

Antibacterial Properties of Electrospun Nanofibers Based on Collagen, Chitosan and Ganoderma

Alieh Safamanesh^{1*}, Hadi Sarir¹, and Tayebbeh Momeni²

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, South Khorasan, 9717434765, Iran

2. Department of Chemistry, Faculty of Science, Qom University of Technology, Qom, 3718146645, Iran

Received: 19 December 2025, accepted: 9 May 2026

ABSTRACT

Keywords:

antibacterial property,
bacterial infection,
collagen,
chitosan,
electrospun nanofibers,

Hypothesis: Bacterial infections are among the most significant public health challenges worldwide and continue to pose a serious threat to patients, particularly in cases of chronic wounds, burns, and hospital-acquired infections. With the increasing resistance of various bacterial strains to conventional antibiotics, the need for discovering new and effective therapeutic approaches has become more urgent than ever. In this regard, electrospun nanofibers have attracted considerable attention due to their unique properties, such as high specific surface area, large surface-to-volume ratio, tunable structural characteristics, and excellent biocompatibility. These features make them a promising and innovative platform for controlled drug delivery systems and the development of antibacterial wound dressings.

Methods: The aim of this study was to synthesize and evaluate the antibacterial properties of electrospun nanofibers based on natural compounds, including collagen, chitosan, and Ganoderma extract (CCG). In this research, nanofibers were fabricated using the electrospinning technique from solutions containing an optimized combination of collagen, chitosan, and Ganoderma extract. The morphology and surface structure of the nanofibers were examined using scanning electron microscopy (SEM), and the results revealed that the obtained fibers possessed a smooth, uniform, and bead-free morphology with an average diameter of approximately 100 nm. Furthermore, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the presence of characteristic functional groups corresponding to collagen, chitosan, and the bioactive compounds found in the Ganoderma extract.

Findings: The antibacterial activity of CCG nanofibers was evaluated against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*) and the Gram-negative bacterium (*Escherichia coli*) using the disk diffusion assay. The results demonstrated that the CCG nanofibers exhibited significant inhibitory effects against all three bacterial strains. Overall, the findings indicate that CCG nanofibers possess great potential as biocompatible, which could serve as an effective alternative to conventional dressings for wound healing applications.

(*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: Safamaneshalieh@gmail.com

Please cite this article using:

Safamanesh A., Sarir H., and Momeni T., Antibacterial Properties of Electrospun Nanofibers Based on Collagen, Chitosan and Ganoderma, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **38**, 271-281, 2025.

خواص ضدباکتریایی نانوالیاف الکتروریسی شده بر پایه کلاژن، کیتوسان و گانودرما

عالیه صفامنش^{۱*}، هادی سریر^۱، طیبه مومنی^۲

۱- خراسان جنوبی، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، کد پستی ۹۷۱۷۴۳۴۷۶۵

۲- قم، دانشگاه صنعتی قم، دانشکده علوم، گروه شیمی، کد پستی ۳۷۱۸۱۴۶۶۴۵

دریافت: ۱۴۰۴/۹/۲۸، پذیرش: ۱۴۰۵/۲/۱۹

چکیده

فرضیه: عفونت‌های باکتریایی یکی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت عمومی در سراسر جهان هستند و همچنان تهدیدی جدی برای بیماران به‌ویژه در زخم‌های مزمن، سوختگی‌ها و عفونت‌های بیمارستانی به‌شمار می‌آیند. با افزایش روزافزون مقاومت سویه‌های مختلف باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های متداول، نیاز به یافتن روش‌های درمانی نوین و مؤثر بیش از پیش احساس می‌شود. در این راستا، نانوالیاف الکتروریسی شده به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود، از جمله سطح ویژه زیاد، نسبت سطح به حجم زیاد، قابلیت تنظیم ساختار و زیست‌سازگاری مطلوب، به‌عنوان سامانه‌ای نوآورانه برای ره‌ایش کنترل‌شده داروها و توسعه زخم‌پوش‌های ضدباکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند.

روش‌ها: هدف از این پژوهش، بررسی سنتز و ارزیابی خاصیت ضدباکتری نانوالیاف الکتروریسی شده بر پایه ترکیبات طبیعی شامل کلاژن، کیتوسان و عصاره گانودرما (CCG) بود. در این مطالعه، نانوالیاف با روش الکتروریسی از محلول‌های دارای ترکیب بهینه‌ای از کلاژن، کیتوسان و عصاره گانودرما تهیه شدند. شکل‌شناسی و ساختار سطحی نانوالیاف با میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) بررسی شد و نتایج نشان داد، الیاف حاصل دارای سطحی صاف، یکنواخت و بدون دانه با قطر میانگین حدود ۱۰۰ nm هستند. همچنین طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری (FTIR) وجود گروه‌های عاملی مشخصه کلاژن، کیتوسان و ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره گانودرما را تأیید کرده است.

یافته‌ها: فعالیت ضدباکتریایی نانوالیاف CCG در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت *Staphylococcus aureus* و گرم‌منفی *Streptococcus pyogenes* و *Escherichia coli* با آزمون انتشار دیسکی ارزیابی شد. نتایج نشان داد، نانوالیاف CCG قابلیت مهار رشد قابل توجهی را در برابر هر سه سویه باکتریایی دارند. به‌طور کلی، یافته‌ها بیانگر قابلیت زیاد نانوالیاف CCG به‌عنوان زخم‌پوش زیست‌سازگار و ضدباکتریایی هستند که می‌توانند جایگزین مؤثری برای زخم‌پوش‌های سنتی در ترمیم زخم باشند.

