل سلولز نشانداده شد. در نهایت امکان کاربرد محصول به عنوان پانسمان در بهبود زخم و ویژگی‌های ضدباکتریایی، مورفولوژیکی و قابلیت نفوذپذیری آن نسبت به بخار آب بررسی شد.

مطالعه حاضر با هدف تهیه نانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز/کلسیم آلزینات/پلی وینیل الکل/نقره به روش الکتروریسندگی و بررسی عملکرد آن به عنوان پانسمان زخم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر از آلزینات کلسیم (CAS Number: 9005-35-0؛ سیگما آلد ریچ؛ آلمان) با خلوص ۹۹٪، کربوکسی متیل سلولز (مرک؛ آلمان) با خلوص ۹۹/۵٪، کربنات سدیم، (CAS Number: 497-19-8؛ سیگما آلد ریچ؛ آلمان) با خلوص ۹۹٪، پلی وینیل الکل (مرک؛ آلمان) با خلوص ۹۸٪ و با میانگین وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ گرم بر مول، سولفات کلسیم (CAS Number: 7778-18-9؛ سیگما آلد ریچ؛ آلمان)، محیط کشت مولر هینتون آگار (لیوفلکس؛ ایتالیا)، باکتری *شرشیا کلی* (ATCC 25922)، باکتری *کلبسیلا پنومونیه* (ATCC 700603)، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25923)، باکتری *استافیلوکوکوس سایروفیتیکوس* (ATCC 15305)، موش سوری آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد بال‌بسی (Balb/c) با میانگین وزن ۳۳/۰±۷/۰ گرم (موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی؛ کرج؛ ایران) استفاده شد.

روش تهیه فیلم، نانوذره، نانوالیاف و نانوکامپوزیت‌ها به صورت زیر انجام شد:

روش تهیه نانوالیاف پلی وینیل الکل (PVA): محلول‌های پلیمری با غلظت‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰٪ وزنی با افزودن مقدار لازم از پلی وینیل الکل به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و قراردادن آنها روی همزن مغناطیسی به مدت ۲ ساعت، در دمای ۸۰°C تا ۹۰°C تهیه شدند. برای تولید نانوالیاف، محلول‌های پلیمری، تحت شرایط ولتاژ اعمالی ۱۸ کیلوولت، فاصله نوک سوزن تا جمع‌کننده ۱۸ سانتی‌متر و نرخ تغذیه ۲۵/۰ میلی‌لیتر بر ساعت با استفاده از سوزن ۲۲ G (قطر خارجی ۰/۷ میلی‌متر و طول ۳۴ میلی‌متر) به وسیله دستگاه الکتروریسندگی مدل ES1000 الکتروریسی شدند. همچنین، فرآیند الکتروریسی در دمای ۲۵±۵°C و رطوبت نسبی ۳۰ تا ۳۵٪ انجام شد. در عملیات الکتروریسی اگر غلظت محلول خیلی پایین باشد به جای الکتروریسی عملیات الکترواسپری صورت می‌گیرد. اگر غلظت محلول خیلی بالا باشد، به علت افزایش گرانش محلول داخل سرنگ نمی‌تواند به راحتی حرکت کند، بنابراین از

متغیرها	میزان
ولتاژ	۱۸ کیلوولت
فاصله نازل تا جمع کننده	۱۸ سانتیمتر
سرعت چرخش درام	۵۰۰ دور در دقیقه
مسافت اسکن نازل	۱۵۰ سانتی‌متر
دما	۲۵۰°C
نرخ تزریق	M/h/۲۷

روش تهیه بیوفیلیم کربوکسی‌متیل سلولز (CMC) و نانوکامپوزیت کربوکسی‌متیل سلولز/نقره (CMC/Ag): به میزان ۲ گرم از پلیمر کربوکسی‌متیل سلولز به تدریج در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آرامی هم زده شد تا حبابی تشکیل نشود و به همراه هم‌زدن به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۹۰°C حرارت داده شد، سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیگر به آن اضافه شد. پس از حل شدن کامل پلیمر، در پلیت‌های شیشه‌ای دایره‌ای شکل به قطر ۱۰ سانتی‌متر ریخته و در دمای مشخص ۶۰°C خشک و در پایان فیلم جامد تشکیل شده به آرامی از سطح شیشه جدا شد. از همین روش برای تهیه نانوکامپوزیت کربوکسی‌متیل سلولز/نقره با این تفاوت که فقط به جای آب مقطر به عنوان حلال از نانوکلوئید نقره استفاده شد.

روش تهیه کامپوزیت پلی‌وینیل‌الکل و کربوکسی‌متیل سلولز (PVA/CMC): برای تهیه فیلم، ۳/۵ گرم CMC در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و ضمن هم‌زدن روی هم‌زن مغناطیسی، به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۹۰°C حرارت داده شد. به میزان ۰/۳۵ گرم پلی‌وینیل‌الکل در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت جداگانه در ۹۰°C به مدت ۴۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس به محلول CMC اضافه شد و هم‌زدن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵°C ادامه یافت. محلول به دست آمده تا دمای اتاق خنک و درون پلیت شیشه‌ای خشک شد. در نهایت فیلم‌های خشک شده از پلیت جدا شدند.

روش تهیه بیوفیلیم کلسیم آلزینات: به منظور تهیه حلال آلزینات کلسیم مقدار ۲ گرم سدیم کربنات در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد، و حلال ۸٪ وزنی/وزنی از سدیم کربنات آماده شد. سپس مقدار یک گرم آلزینات کلسیم در محلول سدیم کربنات به منظور خارج ساختن حباب‌های هوا در دمای اتاق به مدت ۴ ساعت روی هم‌زن الکتریکی- مغناطیسی دماسنج‌دار، هم زده شد و محلول ۴٪ وزنی/وزنی از آلزینات کلسیم آماده شد. محلول روی صفحات پلکسی‌گلاس در ابعاد ۳۰×۲۰ سانتی‌متر ریخته و با میله شیشه‌ای سطح آن کاملاً یکدست شد. پلیت به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه (دمای ۲۳±۲°C و رطوبت ۵۰±۵٪) به حال خود گذاشته شد تا خشک شود و در نهایت، فیلم به صورت ورقه نازکی از سطح پلیت جدا شد.

