مقاله پژوهشی

تهیه فیلم ضدمیکروبی برپایه نانوسلولز باکتریایی و نقاط کوانتومی کربنی

فاطمه سلیمی[۱]، حسین تاجیک[۲]، رحیم مولایی[۳]، مهران مرادی*[۴]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۷/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: نقاط کوانتومی کربنی (کربن‌دات)، دسته جدیدی از نانومواد با اندازه ۱ تا ۱۰ نانومتر هستند که به دلیل خصوصیات فلورسانس عالی، حلالیت بالا در آب، سازگاری زیستی و خواص ضدمیکروبی، در صنایع غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه تجربی، نقاط کوانتومی کربنی از گیاه شاه توت تهیه و اثرات ضدباکتریایی آن به تنهایی و پس از اضافه شدن به فیلم نانوسلولز باکتریایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *اشرشیا کلی* ATCC 25922 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: نقاط کوانتومی کربنی به روش هیدروترمال با استفاده از عصاره آبی شاه توت تهیه گردید. اندازه ذرات، میزان جذب و طیف FTIR بررسی و خصوصیات ضدباکتریایی به روش انتشار در چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. فیلم نانوسلولز باکتریایی با استفاده از باکتری *کوماگاتی گزیلینوم* تهیه و نقاط کوانتومی کربنی به روش غوطه‌وری به فیلم اضافه شد و خصوصیات ضدباکتریایی فیلم بر علیه دو باکتری اشاره شده، به روش انتشار در آگار مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: اندازه نانوذرات تهیه شده از پراکنندگی بسیار محدودی برخوردار بود و بیش از ۹۵ درصد ذرات در ابعاد کمتر از ۱۰ نانومتر بودند. هاله ممانعت از رشد نقاط کوانتومی کربنی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* به ترتیب ۱۱/۹ و ۱۰/۲ میلی‌متر بود. پس از اضافه کردن نقاط کوانتومی کربنی به فیلم، خصوصیات مشابهی مشاهده‌گردید، به طوری‌که اثرات ضدباکتریایی فیلم بر علیه باکتری گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود. نتایج این مطالعه همچنان نشان داد که غوطه‌وری نقاط کوانتومی کربنی در فیلم در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، اثر معنی‌داری $(p < 0.05)$ بر خصوصیات ضدباکتریایی فیلم در مقایسه با غوطه‌وری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد دارد.

بحث و نتیجه‌گیری: به دلیل خصوصیات ضدمیکروبی و جذبی مناسب نقاط کوانتومی کربنی، فیلم نانوسلولز حاوی این ترکیب، می‌تواند جایگاه ارزشمندی برای استفاده در فیلم‌های ضدمیکروب داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: بسته‌بندی فعال، شاه توت، نانوتکنولوژی، ضدمیکروب

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره نهم، ص ۷۴۳-۷۲۱، آذر ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی ، تلفن: ۰۴۴۳۱۹۴۲۶۳۳

Email: moradi.mehran@yahoo.com; m.moradi@urmia.ac.ir

مقدمه

نانو مواد ترکیباتی هستند که حداقل یک بعد آن‌ها در مقیاس نانومتر قرار دارد. نانو مواد در دسته‌های گوناگون از جمله نانو ذرات، نانوکریستال‌ها، نقاط کربنی، صفحات نانو، نانوکامپوزیت‌های مصنوعی و طبیعی، دندریمرها و لیپوزوم‌ها قرار می‌گیرند. نقاط کوانتومی کربنی دسته‌ای از نانو مواد هستند که امروزه کاربرد وسیعی در زمینه مواد غذایی دارند (۱).

نقاط کوانتومی کربنی (کربن‌دات)، دسته‌ای از نانو ذرات، با اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰ نانومترهستند که اندازه آن‌ها با کنترل دما و زمان واکنش تغییر می‌کند. نقاط کوانتومی کربنی اولین بار توسط گروه زو[1] در سال ۲۰۰۴ کشف شد. نام نقاط کوانتومی کربنی

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۲] استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۳] پژوهشگر پسادکتری، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۴] دانشیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[1] Xu's group

توسط سان و همکارانش طی دستیابی به نانو ذرات کربن با خواص فلورسنس عالی در طول تخلیه لیزری در سال ۲۰۰۶ تعریف شد (۲). این ذرات از هیدروژن، اکسیژن، کربن و نیتروژن تشکیل شده‌اند و دارای خواص ضدمیکروب وابسته به ساختار ماده هستند. نقاط کوانتومی کربنی به دلیل سنتزآسان، سازگاری مطلوب با محیط زیست، حلالیت فوق العاده در آب، نفوذپذیری مناسب در سلول، مقاومت زیاد به نمک، خواص فلورسانس شدید، سمیت و هزینه کم تولیدی بسیار مورد توجه قرارگرفته‌اند. به عنوان یک گروه جدید از نانو مواد، نقاط کوانتومی کربنی در دهه گذشته توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۳،۴).

