



## Fabrication of Alginate-Gelatin Hydrogel with Quercus Brantii Galls (Oak) and Silver-Nanoparticles as a Burn Wound Dressing

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Original Research

#### Authors

Dianati Tilaki, R.A.<sup>1</sup> PhD,  
Jafarsalehi M.\*<sup>1</sup> MSc,  
Esfandyari Y.<sup>1</sup> MSc

#### How to cite this article

Ramezani B, Alamzadeh I, Vosuoghi M, Hajiabbas M. Fabrication of Alginate-Gelatin Hydrogel with Quercus Brantii Galls (Oak) and Silver-Nanoparticles as a Burn Wound Dressing. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(3):335-342.

### ABSTRACT

Burns are one of the most important accidents related to human health. Receiving proper treatment is very important due to the intense complications associated with them. The improvement and elimination of ulcer effect can be achieved by controlling the wound infection. According to this, wound dressing containing antibiotics is one of the effective methods in wound's infection treatment. The use of silver in burns caring has been considered a long time ago, but silver deposits on the liver that causes some problems which can be overcome with the help of nanotechnology. In this study, Silver-Oak nanoparticles were green synthesized by using the ethanol extraction of Iranian Oak with the help of reducing agent. Nanoparticles formation were followed by UV-Visible spectrum and they characterize with SEM images and XRD spectrum. Then Gelatin-Alginate Hydrogel was prepared as a wound dressing and their properties were investigated by the presence of nanoparticles, oak extraction and without any additives. Nanoparticles' diameter is about 30-65nm which are dispersed in the hydrogel with regular pore size about 30-100µm. Oak extraction increase the hydrogel water uptake that improve the wound healing. Antibacterial properties of wound dressing against Staphylococcus aureus and pseudomonas are investigated by inhibiting zone.

**Keywords** Burn Wound Dressing; Silver Nanoparticles; Alginate-Gelatin Hydrogel; Quercus Brantii Galls Extraction

<sup>1</sup>Chemical Engineering Department, Chemical & Petroleum Engineering Faculty, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Biotechnology Department, Chemical & Petroleum Engineering Faculty, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

#### \*Correspondence

Address: Biochemical & Bioenvironmental Research Center, Sharif University of Technology, Azadi Street, Tehran, Iran. Postal Code: 1458889694  
Phone: +98 (21) 66164102  
Fax: +98 (21) 66164102  
alemzadeh@sharif.edu.ac.ir

#### Article History

Received: February 4, 2018

Accepted: March 2, 2018

ePublished: September 21, 2019

### CITATION LINKS

- [1] Electrospun chitosan-based nanofiber mats loaded with Garcinia mangostana extracts
- [2] Fabrication and evaluation of biomimetic-synthetic nanofibrous composites for soft tissue regeneration
- [3] Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds
- [4] The macromolecular chemistry of gelatin
- [5] Gelation of aqueous gelatin solutions .1. Structural investigation
- [6] Gelatin handbook
- [7] Determination of prevalent bacteria in burn infections compared to patients' environmental bacteria in burn ward of Shahid Zareh Hospital in Sari, Iran
- [8] Frequency of bacterial burn wounds infection and antimicrobial resistance in burn center of Bessat Hospital of Hamedan
- [9] Green biosynthesis of silver nanoparticles using Quercus brantii (oak) leaves hydroalcoholic extract
- [10] Essential oils, distillations apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis
- [11] Green synthesis of crystalline silver nanoparticles using indigofera aspalathoides-medicinal plant extract for wound healing applications
- [12] Study on gelatin-containing artificial skin: I. Preparation and characteristics of novel gelatin-alginate sponge
- [13] Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria
- [14] Distribution of secondary metabolites in plants of Quetta-Balochistan
- [15] Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel
- [16] Effect of oak plum extract on burn infection caused by exotoxin A-producing Pseudomonas aeruginosa in mice

## ساخت هیدروژل آلژینات- ژلاتین دارای بلوط و نانوذرات نقره جهت استفاده به عنوان زخم پوش سوختگی

بیبا رضانی MSc

گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

ایران عالمزاده PhD

گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

منوچهر وثوقی PhD

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

مریم حاجی عباس PhD

گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

### چکیده

سوختگی‌ها از مهم‌ترین حوادث مرتبط با سلامت انسان به شمار می‌روند که به دلیل عوارض شدید، درمان مناسب آنها اهمیت زیادی دارد. کنترل عفونت در زخم، موجب بهبود و از بین رفتن اثر زخم می‌شود، درمان این عفونت، با زخم‌پوش‌های حاوی داروی آنتی‌بیوتیک می‌تواند روشی موثر باشد. استفاده از نقره در درمان سوختگی، از دیرباز مورد توجه بوده است، اما رسوب نقره روی کبد سبب بروز مشکلاتی خواهد شد که می‌توان با استفاده از فناوری نانو تا حدی بر این مشکل غلبه کرد. امروزه داروهای گیاهی به سبب قیمت و عارضه کم، بسیار مورد توجه هستند. در این پژوهش، نانوذرات نقره- بلوط با استفاده از عصاره الکلی بلوط ایرانی به کمک عامل احیاکننده، تشکیل شدند. تشکیل نانوذرات، به کمک طیف UV-Visible و مشخصات آنها به کمک تصاویر SEM و طیف XRD بررسی شد. پس از آن زخم‌پوشی از جنس هیدروژل آلژینات- ژلاتین تهیه شد و خواص آن با حضور نانوذرات، عصاره بلوط و به‌تنهایی مورد بررسی قرار گرفت. به کمک تصاویر FESEM مشخص شد که نانوذراتی با قطر ۳۰ تا ۶۵ نانومتر در هیدروژل دارای حفرات منظم ۳۰۰ تا ۱۰۰ میکرومتر توزیع شده‌اند و همچنین عصاره بلوط میزان آبدوستی و جذب آب این هیدروژل را افزایش می‌دهد که همگی این خواص به بهبود زخم کمک خواهند کرد. خواص آنتی‌باکتریال عصاره و زخم‌پوش‌ها نیز به کمک هاله عدم رشد در برابر باکتری‌های استافیلوکوک طلایی و سودوموناس بررسی شده است.