روش تهیه بیوفیلیم کربوکسی‌متیل سلولز- نانوالیاف کلسیم آلزینات/نانونقره: به منظور تهیه بیونانوکامپوزیت مورد نظر، بعد از الکترونیسی نانوالیاف آلزینات کلسیم/نانونقره در حد و اندازه مطلوب (مدت زمان الکترونیسی حداقل ۵ الی ۶ ساعت)، نانوالیاف را به آرامی از روی فویل آلومینیومی جدا و روی بیوفیلیم کربوکسی‌متیل سلولز (قبل از خشک شدن کامل) قرار داده شد، سپس در دمای ۵۵°C به مدت ۱۸ ساعت درون آون خشک شد و در پایان فیلم‌های خشک شده از سطح آن جدا شدند.

سنجش نفوذپذیری نسبت به بخار آب: نفوذپذیری فیلم نسبت به بخار آب طبق استاندارد E96 ASTM اندازه‌گیری شد [17]. برای این کار، ظروف شیشه‌ای ویژه‌ای با قطر ۲ و ارتفاع ۴/۵ سانتی‌متر به کار

رفتند. روی درپوش این ظروف منفذی به قطر ۸ میلی‌متر قرار دارد که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این بخش قرار می‌گیرد. ۳ گرم کلرید کلسیم که رطوبت نسبی (RH) معادل صفر ایجاد می‌کند درون ظرف‌ها قرار گرفت. ابتدا فیلم‌ها در رطوبت نسبی ۵۵٪ که با استفاده از نیتريت کلسیم ایجاد می‌شود، به مدت ۲۴ ساعت شرایط دهی شدند، سپس قطعه‌ای از فیلم داخل درپوش ظرف شیشه‌ای قرار داده شد. ظروف شیشه‌ای همراه با محتویات آن توزین و درون دسیکاتور حاوی آب مقطر قرار گرفت. آب مقطر در دمای ۲۵°C، رطوبت نسبی ۱۰۰٪ ایجاد می‌کند. دسیکاتور درون انکوباتور مدل Innova-CO-170 با دمای ۲۵±۱°C قرار گرفت و به مدت یک هفته هر ۲۴ ساعت یک‌بار ظروف توزین شدند. تشخیص مقدار بخار آب انتقال یافته از روی افزایش وزن ظرف‌ها صورت گرفت. منحنی افزایش وزن ظرف‌ها با گذشت زمان رسم و پس از محاسبه برگشت خطی، شیب خط حاصل محاسبه شد. از تقسیم شیب خط مربوط به هر ظرف به سطح کل فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار دارد، سرعت انتقال بخار آب (WVTR) محاسبه و سپس با استفاده از معادله $WVP = \frac{WVTR}{P(R1-R2)} \times X$ نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) محاسبه شد. در این معادله X ضخامت فیلم، p فشار بخار آب خالص در ۲۵°C، R1، R2 رطوبت نسبی در سیکاتور (۱۰۰٪) و R2 درصد رطوبت نسبی داخل ظرف شیشه‌ای است. این آزمون برای هر یک از نمونه‌ها سه بار تکرار شد. برای اطمینان از یکسان بودن ضخامت فیلم‌های مورد آزمون، ضخامت آنها توسط میکرومتر و در ۵ نقطه از فیلم اندازه‌گیری شد.

تست آنتی‌باکتریال: از سویه‌های استاندارد باکتری‌های گرم منفی شامل *اشریشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه* و گرم مثبت شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* برای کشت در محیط بلاآگار و EMB (اُتوزین متیلن بلو آگار) استفاده شد. لازم به ذکر است با توجه به اینکه احتمالاً فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های تهیه شده تحت تاثیر دیواره سلولی باکتری‌ها قرار گیرد، بنابراین آزمایشات روی هر دو گروه، گرم مثبت و گرم منفی انجام شد. در محیط EMB باکتری‌های گرم منفی کشت داده شد و اجازه رشد گرم مثبت را نمی‌دهد. در محیط بلاآگار (استفاده از خون گوسفند به عنوان ماده مغذی)، باکتری‌های گرم مثبت کشت داده شد و اجازه رشد گرم منفی را نمی‌دهد.

در این مرحله ابتدا به وسیله یک آنس سترون شده مقداری از باکتری برداشته و روی سطح محیط پیش ریخته به صورت خط‌های موازی و در چند جهت کشیده شد. سپس محیط‌های آماده شده به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷°C در انکوباتور قرار داده شد. به وسیله پانچر دیسک‌های دایره‌ای شکل به قطر ۵ میلی‌متر از نمونه‌های مورد نظر جدا شدند. سپس دیسک‌ها روی محیط مولر با فاصله مشخص از یکدیگر قرار گرفتند. بعد از دیسک‌گذاری، پلیت‌ها در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده سپس با استفاده از خط‌کش دقیق، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [18].

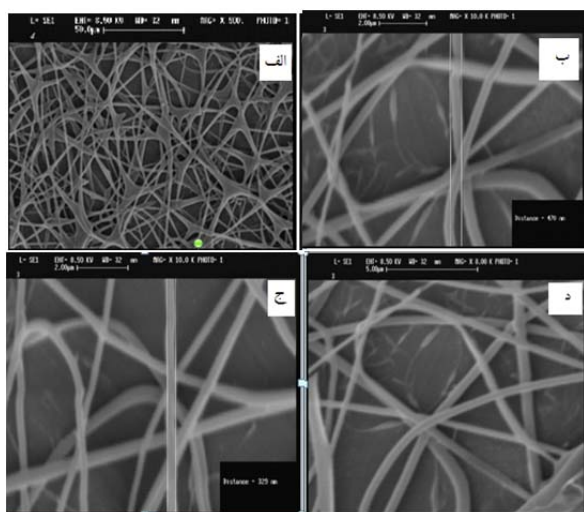
بررسی اثر پانسمان در بهبودی زخم ایجاد شده در موش سوری نر بالغ: این مطالعه تجربی روی موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد سوری بآل‌سی با میانگین وزن ۳۳±۷ گرم انجام شد. در این مطالعه موش‌ها در شرایط استاندارد، ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی (در دمای ۲۳±۲°C) و آب و غذای کافی نگهداری شدند. تمامی آزمایشات و تجربیات صورت گرفته براساس دستورالعمل

یافته‌ها

نتایج الکتروریسی آلزینات کلسیم: در درصدهای بالا (۴٪ وزنی/وزنی) به علت گرانی بسیار زیاد، محلول آلزینات کلسیم به سختی از نوک نازل خارج شد و حتی جهشی روی جمع کننده صورت نگرفت و با اعمال ولتاژ بالاتر و نیز کاهش دما و فاصله نازل تا جمع کننده تغییری ایجاد نشد. در درصدهای پایین نیز (۱٪ W/W) تنها تعداد اندکی از قطرات به علت ولتاژ بالا و نزدیکی فاصله روی صفحه جمع کننده اسپری شد و به جای الکتروریسی عملیات الکترواسپری صورت گرفت و به جای نانوالیاف، نانوذرات تشکیل شد. در نتیجه به منظور بررسی امکان تولید نانوالیاف آلزینات کلسیم از مخلوط این پلیمر با پلیمر پلی وینیل الکل با نسبت های مختلف استفاده شد.