سنتز نقاط کوانتومی کربنی با دو رویکرد بالا به پایین و رویکرد پایین به بالا قابل‌اجرا است. رویکرد بالا به پایین شامل استفاده از روش تخریب لیزر، تخلیه قوس، الکتروشیمیایی و پلاسما است. رویکرد پایین به بالا شامل روش پیرولیت[2]، الگو[3]، ماکرویو، اکسیداسیون شیمیایی، هیدروترمال و اولتراسونیک است (۳). روش هیدروترمال روشی پرکاربرد برای سنتز نقاط کوانتومی کربنی در محیط آبی تحت حرارت و روشی اقتصادی برای سنتز نقاط کوانتومی کربنی است. سنتز با این روش آسان است (۳).

در آغاز، سیستم‌های بسته‌بندی بمنظور به حداقل رساندن واکنش‌های بین بسته و محتوای بسته طراحی شدند. سیستم‌های بسته‌بندی جدید امروزی به عنوان پیام‌رسان‌های هوشمند، افزایش کیفیت مواد غذایی و ارائه اطلاعات بیشتر برای پردازش‌ها و مصرف‌کنندگان، عمل می‌کنند. علاوه بر این، در حال حاضر روند توسعه تکنولوژی سبب معرفی سیستم‌های بسته‌بندی می‌شود که باعث تعامل بین خود بسته و محصول می‌شود (۵). بسته‌بندی غیرفعال یک سیستم بسته‌بندی متعارف است که در آن بسته بعنوان مانعی فیزیکی برای محافظت غذا از شرایط محیطی عمل می‌کند. بسته‌بندی فعال حاوی ویژگی‌هایی فراتر از بسته‌بندی غیرفعال است و می‌تواند به دو نوع سیستم تقسیم شود. نوع اول، بسته‌بندی ساده‌ای است که در آن بسته‌بندی بدون ماده یا پلیمر فعال است. نوع دوم بسته‌بندی که به‌عنوان بسته‌بندی فعال واقعی یا بسته‌بندی فعال پیشرفته شناخته می‌شود (۶).

امروزه انواع پلی‌ساکاریدها از جمله سلولز گیاهی، کیتوزان، آلژینات، هیالورونیک اسید و دکستران، با توجه به ویژگی‌های خاص خود کاربردهای متفاوتی در صنعت بسته‌بندی پیدا کرده‌اند. سلولز یکی از فراوان‌ترین مواد زیست تخریب پذیر در طبیعت است که بطور معمول از گیاهان استخراج می‌شود. سلولز باکتریایی توسط میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله گلوکونوباکتر[4] تولید می‌شود (۷)، این دسته از سلولزها از لحاظ شیمیایی با گلوگز گیاهی یکسان هستند، اما خواص مکانیکی، بلورینگی، تخلخل، سازگاری زیستی و توانایی نگهداری آب بالاتری نسبت به سلولزهای گیاهی دارند (۸). تخلخل بالای این پلیمر طبیعی باعث شده است که کاربردهای مختلفی در علوم از جمله در بسته‌بندی به منظور تولید فیلم‌های ضدمیکروب پیدا نماید.

فناوری نانو، همچون در بسیاری از علوم، در صنعت بسته بندی جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است. بیشترین کاربرد این فناوری استفاده از ترکیبات نانو در ایجاد تغییرات مطلوب در فیلم‌های مورد استفاده در بسته‌بندی است. این ترکیبات باعث بهبود خواص فیزیکی (ممانعت‌کننده از تبادل گازی)، خواص بیوشیمیایی (سازگاری با محیط زیست و تجزیه‌پذیری)، خواص عملکردی (خواص ضدمیکروبی، جذب اشعه ماوراء بنفش، آنتی اکسیدان و همچنین بهبود تازگی، طعم و بو ماده غذایی) و تولید سنسورهای هوشمند برای تشخیص فساد در ماده غذایی می‌شوند (۹).

شاه‌توت، از گونه‌های متعلق به خانواده توت‌سانان[5] است که بومی مناطق مدیترانه و جنوب غربی آسیا است و به وفور در غرب و شمال غرب ایران یافت می‌شود (۱۰). مطالعات فیتوشیمیایی انجام‌شده روی میوه شاه‌توت نشان می‌دهد که این بخش از گیاه، سرشار از انواع ویتامین‌های A،C، E و ویتامین‌های گروه B است و محتوای آنتوسیانین آن بسیار بالا است. از طرف دیگر، این مطالعات تأیید می‌کند که این میوه مقادیر زیادی از انواع ترکیبات آلی نظیر سیتریک اسید، فولیک اسید، مالیک اسید، ریبوفلاوین و نیاسین را دارا بوده و با توجه به میزان قند فروکتوز در آن (بیشتر از ۱۶ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم) به عنوان منبع مناسب انرژی شناخته می‌شود (۱۱). بنابر این با توجه به محتوی بالای قندی در عصاره آبی میوه شاه‌توت، فرضیه انجام فرآیند کربونیزاسیون مواد قندی طی فرآیند هیدروترمال می‌تواند منجر به تولید نانو نقاط کوانتومی از عصاره مورد استفاده باشد. در سالیان اخیر، در حوزه سنتز و استفاده از نقاط کوانتومی کربنی، مطالعات مختلفی در حال انجام است. با این وجود پژوهش‌ها در استفاده از این ترکیبات جدید و کاربردی در مواد غذایی و به خصوص بسته‌بندی موادغذایی بسیار محدود است. از آنجا که برخی خصوصیات ذاتی نقاط کوانتومی کربنی از جمله خصوصیات ضدمیکروبی می‌تواند در تهیه بسته‌بندی فعال به محققان در زمینه تولید فیلم‌های بسته‌بندی با ویژگی‌های منحصر بفرد کمک کند. بر این اساس، در این مطالعه،

