

Coating of Silk Fabrics by PVA/Ciprofloxacin HCl Nanofibers for Biomedical Applications

Somaye Baghersad, Reza Mansurnezhad, Laleh Ghasemi-Mobarakeh*, Hossein Mola hosseini, and Mohammad Morshed

Department of Textile Engineering, Isfahan University of Technology, P.O. Box: 84156-83111, Isfahan, Iran

Received: 14 June 2015, accepted: 28 December 2015

ABSTRACT

In recent years, fabrication of polymeric antibacterial wound dressing has gained most attention in controlling wound infections. Silk is also a member of the broad family of protein-based polymers. The silk produced by the lepidopteran insect *Bombyx mori* is a highly accepted material due to its long history as a very valuable textile fiber. Recently, additional applications have been developed for silk, mainly in the field of biotechnology. Regarding its importance in wound healing, silk fabric was incorporated with ciprofloxacin, as an antibiotic, on its surface coated with electro-spun PVA/ciprofloxacin nanofibers. Before coating, degumming was carried out using autoclave technique and properties of the silk fabric, before and after degumming process, was investigated by SEM, FTIR, mechanical properties and moisture absorbance measurement. The results of all analyses showed a reduction in fibers diameter, mechanical strength and moisture absorption after degumming process. Electrospinning condition was optimized and diameter of the nanofibers, with and without drug, was measured before coating. The results showed that addition of the drug increased electrical conductivity of electrospinning solution and resulted in finer nanofibers. Antibacterial test was performed using "disk diffusion method" with *Escherichia coli* (EC) and *Staphylococcus aureus* (SA) bacteria to compare the antibacterial properties of degummed and non-degummed silk fabrics alone and coated with nanofibers. Measurement of bacterial inhibition zone diameter showed no antibacterial activity for degummed and non-degummed silk fabrics alone. However, the sample coated with PVA/ciprofloxacin showed antibacterial activity. The antibacterial property for SA in both cases was the same, but for EC, the antibacterial activity of degummed silk fabric was more than that of non-degummed material.

Keywords:

silk,
nanofibers,
PVA,
ciprofloxacin HCl,
antibacterial

(*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: laleh.ghasemi@cc.iut.ac.ir

پوشش‌دهی پارچه ابریشمی با استفاده از نانوالیاف پلی‌وینیل‌الکل-سیپروفلوکساسین هیدروکلرید برای کاربردهای پزشکی

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،
سال بیست و نهم، شماره ۲،
صفحه ۱۸۴-۱۷۱، ۱۳۹۵
ISSN: 1016-3255
Online ISSN: 2008-0883

سمیه باقرصاد، رضا منصورنژاد، لاله قاسمی مبارکه^{*}، حسین ملاحسینی، محمد مرشد

اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مهندسی نساجی، صندوق پستی ۸۴۱۵۶-۸۳۱۱۱

دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۴، پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۷

چکیده

در سال‌های اخیر تولید زخم‌پوش‌های پلیمری ضدباکتری برای کنترل زخم‌های عفونی مورد توجه قرار گرفته است. ابریشم نیز عضوی از خانواده گسترده پلیمرهای پروتئینی است. این پلیمر به‌طور عمده توسط نوعی حشره پروانه‌سان با نام *Bombyx mori* تولید شده که به دلیل کاربرد دیرینه آن شناخته‌شده‌ترین منبع تولید ابریشم به‌شمار می‌آید. به‌تازگی کاربردهای ابریشم افزون بر صنایع نساجی وارد حوزه زیست‌فناوری شده است. با توجه به اهمیت ابریشم در بهبود زخم‌های پوستی، در این پژوهش از پارچه ابریشمی استفاده شده است و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین با پوشش‌دهی نانوالیاف سیپروفلوکساسین-پلی‌وینیل‌الکل به سطح پارچه اضافه شد. پیش از پوشش‌دهی، عملیات صمغ‌گیری ابریشم به‌وسیله اتوکلاو انجام شد. خواص و شکل‌شناسی ابریشم پیش و پس از صمغ‌گیری با روش‌های میکروسکوپ الکترونی پویشی، طیف‌سنجی زیرقرمز، آزمون جذب رطوبت و استحکام‌سنجی ارزیابی شد. نتایج نشان‌دهنده کاهش قطر، جذب رطوبت و استحکام پس از عملیات صمغ‌گیری بود. شرایط الکتروریسی نیز بهینه و قطر نانوالیاف حاوی دارو و بدون دارو پیش از پوشش‌دهی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد، با افزودن دارو، رسانایی الکتریکی محلول الکتروریسی افزایش یافت که موجب ظرافت بیشتر نانوالیاف شد. برای مقایسه خواص ضدباکتری پارچه صمغ‌گیری شده و صمغ‌گیری نشده، به‌تنهایی و همراه با نانوالیاف، آزمون ضدباکتری با روش پخش دیسکی و استفاده از باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد. اندازه‌گیری قطر هاله‌عدم رشد باکتری نمونه‌ها نشان داد ابریشم صمغ‌گیری شده و صمغ‌گیری نشده خاصیت ضدباکتری ندارند، اما نمونه‌های پوشش یافته با پلی‌وینیل‌الکل-سیپروفلوکساسین دارای خاصیت ضدباکتری بودند. مقدار ضدباکتری بودن برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در هر دو نمونه یکسان، اما این خاصیت برای باکتری *اشرشیاکلی* در نمونه صمغ‌گیری شده بیشتر از نمونه صمغ‌گیری نشده بود.

واژه‌های کلیدی

ابریشم،
نانوالیاف،
پلی‌وینیل‌الکل،
سیپروفلوکساسین هیدروکلرید،
ضدباکتری

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

laleh.ghasemi@cc.iut.ac.ir

مقدمه

پوست مرزی میان اندام و محیط پیرامون بدن است که به عنوان سدی مؤثر در برابر هجوم عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند [۱]. از این‌رو، پس از وقوع جراحات، پوست به شرایط مناسبی برای بازسازی نیاز دارد تا بتواند قابلیت‌های خود را حفظ کند. در غیر این حالت، مقدار باکتری‌ها در بستر زخم افزایش یافته، سبب ایجاد عفونت و احتمال بروز زخم‌های مزمن افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، بهبود جراحات‌ها فرایندی پیچیده است، به نحوی که عواملی چون اختلال در عملکرد سرخرگ‌ها یا بیماری‌های عروقی، مانند دیابت می‌تواند روند ترمیم آن را کند سازد [۲-۵].

امروزه با توجه به دستیابی به زیست‌پلیمرهای نوین و پیشرفت چشمگیر روش‌های تولید الیاف، انتظار می‌رود، خواص ویژه مواد تشکیل‌دهنده زخم‌پوش‌ها، سبب ارتقای روند بهبود زخم شوند [۶]. به عنوان مثال، برخی آسیب‌ها همچون جراحات‌های ناشی از سوختگی، دارای ترشحات میکروبی و سمی هستند که باعث کندشدن روند بهبود و آسیب‌رساندن به بافت‌های مجاور می‌شوند. ترشحات حاصل میان پانسمان و محل زخم قرار می‌گیرند و تبدیل به محلی مستعد برای رشد باکتری‌ها می‌شود. از این‌رو، یکی از اهداف اصلی تولید زخم‌پوش‌ها، جذب این ترشحات از بستر زخم است. از طرف دیگر ایجاد محیطی با رطوبت مناسب و فراهم کردن شرایط لازم برای رشد سلول را می‌توان از دیگر اهداف مهم در تولید زخم‌پوش‌ها نام برد [۷-۱۱]. مطالعه Hinman و همکاران [۱۲] نشان داده است، ایجاد محیط با رطوبت مناسب در محل زخم، سبب افزایش شایان توجه سرعت رشد بافت جدید و بهبود سریع‌تر زخم می‌شود.

زخم‌پوش‌هایی که امروزه در درمان زخم‌های عفونی استفاده می‌شوند، اغلب با استفاده از پلیمرهای مصنوعی نظیر پلی‌یورتان، پلی‌استر، پلی‌لاکتیک‌اسید و نایلون تهیه می‌شوند. اما به علت محدودیت‌هایی چون جذب رطوبت کم، عدم سهولت در جداکردن آن‌ها از بافت جدید و سرعت کم بهبود زخم، استفاده از پلیمرهای طبیعی نظیر پلی‌ساکاریدها (آلژینات، کیتین و کیتوسان) و پروتئین‌ها (فیبروئین ابریشم، کلاژن، ژلاتین و کراتین) و تهیه زخم‌پوش‌ها مورد توجه قرار گرفته است [۱۳، ۱۴].