نتایج الکتروریسی پلی وینیل الکل (PVA) و تهیه نانوالیاف آن: در غلظت ۲٪ وزنی/وزنی پلی وینیل الکل در آب مقطر، به دلیل گرانی بسیار پایین محلول، امکان الکتروریسی محلول های پلیمری وجود نداشت و مخروط تیلور روی نوک سوزن ایجاد نشد. به منظور تشکیل نانوالیاف، تشکیل مخروط تیلور الزامی بود.

در غلظت ۴٪ وزنی/وزنی گرانی محلول بسیار پایین تر از آن حدی بود که بتواند نانوالیاف بدون نقص تولید کند. از سوی دیگر، وجود مقدار بسیار زیاد آب مقطر به عنوان حلال در آن و در نتیجه، انباشته شدن میزان زیاد بار در جت سیال، منجر به تولید نانوالیاف شاخه ای و همچنین غیریکنواختی قطر، در نانوالیاف تولیدی شد (شکل ۲: الف).



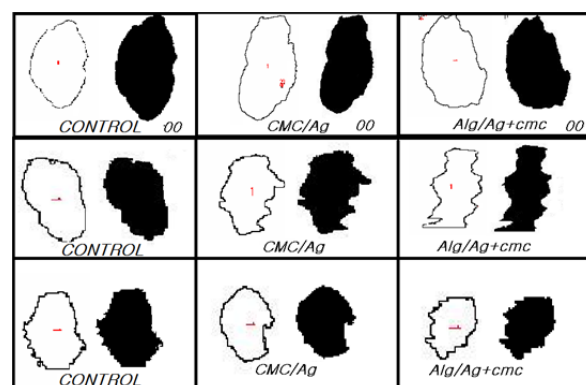
شکل ۲) تصویر SEM مربوط به نانوالیاف پلی وینیل الکل: الف) غلظت ۴٪ وزنی/وزنی، ب) غلظت ۶٪ وزنی/وزنی، ج) غلظت ۸٪ وزنی/وزنی، د) غلظت ۱۰٪ وزنی/وزنی

با افزایش غلظت محلول به مقدار ۶٪ وزنی/وزنی امکان تولید نانوالیاف مداوم و مطلوب از محلول پلیمری فراهم شد و متوسط قطر نانوالیاف در این شرایط به مقدار ۳۲۹ نانومتر افزایش یافت. همچنین با افزایش بیشتر غلظت محلول به ۸٪ وزنی/وزنی به دلیل افزایش گرانی محلول به میزان کافی، امکان تولید یک جت پایدار از قطره تولیدی در نوک سوزن امکان پذیر و از این رو، نانوالیاف تولیدی در این حالت نیز ظریف و بدون هر گونه نقص ساختاری بودند. همچنین، در غلظت ۸٪ نیز متوسط قطر الیاف به ۴۷۰ نانومتر افزایش یافت که به دلیل افزایش گرانی محلول پلیمری بود (شکل ۲: ب و ج).

الیاف پیوسته PVA در غلظت ۸٪ وزنی/وزنی با موفقیت

کمیت کار با حیوانات آزمایشگاهی و با حفظ قواعد و ضوابط و توصیه های کمیت تحقیقات بیمارستان و توصیه های دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، طراحی و به کار گرفته شد. نحوه آزمایش روی حیوان بدین صورت بود که یک ساعت قبل از بیهوشی، از غذا محروم شدند. سپس با استفاده از ماده بیهوشی اسپرومازین (یک میلی گرم بر کیلوگرم) + زایلازین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) + کتامین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق عضلانی (IM) بیهوش و سپس به وسیله دستگاه الکتریکی موهای ناحیه پشت به طور کامل اصلاح شد. سپس پوست حیوان را به وسیله پنس بالا آورده و با پانچ مخصوص جراحی، ۳ زخم مدور و مساوی به مساحت تقریبی 50 ± 0.75 میلی متر با برداشت ضخامت کامل پوست (جدا کردن کامل با عمق اپیدرم و هیپودرم) در ناحیه خارجی و در دو طرف ستون مهره ها ایجاد و ناحیه با الکل-بتادین کاملاً اسکراب شد. روز ایجاد زخم، روز صفر در نظر گرفته شد. سپس با استفاده از قلم روان نویس و ورق شفاف، محیط زخم در روز صفر رسم و با استفاده از کاغذ میلی متری، مساحت زخم اندازه گیری شد. سپس زخم ها شماره گذاری (a, b, c) و پانسمان ها در ابعاد یک سانتی متر مربع از روی فیلم های تهیه شده جدا شدند. پانسمان ها به ترتیب شماره گذاری روی زخم ها قرار گرفتند و برای پانسمان شاهد (a) که در حکم گروه کنترل بود، بعد از ایجاد زخم، فقط با آب مقطر دوبار تقطیر و گاز وازلین پانسمان شد. نحوه شماره گذاری پانسمان ها به ترتیب A: پانسمان شاهد، B: CMC/Ag و C: Alg/PVA/Ag+CMC بود.

روش اندازه گیری مساحت و سنجش بهبود زخم: برای ارزیابی روند بهبود زخم، مساحت زخم از سومین روز بعد از ایجاد زخم (روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲) تا بهبودی کامل با استفاده از گذاشتن شیشه شفاف تخت (جهت یکنواخت کردن سطح خلف موش) که در زیر آن خط کش مدرج قرار گرفته بود، عکس زخم به همراه خط کش مدرج با دوربین دیجیتال نیکون D ۳۰۰ و لنز ماکرو ۶۰ میلی متری نیکون با درجه بزرگنمایی ۱:۱۰ و فاصله ۸۰ سانتی متری گرفته شد. سپس تصاویر به کامپیوتر منتقل و مساحت زخم هر مورد با نرم افزار IMAGE J ویرایش و پس از کالیبره کردن تعیین شدند (شکل ۱).