[2] Pyrolytic process

[3] Template method

[4] komagataeibacter

[5] Moraceae

برای اولین بـار نقـاط کوانتومی کربنی از شـــاه‌توت بـه روش هیدروترمال تولید و از آن جهت تهیه فیلم نانوسـلولز ضدمیکروبی به منظور مهار رشـد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *اشرشیا کلی*ATCC 25922 استفاده گردید.

مواد و روش کار

تهیه نقاط کوانتومی کربنی:

شاه توت تازه از بازار تهیه و نقاط کوانتومی کربنی آن به روش هیدروترمال تهیه گردید (۱۲). برای این منظور، ابتدا میوه شاه‌توت تهیه شده با آب دیونیزه شستشو داده شد و سپس به مدت یک روز در تاریکی قرار داده شـد. در ادامه ۳۰ گرم عصـاره به صورت مؤثر تکه تکه شـده و در ۷۰ میلی‌لیتر از آب دیونیزه مخلوط شـد. برای تهیه عصاره آبی، مخلوط فوق به مدت یک ساعت در حمام روغن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تحت همزدن شدید حرارت داده شد. با اسـتفاده از کاغذ واتمن شماره ۱، عملیات فیلتراسیون انجام شد و محلول زیر صافی به راکتور تماماً استیل منتقل و به مدت ۶ ساعت در دمای ۱۶۰ درجه سـانتی‌گراد در کوره حرارت داده شـد. سپس راکتور در دمای اتاق خنک شـــده و مخلوط بدســـت آمده از فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد.

مشخصه‌یابی نقاط کوانتومی کربنی

آنالیز توزیع ذرات:

مطالعه اندازه و توزیع سایز نقاط کوانتومی کربنی سنتز شده با اســـتـفـاده از آنـالیزور انـدازه ذرات (PSA) اســـکتراســـکوپ (Scatteroscope) ســـاخت شـــرکت کدیکس (Qudix Inc، کره جنوبی) انجام گرفت.

خصوصیات جذب طیف‌سنجی UV-Visible:

به منظور ارزیابی نانوســاختار تهیه شــده از نظر خواص نوری، دســتگاه طیف‌ســنجی UV-Visible دو پرتویی PG مدل +۸۰ GT، ساخت کشور چین مورد استفاده قرارگرفت.

خصوصیات ضدمیکروبی:

*اســتافیلوکوکوس اورئوس*ATCC 25923 و *اشــرشــیا کلی* ATCC 25922از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صـــنعتی ایران تهیه گردید و در داخل لوله‌های کرایوتیوب حاوی گلیسرول در تریپتیکاز سوی براث در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. کشـت مجدد باکتری در محیط کشـت تریپتیکاز سوی براث انجام و برای بدست آوردن تعداد باکتری، از روش تعیین جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با اسـپکتروفتومتر اسـتفاده گردید (۱۳). اثر ضد میکروبی نقاط کوانتومی کربنی به‌روش انتشار در آگار (روش چاهک) بررسی گردید. برای این منظور، پس از تهیه باکتری و تنظیم میزان آن در $۱۰^۶$ باکتری در هر میلی‌لیتر، باکتری با اسـتفاده از سـوآب در محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد. چاهک‌های ۸ میلی متری درون محیط‌کشت ایجاد و درون هر چاهک به‌صورت جداگانه به‌مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نقاط کوانتومی کربنی اضـــافـه گردیـد. پس از انکوباســـیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت، قطر هاله (میلی‌متر) تشکیل شده با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری گردید (۱۴).