**کلیدواژه‌ها:** زخم‌پوش سوختگی، هیدروژل ژلاتین- آلژینات، نانوذرات نقره، عصاره گیاهی بلوط

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۱

\*نویسنده مسئول: alemzadeh@sharif.edu.ac.ir

### مقدمه

پوست بزرگ‌ترین ارگان بدن است که نقشی مهم در نگهداری بافت‌های داخلی، حفظ تعادل رطوبتی و دما و حفاظت بدن در برابر ضربات وارده از محیط خارجی دارد. با وجود آسیب‌های وارده از محیط اطراف، آسیب پوستی غیرقابل اجتناب است، البته بیشتر این آسیب‌ها به دلیل مکانیزم خودترمیم‌شوندگی به‌خودی خود و بدون

درمان اساسی بهبود می‌یابند. با این حال، بسته به عمق و شدت آسیب، برخی از آسیب‌ها نمی‌توانند خودبه‌خود ترمیم شوند و مداخله پزشکی فوری به کمک پیوند زدن به‌منظور بازبانی عملکرد پوست ضروری خواهد شد. نیاز به پیوند پوست برای ترمیم و مدیریت زخم‌های سوختگی، مقوله‌ای مهم است. با این حال، دسترسی سایت‌های کمکی برای چنین بافتی در مورد سوختگی‌های شدید بسیار محدود است. بنابراین منابع پیوندی جایگزینی برای رفع این مشکل نیاز است. با وجود پیشرفت فوق‌العاده‌ای که حاصل شده است، جست‌وجوی جایگزین‌های مناسب هنوز ادامه دارد [1,2].

یکی از این روش‌های جایگزین، استفاده از زخم‌پوش‌های حاوی دارو برای کنترل عفونت و تمیز نگه‌داشتن زخم است. زخم‌پوش‌های هیدروژلی یکی از مهم‌ترین ابزارهای درمان زخم هستند که نیازهای اساسی پوشش زخم را شامل حفظ رطوبت زخم ضمن جذب آب اضافی، پوشش بدون چسبیدن به بافت زیرجلدی حساس پوست، کاهش درد و افزایش پتانسیل درمان زخم را فراهم می‌کنند [3].

زخم‌پوش مورد مطالعه پیش‌رو از پلیمرهای طبیعی آلژینات و ژلاتین تشکیل شده است. ژلاتین بیوپلیمری محلول در آب، مشتق‌شده از هیدرولیز جزئی کلاژن، یعنی پروتئین ساختاری اصلی در بافت‌های اتصال‌دهنده است [4]. ژلاتین از حدود ۴۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح به‌عنوان چسب استفاده شده است و امروزه به‌طور گسترده در صنایع غذایی، دارویی، فوتوگرافیک به کار می‌رود [5,6]. سدیم آلژینات (یا آلژینیک اسید) پلی‌ساکاریدی است که به‌صورت تجاری از طریق استخراج از جلبک یا لجن به دست آمده است که کاربرد گسترده‌ای در صنایع غذا و دارو دارد.

کنترل عفونت زخم یکی از مشکلات اساسی در بخش سوختگی است. حدود ۷۵٪ مرگ‌ومیر در بیماران دچار سوختگی ناشی از عفونت است [7]. مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های عامل عفونت سوختگی به‌ترتیب شامل سودوموناس آئروژینوزا (۷۲/۷٪)، استافیلوکوک اورئوس (۱۴/۴٪) و استافیلوکوک اپیدرمیس [8] هستند. از میان این میکروارگانیسم‌ها از همه بیشتر و در ۹۰٪ موارد نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر آمیکاسین و جنتامایسن که آنتی‌بیوتیک اصلی شیمیایی هستند، مقاوم می‌شوند. بنابراین استفاده از دارویی مناسب به‌منظور کنترل عفونت، ضروری به نظر می‌رسد.

در این راستا، این پژوهش از عصاره الکلی جفت بلوط ایرانی و نیز نقره برای کنترل عفونت کمک گرفته است. برای غلبه به مشکلات ناشی از رسوب نقره در بدن، با کمک سنتز سبز، نانوذرات نقره ایجاد شده‌اند که از عصاره بلوط به‌عنوان عامل کاهنده استفاده شده است. در سال ۲۰۱۵، کوریکنی و همکاران با استفاده از عصاره بلوط، روشی را برای سنتز سبز نانوذرات نقره ارائه کردند [9]. جفت بلوط با نام جفت بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Galls; oak) به‌دلیل دارابودن درصد بالای تانن دارای خاصیت آنتی‌باکتریال بسیار زیادی است، در این پژوهش به اثرات این عصاره در برابر باکتری‌های رایج در زخم سوختگی و نیز نقش آن در افزایش جذب آب در زخم‌پوش هیدروژلی پرداخته شده است.