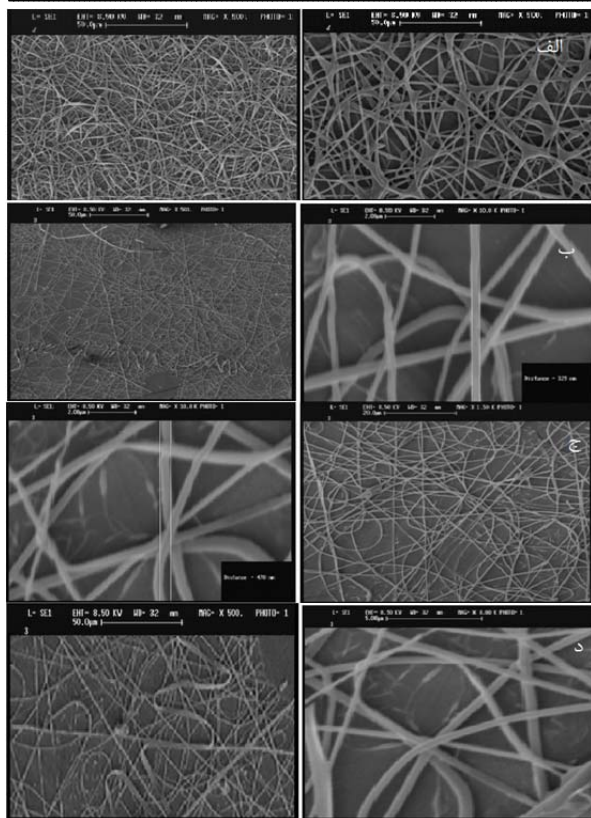


شکل ۱) بررسی روند کاهش مساحت سطح زخم توسط نرم افزار image j

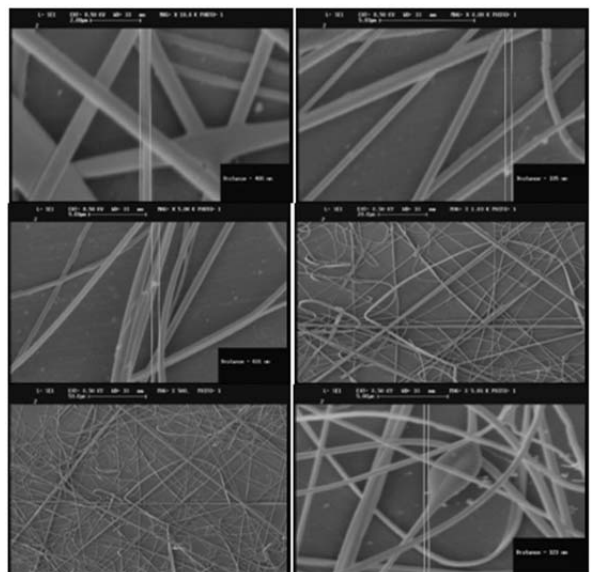
سپس با استفاده از فرمول

$$100 \times \frac{\text{مساحت زخم در روز } X - \text{مساحت زخم در روز اول}}{\text{مساحت زخم در روز اول}} = \text{درصد زخم}$$

درصد بهبودی زخم ارزیابی شد. طول دوره بهبودی شامل مدت زمانی بود که زخم های ایجاد شده در موش به طور کامل بسته شود و مساحت آن به صفر رسد.



شکل ۴) تصاویر SEM مربوط به نانوالیاف پلی‌وینیل‌الکل: الف) ۴٪ وزنی/وزنی، ب) ۶٪ وزنی/وزنی، ج) ۸٪ وزنی/وزنی، د) ۱۰٪ وزنی/وزنی



شکل ۵) تصاویر SEM نانوالیاف پلی‌وینیل‌الکل/کلسیم آلزینات به همراه نانوذرات نقره (قطر نانوذرات نقره بین ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر)

بررسی نتایج نفوذپذیری نسبت به بخار آب: مقدار بخار آب انتقال‌یافته از روی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت مدت زمان سه روز، برای فیلم‌های تهیه‌شده، اندازه‌گیری و ثبت شد که مقدار افزایش وزن ویال‌ها نسبت به وزن اولیه به دست آمد. منحنی افزایش وزن ظرف‌ها با گذشت زمان رسم و شیب خط حاصل محاسبه شد (نمودار ۱).

فیلم کربوکسی‌متیل سلولز بیشترین قابلیت نفوذپذیری نسبت به بخار آب و نانوالیاف Alg/PVA/Ag کمترین قابلیت نفوذپذیری

الکتروریسی شد. همچنین بهترین غلظت برای تهیه نانوالیاف پلی‌وینیل‌الکل ۸٪ وزنی/وزنی بود.

الیاف تولیدی در غلظت ۱۰٪ وزنی/وزنی ساختار مسطح داشتند و ظاهر آنها از حالت یکنواخت به نانوالیاف مسطح تبدیل شد. علت این امر، عدم امکان تیخیر کامل حلال در فاصله بین نوک نازل تا جمع‌کننده به دلیل قطر بالای جت سیال بود. میانگین قطر نانوالیاف در این حالت به ۴۹۷ نانومتر رسید (شکل ۲: د).

بررسی نتایج الکتروریسی پلی‌وینیل‌الکل (PVA)/کلسیم آلزینات/نانونقره: نانوالیاف آلزینات‌کلسیم زمانی تولید شد که درصد پلیمر پلی‌وینیل‌الکل در ترکیب افزایش یافته بود. در نسبت ۷۰:۳۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم) الیاف، همراه با گره (مهره) دیده شد (شکل ۳).