تهیــه فیلم نانوســـلولز ضـــدمیکروب با اســـتفاده نقاط کوانتومی کربنی

تهیه فیلم نانوسلولز باکتریایی:

بـاکتری *کوماگاتی گزیلینوم*[6] ATCC 700178 (با نام قدیمی *گلوکونواستوباکتر گزیلینوم)* موجود در کلکسیون میکروبی دانشکده دامپزشـکی دانشـگاه ارومیه مورد اسـتفاده قرارگرفت. علت انتخاب این باکتری، به دلیل نوع نانوسلولز تولیدی و بهینه‌سازی‌های انجام شـده در مورد تولید نانوسـلولز توسـط این باکتری بود. برای تهیه نانوسـلولز، باکتری در محیط ترکیبی حاوی گلوتن (۱/۹۱ درصد)، ملاس (۵/۳۸ درصد)، اتانول(۱/۳۸ درصد)، آمونیوم سولفات(۰/۶۳ درصـد)، اسـید سـیتریک(۰/۱۱۵ درصـد) و Na_2HPO_4 (۰/۲۷ درصـد) کشت داده شد (۱۵). محیط حاوی باکتری به مدت ۳ روز در دمای ۳۰ درجه سـانتی‌گراد و در شـرایط اسـتاتیک نگهداری و نانوسـلولز سـنتز شـده پس از برداشـت، با آب و سود ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ سـفید شـستشو داده شد. نانوسلولز سنتز شده تا زمان اسـتفاده در یخچال نگهداری گردید. برای تهیه فیلم ضدمیکروب، فیلم با قطر ۸ میلی‌متر به مدت ۲۴ ســـاعت در دو دمای ۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد در محلول نقاط کوانتومی کربنی غوطه‌ور گردید.

ارزیابی خصوصیات ضدمیکروبی فیلم:

برای این منظور، پس از تهیـه باکتری‌ها و تنظیم میزان آن در $۱۰^۶$ باکتری در هر میلی‌لیتر، باکتری با استفاده از سوآب در محیط کشـت مولرهینتون آگار کشـت داده شد. فیلم‌های تهیه شده روی سـطح پلیت حاوی کشـت باکتری قرار داده و پس از ۲۴ سـاعت گرمخانه‌گذاری، ناحیه مهاری تشـکیل شـده بررسی و با استفاده از کولیس اندازه‌گیری گردید (۱۶).

[6] Komagataeibacter xylinus

مطالعه اسپکتروسکوپی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FT-IR):

به منظور مطالعه ویژگی‌های ساختاری، تعیین گروه‌های عاملی نقاط کوانتومی تهیه شده و همچنین، به دست آوردن اطلاعات نسبی در مورد ماهیت پیوندها و مشخصات سطوح فیلم اصلاح شده سلولزی و در نهایت تعیین مکانیسم برهم‌کنش احتمالی این نانوساختارها در فیلم نانوسلولزی مطالعات طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه بر روی نمونه‌های نانونقاط کوانتومی کربنی و همچنین فیلم سلولزی قبل و بعد از مجاورت با نقاط کوانتومی کربنی انجام شد. طیف‌های عبوری با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپی FTIR ساخت شرکت Thermo Nicolet مدل ®Nexus-۶۷۰ و در محدوده جذبی cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ و با قدرت تفکیکی طیفی cm^{-1} ۴ انجام شد.

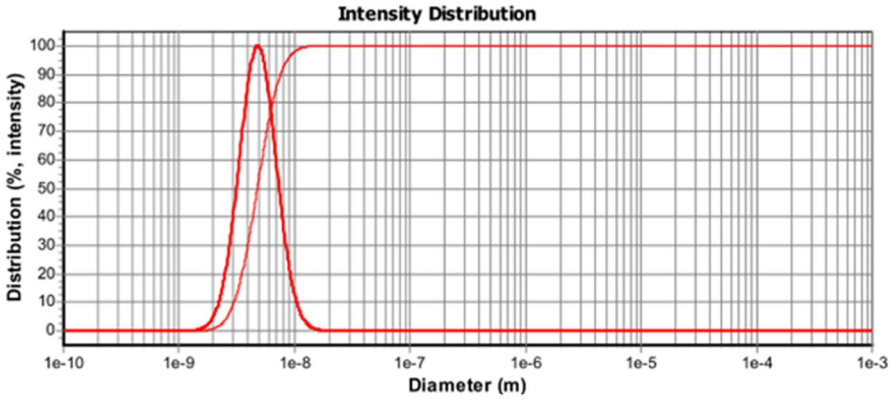
آنالیز آماری :

تغییرات متغیرها بین گروه‌های آزمایش در این تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از برنامه GraphPad نسخه ۵ آنالیز گردید. مقایسه بین میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۵ درصد با استفاده از تست Tukey انجام گردید.

یافته‌ها

در تحقیق حاضر، توزیع اندازه و شدت پراکندگی ساختارهای کوانتومی تهیه شده (بصورت سوسپانسیون) مورد بررسی قرارگرفت. داده‌های حاصل از بررسی نمونه نقاط کوانتومی کربن در شکل ۱ ارائه شده است. مطابق منحنی توزیع ارائه شده، اندازه نانوذرات تهیه شده از پراکنندگی بسیار محدودی برخوردار است و بیش از ۹۵درصد فراوانی ذرات در ابعاد کمتر از ۱۰ نانومتر می‌باشند.