واژه‌های کلیدی

خاصیت ضدباکتریایی،

عفونت باکتریایی،

کلاژن،

کیتوسان،

نانوالیاف الکتروریسی شده،

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

Safamaneshalieh@gmail.com

مقدمه

بهبود زخم فرایند پیچیده و چندمرحله‌ای است که شامل خون‌ایستی (hemostasis)، التهاب، تکثیر یاخته‌ای و بازسازی بافت می‌شود. عفونت زخم، که می‌تواند با گستره وسیعی از ریزاندامگان از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها ایجاد شود، می‌تواند روند بهبودی را به‌طور شایان توجهی مختل کند و به عوارض جانبی جدی منجر شود [۱]. زخم‌پوش‌ها معمولاً به‌صورت فیلم، هیدروکلوئید، الیاف، اسفنج، وصله‌های پوستی و اسفنج هستند [۲]. روش‌های اصلی برای تولید زخم‌پوش‌ها شامل الکترورسی (الکترورسی روشی ساده و ارزان در تولید الیاف بسیار نازک از محلول پلیمری است) [۳-۶]، ژل‌زدایی انجمادی [۷]، ریخته‌گری حلال [۸] انجماد و ذوب [۹، ۱۰] و پوشش‌دهی [۱۱] است. فرایند الکترورسی را می‌توان برای تولید نانوالیاف متخلخل و معرفی مواد مدنظر برای ایجاد خواص زیستی در زخم‌پوش به‌کار برد [۱۲]. این ویژگی‌ها نانوالیاف را به بستری ایده‌آل در بارگذاری و رهایش داروهای ضد میکروب تبدیل می‌کند. مشکل اصلی داروهای ضد میکروب سنتی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی است. جایگزین این داروها، مواد جدید ترمیم زخم بر پایه آلژینات [۱۳]، کیتوسان [۱۴]، کلاژن [۱۵]، نانوسلولوز [۱۶]، عوامل ضد میکروبی معدنی مانند روی اکسید [۱۷] و عصاره‌های گیاهی [۱۸] است. استفاده از پروتئین‌های طبیعی در مقایسه با پلیمرهای سنتزی برای ساخت زخم‌پوش‌ها با روش الکترورسی، رویکردی سازگار با محیط زیست است. زیرا از حلال‌های غیرسمی برای تهیه محلول‌ها استفاده می‌شود و افزون بر آن، این پروتئین‌ها دارای خواص ضد میکروبی و زیست‌سازگاری هستند [۱۹].

کلاژن و کیتوسان دو زیست‌پلیمر طبیعی هستند که به‌طور گسترده در مهندسی بافت و ترمیم زخم استفاده می‌شوند. کلاژن، پروتئین ساختاری اصلی ماتریس برون‌یاخته‌ای، دارای خواص زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و التیام زخم عالی است. کلاژن فراوان‌ترین پروتئین در پستانداران است و جزء اصلی پوست، استخوان، تاندون، رگ‌های خونی و بافت قلب به‌شمار می‌رود. از کلاژن با موفقیت در مهندسی بافت ترمیمی آزمایشگاهی و درون‌تنی استفاده شده است [۲۰، ۲۱]. کیتوسان پلی‌ساکارید کاتیونی به‌دست‌آمده از سخت‌پوستان است که از نظر زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، فعالیت‌های ضد میکروبی و ضدقارچی عالی عمل می‌کند [۲۲]. این ماده یک زیست‌پلیمر بسیار مناسب برای رهایش دارو در درمان بیماری‌ها و ترمیم زخم است [۲۳-۲۵]. ساختار کیتوسان دارای گروه‌های فعال هیدروکسیل و آمین است که با پیوندهای هیدروژنی بین زنجیرهای آن اتصال دارند. نانوالیاف کیتوسان را می‌توان با

استفاده از استیک اسید (۹۰٪)، تری‌فلوئورواستیک اسید و حلال‌های کمکی با روش الکترورسی به‌دست آورد [۲۶]. قابلیت الکترورسی محلول کیتوسان خالص به‌دلیل گرانروی زیاد و شدت پیوندهای هیدروژنی بین‌زنجیری و درون‌زنجیری ضعیف است. برای رفع این مشکلات، پیش از الکترورسی، محلول‌های کیتوسان را با انواع پلیمرهای سنتزی، نانوذرات فلزی، نانورس‌ها، ترکیبات معدنی، اکسیدهای فلزی، طلا، نقره، رس‌ها، ژئولیت‌ها یا ساختارهای فلزی آلی مخلوط می‌کنند [۲۷].

عصاره‌های گیاهی، به‌ویژه روغن‌های ضروری، به‌دلیل خاصیت ضدباکتری، ضدقارچ، ضدالتهاب و ضداکسندگی جایگزین امیدوارکننده‌ای برای داروهای شیمیایی در زخم‌پوش هستند [۲۸]. مهم‌ترین مشکل روغن‌های ضروری، فرار بودن و تجزیه‌شدن آن‌ها در دماهای زیاد است. بنابراین، برای جلوگیری از این معایب در درمان زخم، ترکیب یا کپسول‌دار کردن روغن‌های ضروری در ماتریس‌های پلیمری با روش الکترورسی می‌تواند راهبرد مناسبی باشد [۲۹، ۲۷]. افزون بر این، پلی‌فنول‌های موجود در روغن‌های ضروری می‌توانند با پیوند هیدروژنی با کلاژن اتصال عرضی برقرار کنند و استحکام مکانیکی و پایداری گرمایی آن‌ها را افزایش دهند [۳۰].

گانودرما، قارچ دارویی با سابقه طولانی در طب سنتی چینی، طیف گسترده‌ای از خواص درمانی از جمله فعالیت ضد میکروبی، ضدالتهابی و ضدسرطانی دارد. طبق مطالعه شیمیایی، پلی‌ساکاریدها و تری‌ترپنوئیدهای موجود در (قارچ) گانودرما قابلیت درمانی در درمان یا پیشگیری از اختلالات التهابی محیطی یا مرکزی دارد [۳۱].

مطالعات اخیر درباره سنتز نانومواد مبتنی بر گانودرما برای تقویت خواص ضدباکتریایی آن‌ها متمرکز شده است. گونه‌های گانودرما فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی در برابر انواع مختلف عوامل بیماری‌زا نشان داده‌اند. ترکیبات زیست‌فعال موجود در گانودرما، مانند پلی‌ساکاریدها و تری‌ترپنوئیدها، مهارکننده هر دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی شناخته شده‌اند. این ترکیبات جدا و مشخص شده‌اند و قابلیت آن‌ها در درمان بیماری‌های عفونی را نشان می‌دهند [۳۲]. به‌عنوان مثال، از گانودرما لوسیدوم برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شده است که فعالیت ضدباکتریایی قوی در برابر باکتری‌های مقاوم به دارو مانند *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* نشان می‌دهند. اندازه کوچک و سطح زیاد این نانوذرات به اثربخشی ضدباکتریایی آن‌ها کمک می‌کند [۳۳]. مطالعه دیگری بر استفاده از گانودرما آپلانوم برای سنتز سبز نانوذرات نقره متمرکز بود که ظرفیت ضداکسندگی زیاد و فعالیت ضدباکتریایی در برابر

تجربی

مواد

کیتوسان با وزن مولکولی متوسط (۲۰۰۰۰۰ Da) و درجه استیل دار شدن ۷۵-۸۰٪، پلیمر تولیدی شرکت Sigma-Aldrich، استیک اسید یخی محصول شرکت Merck با درجه خلوص ۹۹/۸٪، آب مقطر یون زدوده، پودر گانودرما لوسیدوم با درجه خلوص زیاد محصول شرکت Sigma-Aldrich، کلاژن نوع I از شرکت Merck با خلوص $\leq 90\%$ و وزن مولکولی حدود ۳۰۰ kDa، محیط کشت آنتی-بیوگرام مولر هیتون آگار (Mueller Hinton agar) و سویه های باکتری *Streptococcus*، *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* تهیه شدند.