طی سال‌های اخیر فیبروئین ابریشم به عنوان ماده‌ای امیدبخش در کاربردهای زیست‌پزشکی استفاده شده است. از این ماده به دلیل زیست‌سازگاری، خواص مکانیکی مطلوب و اثر مثبت آن در بهبود زخم استفاده می‌شود. فیبروئین به شکل‌های مختلف چون فیلم، اسفنج، هیدروژل و وب نانوالیاف تولید شده که نشان‌دهنده شکل‌پذیری زیاد این ماده است [۱۵]. چنین قابلیت‌هایی سبب شده است، در ابریشم

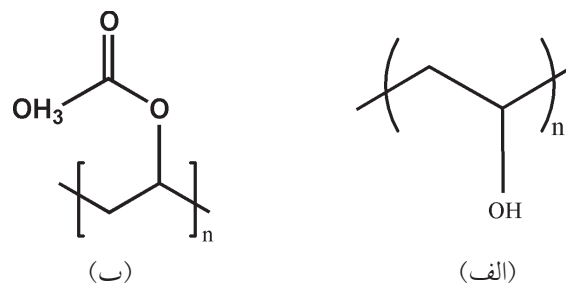
بر بسیاری از زیست‌مواد برتری یابد و توجه پژوهشگران را در تهیه منسوجات پزشکی به خود جلب کند. همان‌طور که اشاره شد، کنترل مقدار رطوبت بستر زخم از ملزومات زخم‌پوش‌های مطلوب به شمار می‌آید. به‌طور میانگین ابریشم با جذب رطوبت ۲۰-۱۰٪ در مقایسه با الیاف مصنوعی به عنوان لیف مطلوبی برای مصارف پزشکی مطرح می‌شود [۱۶]. Sugihara و همکاران [۱۷] با مقایسه فیلم فیبروئینی و زخم‌پوش تجاری Duro Active دریافتند، بهبود زخم به‌وسیله فیلم فیبروئینی التهاب کمتری را به وجود آورده است. همچنین، در این مقایسه نفوذ لنفوسیت‌های نوتروفیلی (neutrophil lymphocyte) بررسی شد که فیبروئین نتایج بهتری را نشان داد.

Gil و همکاران [۱۵] نیز با مقایسه محصول تجاری Tegaderm که پانسمان پلی‌یورتانی است، با زخم‌پوش‌های تولید شده از ابریشم دریافتند، روند بهبود زخم از راه زخم‌پوش ابریشمی، حدود ۱۳٪ سریع‌تر از نمونه تجاری مزبور است. همچنین، مواقعی که نمونه‌ها همراه با ماده ضدباکتری به کار برده شد، اختلاف در سرعت بهبود زخم به ۲۰٪ رسید که نشان‌دهنده اثر مثبت پروتئین‌های ابریشم بر سازوکار اثر ماده ضدباکتری است. این نتایج نشان می‌دهد، ابریشم می‌تواند یکی از گزینه‌های بسیار مناسب برای درمان زخم‌های عفونی نظیر جراحات‌های سوختگی باشد.

الکتروریسی از متداول‌ترین روش‌ها برای تولید نانوالیاف پلیمری با نسبت سطح به حجم و تخلخل زیاد است. این روش به دلیل سرعت زیاد، راحتی و مقرون به صرفه بودن مورد توجه قرار گرفته است. نانوالیاف به دست آمده از الکتروریسی، کاربردهای گوناگونی در زمینه کامپوزیت‌ها، مهندسی بافت و رهایش دارو دارند. زخم‌پوش‌های تولید شده از نانوالیاف به لحاظ ساختار هندسی، مشابه ماتریس خارج سلولی بدن هستند و به همین علت، برای رشد سلول و سنتز ماتریس جدید مطرح می‌شوند. از طرف دیگر، پوشش‌های نانولیفی با تخلخل ویژه می‌توانند به‌وسیله به دام انداختن ذرات، زخم را از نفوذ باکتری‌ها محافظت کنند [۱۸، ۱۹].

پلی‌وینیل الکل (PVA) پلیمری است که از آبکافت جزئی یا کامل پلی‌وینیل استات تولید می‌شود (طرح ۱). از این ماده به عنوان یکی از قدیمی‌ترین پلیمرهای مصنوعی به‌طور گسترده در مصارف پزشکی استفاده شده است. PVA پلی‌هیدروکسی غیرسمی، زیست‌سازگار و انحلال‌پذیر در آب با خواص مکانیکی، شیمیایی و زیستی مطلوب است و در مطالعات مختلفی از این پلیمر برای تهیه زخم‌پوش‌ها استفاده شده است [۲۰، ۲۱]. Hong و همکاران [۲۲] نشان دادند، زخم‌پوش‌های حاوی نانوالیاف PVA و نقره توانسته‌اند، روند بهبود زخم را به‌طور چشمگیری افزایش دهند.

با توجه به اهمیت پانسمان‌های ضدباکتری و خواص مطلوب ابریشم به‌عنوان باندهای پوشش‌دهنده زخم، در این پژوهش ابتدا پارچه ابریشمی صمغ‌گیری و خواص آن پیش و پس از صمغ‌گیری اندازه‌گیری شد. سپس، نانوالیاف حاوی داروی سیپروفلوکساسین بر آن پوشش داده شده و خواص ضدباکتری پارچه نهایی ارزیابی شد.



طرح ۱- ساختار شیمیایی: (الف) پلی وینیل الکل و (ب) پلی وینیل استات.

تجربی

مواد

در این پژوهش، از پارچه ابریشمی تولید شده از نخ ابریشم طبیعی منطقه لاهیجان استفاده شد. همچنین، پلی وینیل الکل با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ g/mol و آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین هیدروکلرید (Sigma-Aldrich) برای تولید وب نانوالیاف استفاده شد. حلال‌های به‌کار برده شده در این پژوهش، اتانول (Merck) و آب دیوار تقطیر شده است و در نهایت سوبه‌های استاندارد/ستافیلوکوکوس/اورئوس (ATCC-25923) و /شرشیاکلی (ATCC-25922) برای آزمون ضدباکتری استفاده شد.

دستگاه‌ها

برای بافت پارچه ابریشمی از ماشین بافندگی حلقوی پودی FALMAC ساخت آلمان، برای تعیین وزن متر مربع پارچه از ترازوی A&D GR-200 ساخت ژاپن و برای صمغ‌گیری ابریشم به روش اتوکلاو از دستگاه اتوکلاو پارس مهر ساخت ایران استفاده شد. برای تولید محلول‌های الکتروریسی از همزن مغناطیسی VEL Pscientifica-ARE ساخت ایتالیا، برای تهیه وب نانوالیاف از دستگاه الکتروریسی TOP-5300 ساخت ژاپن و برای بررسی شکل‌شناسی نانوالیاف میکروسکوپ الکترونی پوشی XL 30 شرکت Philips ساخت هلند و میکروسکوپ نوری Matic-M05 ساخت انگلستان استفاده شد. همچنین، استحکام‌سنج Zwick-144660 ساخت آلمان، طیف‌سنج زیرقرمز تبدیل فوریه Hartmann & Braun-MB100 ساخت کانادا، رسانایی‌سنج الکتریکی JENWAT-3540 ساخت انگلستان، گرانروی‌سنج Brookfield DV-II ساخت آمریکا و طیف‌نورسنج بازتابی Texflash ساخت سوئیس برای ارزیابی نمونه‌ها به‌کار گرفته شد.

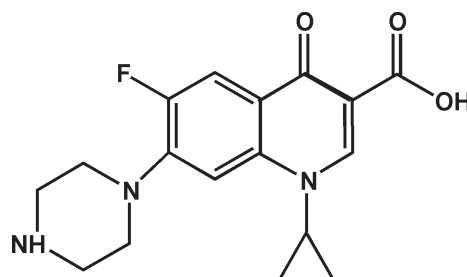
روش‌ها

محاسبه وزن متر مربع پارچه

برای تعیین وزن متر مربع پارچه (مطابق با استاندارد ASTM D3776)، ابتدا نمونه‌ای مربع‌شکل از پارچه با ابعاد مشخص ۱۰ × ۱۰ cm برش

غشاهای نانولیفی الکتروریسی شده زمانی که به همراه ماده ضدباکتری استفاده می‌شوند، نقش مؤثرتری در جلوگیری از عفونت و درمان سریع‌تر زخم دارند [۱۹]. امروزه به‌طور گسترده از خاصیت ضدباکتری نانواکسیدهای فلزی برای درمان جراحات‌های عفونی استفاده می‌شود [۲۳]. به‌طور مثال، نقره به علت داشتن خاصیت ضد میکروب و ضد قارچ، در درمان زخم‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۲۴-۲۶]. اما در برخی موارد گزارش شده است، استفاده از نانوذرات نقره سبب آسیب به DNA، اختلال در سامانه دفاعی بدن، انحراف کروموزوم‌ها و ایجاد ناهنجاری‌هایی در مراحل رشد جنین می‌شود [۲۷].