مواد

**نانوذرات نقره:** برای عصاره‌گیری از جفت (پوسته درونی میوه) بلوط ایرانی تهیه‌شده از بازار محلی، استفاده شده است. برای تهیه نانوذرات نقره هم نمک نیترات نقره (مرک: آلمان) به کار رفت. آب دوبار تقطیر دیونیزه شد و پس از التراسونیک به منظور جداسازی هر گونه کلر اضافی به‌عنوان حلال استفاده شد.

**زخم‌پوش هیدروژلی:** سدیم آلژینات و ژلاتین گاوی نوع A (سیگما؛ آلمان)، نوترینت آگار و نوترینت برات و نمک‌های سدیم کلرید، کلسیم کلراید، سدیم هیدروژن فسفات ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) و پتاسیم‌دی‌هیدروژن فسفات ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (مرک: آلمان) تهیه شدند. آب مقطر و دیونیزه از پژوهشگاه آب و انرژی دانشگاه شریف و اتانول از شرکت پارس الکل تهیه شد.

روش‌ها

**عصاره‌گیری و تهیه نانوذرات:** برای عصاره‌گیری بلوط، از روش سوکسله استفاده شده است [10]. به این ترتیب که ابتدا جفت بلوط توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمد و سپس با استفاده از سیستم سوکسله و اتانول ۹۸٪ عصاره‌گیری شد. محلول اتانولی حاصل، در تبخیرکننده روتاری (تبخیرکننده چرخشی؛ IKA؛ ایالات متحده آمریکا) در دمای  $40^\circ\text{C}$ ، تغلیظ و در هوای آزاد خشک شده است. پودر قهوه‌ای‌رنگ حاصله، برای استفاده‌های بعدی در دمای  $4^\circ\text{C}$  نگه‌داری شد.

برای تهیه نانوذرات از روش *کانتا* و همکاران [11] استفاده شد که به صورت مختصر، ابتدا محلول ۱٪ از پودر عصاره بلوط در آب دیونیزه که به منظور اطمینان از عدم وجود کلر، اولتراسوند شده بود، تهیه شد و با محلول یک‌میلی‌مولار نقره نیترات در pH برابر با ۵ حل شد. به مدت ۴۸ ساعت روی هم‌زن مغناطیسی با دور ۱۰۰rpm مخلوط شد. به تدریج محلول تغییر رنگ ایجاد کرد که نشان‌دهنده تولید نانوذرات نقره است. بعد از گذشت این مدت، محلول به دست آمده، با دور ۴۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا نانوذرات تشکیل شده، از محلول آبی جدا شوند، نانوذره به دست آمده در آن در دمای  $4^\circ\text{C}$  خشک شدند.

**ساخت زخم‌پوش هیدروژلی:** هیدروژل اسفنجی با استفاده از روش چوبی و همکاران تهیه شد [12]. به‌طور مختصر محلول‌های ۱٪ وزنی آلژینات و ژلاتین تهیه و با نسبت ژلاتین به آلژینات ۳:۷ با هم ترکیب و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق توسط هم‌زن مخلوط شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت فریزدرایر شد. در نهایت این اسفنج حل‌شونده، به صورت مستقیم و به مدت ۲۴ ساعت، در ۲۰ میلی‌لیتر محلول آبی استون ۱۰٪ حاوی ۵۰ میکروگرم EDC غوطه‌ور شد تا ساختار هیدروژلی تشکیل شود. این زخم‌پوش‌ها یک‌بار حاوی ۱٪ وزنی نانوذره نقره- بلوط و بار دیگر حاوی ۱٪ وزنی عصاره بلوط تهیه شدند.

**فعالیت فیتوشیمیایی:** به منظور تعیین برخی از ترکیبات شیمیایی موثر درون عصاره فعالیت فیتوشیمیایی عصاره بلوط به صورت کیفی

بررسی شد.

**فلاونوئید:** ۵/۰ گرم عصاره بلوط با اتر مخلوط شد تا مواد چرب آن از بین بروند و پس از ترکیب با اتانول ۸۰٪ توسط کاغذ صافی فیلتر شد. به مقدار ۳ میلی‌لیتر از این محصول حاصل از فیلتر با ۴ میلی‌لیتر پتاسیم‌هیدروکسید ۱٪ ترکیب شد. رنگ زرد حضور فلاونوئیدها را نشان می‌دهد [13].

**تانن:** به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره بلوط با ۳ میلی‌لیتر شناساگر بوتانول-HCL (۹۵ میلی‌لیتر نرمال بوتانول و ۵ میلی‌لیتر HCL غلیظ) به آن افزوده شد. به مدت یک ساعت در حمام آب  $70^\circ\text{C}$  قرار گرفت. ظهور رنگ بنفش حضور تانن را تایید خواهد کرد [14]. **ترپنوئید:** به ۵/۰ گرم از عصاره، ۲ میلی‌لیتر کلروفرم افزوده شد. ۳ میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ۱۰٪، به آرامی اضافه شد تا لایه‌ای تشکیل شود. رنگ قهوه‌ای آجری روی سطح، حضور ترپنوئید را نشان خواهد داد [13].