دستگاه ها و روش ها

تهیه محلول کیتوسان - کلاژن با افزودنی قارچ گانودرما

پودر کیتوسان، پودر کلاژن و پودر گانودرما با نسبت وزنی ۱۰:۴۰:۵۰ به طور کامل مخلوط شدند. مخلوط پودرها به آرامی به استیک اسید سرد با غلظت ۱٪ (وزن به حجم) اضافه شد و با همزن مغناطیسی به مدت ۲۴ h در دمای اتاق هم زده شد تا به طور کامل حل شود. روغن زیتون به آرامی به محلول حاصل اضافه و به مدت ۳۰ min با همزن مغناطیسی مخلوط شد. محلول از صافی کاغذی عبور داده شد تا ناخالصی ها جدا شوند. pH محلول با استفاده از NaOH یا HCl روی ۵ تا ۶ تنظیم و در یخچال در دمای ۴ °C به مدت حداکثر یک هفته نگهداری شد.

الکترونیسی محلول پلیمری

محلول به دست آمده درون سرنگ ۲۰ mL کشیده و سپس درون پمپ تزریق دستگاه قرار داده شد و ولتاژ دستگاه در محدوده ۱۶-۲۴ kV و فاصله نوک سوزن با صفحه جمع کننده در محدوده ۱۵-۲۰ cm با سرعت تغذیه ۱/۵ $\mu\text{L/h}$ تنظیم شد. سپس، نحوه شکل گیری و تشکیل الیاف در محلول کیتوسان/کلاژن/گانودرما بررسی شد.

میکروسکوپی الکترونی پویشی

بررسی های مربوط به شکل شناسی و توزیع اندازه نانوالیاف با میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) مدل FEI Quanta 200 ساخت شرکت FEI، Eindhoven، هلند انجام شد. برای جلوگیری از پدیده باردار شدن، نمونه های الکترونیسی شده با لایه نازکی از طلا به ضخامت حدود ۵ nm پوشش یافتند.

هر دو باکتری *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* را نشان داد. مشخص شد، نانوذرات سنتز شده در هر دو محیط آزمایشگاهی و آزمایش های درون تنی مؤثر هستند که نشان دهنده قابلیت آن ها برای کاربردهای بالینی و کشاورزی است [۳۴]. سازوکارهای اثر ضدباکتریایی نانومواد بر پایه گانودرما چندوجهی است. این نانوذرات غشای یاخته های باکتری را مختل کرده و به شکست و مرگ یاخته ای منجر می شوند. افزون بر این، ترکیبات زیست فعال موجود در گانودرما، مانند گانودریک اسید، با تداخل در فرایندهای متابولیک باکتری، اثرهای ضدباکتریایی را افزایش می دهند. نانوالیاف و نانوذرات گانودرما برای کاربردهای مختلف از جمله منسوجات پزشکی و زخم پوش امیدوارکننده به نظر می رسند [۳۵]. به عنوان مثال، تولید نانوالیاف کاربردی تعبیه شده در منسوجات برای ارائه خواص ضدباکتریایی ماندگار افزایش یافته اند و حتی پس از چند چرخه شست و شو، مقدار مهار زیادی در برابر *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* را حفظ می کنند. این نوآوری ها قابلیت نانومواد بر پایه گانودرما را در توسعه محصولات ضدباکتریایی پیشرفته نشان می دهد [۳۶].

هدف اصلی از این بررسی ساخت نانوالیاف پلیمری زیست سازگار با قابلیت زیاد ضد میکروبی برای پوشش دهی زخم های سطحی مانند زخم های حاصل از سوختگی ها به منظور جایگزین مناسب زخم پوش های معمولی است. در این مطالعه، خاصیت ضدباکتری نانوالیاف الکترونیسی شده بر پایه کلاژن کیتوسان و گانودرما در برابر بعضی از ریزاندامگان مولد عفونت زخم بررسی شد.

این پژوهش نوآورانه حاصل تلفیق سه جزء مؤثر طبیعی کلاژن، کیتوسان و عصاره گانودرما لوسیدوم در قالب نانوالیاف الکترونیسی شده است. تفاوت کار حاضر در چند نکته کلیدی است: (۱) وارد کردن عصاره گانودرما در ماتریس الکترونیسی به گونه ای که ترکیبات زیست فعال (از قبیل β -گلوکان ها، پلی ساکاریدها و فنول ها) پس از فرایند الکترونیسی حفظ شوند، (۲) ارزیابی جامع شکل شناسی و یکپارچگی نانوالیاف با SEM و (۳) آزمون عملکردی مستقیم ضدباکتریایی علیه سویه های بالینی مرتبط با عفونت های زخم (*Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، *Streptococcus*)

بنابراین مطالعه حاضر نه تنها یک ساختار پلیمری زیست سازگار و تنظیم پذیر را برای زخم پوش در زخم های سطحی و سوختگی ها ارائه می دهد، بلکه نشان می دهد، افزودن عصاره گانودرما می تواند عملکرد ضدباکتری، ضدالتهابی و ضد اکسندگی نانوالیاف را تقویت کند و آن ها را به گزینه مناسبی برای جایگزینی زخم پوش های متداول در ترمیم زخم تبدیل کند.

طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری

بررسی طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوری (FTIR) روی نانوالیاف با استفاده از طیف‌سنج مدل INTERSPEC 200-X ساخت شرکت Interspectrum، استونی انجام شد. این طیف‌سنج با قابلیت اندازه‌گیری در محدوده $4000-200$ cm^{-1} ، $700-20$ cm^{-1} بارپویش و تفکیک‌پذیری 2 cm^{-1} بود.

آزمون‌های باکتریایی

در این آزمایش ابتدا آماده‌سازی نمونه به صورت تعلیق باکتری با رقت‌های مختلف مطابق با 0.5 مک‌فارلند تهیه شد. سپس، از این تعلیق روی محیط‌های کشت انتخابی هر باکتری کشت داده شد تا انواع خاصی از باکتری‌ها مانند *Staphylococcus*، *Streptococcus* و *Escherichia coli* را شناسایی کند. این محیط کشت‌ها شامل محیط کشت انتخابی برد-پارکر آگار (Baird-Parker agar) برای *Staphylococcus*، محیط کشت انتخابی خون آگار (blood agar) برای *Streptococcus* و محیط کشت انتخابی مک‌کانکی آگار (MacConkey agar) و ائوزین آبی متیلن آگار (eosin methylene blue agar) برای شناسایی *Escherichia coli* استفاده شد. برای تشخیص باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. آزمون کاتالاز برای تفکیک *Staphylococcus* از *Streptococcus* انجام شد. برای انجام آزمایش‌ها، سویه‌های باکتری *Streptococcus pyogenes* ATCC25923، *Staphylococcus aureus* ATCC25929 و *Escherichia coli* ATCC25299 به صورت منجمد نگه‌داری شده‌اند. می‌توان از این نمونه‌های باکتری روی محیط کشت اختصاصی مک‌کانکی آگار و ائوزین آبی متیلن آگار برای *Escherichia coli*، برد-پارکر آگار و نمک مانیتول آگار برای باکتری *Staphylococcus aureus*، آگار دارای خون گوسفند برای *Streptococcus pyogenes* کشت داد و سپس در دمای 37°C به مدت 24 h گرم‌خانه‌گذاری کرد. از نمونه باکتری برای تهیه تعلیق باکتری استفاده می‌شود.