امروزه با توجه به خطرهایی که نانوذرات فلزی به همراه دارند، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مواد ضدباکتری بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۲۸-۳۱]. سیپروفلوکساسین هیدروکلرید از متداول‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مؤثری است که در درمان زخم‌های عفونی کاربرد دارد (طرح ۲). این ماده از خانواده فلوئوروکوئینولون‌هاست و قابلیت مقاومت در برابر هر دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی را دارد [۲۸]. تولید وب نانوالیاف حاوی آنتی‌بیوتیک موجب رهایش تدریجی دارو و کنترل بیشتر بر فرایند دفع عفونت می‌شود. در مطالعه Yuri و همکاران [۲۹] رهایش دارو در وب نانوالیاف حاصل از پلی‌یورتان-سیپروفلوکساسین هیدروکلرید بررسی شد. همچنین، Li و همکاران [۳۰] با استفاده از پلی وینیل الکل، سدیم آلزینات و سیپروفلوکساسین توانستند، زخم‌پوشی با خاصیت ضدباکتری مطلوب تولید کنند.



طرح ۲- ساختار شیمیایی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین.

داده و وزن آن با ترازو معین شد. سپس طبق معادله (۱)، وزن متر مربع پارچه محاسبه شد:

$$(۱) \quad (\text{وزن پارچه } ۱۰ \times ۱۰) \times ۱۰۰ = \text{وزن متر مربع پارچه}$$

صمغ گیری ابریشم

صمغ گیری ابریشم به روش اتوکلاو در دمای ۱۲۰°C ، فشار بخار $1/2 \text{ bar}$ و زمان ۲ h انجام شد [۳۲]. همچنین برای به دست آوردن L:R بهینه، عملیات صمغ گیری در L:R های ۱:۵۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ انجام شد. برای بررسی اثر عملیات صمغ گیری بر کاهش وزن پارچه ابریشمی، ابتدا پارچه ابریشمی کاملاً شست و شو داده و خشک شد و پس از عملیات صمغ گیری مجدداً خشک و کاهش وزن آن محاسبه شد.

اندازه گیری مقدار جذب رطوبت

برای اندازه گیری جذب رطوبت نمونه های مختلف، ابتدا جرم مشخصی از پارچه صمغ گیری شده به مدت ۲۴ h درون اتاقک استاندارد با رطوبت $65 \pm 1\%$ و دمای $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ قرار گرفت و وزن مرطوب آن اندازه گیری شد. سپس، نمونه ها در فواصل زمانی مشخصی خشک و مجدداً وزن نمونه اندازه گیری شد. با استفاده از وزن مرطوب، وزن خشک و معادله (۲) مقدار جذب رطوبت نمونه ها محاسبه شد:

$$(۲) \quad R_g = \frac{W}{D}$$

در این معادله، R_g درصد رطوبت بازیافته، W وزن آب موجود در الیاف و D وزن نمونه خشک است.

اندازه گیری استحکام

برای اندازه گیری استحکام نمونه های مختلف، برای هر نمونه سه پارچه با ابعاد $22 \times 2/5 \text{ cm}^2$ بین دو فک دستگاه Zwick قرار داده شد. با اندازه گیری مقدار نیروی پارگی در سرعت 500 mm/min ، استحکام نمونه ها اندازه گیری و میانگین آن به عنوان استحکام نمونه ثبت شد.

تعیین شاخص سفیدی

برای اندازه گیری شاخص سفیدی، نمونه ها در زیر دریچه 18 mm درون دستگاه طیف نورسنج بازتابی قرار داده شدند و با بررسی نور بازتاب شده از نمونه، شاخص سفیدی آن ها به دست آمد.

الکترورسی و تعیین رسانایی الکتریکی و گرانیوی محلول های پلیمری
برای الکترورسی ابتدا محلول PVA خالص با حلال اتانول-آب به نسبت ۷۰-۳۰، در غلظت های ۶، ۷/۵، ۸ و ۹٪ تهیه شد و با انجام الکترورسی، غلظت بهینه انتخاب شد. سپس، به محلول پلیمری بهینه PVA، ۵٪ سیپروفلوکساسین نسبت به وزن PVA اضافه شد. رسانایی الکتریکی محلول های بهینه اندازه گیری شد و در مرحله بعد گرانیوی محلول های PVA و PVA-سیپروفلوکساسین در غلظت های بهینه با دستگاه گرانیوی سنج با سرعت $2/5 \text{ rpm}$ به دست آمد. در نهایت، با استفاده از دستگاه الکترورسی، با ولتاژ 12 kV ، سرعت تغذیه $0/26 \text{ mL/h}$ و فاصله ریسندگی 15 cm ، وب نانوالیاف روی پارچه ابریشمی صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده ریسیده شد.

بررسی شکل شناسی نمونه ها

بررسی های اولیه ساختار نانوالیاف از قبیل تشکیل دانه، قطر و یکنواختی با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین و نرم افزار Matic با حداکثر بزرگ نمایی ۱۰۰۰ انجام شد. بررسی دقیق تر شکل شناسی الیاف و پارچه ابریشمی و نیز نانوالیاف الکترورسی شده، به وسیله میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) انجام شد. در هر نمونه، میانگین قطر الیاف و نانوالیاف برای ۵۰ لیف، با استفاده از نرم افزارهای ImageJ و Minitab اندازه گیری و محاسبه شد.

طیف سنجی FTIR

برای بررسی ساختار شیمیایی و گروه های عاملی، از طیف سنج زیرقرمز تبدیل فوریه (FTIR) در محدوده طیف $4000-400 \text{ cm}^{-1} \text{ IR}$ استفاده شد. طیف FTIR پودر سیپروفلوکساسین هیدروکلرید، نانوالیاف PVA خالص و نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین برای تأیید وجود سیپروفلوکساسین در نانوالیاف بررسی شد. همچنین، با تبخیر کردن آب باقی مانده در پساب صمغ گیری پودر شیرین رنگی حاصل شد که از آن عملیات طیف سنجی به عمل آمد. برای انجام عملیات طیف سنجی، هر یک از نمونه ها با نمک KBr مخلوط شده و قرص یکنواختی از این مخلوط ساخته و داخل سلول دستگاه گذاشته شد و سپس در معرض تابش IR قرار گرفت. در نهایت، تحلیل نتایج حاصل از FTIR با نرم افزار OMNIC انجام شد.

بررسی خواص ضدباکتری نمونه های مختلف وب نانوالیاف

برای بررسی خواص ضدباکتری نمونه های تهیه شده، آزمون ضدباکتری برای نمونه های جدول ۱، به روش آزمون پخش دیسکی (disk diffusion method) انجام شد. ابتدا سویه های استاندارد

جدول ۱- نمونه های تهیه شده برای انجام آزمون ضدباکتری.

شماره	کد نمونه	نوع نمونه
۱	A	ابریشم صمغ گیری شده + نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین
۲	B	ابریشم صمغ گیری نشده + نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین
۳	C	ابریشم صمغ گیری شده
۴	D	ابریشم صمغ گیری نشده

استافیلوکوکوس اورئوس با شماره استاندارد ATCC-25923 و شرشیاکلی با شماره استاندارد ATCC-25922 با کشت ۱۸ ساعتی تهیه و سپس چند کولنی از سویه های منتخب به لوله حاوی نرمال سالین استاندارد تلقیح شد تا کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند به دست آید. سپس، از تعلیق به دست آمده روی محیط کشت مولار هیتون آگار، مایه کوبی شد و نمونه هایی که به شکل دیسک های با قطر ۶ mm تهیه شده بودند، روی سطح آگار قرار داده شدند. پس از قراردادن محیط های کشت درون محفظه رشد به مدت ۲۴ h، قطر هاله عدم رشد باکتری برای نمونه های مختلف با خط کش اندازه گیری شد. به عنوان کنترل، از دیسک آنتی بیوگرام کوتریموسازول در محیط کشت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و دیسک آنتی بیوگرام نیتروفرانتوئین در محیط کشت باکتری شرشیاکلی استفاده شد.