**آلکالوئیدها:** ۵/۰ گرم عصاره با ۱۰ میلی‌لیتر الکل رقیق، جوشانده و فیلتر شد. ۵ میلی‌لیتر از این ترکیب فیلترشده، به ۲ میلی‌لیتر آمونیوم رقیق افزوده شد. بعد از افزودن ۵ میلی‌لیتر کلروفرم تکان داده شد. در نهایت با توجه به روش ارایه‌شده توسط *آیولا* و همکاران، حضور آلکالوئیدها بررسی شد [13].

**بررسی تشکیل نانوذرات به کمک طیف UV-Visible:** کاهش زیستی نانوذرات به صورت دوره‌ای توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری مدل DR 5000 (هاچ؛ ایالات متحده آمریکا) ثبت شد. هر یک ساعت از محلول واکنش نمونه‌برداری صورت گرفت و این نمونه‌ها توسط ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه رقیق شدند. همه نمونه‌ها به کورت یک‌سانتری متری منتقل شدند و طیف آنها در بازه ۳۰۰ تا ۸۵۰ نانومتر اسکن شد.

**آزمون پراش اشعه ایکس (XRD):** پراش پرتو ایکس روشی ایده‌آل و مناسب به منظور تعیین خصوصیات و شناسایی فازهای کریستالی است.

در پراش پرتو ایکس بخش کریستالی به صورت یک پیک تیزتر و بخش آمورفی به صورت پیکی پهن نمایان می‌شوند. از نسبت بین این دو پیک حاصل و با توجه به میزان تیز یا پهن بودن این پیک‌ها، مقدار کریستالی بودن مواد محاسبه می‌شود. در این پژوهش از دستگاه X'Pert PRO MPD (PANalytical؛ هلند) استفاده شد تا اندازه کریستال‌های نانوذرات نقره مشخص شوند.

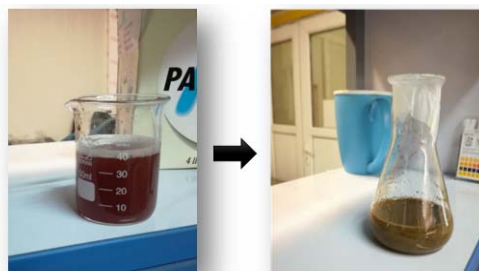
**آزمون طیف مادون قرمز (FT-IR):** برای این آزمون از دستگاه طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز مدل Spectrum RX I (PerkinElmer؛ ایالات متحده آمریکا) استفاده شد. طیف‌سنجی از پودر عصاره بلوط قبل و بعد از تشکیل نانوذره صورت گرفته است.

**بررسی مورفولوژی:** برای تحلیل میکروساختاری سیستم از تصاویر SEM استفاده می‌شود. این تصاویر ساختاری تا ابعاد یک میکرون را مشخص می‌کنند. سپس به کمک نرم‌افزارهای تحلیل تصویر، این تصاویر تحلیل می‌شوند. دستگاه مورد استفاده در این پروژه، دستگاه SEM مدل AIS2100 (Seron Technology؛ کره) و از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FESEM مدل

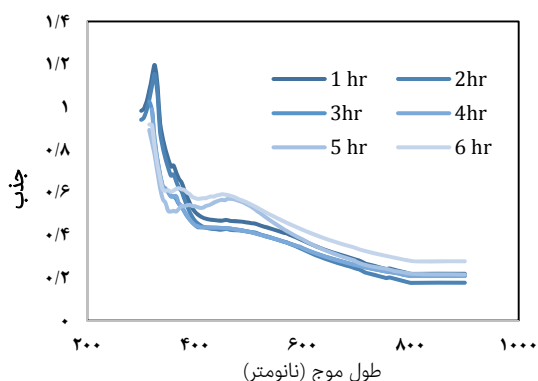
۴۵۰-۵۰۰ نانومتر بعد از ۵ ساعت از آغاز واکنش مشاهده شده که احتمالاً به خاطر وجود ارتعاشات پلاسمون در نانوذرات نقره در محلول است (جدول ۱؛ شکل ۱؛ نمودار ۱).

جدول ۱) ترکیب عصاره بلوط

حضور/عدم حضور	ترکیب
+	تانن
+	آلکالوئید
-	ترپنویید
+	فلاونویید



شکل ۱) تغییر رنگ محلول واکنش از به ترتیب از چپ به راست آغاز واکنش و پایان واکنش



نمودار ۱) طیف UV-visible برای ۶ ساعت ابتدایی آغاز واکنش ساخت نانوذره، طیف ساعت ۳ و ۴ به علت کمبود تغییرات روی هم واقع شده‌اند.

**آزمون XRD:** به کمک طیف XRD و پیک‌های موجود می‌توان اندازه کریستال‌های نانوذرات را طبق رابطه دبی-شرر (رابطه ۳) محاسبه کرد:

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3)$$

نمودار ۲، الگوی پراشی اشعه ایکس از نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از عصاره جفت بلوط را نشان می‌دهد. این طیف، ساختار کریستالی نانوذرات نقره-بلوط را توصیف می‌کند و در این طیف پیک‌های مربوط به  $38/17$ ،  $44/33$ ،  $64/53$  به ترتیب نشان‌دهنده سطوح کریستالوگرافی ۱۱۱، ۲۰۰ و ۲۲۰ هستند. اندازه قطر کریستال‌های نقره براساس رابطه ۳،  $32/8$  نانومتر محاسبه شد (نمودار ۲).

MIRA2LMV (TESCAN؛ چک) بوده است.