برای تعیین پارامتر MIC (حداقل غلظت بازدارندگی رشد) از روش رقیق‌سازی محیط کشت استفاده شد. ابتدا محلول 0.5 مک‌فارلند که معادل 1×10^8 باکتری است، تهیه شد. پس از تهیه محیط‌های مورد نیاز در لوله آزمایش و ایجاد غلظت‌های مختلف نمونه نانو با استفاده از روش رقیق‌سازی، با اضافه کردن محیط کشت بدون باکتری به پیش‌کشت، کدورت پیش‌کشت به کدورت محلول 0.5 مک‌فارلند رسانده می‌شود و سپس از این محیط به مقدار $500 \mu\text{L}$ یا 0.5 mL به محیط کشت باکتری اضافه شد و یک لوله بدون نمونه نانو (ضدباکتری) به عنوان کنترل کشت داده شد، سپس،

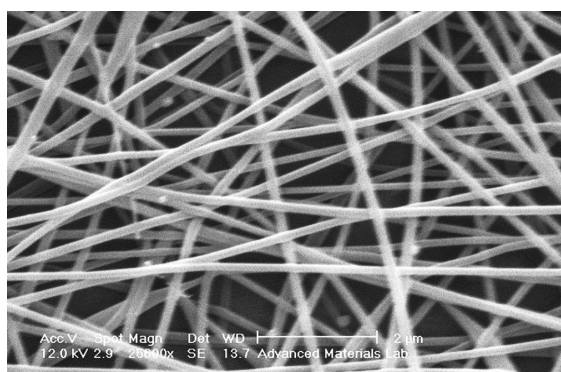
این لوله‌ها درون گرم‌خانه در دمای 37°C به مدت 24 h قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، زمان رشد قابل مشاهده باکتری‌ها در هر یک از لوله‌ها به عنوان معیاری از حداقل غلظت بازدارندگی رشد در نظر گرفته شد.

در روش دیگر با استفاده روش انتشار دیسکی در آگار بدین صورت که از کلنی‌های حاصل از کشت تازه و کشت ذخیره‌شده باکتری‌های مطالعه‌شده روی مولر هیتتون آگار رشد کردند و در محیط کشت مایع تریپتیک سوی یا محیط کشت مایع مولر هیتتون تعلیق‌های تهیه کرده و مطابق با 0.5 مک‌فارلند به روش مشاهده چشمی در منبع نور استاندارد شد. در کدورت 0.5 مک‌فارلند تعداد باکتری‌ها $1 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ است و سپس کدورت باکتری 0.5 مک‌فارلند به نسبت $1:300$ رقیق شد تا تعداد باکتری‌ها به $5 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$ برسد. از تعلیق باکتری که برابر با استاندارد 0.5 مک‌فارلند است، روی مولر هیتتون آگار کشت داده شد و سپس دیسک‌های سترون‌شده (قطر 6 mm)، آغشته به نمونه CCG روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. ظرف‌های کشت در دمای 37°C به مدت 24 h برای هر سویه باکتری گرم‌خانه‌گذاری شده و در نهایت قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. گفتنی است، به دلیل عدم رشد باکتری *Streptococcus pyogenes*، روی محیط مولر هیتتون آگار یا از محیط کشت مغذی خون آگار به همراه خوان گوسفند 5% استفاده شد.

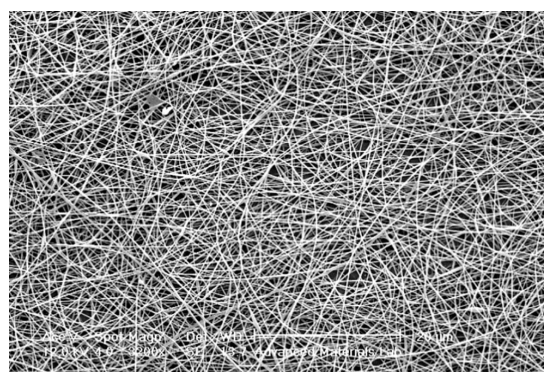
نتایج و بحث

میکروسکوپی الکترونی پویشی (SEM)

تحلیل SEM درباره شکل‌شناسی، توپوگرافی و ساختار سطحی نانوالیاف CCG نشان داد، این نانوالیاف قطری بین 60 nm تا 120 nm دارند. توزیع قطر نانوالیاف یکنواخت، ساختاری منظم و بدون نقص بود. نانوالیاف CCG معمولاً شکل استوانه‌ای صاف و بدون انحراف یا دانه با سطحی صاف و عاری از ناهمواری‌های قابل توجه داشتند. تصویر SEM که در شکل ۱ ارائه شده است، ساختاری متشکل از نانوالیاف نازک و به هم پیوسته را نشان می‌دهد که نمایانگر توزیع یکنواخت ذرات گانودرما در ماتریس نانوالیاف CCG (کلاژن-کیتوسان-گانودرما) است. در این تصویر هیچ گونه تجمع، خوشه‌بندی یا توده مشخصی از ذرات مشاهده نمی‌شود که نشان‌دهنده پراکندگی یکنواخت ذرات گانودرما در سراسر ساختار نانوالیاف است. همچنین، پیوستگی و انسجام ساختار الیاف بدون وجود گسستگی



(a)



(b)

شکل ۱- تصویر SEM از نانوالیاف الکترورسی شده CCG با بزرگ‌نمایی ۱۰,۰۰۰ برابر. شرایط الکترورسی شامل ولتاژ ۲۰ kV و فاصله کاری ۱۰ mm است.

Fig. 1. SEM image of electrospun CCG nanofibers at 10,000x magnification. Electrospinning conditions included a voltage of 20 kV and a working distance of 10 mm.

ساختار نانوالیاف ادغام شده [۳۷] و ترکیبات فعال زیستی آن حفظ شده است. این موضوع به نانوالیاف CCG خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد اکسندگی قابل توجهی می‌بخشد که آن‌ها را به انتخاب مناسبی برای کاربردهای ترمیم زخم و درمان عفونت تبدیل می‌کند.