تحلیل آماری

تحلیل آماری با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفی (ANOVA) انجام و نتیجه هر آزمون به شکل میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

نتایج و بحث

صمغ گیری ابریشم

در بسیاری از کاربردهای نساجی و غیرنساجی، عملیات صمغ گیری روی کالای ابریشمی انجام می شود. این موضوع بدین علت است که ابریشم صمغ گیری شده خواص ظاهری و زیست سازگاری بهتری نسبت به نمونه صمغ گیری نشده دارد [۳۳]. نتایج گزارش شده توسط Li و همکاران [۳۴] بیانگر آن است که استفاده از روش های سنتی صمغ گیری مانند محلول قلیایی، محلول صابونی، شوینده های مصنوعی و

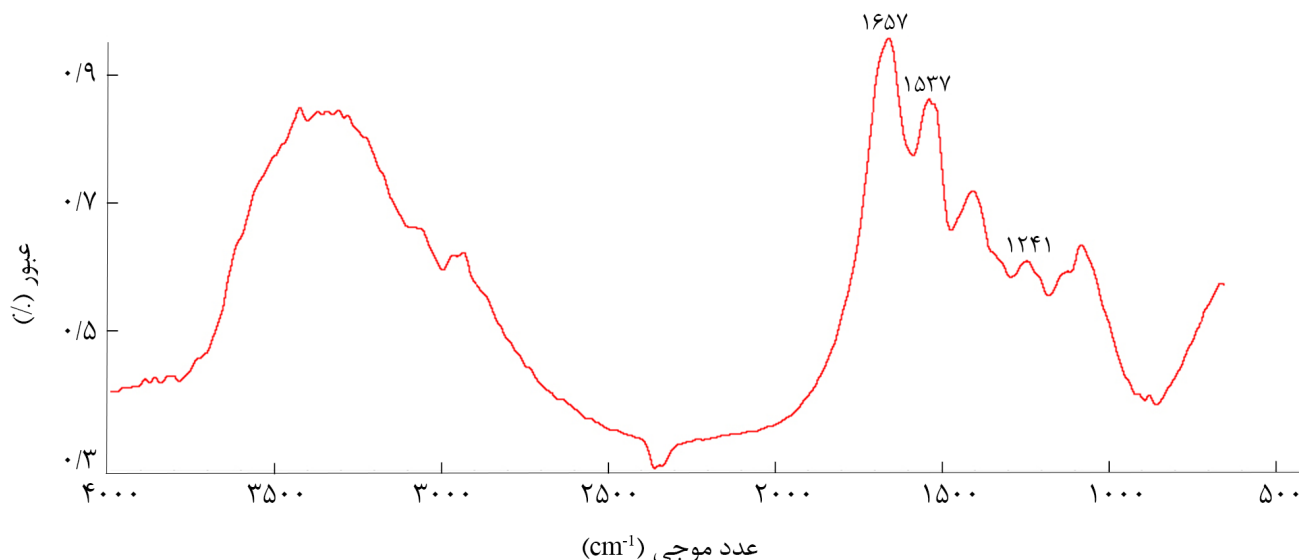
محلول اسیدی به علت وجود مواد شیمیایی در فرایند صمغ گیری، نمی تواند روشی دوست دار محیط زیست برای استخراج سریشین باشد. از سوی دیگر، صمغ گیری با آنزیم نیز روش بسیار پرهزینه به شمار می آید. بنابراین، استفاده از روش هایی نظیر صمغ گیری با اتوکلاو و صمغ گیری با پرتوهای زیرقرمز (IR) مناسب ترین روش ها برای استخراج سریشین هستند [۳۵].

استفاده از روش صمغ گیری با استفاده از بخار زیر فشار نسبت به روش صمغ گیری سنتی (استفاده از محلول سدیم کرینات) موثرتر، ارزان تر و دارای آلودگی کمتری است [۳۶]. به همین دلیل در این پژوهش، صمغ گیری پارچه ابریشمی (با وزن $1.2 \pm 0.35 \text{ g/m}^2$) با استفاده از این روش انجام شد. پژوهش انجام شده توسط Gulrajani [۳۲] نشان داده است، بخاردهی ابریشم در دمای 120°C به مدت ۲ h شرایط مناسبی برای صمغ گیری ابریشم است. بر این اساس در پژوهش حاضر، از شرایط مزبور استفاده شد. با توجه به عدم ذکر L:R مناسب در پژوهش Gulrajani، برای تعیین شرایط بهینه، صمغ گیری در L:R های مختلف بررسی شد. نتایج حاصل از صمغ گیری نمونه ها در L:R های ۱:۵۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در جدول ۲ آمده است.

تحلیل های آماری نشان داد، در L:R های بیش از ۱:۵۰ اختلاف معناداری در مقادیر کاهش وزن و بازده صمغ گیری وجود ندارد ($p < 0.05$). بر این اساس در پژوهش حاضر، صمغ گیری ابریشم به روش اتوکلاو در دمای 120°C ، L:R برابر ۱:۵۰ و زمان ۲ h انجام شد. پس از انجام صمغ گیری، با تبخیر آب موجود در پساب پودر سریشین حاصل شد. برای بررسی خلوص سریشین استخراج شده از ابریشم، از نمونه پودر سریشین، طیف FTIR تهیه و با طیف سریشین خالص مقایسه شد. در شکل ۱ طیف FTIR سریشین استخراج شده از پارچه ابریشمی نشان داده شده است. وجود پیک های جذب در عدد های موجی ۱۶۵۷، ۱۵۳۷ و 1241 cm^{-1} به ترتیب مربوط به پیوندهای $\text{C}=\text{O}$ ، NH و $\text{C}-\text{N}$ گروه های آمیدی در پروتئین سریشین است که با نتایج گزارش شده پیشین درباره طیف FTIR سریشین

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی اثر L:R بر کاهش وزن ابریشم طی عملیات صمغ گیری.

L:R	کاهش وزن (%)
بدون آب	$22/25 \pm 0.377$
۱:۵۰	$25/7 \pm 0.721$
۱:۱۰۰	$26/6 \pm 0.556$
۱:۲۰۰	$26/8 \pm 0.7$



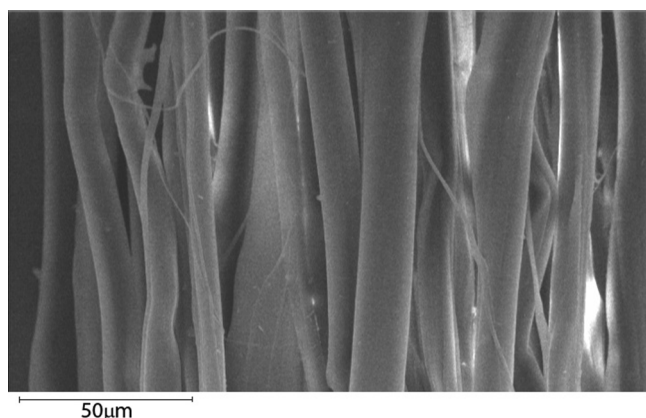
شکل ۱- طیف FTIR پودر سریسین استخراجی از پارچه ابریشمی.

خالص مطابقت دارد [۱۷،۳۷].

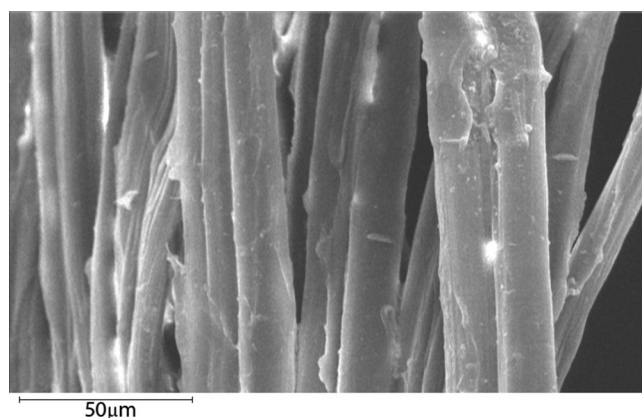
نتایج به دست آمده از آزمون جذب رطوبت (جدول ۳) نشان دهنده کاهش جذب رطوبت نمونه ابریشمی پس از عملیات صمغ گیری است. این مقدار کاهش را می توان به نبود سریسین در نمونه صمغ گیری شده نسبت داد، زیرا بخش عمده ای از آمینو اسیدهای تشکیل دهنده سریسین، سرین (۳۸٪)، ترئونین (۹٪) و آسپاراژین (۸/۶٪) حاوی گروه های آبدوست هستند (طرح ۳) که این ترکیب منحصر به فرد موجب آبدوستی زیاد سریسین می شود [۴۰]. همچنین Prasong و همکاران [۴۱] وجود مناطق بلوری به شکل ورقه ای β -در فیبروئین و عدم دسترسی آسان به گروه های آبدوست را دلیل کاهش جذب رطوبت ابریشم پس از صمغ گیری بیان کردند. در حالی که ساختار بی شکل تر در سریسین باعث دسترسی آسان تر به گروه های آبدوست می شود، به طوری که جذب رطوبت بیشتری خواهد داشت.

مقایسه خواص فیزیکی نمونه های ابریشم خام و صمغ گیری شده

شکل ۲، شکل شناسی الیاف ابریشم پیش از صمغ گیری (الف) و پس از صمغ گیری (ب) را نشان می دهد. همان طور که در شکل مشاهده می شود، الیاف ابریشم صمغ گیری نشده شامل دو رشته فیبروئینی هستند که با صمغ چسبنده سریسین به یکدیگر متصل شده اند. پس از عملیات صمغ گیری سریسین حذف شده و دو رشته فیبروئینی جدا از هم باقی می ماند [۳۸]. نتایج حاصل از اندازه گیری قطر الیاف (جدول ۳) بیانگر کاهش چشمگیر قطر الیاف از $19/48 \mu m$ به $10/73 \mu m$ طی فرایند صمغ گیری است که می توان این کاهش قطر را به حذف سریسین نسبت داد [۳۹].