**میزان جذب آب و تورم:** برای بررسی میزان جذب آب، ابتدا داربست‌های هیدروژلی پس از خشک‌شدن کامل در فریزر انجمادی، به‌طور دقیق توزین شدند. سپس در PBS با pH برابر با ۷/۴ قرار گرفتند. سپس در بازه‌های زمانی مشخص از PBS خارج شده و پس از گرفتن آب اضافی آن توسط کاغذ صافی، مجدداً وزن شدند. این کار تا اشباع کامل داربست‌ها و جایی که دیگر تغییر وزن مشهودی مشاهده نشد، ادامه یافت. در نهایت با استفاده از معادله‌های زیر، مقدار جذب آب و نسبت تورم اندازه‌گیری شد [15]:

$$\text{جذب آب} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{نسبت تورم} = \frac{W_s}{W_d} \quad (2)$$

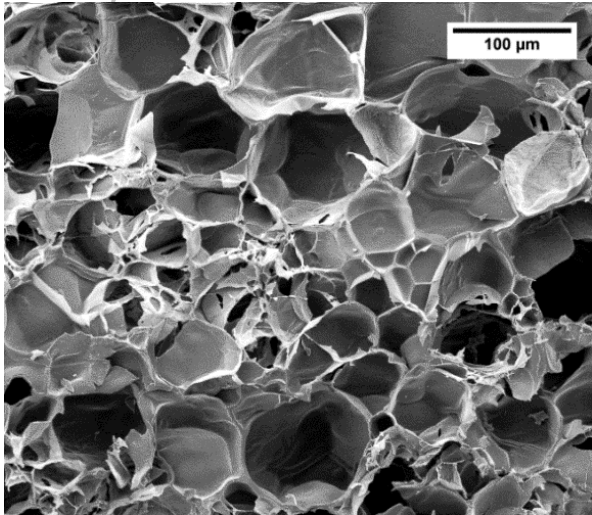
در فرمول‌های بالا،  $W_s$  و  $W_d$  به ترتیب بیانگر وزن نمونه در هر لحظه و وزن خشک نمونه هستند.

**بررسی خواص آنتی‌باکتریال:** برای بررسی اثر آنتی‌باکتریال داربست و مقایسه اثر نانوذرات نقره-بلوط در برابر عصاره بلوط، ابتدا هیدروژلهایی نازک با نانوذره، با عصاره و بدون هیچ دارویی ساخته شدند. سپس با استفاده از پانچ به ابعاد یکسان درآورده شدند. دو سویه باکتری *Sudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* از مهم‌ترین باکتری‌های رایج در عفونت زخم سوختگی هستند از بانک میکروبی دانشگاه صنعتی شریف تهیه شدند. سوسپانسیون میکروبی با تعداد  $10^6-10^8$  میکروبی از محیط کشت نوترینت‌براث حاوی میکروبی تهیه شد. برای رقیق‌سازی سرم فیزیولوژی (سدیم کلرید ۰/۹٪) به کار رفت و با روش پورپلیت در محیط کشت نوترینت‌آگار کشت داده شدند و داربست‌ها پس از خیس خوردن در PBS در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۲ ساعت، روی محیط قرار گرفتند. هاله عدم رشد باکتری برحسب میلی‌متر گزارش شده است.

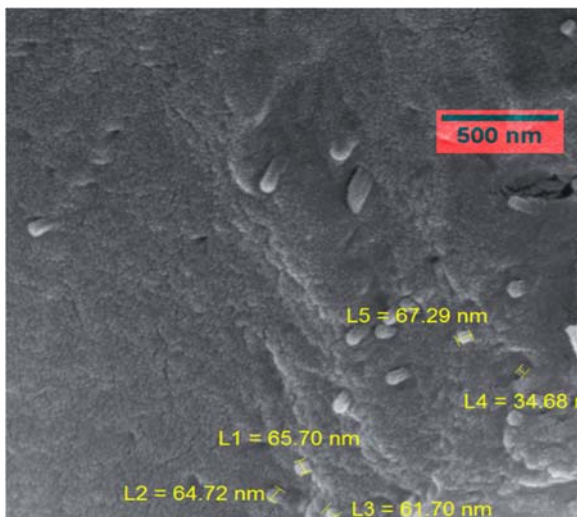
## یافته‌ها

**آزمون فیتوشیمیایی:** آنالیز کیفی فیتوشیمیایی عصاره‌ها به‌منظور تعیین حضور آلکانوئیدها، ترکیبات فنولی، ترپنوییدها، آمینواسید و تانن‌ها، انجام شد. جدول ۱ نتایج حاصل را نشان می‌دهد که به‌صورت مثبت به نشانه حضور و منفی به نشانه عدم حضور گزارش شده‌اند.

**طیف UV-Visible:** شکل ۱ تغییر رنگ محلول عصاره را قبل و بعد از نانوذره‌شدن نشان می‌دهد. با گذشت زمان و تشکیل نانوذرات، محلول تیره‌تر می‌شود. از محلول واکنشی هر یک ساعت نمونه‌برداری صورت گرفت و جذب آن در بازه  $300-850$  نانومتر ترسیم شد. نمودار ۱ طیف UV-vis حاصله را برای ۶ ساعت اول واکنش نشان می‌دهد. پیک موجود در  $450$  نانومتر در طیف UV-visible تشکیل نانوذرات نقره را تایید کرده است. الگوی رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)؛ ناحیه‌ای که طیف نور مرئی افت ناگهانی داشته است، خصوصیات نانوذرات فلزی را بسته به اندازه ذرات، ذرات جذب‌شده سطحی و ثابت دی‌الکتریک محیط تعیین می‌کند. یک پیک جذبی اطراف