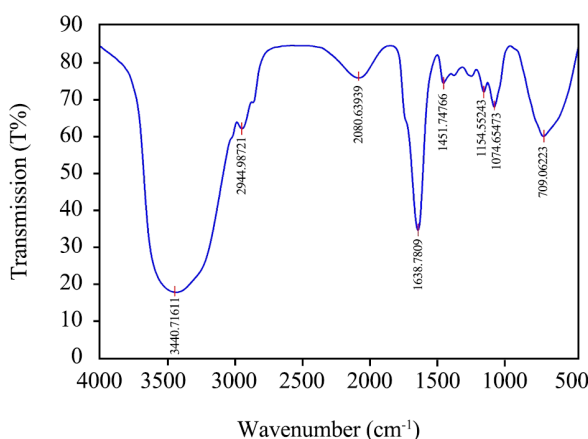
ضدباکتری بودن نانوالیاف الکترورسی شده بر پایه کلاژن-کیتوسان-گانودرما (CCG)

نانوالیاف الکترورسی شده بر پایه کلاژن-کیتوسان-گانودرما (CCG) خواص ضد میکروبی داشته و قابلیت شایان توجهی برای درمان عفونت‌های زخم و ارتقای روند بهبودی دارند. نانوالیاف CCG طراحی شده در این پژوهش با چند سازوکار مختلف اثر ضد میکروبی

یا ناپیوستگی قابل توجه، حاکی از برهم‌کنش مؤثر و سازگار ذرات گانودرما با ماتریس کلاژن-کیتوسان است. این برهم‌کنش نه تنها موجب پایداری ساختاری الیاف شده، بلکه از لحاظ شکل‌شناسی نیز ساختاری همگن و یکدست را به وجود آورده که نشان‌دهنده تثبیت موفق ذرات گانودرما درون شبکه نانوالیافی است.

طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه

افزون بر پیک‌های مربوط به ساختارهای کلاژن و کیتوسان، شکل ۲ طیف FTIR نانوالیاف CCG دارای پیک‌های مشخصه‌ای در نواحی ۱۰۰۰-۹۰۰، ۱۳۰۰-۱۲۰۰ و ۱۷۰۰-۱۶۰۰ cm^{-1} را نشان می‌دهد که به ترکیبات فعال زیستی موجود در گانودرما لوسیدوم نسبت داده می‌شود [۳۷]. این پیک‌ها نشان‌دهنده وجود ترکیباتی مانند بتا-گلوکان‌ها، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فنولی در نانوالیاف هستند که به خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد اکسندگی نانوالیاف CCG کمک می‌کنند. پیک در حدود ۱۶۳۰ cm^{-1} به ارتعاش‌های کششی C=O در گروه‌های کتون موجود در بتا-گلوکان‌ها مربوط است که در ترکیب گانودرما وجود دارد. اما، در ساختار پایه کلاژن-کیتوسان دیده نمی‌شود [۳۸]. پیک در حدود ۱۴۵۰ cm^{-1} به ارتعاش‌های خمشی N-H در گروه‌های آمیدی موجود در پلی‌ساکاریدها مربوط است. پیک در حدود ۱۲۰۰ cm^{-1} به ارتعاش‌های کششی C-O-C در β -گلوکان‌ها مربوط است. پیک در حدود ۱۰۷۴ cm^{-1} به ارتعاش‌های کششی C-O در گروه‌های هیدروکسیل موجود در پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فنولی نسبت داده شد. وجود این پیک‌ها در طیف FTIR نانوالیاف CCG نشان می‌دهد، گانودرما لوسیدوم به‌طور مؤثری در



شکل ۲- طیف FTIR مربوط به نانوالیاف CCG.

Fig. 2. FTIR spectra related to CCG nanofiber.

تکثیر ریزاندامگان را با مهار آنزیم‌ها، تخریب DNA و دیواره یا ایجاد تنش اکسایشی مهار کند [۴۱].

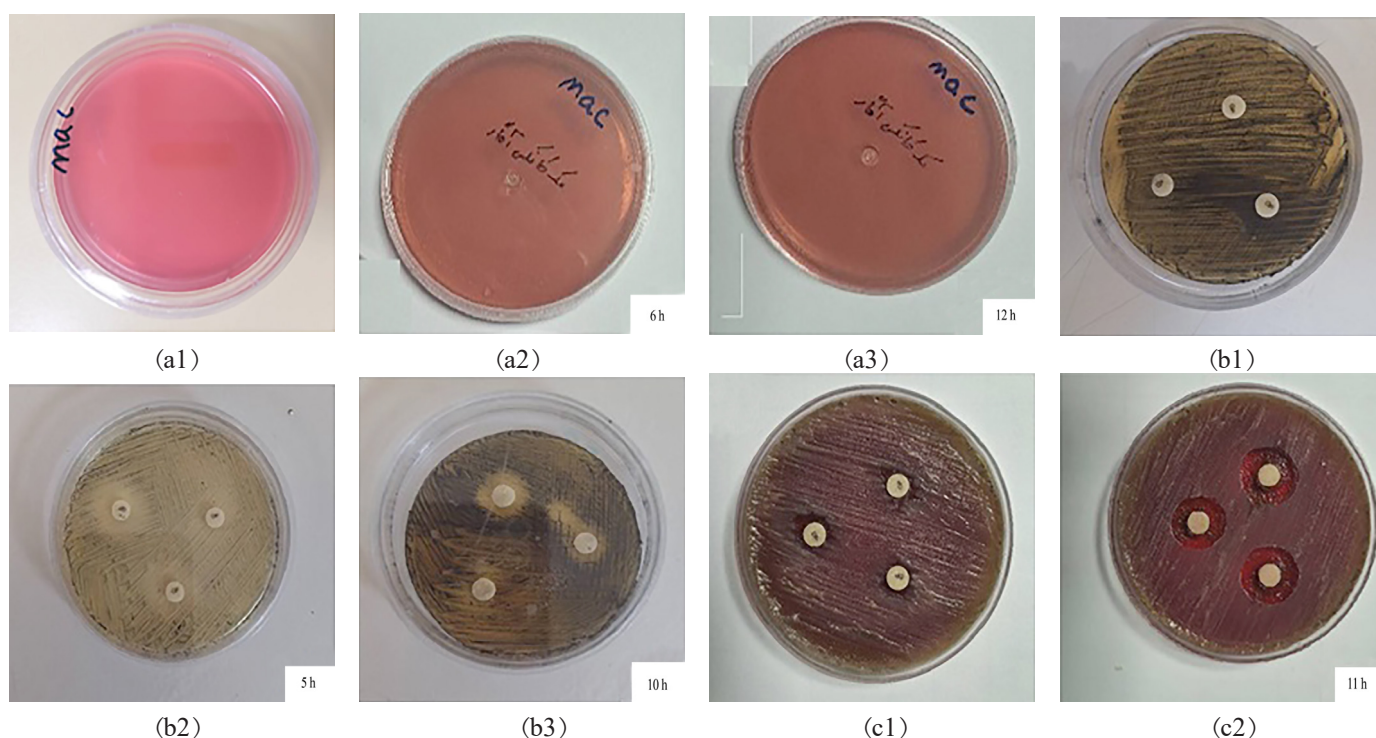
به منظور ارزیابی فعالیت ضدباکتری نانوالیاف CCG، آزمون انتشار دیسکی و بررسی زمان مهار کامل رشد باکتری‌ها انجام شد که نتایج کیفی آن در شکل ۳ و داده‌های کمی آن در جدول ۲ آمده است. در این مطالعه، باکتری‌های *Escherichia coli* (باسیل گرم منفی)، *Streptococcus pyogenes* و *Staphylococcus aureus* (کوکسی‌های گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری) به عنوان عوامل شایع عفونت‌های زخم بررسی شدند. تصاویر ظرف‌های کشت پتری در شکل ۳ کاهش تراکم رشد باکتری‌ها را در اطراف دیسک‌های دارای نانوالیاف CCG نشان می‌دهند، اما هاله شفاف و گسترده‌ای از عدم رشد در محیط اطراف دیسک‌ها مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد، اثر ضد میکروبی نانوالیاف CCG به طور عمده به تماس مستقیم با باکتری‌ها وابسته است؛ یعنی در اثر برهم‌کنش با دیواره و غشای یاخته‌ای، اختلال در یکپارچگی غشا ایجاد می‌کند و موجب مهار رشد یا مرگ یاخته‌ای می‌شود. هم‌زمان، عدم تشکیل هاله شفاف گسترده ممکن است، به آزادسازی محدود و تدریجی ترکیبات فعال