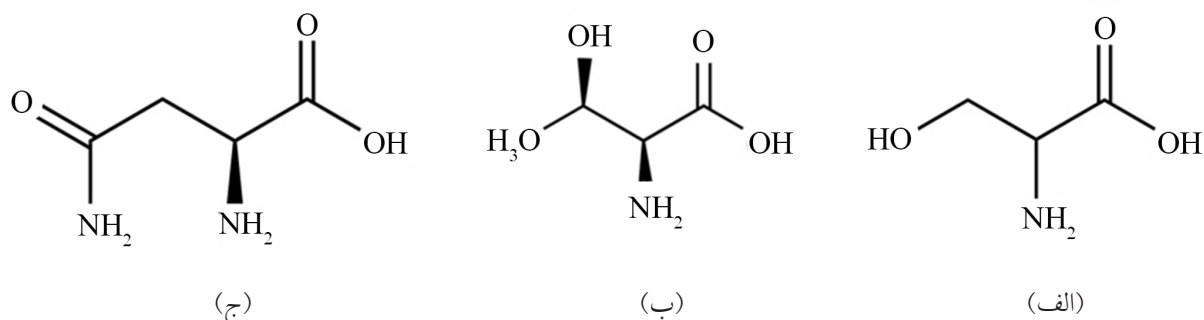


(ب)



(الف)

شکل ۲- تصاویر SEM الیاف: (الف) ابریشم خام و (ب) ابریشم صمغ گیری شده (با بزرگنمایی ۵۰۰).



طرح ۳ - ساختار شیمیایی: (الف) آمینواسید سرین (Ser)، (ب) آمینواسید ترئونین (Thr) و (ج) آمینواسید آسپاراژین (Asp).

می دهد. همان طور که مشاهده می شود، با انجام عملیات صمغ گیری شاخص سفیدی افزایش و شاخص زردی کاهش می یابد. سرپسین به دلیل وجود فلاوانول، به طور ذاتی تهرنگ زرد دارد، بنابراین حذف آن موجب کاهش زردی ابریشم می شود [۴۵].

بررسی شکل شناسی و خواص وب نانوالیاف پوشش یافته بر پارچه ابریشمی
درمان زخم های عفونی از معضلات اساسی حوزه پزشکی است. تجمع باکتری در زخم های عفونی باعث کندشدن روند ترمیم طبیعی زخم می شود. بدین ترتیب، وجود یک عامل ضدباکتری برای درمان این نوع زخم ها بسیار لازم است. امروزه استفاده از داروهای آنتی بیوتیک نظیر سیپروفلوکساسین از متداول ترین و کارآمدترین روش های ایجاد خاصیت ضدباکتری در زخم پوش هاست [۴۶]. آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین با مهار فعالیت یکی از آنزیم های ضروری باکتری با نام DNA gyrase، باعث اختلال در سنتز DNA و در نهایت مرگ سلول باکتری می شود [۴۷].

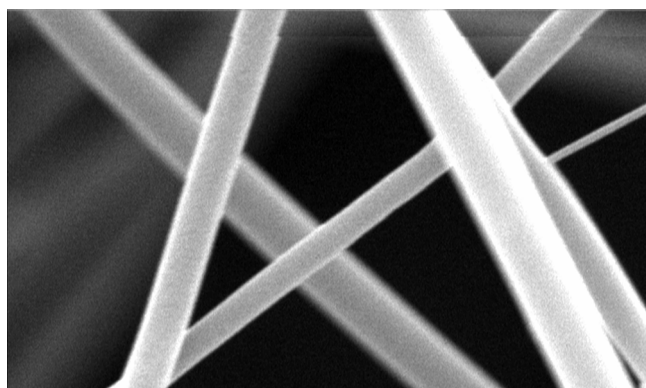
Sastry [۴۸] با استفاده از پوشش دهی الیاف ابریشم با پلی (۲- هیدروکسی اتیل متاکریلات) آغشته به نانوذرات نقره جفت شده با آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین هیدروکلرید، نواری با خاصیت ضدباکتری و تکثیر سلولی مناسب تولید کرد. در پژوهش حاضر، به منظور تولید نمونه دارای خاصیت ضدباکتری از انتقال داروی سیپروفلوکساسین هیدروکلرید به پارچه ابریشمی به وسیله روش الکتروریسی این دارو به همراه وب نانوالیاف PVA استفاده شد. ابتدا محلول PVA و محلول PVA-سیپروفلوکساسین تهیه شد. اثر افزودن دارو به محلول PVA بر خواصی نظیر گرانیروی و رسانایی الکتریکی محلول و شکل شناسی نانوالیاف بررسی و پس از بهینه کردن شرایط ریسندگی، نانوالیاف حاوی دارو بر پارچه ابریشمی پوشش داده شد. از عوامل مؤثر بر شکل شناسی نانوالیاف کشش سطحی است به گونه ای که در غلظت ثابت محلول پلیمری با کاهش کشش سطحی، ظرافت و یکنواختی نانوالیاف افزایش می یابد [۴۹، ۵۰]. بدین علت در

جدول ۳ نتایج ارزیابی استحکام نمونه ها پیش و پس از انجام عملیات صمغ گیری را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، استحکام نمونه ها پس از انجام عملیات صمغ گیری کاهش یافته است. کاهش استحکام به این علت است که وجود سرپسین در ابریشم صمغ گیری نشده باعث اتصال رشته های فیبروئینی به یکدیگر می شود. این رشته ها با حذف سرپسین از یکدیگر جدا شده و استحکام نهایی لیف کاهش می یابد. افزون بر این، در صمغ گیری ابریشم به روش اتوکلاو به علت اعمال گرمای زیاد، تضعیف و شکست پیوندهای بین زنجیری فیبروئین اتفاق می افتد که نتیجه آن کاهش استحکام ابریشم پس از صمغ گیری است [۴۲، ۴۳]. Jiang و همکاران [۴۴] اثر روش های مختلف صمغ گیری را بر استحکام ابریشم بررسی کردند. آن ها دریافتند، در روش صمغ گیری با اتوکلاو استحکام کاهش معناداری پیدا می کند که علت آن وجود آب در نقش نرم کننده است، به گونه ای که در مناطق بی شکل باعث تضعیف پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی می شود.

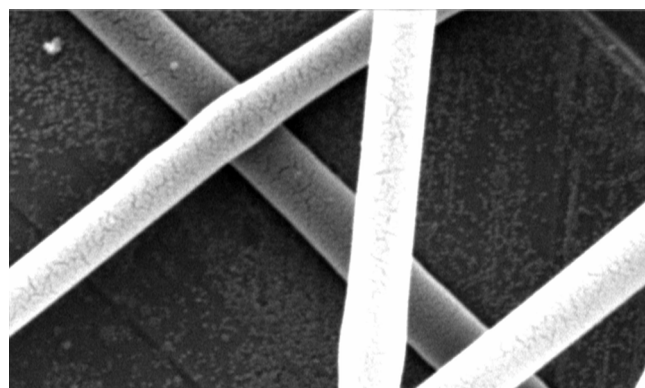
رنگ یکی از خواص مهم پارچه ابریشمی است که به وسیله آن می توان ابریشم صمغ گیری شده را از ابریشم صمغ گیری نشده تفکیک کرد. جدول ۳ نتایج اندازه گیری شاخص های سفیدی و زردی نمونه های ابریشمی پیش و پس از عملیات صمغ گیری را نشان

جدول ۳- مقایسه نتایج حاصل از ارزیابی خواص نمونه های خام و صمغ گیری شده.

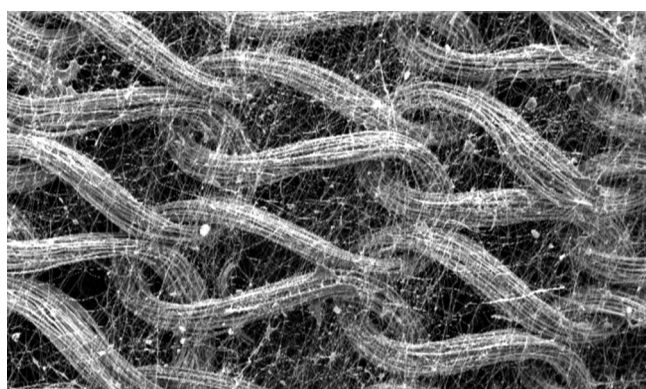
مشخصه	ابریشم خام	ابریشم صمغ گیری شده
قطر (μm)	19.48 ± 2.89	10.73 ± 1.78
جذب رطوبت (%)	8.33 ± 0.26	6.51 ± 0.44
استحکام (N)	27.34 ± 6.92	17.57 ± 1.69
شاخص سفیدی	۹/۱	۲۰/۸
شاخص زردی	۲۰/۰۵	۱۶/۸