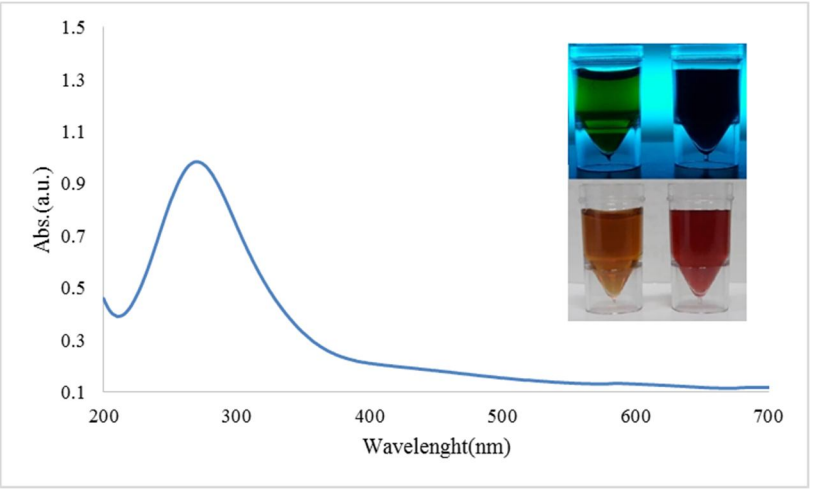
به منظور ارزیابی سنتز نانونقاط کوانتومی کربنی با استفاده از عصاره آبی میوه شاه‌توت، نوار جذب نوری نانوساختار در محدوده ۷۰۰-۲۰۰ نانومتر با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis ثبت و در شکل ۲ نشان داده شد. همانگونه که ملاحظه می‌شود، قله جذبی در ۲۶۶ نانومتر نانومتر مشاهده شد که بر اساس نتایج بدست آمده توسط دی و کاراک می‌تواند موید سنتز موفق نانو نقاط کوانتومی کربنی باشد (۱۷). در شکل ۲ تصویری از محلول کلوییدی نانونقاط کوانتومی در نور مریی و تحت تابش نور UV با طول موج ۲۲۰ نانومتر را نشان می‌دهد که بروز رنگ سبز در محدوده تابش ماورابنفش گواهی دیگر بر سنتز نانونقاط کوانتومی می‌باشد.



¢Ò Intensity Distribution Table

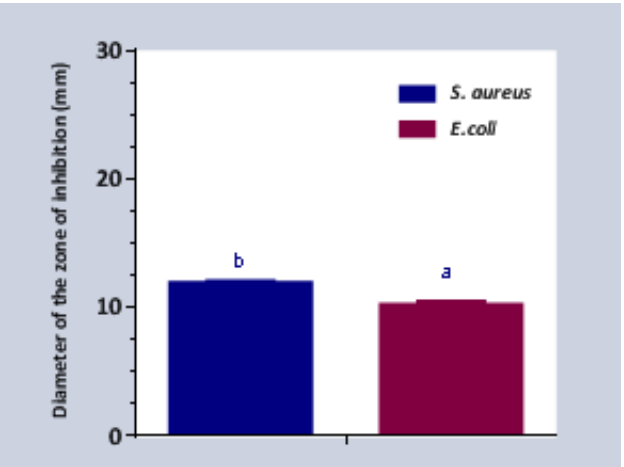
size	Int. Under (%)	size	Int. Under (%)	size	Int. Under (%)	size	Int. Under (%)	size	Int. Under (%)
0.10 nm	0.00	2.24 nm	1.90	51.0 nm	100.00	1.16 um	100.00	26.4 um	100.00
0.12 nm	0.00	2.62 nm	5.01	59.7 nm	100.00	1.36 um	100.00	30.9 um	100.00
0.13 nm	0.00	3.06 nm	11.27	69.7 nm	100.00	1.59 um	100.00	36.1 um	100.00
0.16 nm	0.00	3.58 nm	21.73	81.5 nm	100.00	1.86 um	100.00	42.2 um	100.00
0.18 nm	0.00	4.19 nm	36.29	95.3 nm	100.00	2.17 um	100.00	49.4 um	100.00
0.22 nm	0.00	4.90 nm	53.19	111 nm	100.00	2.54 um	100.00	57.7 um	100.00
0.25 nm	0.00	5.72 nm	69.53	130 nm	100.00	2.97 um	100.00	67.5 um	100.00
0.29 nm	0.00	6.69 nm	82.68	152 nm	100.00	3.47 um	100.00	78.9 um	100.00
0.34 nm	0.00	7.83 nm	91.51	178 nm	100.00	4.05 um	100.00	92.3 um	100.00
0.40 nm	0.00	9.15 nm	96.44	208 nm	100.00	4.74 um	100.00	108 um	100.00
0.47 nm	0.00	10.7 nm	98.73	243 nm	100.00	5.54 um	100.00	126 um	100.00
0.55 nm	0.00	12.5 nm	99.62	285 nm	100.00	6.48 um	100.00	147 um	100.00
0.64 nm	0.00	14.6 nm	99.91	333 nm	100.00	7.57 um	100.00	172 um	100.00
0.75 nm	0.00	17.1 nm	99.98	389 nm	100.00	8.85 um	100.00	202 um	100.00
0.88 nm	0.00	20.0 nm	100.00	455 nm	100.00	10.4 um	100.00	236 um	100.00
1.03 nm	0.00	23.4 nm	100.00	532 nm	100.00	12.1 um	100.00	275 um	100.00
1.20 nm	0.00	27.3 nm	100.00	622 nm	100.00	14.1 um	100.00	322 um	100.00
1.40 nm	0.03	31.9 nm	100.00	727 nm	100.00	16.5 um	100.00	376 um	100.00
1.64 nm	0.16	37.3 nm	100.00	850 nm	100.00	19.3 um	100.00	440 um	100.00

شکل (۱): توزیع اندازه و شدت پراکندگی کربن تهیه شده.