جدول ۱- تعیین MIC و MBC نمونه نانو در سه گونه باکتری آزمایش شده.

Table 1. Determination of MIC and MBC of nano samples on three tested bacterial species.

Bacterial strain	MBC (mg/mL)	MIC (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	240	200
<i>Streptococcus pyogenes</i>	220	200
<i>Escherichia coli</i>	230	200

خود را اعمال می‌کنند. نانوالیاف CCG با توجه به داشتن ساختار نانویی خود با نفوذ به غشای یاخته‌ای ریزاندامگان و ایجاد اختلال در عملکرد یاخته‌ای، می‌توانند به‌طور فیزیکی به ریزاندامگان آسیب برسانند. کلاژن، یکی از اجزای اصلی این نانوالیاف است که خواص ضد میکروبی ذاتی دارد. پپتیدهای ضد میکروبی موجود در کلاژن می‌توانند رشد و تکثیر ریزاندامگان را مهار کنند [۳۹]. کیتوسان نیز می‌تواند با غشای یاخته‌ای ریزاندامگان برهم‌کنش داشته باشد و نفوذپذیری آن را افزایش دهد و به نشت مواد یاخته‌ای و مرگ یاخته منجر شود [۴۰]. گانودرما لوسیدوم نیز می‌تواند رشد و



شکل ۳- ظرف‌های کشت پتری مربوط به آزمون انتشار دیسکی برای ارزیابی فعالیت ضدباکتری نمونه‌ها: (a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus* و (c) *Streptococcus pyogenes*.

Fig. 3. Petri dishes showing the disk diffusion assay used to evaluate the antibacterial activity of the samples: (a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus*, and (c) *Streptococcus pyogenes*.

جدول ۲- خواص ضدباکتریایی نانوالیاف CCG در غلظت‌های مختلف.

Table 2. Antibacterial properties of CCG nanofibers at different concentrations.

Bacterium	Effective concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Type gram (+), gram (-)	Time to complete growth inhibition (h)
<i>Escherichia coli</i>	200, 300	-	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	200, 300	+	10
<i>Streptococcus pyogenes</i>	250, 300	+	11

نتیجه‌گیری

نانوالیاف الکتروریسی شده بر پایه CCG در این مطالعه می‌توانند به‌عنوان زخم‌پوش نوین با خواص ضد میکروبی برجسته معرفی شوند. این نانوالیاف با قطر متوسط بین ۶۰ nm تا ۱۲۰ nm، ساختاری یکنواخت و شکل‌شناسی بدون نقص را نشان داد. برهم‌کنش‌های شیمیایی بین اجزای تشکیل‌دهنده به‌طور کامل تأیید و پایداری ساختاری نانوالیاف در طول زمان حفظ شد. در این پژوهش از دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی با ساختار غشای متفاوت استفاده شد که تفاوت آن‌ها در ضخامت لایه پپتیدوگلیکان است. به‌طور کلی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به مواد ضدباکتریایی دارای حساسیت کمتری هستند، زیرا لایه پپتیدوگلیکان در مقابل نفوذ نانوذرات حفاظ محکم‌تری است که این مسئله را می‌توان با مقایسه اثر نانو این نمونه روی رشد *Staphylococcus aureus* به‌عنوان یک باکتری گرم مثبت و در *Escherichia coli* به‌عنوان یک باکتری گرم منفی و *Streptococcus pyogenes* به‌عنوان یک کوکسی گرم منفی به‌خوبی مشاهده کرد. این نمونه نانو با خاصیت ضدباکتری خوبی که از خود نشان داد، می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. نتایج آزمون انتشار دیسکی در آگار نشان داد، نمونه CCG دارای خاصیت ضدباکتریایی است و با افزایش غلظت، اثر ضد میکروبی آن افزایش یافت. همچنین با افزایش غلظت، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت و این قطر هاله عدم رشد در سویه باکتری *Streptococcus pyogenes* نسبت به سایر سویه‌ها بیشتر است و این نمونه CCG مؤثرترین نمونه‌ای بود که اثر ضد میکروبی زیادی روی باکتری *Streptococcus pyogenes* دارد. فعالیت باکتری‌کشی باکتری‌های رویشی را در شرایط مشخصی از بین می‌برند و همچنین قابلیت کاهش در تعداد یاخته‌های باکتریایی زنده ریزاندامگان مورد آزمون در شرایط استاندارد را هم دارند. اما لزوماً هاگ باکتری‌ها را از بین نمی‌برند. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد، نانوالیاف الکتروریسی شده CCG زخم‌پوش‌های

ضدباکتری از ماتریس پلیمری نسبت داده شود.