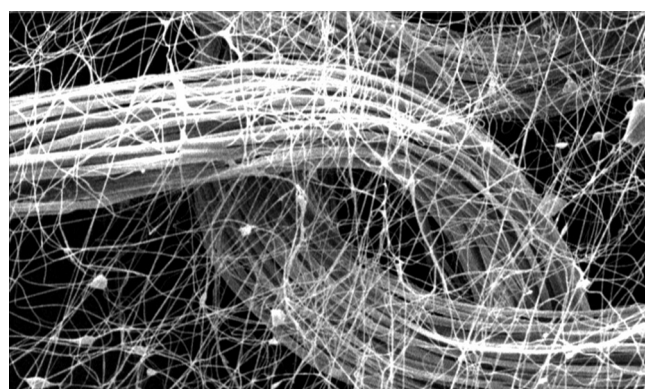
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

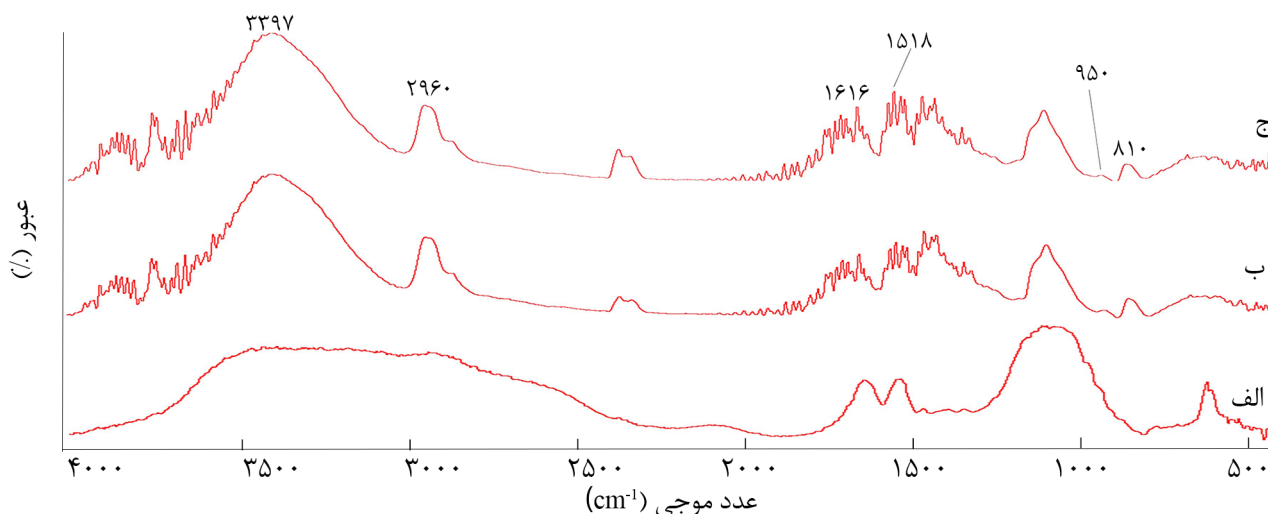
شکل ۳- تصاویر SEM: (الف) نانوالیاف PVA (بزرگ‌نمایی ۸۰۰۰)، (ب) نانوالیاف PVA حاوی سیپروفلوکساسین (بزرگ‌نمایی ۸۰۰۰)، (ج) پارچه ابریشمی پوشش یافته با نانوالیاف (بزرگ‌نمایی ۱۱۹) و (د) پارچه ابریشمی پوشش یافته با نانوالیاف (بزرگ‌نمایی ۳۰).

ابریشمی صمغ‌گیری شده پوشش یافته با نانوالیاف را نشان می‌دهد. همانطور که از شکل ۳-الف و ۳-ب و جدول ۴ مشاهده می‌شود، افزودن داروی سیپروفلوکساسین باعث کاهش شایان توجه قطر نانوالیاف شده است ($p < 0.05$). با توجه به افزایش ناچیز گرانیوی محلول پلیمری پس از اضافه کردن دارو و افزایش شایان توجه

جدول ۴- نتایج رسانایی الکتریکی و گرانیوی محلول‌های پلیمری و قطر الیاف حاصل از الکتروریسی آن‌ها.

مشخصه	PVA	-PVA سیپروفلوکساسین
قطر (nm)	682 ± 142	637 ± 137
رسانایی الکتریکی ($\mu\text{s/cm}$)	$509 \pm 6/55$	$809 \pm 13/07$
گرانیوی (cP)	$252/6 \pm 2/5$	$268/3 \pm 3/3$

پژوهش حاضر با استفاده از ترکیب آب-تانول به جای آب خالص به عنوان حلال، کشش سطحی از $72/01 \text{ mN/m}$ به $32/98 \text{ mN/m}$ کاهش یافت تا نانوالیاف یکنواخت و بدون دانه‌تسیجی باشد [۵۱]. شکل ۳-الف شکل‌شناسی نانوالیاف PVA تولید شده از محلول با غلظت ۸٪ را نشان می‌دهد. در غلظت‌های کمتر از ۸٪ نانوالیاف دانه‌تسیجی و در غلظت‌های بیشتر محلول، نانوالیاف با قطر زیاد مشاهده شد و نیز قابلیت ریسندگی کاهش یافت. با توجه به انتخاب غلظت ۸٪ به عنوان غلظت بهینه، داروی سیپروفلوکساسین به مقدار ۵٪ وزنی نسبت به وزن پلیمر به محلول PVA اضافه شد. جدول ۴ اثر اضافه کردن داروی سیپروفلوکساسین را بر رسانایی الکتریکی و گرانیوی محلول الکتروریسی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، وجود دارو در محلول موجب افزایش رسانایی الکتریکی و گرانیوی محلول پلیمری می‌شود. شکل ۳-ب شکل‌شناسی نانوالیاف PVA حاوی سیپروفلوکساسین و شکل‌های ۳-ج و ۳-د شکل‌شناسی پارچه



شکل ۴- طیف FTIR: (الف) پودر سیپروفلوکساسین، (ب) نانوالیاف PVA و (ج) نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین.

ضدباکتری دارند. با توجه به اینکه پلیمر پلی وینیل الکل هیچ خاصیت ضدباکتری ندارد [۵۶،۵۷] بنابراین خاصیت ضدباکتری به وجود آمده در نانوالیاف، تنها به علت وجود آنتی بیوتیک است که این مقدار ضدباکتری بودن در محیط باکتری /ستافیلوکوکوس/ اورئوس برای هر دو نمونه پارچه صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده پوشش یافته با نانوالیاف یکسان است. اما در محیط باکتری /شرشیاکلی/ به عنوان باکتری گرم منفی، نمونه صمغ گیری شده همراه نانوالیاف، خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به نمونه ابریشم صمغ گیری نشده همراه نانوالیاف نشان داد. همچنین مطالعه Kaur و همکاران [۵۸] نشان می دهد، فیبروئین ابریشم هیچ گونه خاصیت ضدباکتری در برابر باکتری /شرشیاکلی/ نداشته و مقدار رشد باکتری روی آن کاملاً مشابه نمونه کنترل بوده است. در حالی که بررسی خاصیت ضدباکتری روی

رسانایی الکتریکی می توان نتیجه گرفت، افزایش رسانایی الکتریکی اثر غالب بر ساختار و کاهش قطر نانوالیاف داشته است. جان نثاری و همکاران [۵۲] با تولید زخم پوشی برپایه نانوالیاف پلی وینیل الکل- پلی وینیل استات-سیپروفلوکساسین دریافتند، با افزایش آنتی بیوتیک قطر نانوالیاف PVA، PVAc و PVA/PVAc به ترتیب از ۱۹۸، ۲۱۸ و ۴۴۸ nm به ۱۴۵، ۱۸۰ و ۴۰۵ nm کاهش یافته است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

شکل ۴ طیف FTIR پودر سیپروفلوکساسین، نانوالیاف PVA و نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین را نشان می دهد. وجود پیک هایی در عددهای موجی ۳۳۹۷، ۱۶۱۶ و ۱۵۱۸ cm^{-1} که به ترتیب مربوط به گروه های C=O و N-C ، NH است، تأییدی بر وجود سیپروفلوکساسین و وجود پیک هایی در ۸۱۰، ۹۵۰ و ۲۹۶۰ cm^{-1} که نشان دهنده گروه وینیلی است، (شکل ۱) بیانگر وجود پلی وینیل الکل در ساختار نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین است [۵۳]. همچنین، نبود پیک جدید در طیف مربوط به نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین، نشان دهنده عدم وقوع هرگونه واکنش شیمیایی بین دارو و PVA است. دلیل مشاهده نشدن برخی پیک های دارو، در طیف PVA-سیپروفلوکساسین به علت مقدار بسیار کم دارو (۵٪w/w) نسبت به پلی وینیل الکل است.

بررسی آزمون ضد میکروب

جدول ۵ نتایج مربوط به اندازه گیری قطر هاله عدم رشد باکتری نمونه های مختلف را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، ابریشم صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده هیچ خاصیت ضدباکتری نشان نمی دهند که با پژوهش های انجام شده پیشین نیز مطابقت دارد [۵۴،۵۵]. اما نمونه های پوشش یافته با نانوالیاف حاوی دارو، خاصیت

جدول ۵- قطر هاله عدم رشد باکتری نمونه های مختلف.