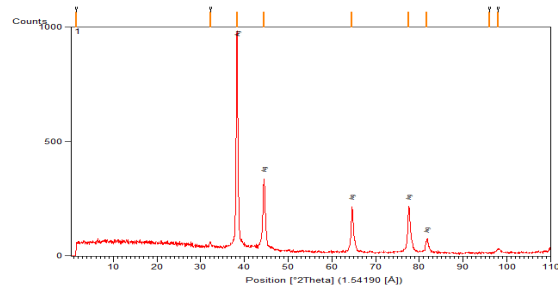


شکل ۲) تصویر برش عرضی زخم‌پوش هیدروژلی



شکل ۳) توزیع نانوذرات در هیدروژل

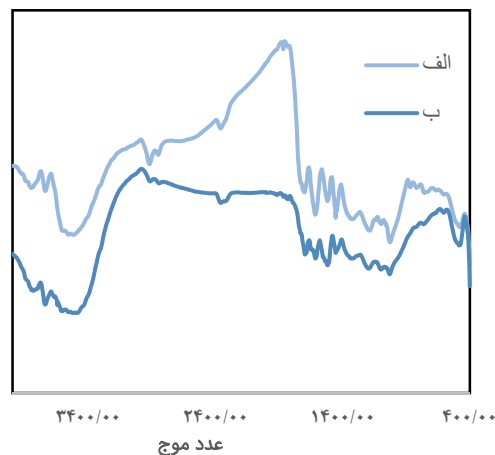
**تورم و جذب آب:** مطالعه خصوصیات تورم و جذب آب در شبکه هیدروژل در کاربردهای مختلف ضروری است. در این مطالعه، اثر افزودن نانوذرات نقره- بلوط و نیز عصاره بلوط به هیدروژل، بر میزان تورم و جذب آب مورد بررسی قرار گرفته است. میزان جذب آب برای زخم‌پوش کنترلی با پژوهش‌های انجام‌شده قبلی، مانند مطالعه چویی و همکاران<sup>[12]</sup> تطابق خوبی داشته است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان تورم و جذب آب برای حالتی که عصاره بلوط به داربست افزوده شده، خیلی بیشتر است، زیرا عصاره بلوط دارای گروه‌های آب‌دوستی نظیر فنول‌ها است که باعث افزایش پیوند با مولکول‌های آب و در نتیجه جذب بیشتر آب می‌شود. اما با این حال، افزودن نانوذره نیز باعث افزایش تورم و جذب آب می‌شود. به‌طور کلی هر چه درصد جذب آب و میزان متورم‌شدن داربست بالا باشد، جریان مایعات بدن راحت‌تر در زخم‌پوش نفوذ کرده و انتقال مواد داخل داربست راحت و سریع‌تر رخ می‌دهد و نیز کنترل عفونت بهتر می‌شود (نمودارهای ۴ و ۵).



نمودار ۲) طیف XRD نانوذرات نقره بلوط

### طیف مادون قرمز (FT-IR)

نمودار ۳) طیف عبوری مادون قرمز عصاره (نمودار الف) و نانوذره (نمودار ب) را نشان می‌دهد. عصاره بلوط در طول موج ۱۶۰۰، ۱۷۰۰، ۳۲۰۰ و ۳۵۰۰ به ترتیب پیک‌های مربوط به ترکیبات آروماتیک، کربونیل، NH و OH را دارد. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود، پیک‌های مربوط به طول موج ۳۴۰۰ یعنی پیوند OH، ۲۹۰۰ CH آلیفاتیک و ۱۷۰۰ کربونیل و آروماتیک ۱۴۷۰ کاهش یافته‌اند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات پلی‌فنولی و کربونیل‌دار موجود در عصاره کاهش یافته‌اند که نشان از مشارکت این ترکیبات در واکنش سنتز دارد. همچنین با توجه به محدوده جذب ترکیبات می‌توان نتیجه گرفت که وجود ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره گیاه می‌تواند عامل کاهنده یون نقره به نانوذرات نقره باشد.

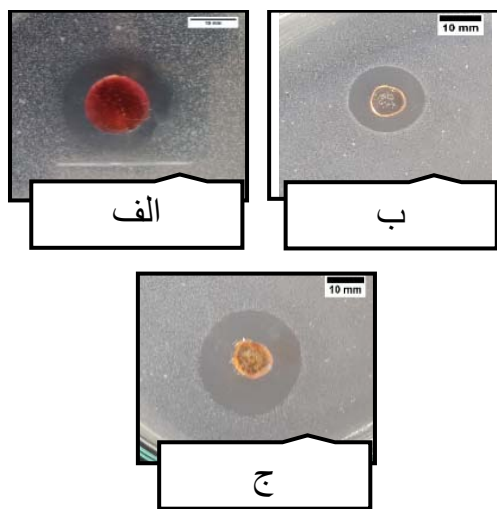


نمودار ۳) طیف FT-IR (الف) عصاره بلوط (ب) نانوذره نقره-بلوط

**مورفولوژی:** زخم‌پوش‌ها باید برای جذب آب، رسیدن مواد مغذی به بافت و جلوگیری از ورود آلودگی، حفراتی با اندازه مناسب داشته باشند؛ برای بررسی مورفولوژی و نیز برای اطمینان از توزیع مناسب نانوذرات نقره نیز از تصاویر SEM استفاده شده است. شکل‌های ۲ و ۳ به ترتیب برش عرضی هیدروژل و توزیع نانوذرات را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، ابعاد نانوذرات از ۳۰ تا ۷۰ نانومتر متغیر بوده و به‌صورت نسبتاً مناسبی در زخم‌پوش توزیع شده‌اند (شکل‌های ۲ و ۳).