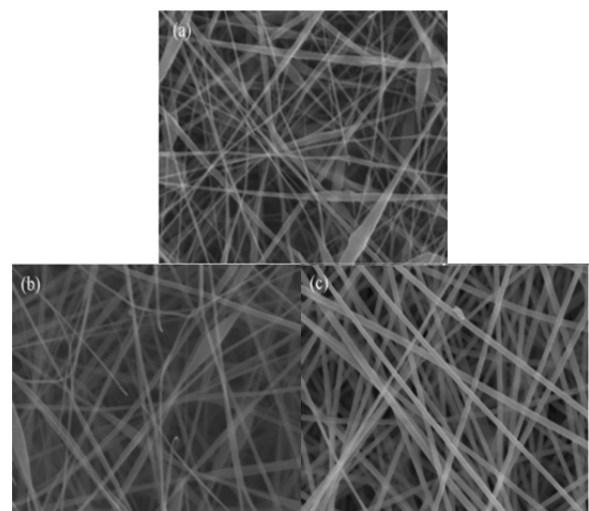
تعداد گره‌ها با نسبت آلزینات‌کلسیم و پلی‌وینیل‌الکل در مخلوط، تغییر کرد، به طوری که در نسبت ۸۰:۲۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم)، الیاف همراه با مهره همچنان دیده شد، اما دانه‌ها کاهش یافت. در نسبت ۹۰:۱۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم)، الیاف یکنواخت اما دانه‌ها تنها در چند نقطه مشاهده شدند (شکل ۳).

بهترین تناسب برای مخلوط پلیمرهای پلی‌وینیل‌الکل و آلزینات‌کلسیم، نسبت ۹۰:۱۰ بود و الکتروریسندگی مخلوط دو پلیمر خواص ترکیبی از هر دو پلیمر را ایجاد کرد.

با تغییر پارامترهای دستگاه الکتروریسی از جمله ولتاژ الکتریکی، فاصله نازل تا جمع‌کننده، دما و غیره و همچنین تغییر پارامترهای محلول پلیمر مانند غلظت، قطر نانو الیاف الکتروریسی شده و مورفولوژی آنها تغییر کردند (شکل ۴).

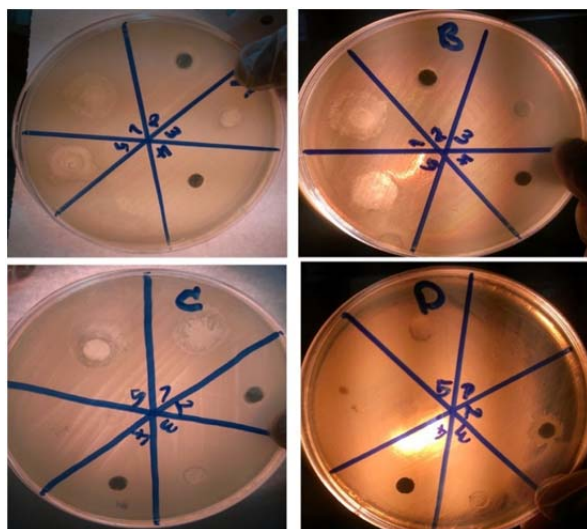
در یک ولتاژ اعمال‌شده ثابت ۱۸ کیلوولت و فاصله نوک نازل تا کلکتور ۱۸ سانتی‌متر، غلظت‌های مختلف از پلیمر (کمتر از ۲٪، ۴٪، ۶٪، ۸٪ و ۱۰٪) الکتروریسی شدند. درصد وزنی ایده‌آل برای به دست آوردن الیاف پلی‌وینیل‌الکل نازکتر و یکنواخت ۸٪ وزنی بود.

نانوذرات نقره به خوبی روی نانوالیاف آلزینات‌کلسیم نشانده شده‌اند و پراکندگی مناسبی در سطح داشتند. همچنین اندازه ذرات در پایین شکل گویای تشکیل مناسب نانوذرات نقره بود. اندازه نانوذرات نقره بین ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر به دست آمد (شکل ۵).



شکل ۳) تصاویر SEM مربوط به نسبت‌های مختلف از مخلوط پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم، (a) نسبت ۷۰:۳۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم) الیاف همراه با گره (مهره)، (b) نسبت ۸۰:۲۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم) و الیاف همراه با مهره (دانه‌ها کاهش یافته است)، (c) نسبت ۹۰:۱۰ (پلی‌وینیل‌الکل/آلزینات‌کلسیم)، الیاف یکنواخت

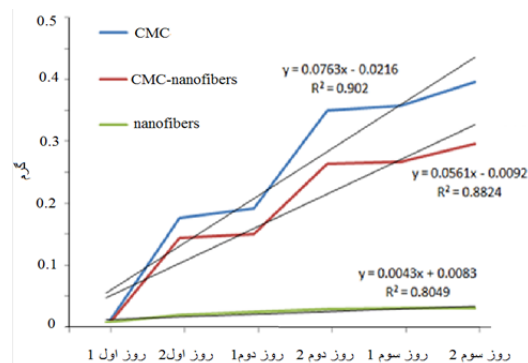
تست آنتی باکتریال: بیشترین حساسیت مربوط به باکتری‌های گرم منفی /اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب با قطر هاله‌های ۲۳ و ۲۴ میلی‌متر و باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس با قطر هاله‌های ۲۱ و ۱۷ میلی‌متر برای فیلم حاوی نانوالیاف CMC-Alg/PVA/Ag به دست آمد بیوفیلم CMC/PVA/Ag نیز بعد از فیلم CMC/Alg/PVA/Ag بیشترین تاثیر را روی باکتری‌های گرم منفی نشان داد (جدول ۳). فیلم کربوکسی متیل سلولز در هر چهار باکتری، هاله عدم رشد با حساسیت متفاوت داشت. که در مقایسه با نمونه‌های دیگر دارای کمترین حساسیت نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بود (شکل ۶). با اضافه شدن نانوذرات نقره به بیوفیلم کربوکسی متیل سلولز، خاصیت آنتی باکتریالی، مخصوصاً در باکتری‌های گرم منفی افزایش یافت (جدول ۳).