قطر هاله عدم رشد (mm)		نوع نمونه
شرشیاکلی/	استافیلوکوکوس	
۲۰	۲۱	ابریشم صمغ گیری شده + نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین
۲۰	۱۴	ابریشم صمغ گیری نشده + نانوالیاف PVA-سیپروفلوکساسین
۰	۰	ابریشم صمغ گیری شده
۰	۰	ابریشم صمغ گیری نشده
-	۳۰	دیسک آنتی بیوگرام کوتریموسازول
۳۲	-	دیسک آنتی بیوگرام نیتروفرانتوئین

محلول پلیمری پلی وینیل الکل و سیپروفلوکساسین استفاده شد. در تحلیل طیف FTIR، وجود پلی وینیل الکل و سیپروفلوکساسین در نانوالیاف مخلوط تأیید شد. نتایج حاصل از بررسی شکل شناسی نانوالیاف پلی وینیل الکل و پلی وینیل الکل-سیپروفلوکساسین حاکی از کاهش قطر نانوالیاف در اثر افزودن آنتی بیوتیک است که این کاهش قطر نانوالیاف را می توان به افزایش رسانایی الکتریکی محلول حاوی آنتی بیوتیک مربوط دانست. در نهایت نتایج آزمون های ضد میکروبی نشان داد، پارچه های ابریشمی صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده هیچ گونه خاصیت ضد باکتری نداشته اند، اما با پوشش دهی این پارچه ها با نانوالیاف پلی وینیل الکل-سیپروفلوکساسین خاصیت ضد میکروبی مشاهده شد. قدرت ضد باکتری در محیط باکتری / استافیلوکوکوس / اورئوس برای هر دو نمونه پارچه ی صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده پوشش یافته با نانوالیاف یکسان است. اما در محیط باکتری / شرشیاکلی به عنوان باکتری گرم منفی، نمونه پارچه ابریشمی صمغ گیری شده همراه نانوالیاف، خاصیت ضد باکتری بیشتری نسبت به نمونه صمغ گیری نشده همراه نانوالیاف دارد که می تواند دلالت بر اثر مثبت فیروئین ابریشم بر سازوکار اثر آنتی بیوتیک بر باکتری / شرشیاکلی داشته باشد. این موضوع بیانگر اهمیت صمغ گیری ابریشم در کاربردهای پزشکی است.

سریسین نشان دهنده آن بوده است که وجود سریسین، نه تنها خاصیت ضد باکتری ندارد، بلکه باعث افزایش رشد باکتری / شرشیاکلی می شود که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. مطالعات پیشین و نتایج حاصل از این پژوهش دلالت بر اثر مثبت پروتئین فیروئین بر فعالیت ضد میکروبی سیپروفلوکساسین نسبت به پروتئین سریسین دارد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از ارزیابی و مقایسه پارچه ابریشمی صمغ گیری شده و صمغ گیری نشده نشان دهنده کاهش جذب رطوبت و استحکام، پس از عملیات صمغ گیری بوده است. این نتایج را می توان به خروج سریسین به عنوان پروتئین آبدوست و اتصال دهنده برای رشته های فیروئینی و نیز اعمال گرمای زیاد و در نتیجه شکسته شدن برخی پیوندهای بین زنجیری فیروئین طی عملیات صمغ گیری نسبت داد. همچنین، طیف FTIR پودر حاصل از تبخیر پساب عملیات صمغ گیری، نشانگر ساختار شیمیایی سریسین به عنوان ماده ارزشمند استخراج شده از محلول صمغ گیری بود. برای پوشش دهی پارچه ابریشمی با نانوالیاف، از الکتروریسی

مراجع

1. Proksch E., Brandner J.M., and Jensen J.M., The Skin: An Indispensable Barrier, *Experiment. Dermatol.*, **17**, 1063-1072, 2008.
2. Mahdavian Delavary B., Van der Veer W.M., Van Egmond M., Niessen F.B., and Beelen R.H.J., Macrophages in Skin Injury and Repair, *Immunobiology*, **216**, 753-762, 2011.
3. Fouda M.M.G., Wittke R., Knittel D., and Schollmeyer E., Use of Chitosan/Polyamine Biopolymers Based Cotton as a Model System to Prepare Antimicrobial Wound Dressing, *Int. J. Diabetes Mellitus.*, **1**, 61-64, 2009.
4. Said J., Dodoo C.C., Walker M., Parsons D., Stapleton P., Beezer A.E., and Gaisford S., An *In Vitro* Test of the Efficacy of Silver-Containing Wound Dressings Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in Simulated Wound Fluid, *Int. J. Pharmaceut.*, **462**, 123-128, 2014.
5. Braunwarth H. and Brill F.H.H., Antimicrobial Efficacy of Modern Wound Dressings: Oligodynamic Bactericidal Versus Hydrophobic Adsorption Effect, *Wound Medicine*, **5**, 16-20, 2014.
6. Zahedi P., Rezaeian I., Ranaei-Siadat S.O., Jafari S.H., and Supaphol P., A Review on Wound Dressings with an Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages, *Polym. Adv. Technol.*, **21**, 77-95, 2010.
7. Gump F. E. and Kinney J.M., Caloric and Fluid Losses Through the Burn Wound, *Surg. Clin. N. Am.*, **50**, 1235-1248, 1970.
8. Chvapil M., Considerations on Manufacturing Principles of a Synthetic Burn Dressing: A Review, *J. Biomed. Mater. Res.*, **16**, 245-263, 1982.
9. Stephen-Haynes J., Gibson E., and Greenwood M., Chitosan: A Natural Solution for Wound Healing, *J. Comm. Nurs.*, **28**, 48-53, 2014.
10. McColl D., Cartlidge B., and Connolly P., Real-time Monitoring of Moisture Levels in Wound Dressings In Vitro: An Experimental Study, *Int. J. Surgery*, **5**, 316-322, 2007.