ترکیبات در داربست بوده است. این نتایج ضمن تایید یافته‌های محققین، نشان می‌دهد استفاده از این عصاره در قالب نانوذره نقره در بستری از آلژینات-ژلاتین خواص آنتی‌باکتریالی را بهبود می‌بخشد (۱۱٪ افزایش قطر هاله؛ شکل ۴؛ جدول ۲).



شکل ۴) هاله آنتی‌باکتریال در برابر استافیلوکوک طلایی (الف) زخم پوش+بلوط (ب) زخم پوش خالی (ج) زخم پوش+نانوذره

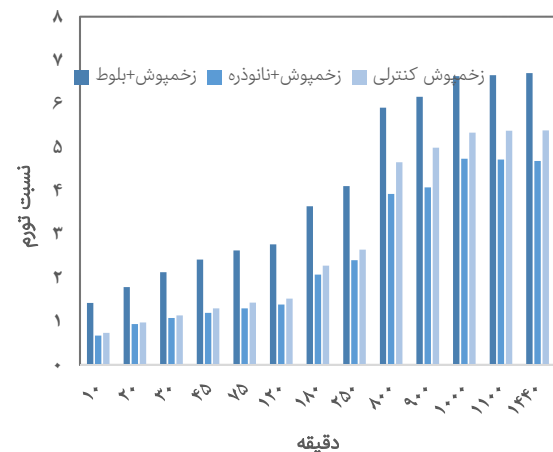
جدول ۲) قطر هاله آنتی‌باکتریال بر حسب میلی‌متر

باکتری	زخم پوش زخم پوش+نانوذره زخم پوش+عصاره جنتامایسین			
استافیلوکوک اورئوس	۱±۱۴	۳±۲۴	۲±۱۹	۰±۱۹
	۱±۱۰	۲±۱۷	۳±۱۵	۰±۲۰
سودوموناس آئروژینوزا				

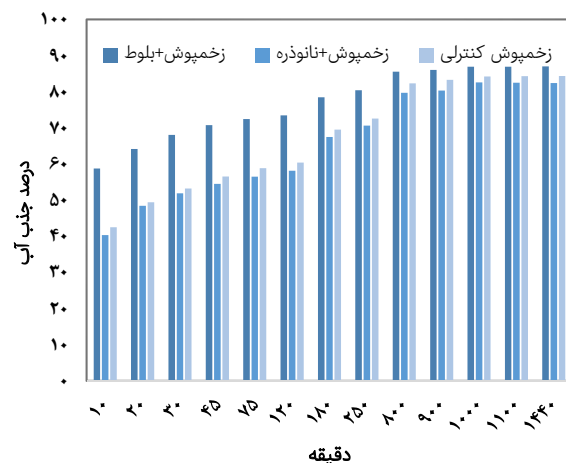
از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم بررسی سمیت زخم پوش ساخته شده برای سلول‌های پوست و نیز بررسی نکردن میزان رهایش اشاره کرد. در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود زخم پوش‌های ساخته شده روی بافت زنده و همچنین نحوه رهایش نانوذرات و عصاره بلوط اندازه‌گیری و ارزیابی شوند.

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه، نشان داده شد که عصاره بلوط، دارویی مناسب برای کنترل عفونت زخم است که قادر است به عنوان احیاکننده در تشکیل نانوذرات نقره عمل کند. این ترکیب به دلیل منبع سرشار تانن آنتی‌باکتریالی قوی است که به خاطر وجود گروه‌های عاملی آلدوست، سبب افزایش جذب آب در زخم پوش‌ها می‌شود. زخم پوش هیدروژلی آلژینات-ژلاتین به دلیل وجود پلیمرهای طبیعی خود آلدوستی و خاصیت آنتی‌باکتریال کمی دارد؛ که به این طریق تقویت شده است. استفاده از نانوذرات اندکی توانسته است خواص ایجاد شده را کنترل کند. با وجود این که مطالعات بیشتری از جمله مطالعات زیستی و بررسی روی نمونه‌های زنده، برای تولید تجاری این زخم پوش‌ها نیاز است؛ در این پژوهش پانسمان مناسبی با



نمودار ۴) نسبت تورم برای سه نمونه زخم پوش به مدت ۲۴ ساعت. از زخم پوش بدون نانوذره و عصاره به عنوان نمونه کنترل استفاده شد.



نمودار ۵) درصد جذب آب برای سه نمونه به مدت ۲۴ ساعت. از زخم پوش بدون نانوذره و عصاره به عنوان نمونه کنترل استفاده شد.