در جدول ۲، نانوالیاف CCG توانستند رشد هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را به‌طور مؤثر مهار کنند. برای باکتری *Escherichia coli*، غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ $\mu\text{g/mL}$ به مهار کامل رشد پس از مدت ۱۲ h منجر شدند. درباره *Staphylococcus aureus*، مهار کامل رشد در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ $\mu\text{g/mL}$ طی مدت ۱۰ h مشاهده شد، در حالی که برای *Streptococcus pyogenes* غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ $\mu\text{g/mL}$ باعث مهار کامل رشد پس از مدت ۱۱ h شد. این نتایج نشان می‌دهد، باکتری گرم منفی *Escherichia coli* نسبت به باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری به نانوالیاف CCG داشته و سریع‌تر مهار شده است، که می‌تواند به تفاوت‌های ساختاری دیواره یاخته‌ای این باکتری‌ها مرتبط باشد. با وجود این، تداوم اثر ضدباکتری در طول زمان و مهار کامل رشد باکتری‌ها در بازه‌های زمانی مختلف (جدول ۲) نشان می‌دهد. افزون بر اثر تماس مستقیم، آزادسازی محدود و تدریجی ترکیبات فعال ضد میکروبی از ماتریس پلیمری نانوالیاف CCG نیز محتمل است. ماهیت پلیمری سامانه CCG و وجود ترکیبات زیست‌فعال در ساختار آن می‌تواند به آزادسازی تدریجی این ترکیبات در محیط کشت منجر شود؛ موضوعی که در سامانه‌های نانوالیافی مشابه نیز گزارش شده است.

در مجموع، نانوالیاف CCG افزون بر برخورداری از فعالیت ضدباکتری قوی و وابسته به غلظت، دارای ویژگی‌های مطلوبی نظیر آزادسازی تدریجی ترکیبات فعال ضد میکروبی، سمیت یاخته‌ای و التهابی کم و سازگاری مناسب با بافت‌های میزبان هستند. این مجموعه ویژگی‌ها نانوالیاف CCG را به گزینه‌ای امیدبخش برای کاربرد در زخم‌پوش‌ها، درمان عفونت‌های موضعی و کاهش خطر بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی تبدیل می‌کند. از این‌رو، نانوالیاف CCG نه تنها در کنترل عفونت‌های میکروبی مؤثرند، بلکه به‌عنوان رویکردی نوین می‌توانند نقش مهمی در تسریع روند ترمیم و بهبود زخم‌ها ایفا کنند.

یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

عدم تعارض

هیچ گونه وابستگی یا مشارکتی با سازمان یا نهادی که دارای منافع مالی (مانند حق الزحمه، کمک هزینه تحصیلی، مشارکت در دفترهای سخنرانان، عضویت، استخدام، مشاوره، مالکیت سهام، یا سایر منافع سهام و شهادت کارشناسی یا قراردادهای صدور مجوز ثبت اختراع) یا منافع غیرمالی (مانند روابط شخصی یا حرفه‌ای، وابستگی‌ها، دانش یا باورها) در موضوع یا مطالب بحث‌شده در این مقاله باشد، ندارند.

مراجع

- Shabunin A.S., Yudin V.E., Dobrovolskaya I.P., Zinovyev E.V., Zubov V., Ivan'kova E.M., and Pierfrancesco M., Composite Wound Dressing Based on Chitin/Chitosan Nanofibers: Processing and Biomedical Applications, *Cosmetics*, **6**, 16, 2019.
- Alven S. and Aderibigbe B.A., Hyaluronic Acid-Based Scaffolds as Potential Bioactive Wound Dressings, *Polymers*, **13**, 2102, 2021.
- Ranjith R., Balraj S., Ganesh J., and Milton M.J., Therapeutic Agents Loaded Chitosan-Based Nanofibrous Mats as Potential Wound Dressings: A Review, *Mater. Today Chem.*, **12**, 386-392, 2019.
- Unnithan A.R., Sasikala A.R.K., Murugesan P., Gurusamy M., Wu D., Park C.H., and Kim C.S., Electrospun Polyurethane-Dextran Nanofiber Mats Loaded with Estradiol for Post-Menopausal Wound Dressing, *Int. J. Biol. Macromol.*, **77**, 1-8, 2015.
- Tan L., Hu J., and Zhao H., Design of Bilayered Nanofibrous Mats for Wound Dressing Using an Electrospinning Technique, *Mater. Lett.*, **156**, 46-49, 2015.
- Paduraru A., Ghitulica C., Trusca R., Surdu V.A., Neacsu I.A., Holban A.M., Birca A.C., Iordacheand F., and Vasile B.S., Antimicrobial Wound Dressings as Potential Materials for Skin Tissue Regeneration, *Materials*, **12**, 1859, 2018.
- Bölgen N., Demir D., Yalçın M.S., and Özdemir S., Development of Hypericum Perforatum Oil Incorporated Antimicrobial and Antioxidant Chitosan Cryogel as a Wound Dressing Material, *Int. J. Biol. Macromol.*, **161**, 1581-1590, 2020.
- Yildirim N. and Küçük İ., Preparing and Characterization of St. John's Wort (Hypericum Perforatum) Incorporated Wound Dressing Films Based on Chitosan and Gelatin, *Fac. Eng. Archit. Gazi Univ.*, **35**, 2020.
- Nešović K., Janković A., Radetić T., Vukašinović-Sekulić M., Kojić V., Živković L., Aleksandra P.G., Rhee K.Y., and Mišković-Stanković V., Chitosan-Based Hydrogel Wound Dressings with Electrochemically Incorporated Silver Nanoparticles-In Vitro Study, *Eur. Polym. J.*, **121**, 109257, 2019.
- Farzinfar E. and Paydayesh A., Investigation of Polyvinyl Alcohol Nanocomposite Hydrogels Containing Chitosan Nanoparticles as Wound Dressing, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, **68**, 628-638, 2019.
- Vasile B.S., Birca A.C., Musat M.C., and Holban A.M., Wound Dressings Coated with Silver Nanoparticles and Essential Oils for the Management of Wound Infections, *Materials (Basel)*, **13**, 1682, 2020.
- Mele E., Electrospinning of Essential Oils, *Polymers*, **12**, 908, 2020.
- Babavalian H., Latifi A.M., Shokrgozar M.A., Bonakdar S., Shakeri F., and Tebyanian H., Healing Effects of Synthetic versus Commercial Alginate Hydrogel Dressings on Wounds, *Trauma. Mon.*, **22**, 2017.
- Samadi A., Azandeh S., Orazizadeh M., Bayati V., Rafienia M., and Karami M.A., Fabrication and Characterization of Glycerol/Chitosan/Polyvinyl Alcohol-Based Transparent Hydrogel Films Loaded with Silver Nanoparticles for Antibacterial Wound Dressing Applications, *Adv. Biomed. Res.*, **10**, 4, 2014.
- Santhanam R., Rameli M.A.P., Al Jeffri A., and Ismail W.I.W., Bovine Based Collagen Dressings in Wound Care Management, *J. Pharm. Res. Int.*, **32**, 48-63, 2020.
- Claro F.C., Jordão C., de Viveiros B.M., Isaka L.J.E., Villanova