11. Unnithan A.R., Gnanasekaran G., Sathishkumar Y., Lee Y.S., and Kim C.S., Electrospun Antibacterial Polyurethane–Cellulose Acetate–Zinc composite Mats for Wound Dressing, *Carbohydr. Polym.*, **102**, 884-892, 2014.
12. Kamoun E.A., Kenawy E.R.S., Tamer T.M., El-Meligy M.A., and Mohy Eldin M.S., Poly(vinyl alcohol)-Alginate Physically Crosslinked Hydrogel Membranes for Wound Dressing Applications: Characterization and Bio-evaluation, *Arabian J. Chem.*, **8**, 38-47, 2015.
13. Dressings.org [internet]. South Wales: The Surgical Materials Testing Laboratory.; c1992-2007 [updated 2011 Nov 4; cited 2009 May 21]. Available from: <http://www.dressings.org/dressings-datacards-by-alpha.html>.
14. Mogosanu G.D. and Grumezescu A.M., Natural and Synthetic Polymers for Wounds and Burns Dressing, *Int. J. Pharmaceut.*, **463**, 127-136, 2014.
15. Gil E.S., Panilaitis B., Bellas E., and Kaplan D.L., Functionalized Silk Biomaterials for Wound Healing, *Adv. Healthcare Mater.*, **2**, 206-217, 2013.
16. Hazeri N., Tavanai H., and Moradi A.R., Production and Properties of Electrospayed Sericin Nanopowder, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **13**, 1-7, 2012.
17. Sugihara A., Sugiura K., Morita H., Ninagawa T., Tubouchi K., Tobe R., Izumiya M., Horio T., Abraham N.G., and Ikehara S., Promotive Effects of a Silk Film on Epidermal Recovery from Full-Thickness Skin Wounds, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.*, **225**, 58-64, 2000.
18. Tarun K. and Gobi N., Calcium Alginate/PVA Blended Nanofiber Matrix for Wound Dressing, *Indian J. Fiber Text. Res.*, **27**, 127-132, 2012.
19. Unnithan A.R. , Barakat N.A., Pichiah P.B., Gnanasekaran G., Nirmala R., Cha Y.S., Jung C.H., El-Newehy M., and Kim H.Y., Wound-Dressing Materials with Antibacterial Activity from Electrospun Polyurethane-Dextran Nanofiber Mats Containing Ciprofloxacin HCl, *Carbohydr. Polym.*, **90**, 1786-1793, 2012.
20. Elbadawy A., Chenb K.X., Mohy Eldina M.S., and Kenawyc E.R.S., Crosslinked Poly(vinyl alcohol) Hydrogels for Wound Dressing Applications: A Review of Remarkably Blended Polymers, *Arabian J. Chem.*, **8**, 1-14, 2015.
21. Baker M.I., Walsh S.P., Schwartz Z., and Boyan B.D., A Review of Polyvinyl Alcohol and It's Uses in Cartilage and Orthopedic Applications, *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, **100**, 1451-1457, 2012.
22. Ding W., Wei S., Zhu J., Chen X., Rutman D., and Guo Z., Manipulated Electrospun PVA Nanofibers with Inexpensive Salts, *Macromol. Mater. Eng.*, **295**, 958-965, 2010.
23. Shalumon K.T., Anulekha K.H., Nair S.V., Chennazhi K.P., and Jayakumar R., Sodium Alginate/Poly(vinyl alcohol)/Nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings, *Int. J. Biol. Macromol.*, **49**, 247-54, 2011.
24. Rigo C., Ferroni L., Tocco I., Roman M., Munivra I., Gardin C., Cairns W.R.L., Vindigni V., Azzena B., Barbante C., and Zavan B., Active Silver Nanoparticles for Wound Healing, *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 4817-4840, 2013.
25. Shinde V.V., Jadhav P.R., and Patil P.S., *AIP Conference, Proceeding*, **1536**, 1197, 2013.
26. Chellamani I.K.P., Sundaramoorthy P., and Sureshram T., Characterization of Polyvinyl Alcohol (PVA)/Silver Nitrate Nanomembranes for Their Suitability in Wound Dressing Applications, *Int. J. Emerg. Technol. Adv. Eng.*, **2**, 176-184, 2012.
27. Tran Q.H., Nguyen V.Q., and Le A.T., Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, Toxicology, Applications and Perspectives, *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, **4**, 1-20, 2013.
28. Parwe S.P., Chaudhari P.N., Mohite K.K., Selukar B.S., Nande S.S., and Garnaik B., Synthesis of Ciprofloxacin-conjugated Poly(L-lactic acid) Polymer for Nanofiber Fabrication and Antibacterial Evaluation, *Int. J. Nanomed.*, **9**, 1463-1477, 2014.
29. Choi Y., Nirmala R., Lee J.Y., Rahman M., Hong S.T., and Kim H.Y., Antibacterial Ciprofloxacin HCl Incorporated Polyurethane Composite Nanofibers via Electrospinning for Biomedical Applications, *Ceramics Int.*, **39**, 4937-4944, 2013.
30. Li Z.Q., Li Z., Zhao H., Zheng W., and Li L., Preparation and Characterization of Sodium Alginate-Polyvinyl Alcohol Wound Dressing System Containing Ciprofloxacin Hydrochloride, *Adv. Mater. Res.*, **749**, 388-393, 2013.
31. Sinha M., Banik R.M., Halder C., and Maiti P., Development of Ciprofloxacin Hydrochloride Loaded Poly(ethylene glycol)/Chitosan Scaffold as Wound Dressing, *J. Porous Mater.*, **20**, 799-807, 2012.
32. Gulrajani M.L., Degumming of Silk, *Rev. Prog. Color. Related Topics*, **22**, 79-89, 1992.
33. Ko J.S., Yoon K., Ki C.S., Kim H.J., Bae D.G., Lee K.H., and Um I.C., Effect of Degumming Condition on the Solution Properties and Electrospinnability of Regenerated Silk Solution, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **55**, 161-168, 2013.
34. Li G., Liu H., Li T., and Wang J., Surface Modification and

- Functionalization of Silk Fibroin Fibers/Fabric toward High Performance Applications, *Mater. Sci. Eng.: C*, **32**, 627-636, 2012.
35. Gupta D., Agrawal A., Chaudhary H., Gulrajani M., and Gupta C., Cleaner Process for Extraction of Sericin Using Infrared, *J. Cleaner Product.*, **52**, 488-494, 2013.
 36. Yuqing Z., Comparison Analysis of Degumming Procedures for Silkworm Silk, *Acta Sericologica Sinica*, **1**, 2002.
 37. Gulrajani M.L., Brahma K.P., Kumar P.S., and Purwar R., Application of Silk Sericin to Polyester Fabric, *J. Appl. Polym. Sci.*, **109**, 314-321, 2008.
 38. Shen Y., Johnson M.A., and Martin D.C., Microstructural Characterization of Bombyx Mori Silk Fibers, *Macromolecules*, **31**, 8857-8864, 1998.
 39. Perez-Rigueiro J., Elices M., Lorca J., and Viney C., Tensile Properties of Silkworm Silk Obtained by Forced Silking, *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 1928-1935, 2001.
 40. Teramoto H., Kameda T., and Tamada Y., Preparation of Gel Film from Bombyx mori Silk Sericin and Its Characterization as a Wound Dressing, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3189-3196, 2008.
 41. Prasong S., Yaowalak S., and Wilaiwan S., Characteristics of Silk Fiber with and without Sericin Component: A Comparison Between Bombyx mori and Philosamia ricini silks, *Pakistan J. Biolog. Sci.*, **12**, 872, 2009.
 42. Allardyce B.J., Rajkhowa R., Dilley R.J., Atlas M.D., Kaur J., and Wang X., The Impact of Degumming Conditions on the Properties of Silk Films for Biomedical Applications, *Text. Res. J.*, 2015.
 43. Gohl E.P.G. and Vilensky L.D., *Textile Science: An Explanation of Fibre Properties*, Guilford, UK, 83-88, 1984.
 44. Jiang P., Liu H., Wang C., Wu L., Huang J., and Guo C., Tensile Behavior and Morphology of Differently Degummed Silkworm (Bombyx mori) Cocoon Silk Fibres, *Mater. Lett.*, **60**, 919-925, 2006.
 45. Gulrajani M.L., Purwar R., Prasad R.K., and Joshi M., Studies on Structural and Functional Properties of Sericin Recovered from Silk Degumming Liquor by Membrane Technology, *J. Appl. Polym. Sci.*, **113**, 2796-2804, 2009.
 46. Mi F.L., Wu Y.B., Shyu S.S., Schoung J.Y., Huang Y.B., Tsai Y.H., and Hao J.Y., Control of Wound Infections Using a Bilayer Chitosan Wound Dressing with Sustainable Antibiotic Delivery, *J. Biomed. Mater. Res.*, **59**, 438-449, 2002.
 47. Kaatz G.W. and Seo S.M., Mechanism of Ciprofloxacin Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *J. Infectious Diseases*, **158**, 537-541, 1988.
 48. Sastry T.P., Silk Fibroin Coated with Poly 2-hydroxyethyl Methacrylate Impregnated with Silver Nanoparticles Coupled with Ciprofloxacin as a Biomaterial for Biomedical Applications, *Trends Biomater. Artif. Organs*, **28**, 2014.
 49. Li Z. and Wang C., *One - Dimensional Nanostructures*, Chapt. 2, 15-28, Springer, 2013.
 50. Rilo E., Pico J., Garcia-Garabal S., Varela L. M., and Cabeza O., Density and Surface Tension in Binary Mixtures of CnMIM-BF 4 Ionic Liquids with Water and Ethanol, *Fluid Phase Equilibria*, **285**, 83-89, 2009.
 51. Vazquez G., Alvarez E., and Navaza J.M., Surface Tension of Alcohol Water+ Water from 20 to 50°C., *J. Chem. Eng. Data*, **40**, 611-614, 1995.
 52. Jannesari M., Varshosaz J., Morshed M., and Zamani M., Composite Poly(vinyl alcohol)/Poly(vinyl acetate) Electrospun Nanofibrous Mats as a Novel Wound Dressing Matrix for Controlled Release of Drugs, *Int. J. Nanomed.*, **6**, 993-1003, 2011.
 53. Malviya S., Singh S., Pandey J., Kondalkar A.K., and Tagde P., Formulation and Evaluation of Floating Microbeads of Ciprofloxacin HCl by Emulsion Gelation Method, *Scholars Res. Library, Der Pharmacia Lett.*, **5**, 63-68, 2013.
 54. Moazami A., Montazer M., Rashidi A., and Rahimi M.K., Antibacterial Properties of Raw and Degummed Silk with Nanosilver in Various Conditions, *J. Appl. Polym. Sci.*, **118**, 253-258, 2010.
 55. Wang X., Gao W., Xu S., and Xu W., Luminescent Fibers: In Situ Synthesis of Silver Nanoclusters on Silk via Ultraviolet Light-Induced Reduction and Their Antibacterial Activity, *Chem. Eng. J.*, **210**, 585-589, 2012.
 56. Li B., Li P., Xu X., Wu L., and Zhao Y., Synthesis of Silver Nanoparticles Loaded Sulfadiazine/Polyvinyl Alcohol Nanorods and Their Antibacterial Activities, *Med. Chem. Comm.*, **6**, 2204-2208, 2015.
 57. Shalumon K.T., Anulekha K.H., Nair S.V., Nair S.V., Chennazhi K.P., and Jayakumar R., Sodium Alginate/Poly(vinyl alcohol)/NanoZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **49**, 247-254, 2011.
 58. Kaur J., Rajkhowa R., Afrin T., Tsuzuki T., and Wang X., Facts and Myths of Antibacterial Properties of Silk, *Biopolymers*, **101**, 237-245, 2014.