### خواص آنتی‌باکتریال: خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره بلوط در برابر

باکتری سودوموناس آئروژینوزا، توسط قشقایی و همکاران [16] بررسی و اثبات شده است. در این پژوهش، زخم پوش‌ها در برابر باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به روش پورپلیت تست شدند و هاله عدم رشد آنها گزارش شده است. نتیجه این آزمایشات بعد از سه بار تکرار، در جدول فهرست شده است. برای نمونه تصاویر مربوط به باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس در شکل ۴ ذکر شده است. همان‌طور که دیده می‌شود، داربست به تنهایی نیز به دلیل وجود خواص آنتی‌باکتریال در سدیم آلژینات، هاله عدم رشد باکتری دارد. با افزودن بلوط این هاله بزرگ‌تر شده که نشانگر این است که عصاره بلوط به عنوان منبع تانن، دارای خاصیت آنتی‌باکتریال قابل ملاحظه‌ای است. در مورد نانوذرات نقره به دلیل وجود نقره در کنار بلوط، بزرگ‌ترین هاله عدم رشد را داریم که در مقایسه با نمونه شاهد (جنتامایسین ۵٪) کاملاً قابل ملاحظه است. علت وجود خطای بیشتر در مورد هاله مربوط به داربست‌های حاوی نانوذره و عصاره، احتمالاً مربوط به خطای بارگذاری این

gelatin solutions .1. Structural investigation. J Phys. 1988;49(2):319-32.

6- Gelatin Manufacturers Institute of America. Gelatin handbook. Woburn, Massachusetts: Atlantic Gelatin/Kraft Foods Global Inc.; 2012.

7- Shafaei K, Nahaei MR, Kalhori S, Norani Z, Hosseini M. Determination of prevalent bacteria in burn infections compared to patients' environmental bacteria in burn ward of Shahid Zareh Hospital in Sari, Iran. Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv. 2014;36(4):62-71. [Persian]

8- Mamani M, Derakhshanfar A, Niayesh A, Hashemi SH, yousefi Mashoof R, Zavar S. Frequency of bacterial burn wounds infection and antimicrobial resistance in burn center of Bessat Hospital of Hamedan. Iran J Surg. 2009;17(1):1-8. [Persian]

9- Korbekandi H, Chitsazi MR, Asghari G, Bahri Najafi R, Badii A, Irvani S. Green biosynthesis of silver nanoparticles using Quercus brantii (oak) leaves hydroalcoholic extract. Pharm Biol. 2015;53(6):807-12.

10- Jaimand K. Essential oils, distillations apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis. 1<sup>st</sup> Edition. Tehran: Iranian Association of Medicinal Plants; 2006. [Persian]

11- Arunachalam KD, Annamalai SK, Arunachalam AM, Kennedy S. Green synthesis of crystalline silver nanoparticles using indigofera aspalathoides-medicinal plant extract for wound healing applications. Asian J Chem. 2013;25(Supplementary Issue):S311-4.

12- Choi YS, Hong SR, Lee YM, Song KW, Park MH, Nam YS. Study on gelatin-containing artificial skin: I. Preparation and characteristics of novel gelatin-alginate sponge. Biomaterials. 1999;20(5):409-17.

13- Ayoola GA, Coker HB, Adesegun SA, Adepoju-Bello A, Obaweia K, Ezennia EC, et al. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. Trop J Pharm Res. 2008;7(3):1019-24.

14- Kayani SA, Masood A, Achakzai A, Anbreen S. Distribution of secondary metabolites in plants of Quetta-Balochistan. Pak J Bot. 2007;39(4):1173-9.

15- Gao C, Liu M, Chen J, Zhang X. Preparation and controlled degradation of oxidized sodium alginate hydrogel. Polym Degrad Stab. 2009;94(9):1405-10.

16- Ghashghaei F, Moazamian E, Jafari A, Askarian S, Derakhshandeh T. Effect of oak plum extract on burn infection caused by exotoxin A-producing Pseudomonas aeruginosa in mice. 2<sup>nd</sup> National Conference on Sustainable Medicinal Plants and Agriculture. Hamadan: Association of Environmental Assessors of Hegmataneh; 2014. [Persian]

جذب مناسب آب و خاصیت آنتی‌باکتریال قوی با استفاده از داروی گیاهی و به‌عنوان جایگزینی برای نمونه‌های مشابه شیمیایی، ارایه شد.

**تشکر و قدردانی:** از همکاری ارزشمند خانم مهندس مینا زراقت‌زاده بی‌دگلی، کارکنان و کارشناسان آزمایشگاه‌های مرکز بیوشیمی و محیط زیست دانشگاه صنعتی شریف، در مراحل آزمایشگاهی و پیشبرد پروژه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

**تاییدیه اخلاقی:** مقاله حاضر توسط همه نویسندگان تایید شده است. همچنین این مقاله در نشریه دیگری به زبان فارسی، انگلیسی یا سایر زبان‌ها چاپ نشده یا به‌طور همزمان برای نشریه دیگری ارسال نشده است.

**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارضی در منافع وجود ندارد.

**سهم نویسندگان:** بیتا رضانی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۶۰٪)؛ ایران عالم‌زاده (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۲۰٪)؛ منوچهر وثوقی (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ مریم حاجی‌عباس (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۱۰٪)

**منابع مالی:** موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

## منابع

1- Charernsriwilaiwat N, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Sukma M, Opanasopit P. Electrospun chitosan-based nanofiber mats loaded with Garcinia mangostana extracts. Int J Pharm. 2013;452(1-2):333-43.

2- Gee AO, Baker B, M Silverstein AM, Montero G, Esterhai JL, Mauck RL. Fabrication and evaluation of biomimetic-synthetic nanofibrous composites for soft tissue regeneration. Cell Tissue Res. 2012;347(3):803-13.

3- Koehler J, Brandl FP, Goepferich AM. Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds. Europ Polym J. 2018;100:1-11.

4- Veis A. The macromolecular chemistry of gelatin. New York: Academic Press; 1964.

5- Djabourov M, Leblond J, Papon P. Gelation of aqueous