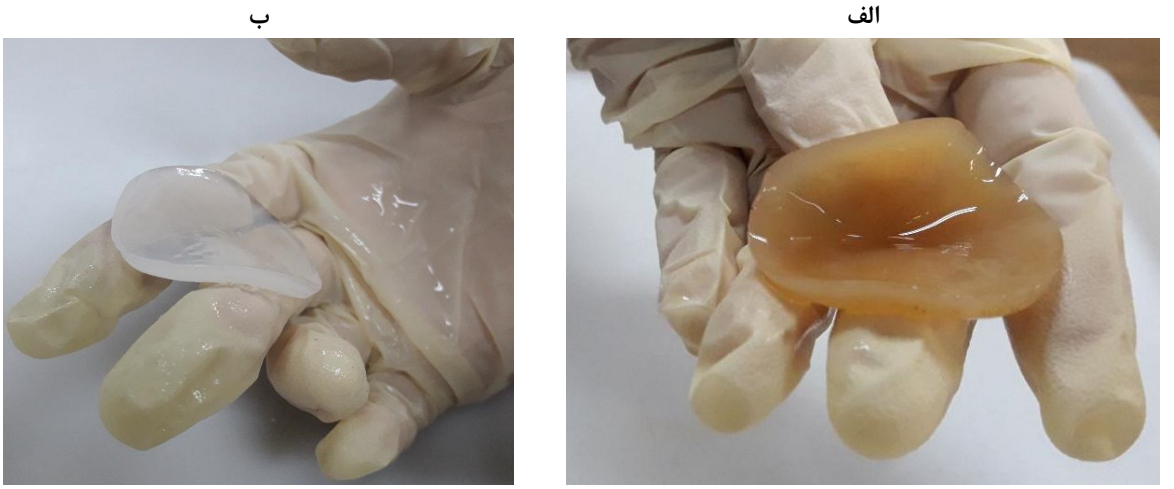
شکل (۲): نوار جذب نوری نانونقاط کوانتومی کربنی تهیه شده از شاه توت و محلول کلوییدی نانونقاط کوانتومی در نور مریی و تحت تابش نور UV با طول موج ۲۲۰ نانومتر

اثرات ضدمیکروبی نقاط کوانتومی کربنی تهیه شده بر علیه دو باکتری گرم مثبت و منفی به صورت هاله ممانعت از رشد در شکل ۳ آورده شـده اسـت. نتایج نشـان داد که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 نسبت به *اشرشیا کلی* ATCC 25922از حساسیت معنی‌داری برخوردار است.

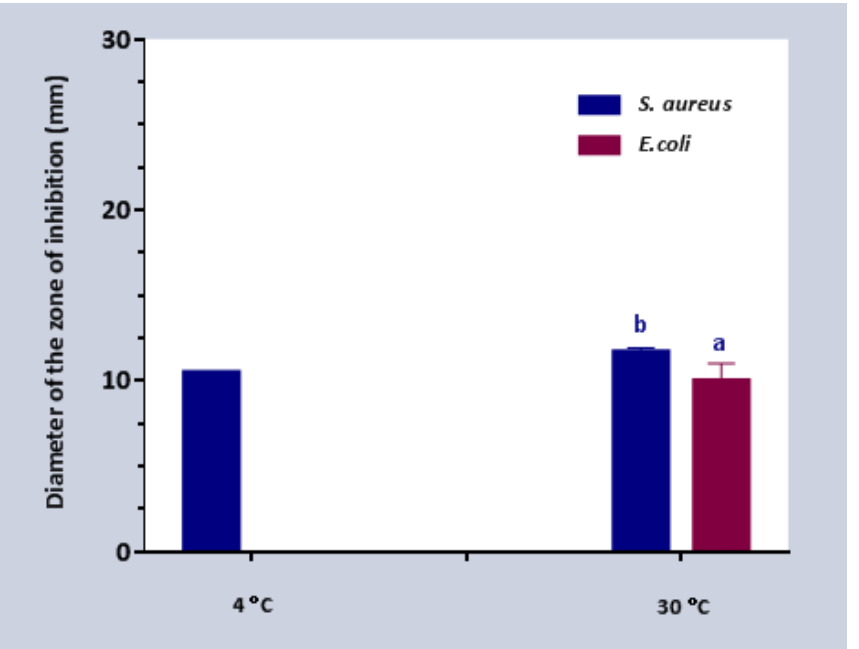


شکل (۳): مقایسه هاله ممانعت از رشد نقاط کوانتومی کربنی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *اشرشیا کلی* ATCC 25922 به روش چاهک. حروف کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).