- Junior J.A., and Magalhães W.L.E., Low Cost Membrane of Wood Nanocellulose Obtained by Mechanical Defibrillation for Potential Applications as Wound Dressing, *Cellulose*, **27**, 10765-10779, 2020.
17. Matei E., Gaidau C., Râpă M., Constantinescu R., Savin S., Berechet M.D., Predescu A.M., Berbecaru A.C., Coman G., and Predescu C., Sustainable Rabbit Skin Glue to Produce Bioactive Nanofibers for Nonactive Wound Dressings, *Materials*, **13**, 5388, 2020.
 18. Fiorentini F., Suarato G., Grisoli P., Zych A., Bertorelli R., and Athanassiou A., Plant-Based Biocomposite Films as Potential Antibacterial Patches for Skin Wound Healing, *Eur. Polym. J.*, **150**, 110414, 2021.
 19. Râpă M., Gaidău C., Stefan L.M., Matei E., Niculescu M., Berechet M.D., Stanca M., Tablet C., Tudorache M., Gavrila R., Predescu C., and Vidu R., New Nanofibers Based on Protein by-Products with Bioactive Potential for Tissue Engineering, *Materials*, **13**, 3149, 2020.
 20. Horbert V., Xin L., Foehr P., Brinkmann O., Bungartz M., Burgkart R.H., Graeve T., and Kinne R.W., In Vitro Analysis of Cartilage Regeneration Using a Collagen Type I Hydrogel (CaReS) in the Bovine Cartilage Punch Model, *Cartilage*, **10**, 346-463, 2019.
 21. Hosseini Y., Verbridge S.S., and Agah M., Bio-Inspired Microstructures in Collagen Type I Hydrogel, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **103**, 2193-2197, 2015.
 22. Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R.M., and Chiellini E., Chitosan—A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications, *Prog. Polym. Sci.*, **36**, 981-1014, 2011.
 23. Shikhi-Abadi P.G. and Irani M., A Review on the Applications of Electrospun Chitosan Nanofibers for the Cancer Treatment, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **183**, 790-810, 2021.
 24. Kanani Ghap A., Asefzadeh A., and Azadbakht K., Fabrication and Characterization of Chitosan-Based Nanofibrous Scaffolds Containing Cerium Oxide Nanoparticles for Wound Healing Applications, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **35**, 565–580, 2023.
 25. Kanani Ghap A., Bahrami S.J., and Joghatayi S., Fabrication of Nanofibrous Scaffolds Based on Polycaprolactone–Chitosan–Polyvinyl Alcohol for Skin Tissue Engineering, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **26**, 159-170, 2013.
 26. Jafari J., Hojjati Emami S., Samadikuchaksaraei A., Bahar M.A., and Gorjipour F., Electrospun Chitosan–Gelatin Nanofibrous Scaffold: Fabrication and In Vitro Evaluation, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **21**, 99–112, 2011.
 27. Qu B. and Luo Y., Chitosan-Based Hydrogel Beads: Preparations, Modifications and Applications in Food and Agriculture Sectors—A Review, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **152**, 437-448, 2020.
 28. De Luca I., Pedram P., Moeini A., Cerruti P., Peluso G., Di Salle A., and Germann N., Nanotechnology Development for Formulating Essential Oils in Wound Dressing Materials to Promote the Wound-Healing Process: A Review, *Appl. Sci.*, **11**, 1713, 2021.
 29. Bai M-Y., Chen M-C., Yu W.C., and Lin J-Y., Foam Dressing Incorporating Herbal Extract: An All-Natural Dressing for Potential Use in Wound Healing, *J. Bioact. Compat. Polym.*, **32**, 293-308, 2017.
 30. Gaspar-Pintilie A., Stanciuc A-M., and Craciunescu O., Natural Composite Dressings Based on Collagen, Gelatin and Plant Bioactive Compounds for Wound Healing: A Review, *Int. J. Biolog. Macromol.*, **138**, 854-865, 2019.
 31. Roberts L.M., *Australian Ganoderma: Identification, Growth and Antibacterial Properties*, PhD Thesis, Environment and Biotechnology Centre, School of Engineering and Science, Swinburne University of Technology, 2004.
 32. Gao Y., Tang W., Gao H., Chan E., Lan J., Li X., and Zhou Sh., Antimicrobial Activity of the Medicinal Mushroom Ganoderma, *Food Rev. Int.*, **21**, 211-229, 2005.
 33. Jogaiah S., Kurjogi M., Abdelrahman M., Hanumanthappa N., and Tran L.S.P., Ganoderma Applanatum-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles: Structural Characterization, and In Vitro and In Vivo Biomedical and Agrochemical Properties, *Arab. J. Chem.*, **12**, 1108-1120, 2019.
 34. Al-Ansari M.M., Dhasarathan P., Ranjitsingh A., and Al-Humaid L.A., Ganoderma Lucidum Inspired Silver Nanoparticles and Its Biomedical Applications with Special Reference to Drug Resistant Escherichia Coli Isolates from CAUTI, *Saudi J. Biol. Sci.*, **27**, 2993-3002, 2020.
 35. Robles-Hernández L., Salas-Salazar N.A., and Gonzalez-Franco A.C., Purification and Characterization of Antibacterial Activity Against Phytopathogenic Bacteria in Culture Fluids from Ganoderma Lucidum, *Molecules*, **26**, 5553, 2021.
 36. Qiu Q., Chen S., Li Y., Yang Y., Zhang H., Quan Z., Qin X., Wag R., and Yu J., Functional Nanofibers Embedded into Textiles for Durable Antibacterial Properties, *Chem. Eng. J.*, **384**, 123241, 2020.
 37. Wang X., Chen X., Qi Z., Liu X., Li W., and Wang S., A Study of Ganoderma Lucidum Spores by FTIR Microspectroscopy,

- Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **91**, 285-289, 2012.
38. Hua Y., Ma C., Wei T., Zhang L., and Shen J., Collagen/Chitosan Complexes: Preparation, Antioxidant Activity, Tyrosinase Inhibition Activity, and Melanin Synthesis, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 313, 2020.
 39. Najafloo R., Baheiraei N., and Imani R., Synthesis and Characterization of Collagen/Calcium Phosphate Scaffolds Incorporating Antibacterial Agent for Bone Tissue Engineering Application, *J. Bioact. Compat.* **36**, 29-43, 2021.
 40. Li J. and Zhuang S., Antibacterial Activity of Chitosan and Its Derivatives and Their Interaction Mechanism with Bacteria: Current State and Perspectives, *Eur. Polym. J.*, **138**, 109984, 2020.
 41. Quereshi S., Pandey A., and Sandhu S., Evaluation of Antibacterial Activity of Different Ganoderma Lucidum Extracts, *J. Sci. Res.*, **3**, 9-13, 2010.