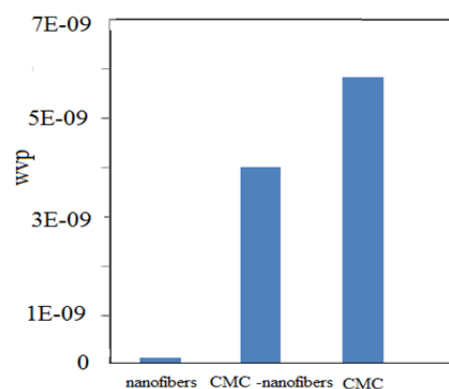
شکل ۶ نمونه فیلم‌های تهیه شده در حضور باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت؛ (۱) CMC-Alg/PVA/Ag، (۲) CMC/Ag، (۳) CMC، (۴) nanofibers، (۵) CMC/PVA/Ag، (۶) Alg/PVA/Ag، (۷) *Staphylococcus sapropheticus* (D)، *Staphylococcus aureus* (C)، *Kleb.pneumonia* (B)، *Escherichia coli* (A)

نسبت به بخار آب را داشت، در حالی که نمونه پانسمان CMC-Alg/PVA/Ag، که تلفیقی از فیلم کربوکسی متیل سلولز و نانوالیاف Alg/PVA/Ag بود، نسبت به کربوکسی متیل سلولز نفوذپذیری کمتر و نسبت به نانوالیاف نفوذپذیری بیشتری داشت (نمودار ۲).

افزودن فیلم نانوالیاف به فیلم کربوکسی متیل سلولز موجب کاهش نفوذپذیری آن شد. علت این امر پایین بودن قابلیت نفوذپذیری نانوالیاف نسبت به بخار آب بود.



نمودار ۱ منحنی افزایش وزن طرف‌ها با گذشت زمان



نمودار ۲ نفوذپذیری نسبت به بخار (WVP)

جدول ۳ نتایج قطر هاله عدم رشد برای سوبه‌ها و فیلم‌های مختلف

CMC-Alg/PVA/Ag	Alg/PVA/Ag نانوفیبر	CMC/PVA/Ag	CMC/Ag	CMC	
۲۳	----	۱۷	۱۵	۱۳	(A) اشریشیا کلی (-)
۲۴	----	۱۷	۱۳	۱۱	(B) کلبسیلا پنومونیه (-)
۲۱	----	۱۳	۱۲	۱۲	(C) استافیلوکوکوس اورئوس (+)
۱۷	----	۱۲	۱۲	۱۰	(D) استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (+)

پانسمان شده با CMC/Alg/PVA/Ag برابر با ۲۸۵/۰ میلی‌متر مربع مشاهده شد.

مساحت سطح زخم در روز سوم در پانسمان شاهد کمتر از سایر پانسمان‌ها بود (جدول ۴) در روز ششم کمترین مساحت زخم را پانسمان CMC-Alg/PVA/Ag داشت و همچنین سطح زخم در پانسمان CMC/Ag دارای بیشترین مساحت بود. در روز نهم نیز شرایط مشابه روز ششم مشاهده شد با این تفاوت که درصد بهبودی در پانسمان CMC/Ag روند افزایشی قابل توجهی داشت. در روز دوازدهم نیز مانند روز نهم کمترین مساحت زخم مربوط به پانسمان CMC-Alg/PVA/Ag بود، با این تفاوت که بیشترین مساحت زخم مربوط به پانسمان شاهد دیده شد و پانسمان CMC/Ag درصد رشد بهبودی خوبی از خود نشان داد.

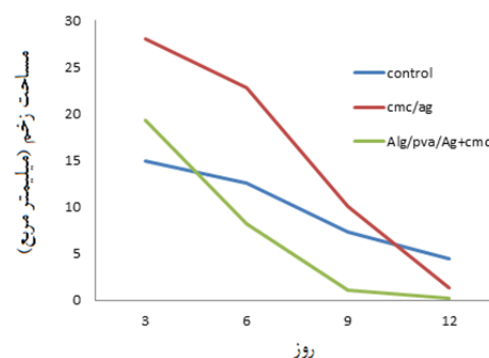
در فیلم CMC/PVA/Ag با اضافه شدن پلی وینیل الکل به بیونانوکامپوزیت CMC/Ag، خاصیت آنتی باکتریایی در باکتری‌های گرم منفی افزایش یافت، اما در باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، در مقابل این پلیمر تغییری در اندازه قطر هاله عدم رشد نسبت به بیونانوکامپوزیت CMC/Ag مشاهده نشد.

هاله عدم رشد در نانوالیاف آلزینات/کلسیم/پلی وینیل الکل/نقره، در تست خاصیت آنتی باکتریایی، مشاهده نشد.

بررسی اثر پانسمان در بهبودی زخم ایجاد شده در موش سوری نر بالغ: پس از ۱۲ روز مشاهده شد که سطح زخم شاهد، در پایان روز دوازدهم برابر ۴/۴۶ میلی‌متر مربع بود. در حالی که، مساحت زخم پانسمان شده با CMC/Ag برابر با ۱/۳۸ میلی‌متر مربع و در زخم

روز بعد	روز بعد	روز بعد	روز بعد	گروه کنترل
۱۲	۹	۶	۳	مساحت (میلی متر مربع) بهبودی (درصد)
۴/۴۶ ۹۱/۲۵	۷/۳۶ ۸۴/۴۹	۱۲/۵۸ ۷۵/۲۰	۱۴/۹۵ ۷۰/۵۲	
روز بعد	روز بعد	روز بعد	روز بعد	گروه CMC+Ag
۱۲	۹	۶	۳	مساحت (میلی متر مربع) بهبودی (درصد)
۱/۳۸ ۹۷/۲۸	۱۰/۵۲ ۸۰/۲۰	۲۲/۷۵ ۵۵/۱۸	۲۸/۰۰ ۴۴/۸۵	
روز بعد	روز بعد	روز بعد	روز بعد	گروه CMC +Alg/PVA/Ag
۱۲	۹	۶	۳	مساحت (میلی متر مربع) بهبودی (درصد)
۰/۲۸ ۹۹/۴۴	۱/۰۶ ۹۷/۹۲	۸/۲۲ ۸۳/۸۱	۱۹/۳۶ ۶۱/۹۶	

زخمی که تحت پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag قرار گرفته بود به صورت معنی داری سرعت بهبودی بهتری نسبت به پانسمان شاهد و همچنین پانسمان CMC/Ag داشت (نمودار ۳). همچنین زخمی که با نانوکامپوزیت CMC-Alg/PVA/Ag پانسمان شده بود، حالت جمع شدگی و خشک شدگی بهتری نسبت به پانسمان معمولی داشت.