تصـویر نانوسـلولز تهیه شـده در این مطالعه در شکل ۴ آورده شـده اسـت. نانوسـلولز ۳ روزه برای مطالعات ضـدمیکروبی مورد اسـتفاده قرارگرفت. خصوصیات ضدمیکروبی نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی بر علیـه دو بـاکتری گرم مثبـت و منفی به روش انتشار در آگار در شکل ۵ آورده شده است. مشابه نتایج خود نقاط کوانتومی کربنی، خصـوصـیات ضـدمیکروبی نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی برعلیه *اسـتافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 بیشـتر از *اشـرشیا کلی* ATCC 25922 گزارش گردید. نانوسلولز بدون نقاط کوانتومی کربنی خاصیت ضدمیکروبی نشان نداد.



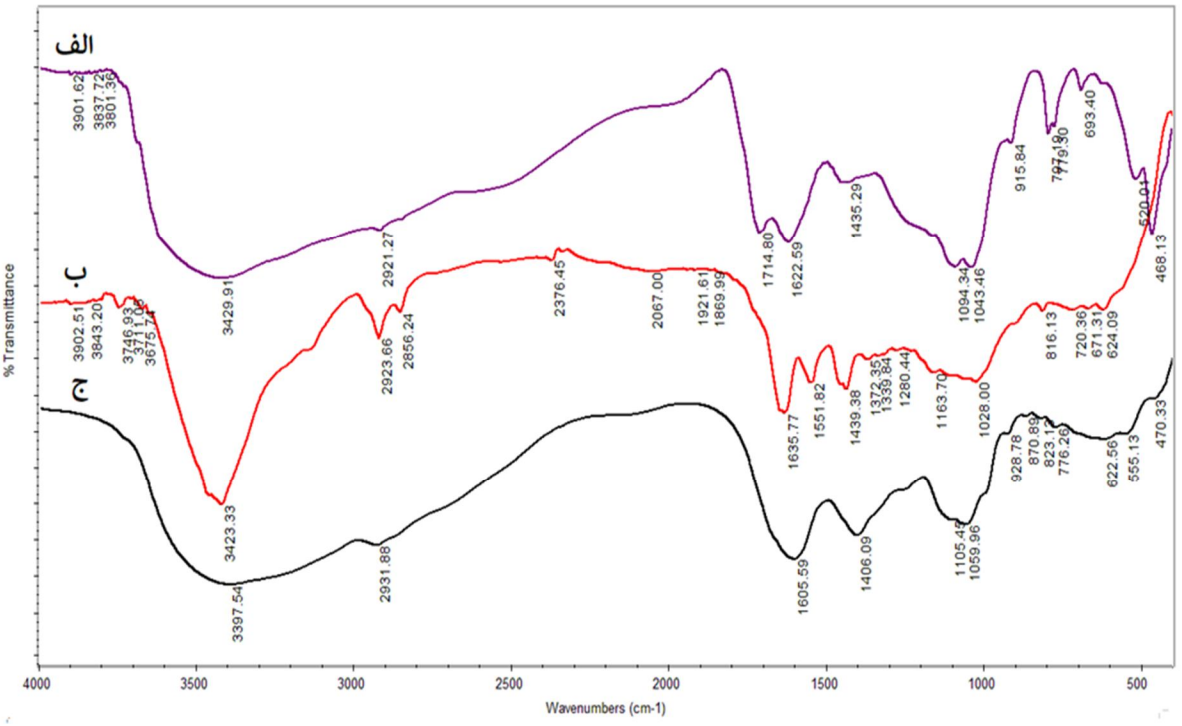
شکل (۴): تصاویر فیلم نانوسلولز باکتریایی قبل (الف) و بعد (ب) از شستشو با آب و سود.



شکل (۵): شکل: اثرات ضدمیکروبی فیلم نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی در دو زمان غوطه وری ۴ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد. حروف کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین دو باکتری است ($p < 0.05$).

ویژگی‌های ساختاری، تعیین گروه‌های عاملی نقاط کوانتومی کربنی و فیلم نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی در شکل ۶ آورده شده است. همانطوری که در شکل ۷ الف نشان داده شده است، طیف الگوی نقاط کوانتومی کربن تهیه شده دارای نوارهای عبوری مشخص در نواحی ۳۴۲۹ cm^{-1} و ۱۷۱۴ cm^{-1} می‌باشد که می‌توان به ترتیب به ارتعاشات کششی گروه‌های OH و ارتعاشات C=O گروه کربوکسیلیک نسبت داد (۱۸). از طرفی عبور مشاهده شده در ۱۶۲۲ cm^{-1} را شاید بتوان به فرکانس‌های باندهای ارتعاشی پیوندهای C=C نسبت داد. همچنین باندهای نسبتاً قوی در محدوده اعداد موجی ۱۰۹۴-۱۰۶۳ cm^{-1} را می‌توان به ارتعاشات کششی نامتقارن پیوند C-O مربوط دانست. از طرف دیگر، همانگونه که در الگوی طیفی فیلم نانوسلولزی قبل از مجاورت با نانونقاط کوانتومی قابل مشاهده است(شکل ۶ ب)، باند پهن جذبی در حوالی ناحیه ۳۴۲۰ cm^{-1} را می‌توان به ارتعاشات کششی گروه‌های OH موجود در نانوسلولز و دو نوار جذبی در محدوده ۲۸۵۶ cm^{-1} و ۲۹۲۳ cm^{-1} را باید مربوط به ارتعاش