نمودار ۳) نمودار مقایسه اثر بهبودی زخم در گروه پانسمان شده با CMC/Ag و Alg/PVA/Ag+CMC و گروه شاهد بر حسب زمان

بحث

مطالعه حاضر با هدف تهیه نانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولوز/کلسیم آلزینات/پلی وینیل الکل/نقره به روش الکتروریسندگی و بررسی عملکرد آن به عنوان پانسمان زخم انجام شد.

در مطالعه حاضر نانوالیاف کلسیم آلزینات/پلی وینیل الکل/نقره، کلسیم آلزینات و پلی وینیل الکل با درصدهای وزنی بهینه در محلول نانوذرات نقره حل، و با استفاده از روش الکتروریسندگی تهیه شدند. در مرحله بعد، نانوالیاف تهیه شده روی فیلم کربوکسی متیل سلولوز تهیه شده با استفاده از روش محلول قرار گرفت.

بررسی مورفولوژی نانوالیاف Alg/PVA/Ag با استفاده از تکنیک SEM نشان داد که نانوذرات نقره به خوبی روی الیاف Alg/PVA نشانده شده اند و پراکندگی مناسبی در سطح داشتند و اندازه ذرات نقره تهیه شده به وسیله دستگاه انفجار الکتریکی سیم در محیط پلاسما (PNC) بین ۲۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر بود.

غلظت محلول پلیمری تأثیر قابل ملاحظه ای بر بر قطر و ساختار نانوالیاف تولیدی داشت، به طوری که با افزایش غلظت محلول پلی وینیل الکل، میانگین قطر نانوالیاف افزایش یافت. همچنین بهترین غلظت برای تهیه نانوالیاف پلی وینیل الکل ۸٪ وزنی/وزنی بود. بهترین تناسب برای مخلوط پلیمرهای پلی وینیل الکل و آلزینات کلسیم، نسبت ۹۰:۱۰ بود و الکتروریسندگی مخلوط دو پلیمر خواص ترکیبی از هر دو پلیمر را ایجاد کرد. به عنوان مثال، عملکرد مکانیکی ضعیف پلیمرهای زیستی توسط یک پلیمر مصنوعی که

دارای خواص مکانیکی قوی است تقویت می شود و خاصیت زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری پلیمر طبیعی نیز به ترکیب دو پلیمر منتقل شد. گرانیروی محلول مخلوط، یکی از پارامترهای مهم است که ساختار و قطر فیبر را تحت تأثیر قرار می دهد.

نتایج نفوذپذیری نسبت به بخار نشان داد که فیلم CMC-Alg/PVA/Ag، نسبت به CMC نفوذپذیری کمتر و نسبت به نانوالیاف نفوذ پذیری بیشتر داشت.

افزودن فیلم نانوالیاف به فیلم کربوکسی متیل سلولوز موجب کاهش نفوذپذیری آن شد. علت این امر پایین بودن قابلیت نفوذپذیری نانوالیاف نسبت به بخار آب بود.

پایین بودن قابلیت نفوذپذیری نانوالیاف نسبت به بخار آب ناشی از فاصله بسیار کم میان نانوالیاف است که اجازه عبور مولکول های آب را از میان الیاف تشکیل شده نمی دهد، از سوی دیگر ساختار فیبری باعث می شود که مسیرهای زیگزاگی و پر پیچ و خم در مقابل نفوذ مولکول های بخار آب ایجاد شده و در نتیجه، کاهش ضریب انتشار و یا کاهش حلالیت مولکول های بخار آب را در بستر به دنبال داشته باشد.

نتایج تست آنتی باکتریال نشان داد که بیشترین حساسیت مربوط به باکتری های گرم منفی /شریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب با قطر هاله های ۲۳ و ۲۴ میلی متر و باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس و /استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس با قطر هاله های ۲۱ و ۱۷ میلی متر برای فیلم CMC/Alg/PVA/Ag بود.

هاله عدم رشد در نانوالیاف آلزینات کلسیم/پلی وینیل الکل/نقره، در تست خاصیت آنتی باکتریایی، مشاهده نشد، که می توان علت را در مقدار ناچیز حجم پلیمر آنتی باکتریال، در مقابل میکروارگانیسم ها دانست. زیرا در روش دیسک دیفیوژن، دیسک های آنتی بیوتیک اندازه و غلظت استاندارد دارند و در صورت کاهش از میزان استاندارد، نمی توانند در مقابل باکتری ها دارای مقاومت مناسبی باشند، یا به عبارت دیگر، باکتری های حساس قادر به رشد در اطراف دیسک نیستند در حالی که باکتری های مقاوم در اطراف دیسک رشد می کنند.

هر یک از پلیمرهای مورد استفاده، به خصوص علیه باکتری های گرم منفی خاصیت آنتی باکتریایی دارند و آزمایشات نشان داد که خاصیت ضدباکتریایی پلیمرها، در هنگام ادغام با یکدیگر افزایش می یابد. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که بیوفیلم کربوکسی متیل سلولوز به همراه نانو الیاف Alg/PVA/Ag پس از قرارگرفتن روی زخم، علاوه بر جذب ترشحات زخم به دلیل خاصیت مطلوب جذب آب می تواند از عفونت احتمالی زخم جلوگیری کرده و نگرانی ناشی از ایجاد عفونت در پانسمان های غیرباز را کاهش دهد. این موضوع به همراه نانوالیاف پلیمر مذکور موجب تسریع بهبود زخم خواهد شد (به دلیل خواص فوق العاده پلیمرها در اندازه نانو). با توجه به مطالب گفته شده احتمال به کارگیری بیوفیلم نانوکامپوزیتی تولید شده به عنوان پانسمان برای بهبود زخم، وجود دارد.

همچنین در بررسی روند بهبودی زخم، مشاهده شد زخمی که تحت پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag قرار گرفته بود به صورت معنی داری سرعت بهبودی بهتری نسبت به پانسمان CMC و همچنین پانسمان CMC/Ag داشت.

پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag را می توان از روش های پانسمان نوین محسوب کرد. این پوشش از دو قسمت متصل به هم تشکیل شده است. در سویی یک فیلم پلیمری (CMC) که خود خاصیت ترمیم کنندگی دارد، مطالعه هم شده است و خود نیز به تنهایی از

- cellulose nanocrystals on physical properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blend films. Iran J Polym Sci Technol. 2012;24(6):455-66. [Persian]
- 2- Choi Y, Simonsen J. Cellulose nanocrystal-filled carboxymethyl cellulose nanocomposites. J Nanosci Nanotechnol. 2006;6(3):633-9.
- 3- AshaRani PV, Low Kah Mun G, Hande MP, Valiyaveettil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS Nano. 2009;3(2):279-90.
- 4- Murali Mohan Y, Vimala K, Thomas V, Varaprasad K, Sreedhar B, Bajpai SK, et al. Controlling of silver nanoparticles structure by hydrogel networks. J Colloid Interface Sci. 2010;342(1):73-82.
- 5- Thomas V, Namdeo M, Murali Mohan Y, Bajpai SK, Bajpai M. Review on polymer, hydrogel and microgel metal nanocomposites: A facile nanotechnological approach. J Macromol Sci Part A Pure Appl Chem. 2007;45(1):107-19.
- 6- De Moura MR, Aouada FA, Avena-Bustillos RJ, McHugh TH, Krochta JM, Mattoso LHC. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. J Food Eng. 2009;92(4):448-53.
- 7- Cottrell IW, Kovacs P. Alginates. In: Davidson RL, editor. Handbook of water-soluble gums and resins. New York: Mc Graw-Hill; 1980.
- 8- Cook JG. Handbook of textile fibres, man-made fibres. Cambridge: Woodhead Publishing; 1984.
- 9- Rhim JW. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. LWT Food Sci Technol. 2004;37(3):323-30.
- 10- Knill CJ, Kennedy JF, Mistry J, Mirafteb M, Smart G, Grocock MR, et al. Alginate fibers modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosans for wound dressings. Carbohydr Polym. 2004;55(1):65-76.
- 11- Opasanon S, Muangman P, Namviriyachote N. Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial-thickness burns. Int Wound J. 2010;7(6):467-71.
- 12- Son WK, Youk JH, Lee TS, Park WH. Preparation of antimicrobial ultrafine cellulose acetate fibers with silver nanoparticles. Macromol Rapid Commun. 2004;25(18):1632-7.
- 13- Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomed Nanotechnol Biol Med. 2007;3(1): 95-101.
- 14- Sundaramoorthi C, Devarasu S, Vengadesh Prabhu K. Antimicrobial and wound healing activity of silver nanoparticles synthesized from streptomyces aureofaciens. Int J Pharm Res Dev. 2011;2(12):69-75.
- 15- Wei D, Sun W, Qian W, Ye Y, Ma X. The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity. Carbohydr Res. 2009;344(17):2375-82.
- 16- Maneerung T, Tokura S, Rujiravanit R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. Carbohydr Polym. 2008;72(1):43-51.
- 17- Rhim JW, Hong SI, Park HM, Ng PK. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. J Agric Food Chem. 2006;54(16):5814-22.
- 18- Yoon KY, Hoon Byeon J, Park JH, Hwang J. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. Sci Total Environ. 2007;373(2-3):572-5.

پانسمان گاز وازلین قدرت ترمیم‌کنندگی بهتری دارد و در طرف دیگر بخش نانوالیاف آلزینات-کلسیم به همراه نانوذرات نقره قرار دارد که علاوه بر خاصیت فوق‌العاده در ترمیم‌کنندگی، به‌عنوان یک جذب‌کننده قوی هم عمل می‌کند (وقتی که الیاف خشک در تماس با ترشحات زخم‌ها قرار می‌گیرند، یون‌های کلسیم در پانسمان به‌آرامی جای خود را به یون‌های سدیم در ترشحات زخم داده و ژل ایجاد می‌شود، این پانسمان در حالت ژل، خود را با ابعاد زخم تطابق می‌دهد).

بنابراین نتایج نشان داد که از بین سه پانسمان معرفی‌شده، سرعت ترمیم زخم در پانسمان شاهد کمتر از پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag ولی کمی بیشتر از پانسمان CMC/Ag، قبل از روز نهم بود، ولی در روز دوازدهم سرعت ترمیم CMC/Ag، بیشتر از پانسمان شاهد شد. بنابراین می‌توان پانسمان CMC/Alg/PVA/Ag را با توجه به نتایج ترمیمی قابل قبول، عدم چسبندگی و همچنین امکان مشاهده مستقیم زخم به‌دلیل شفافیت کامل و سایر خصوصیات آن، به‌عنوان پانسمان پیشنهادی معرفی کرد. همچنین آلزینات-کلسیم در تماس با سطح زخم، باعث می‌شود که ترشحات زخم، آلزینات-کلسیم نامحلول را به نمک سدیم آن تبدیل کرده و تشکیل ژل بدهد که در نهایت توسط بدن جذب می‌شود.

این نکته قابل قبول است که بهبود سریع زخم در محیط مرطوب رخ می‌دهد و محصولات مراقبت از زخم نیز این شرایط را آرایه می‌دهند. استفاده از هیدروژل به‌عنوان یک پانسمان و با ایجاد یک سطح زخم مرطوب که باعث کاهش تجمع نکروز روی سطح زخم می‌شود، زخم را به‌طور سریع درمان می‌کند.

در مطالعه حاضر از موش آزمایشگاهی استفاده شد ولی در عین حال مطالعه روی انسان موجب می‌شود تا بتوان شدت درد در محل زخم درجه‌بندی و ارزیابی کرد.

نتیجه‌گیری

استفاده از نانوکامپوزیت CMC/Alg/PVA/Ag به‌عنوان پانسمان امکان‌پذیر است. این پانسمان با داشتن منافذ اجازه عبور بخارات ناشی از ترشحات زخم را می‌دهد، به مایعات و باکتری‌ها غیرقابل نفوذ اما نسبت به اکسیژن و بخار آب نفوذپذیر است، اثر حساسیت‌زایی نداشته و سمیت و تحریک شیمیایی ایجاد نمی‌کند، پانسمان شفاف بوده و امکان دیدن زخم زیرین آن به آسانی امکان‌پذیر است، سطح مرطوب مورد نیاز برای ترمیم زخم را فراهم می‌کند، به زخم نمی‌چسبد در نتیجه تعویض آن بدون درد و از نظر هزینه نیز مقرون به صرفه است.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

سهم نویسندگان: مریم فریبودی (نویسنده اول)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (50%); علیرضا خشکبارصادقی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (50%)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

منابع

- 1- Abolghasemi fakhri L, Ghanbarzadeh B, Dehghannia J, Entezami AA. The effects of montmorillonite and