کشـشی متقارن و نامتقارن گروه‌های متیلن و متیل (C-H) مربوط دانسـت. درعین‌حال نوار جذبی در حوالی عدد موجی $1439\ cm^{-1}$ موید ارتعـــاشـات خمشی C-H می‌باشد، و نوارها جذبی با درصد عبور کم در محدوده $1167-1163\ cm^{-1}$ و $816\ cm^{-1}$ ناشـی از ارتعاش کششی نامتقارن پیوند استری C-O-C وC-O در ساختار پلی ساکاریدی نانوسلولز خواهند بود (۱۹).



شکل (۶): الگوی طیفی نقاط کوانتومی کربنی (الف)، نانوسلولز (ب) و نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی (ج).

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، روش هیدروترمال بدلیل آسان بودن روش برای حرارت مستقیم محلول‌های آبی حاوی پیش‌ساز لازم محبوب شده‌اند. تاکنون، مولکول‌های کوچک به عنوان پیش‌ساز تهیه نقاط کوانتومی کربنی از جمله اسـیدهای آمینه (۲۰) و اسـید سیتریک استفاده شده‌اند (۲۱). با این حال، سنتز بر اساس این مولکول‌های کوچـک بـا هزینه‌های بالا و اتلاف انرژی مواجه اسـت. به تازگی، اسـتفاده از منابع تجدیدپذیر هیدروترمال، به نام "شـیمی سـبز"، مطابق با اسـتراتژی "بالا به پایین" به عنوان مسـیر ایده آل برای به دسـت آوردن نقاط کوانتومی کربنی در نظر گرفته شـده اسـت. با استفاده از منابع تجدید پذیر، مانند آلوئه (۲۲)، فلفل شیرین (۲۳)، نقاط کوانتومی کربنی از طریق روش هیدروترمال تهیه شـدند. در این مطالعه از میوه شـاه‌توت به دلیل محتوی بالای قندی و سـایر ترکیبـات آلی کـه می‌تواننـد بـه عنوان منبع کربنی در فرآینـد کربونیزاسـیون به روش هیدروترمال قرار بگیرند، اسـتفاده شـد. Zhou و همکاران در سـال ۲۰۱۸ از پسماندهای غذایی به عنوان منبع نقاط کوانتومی کربنی اسـتفاده کردند. نتایج نشـان داد نقاط کوانتومی کربنی (۱ تـا ۱۰ نـانومتر) بـه روش هیـدروترمال دارای خواص فوتولومینسانس عالی، قابلیت اطمینان بالا، راحتی ساخت و سمیت کم هستند، نقاط کوانتومی کربنی چندرنگی برای تشخیص یون‌های آهن فلزات سنگین استفاده شدند (۲۴).

اندازه ذرات نقاط کوانتومی کربنی سـنتز شـده در این مطالعه زیر ۱۰ نانومتر و به طور متوسـط ۴ نانومتر گزارش گردید. لازم به ذکر اسـت که توزیع اندازه بدسـت آمده با نتایج بدست آمده قبلی هم‌خوانی دارد (۲۵). شکل و اندازه ذرات در خصوصیات عملکردی نقاط کوانتومی کربنی اهمیت زیادی دارد. Xu و همکاران در سال ۲۰۱۵، فعالیت‌های ضـدباکتری وابسـته به اندازه نقاط کوانتومی کربنی را در برابر *اشرشیاکلی* گزارش کردند. نقاط کوانتومی کربنی کوچـک انـدازه، بـه دلیـل انـدازه کوچـک (۱۵ نانومتر)، به راحتی می‌توانند به غشـای پلاسـما نفوذ کنند و موجب افزایش اسـترس اکسیداتیو و پارگی غشائی نسب به ذرات بزرگ در اندازه ۵۰ نانومتر شـوند. اختلال غشـاء و اسـترس اکسیداتیو می‌تواند ناشی از تولید گونه‌های اکسـیژن واکنشـی متصل شده توسط این نقاط کوانتومی کربنی باشـد (۲۲). در مطالعه Zou و همکاران در سـال ۲۰۱۶،

خواص ضدباکتریایی نقاط کوانتومی کربنی نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 مشاهده‌گردید اما در مقابل سایر باکتری‌ها مانند *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس آئروژینوزا* حساسیت نشان ندادند. این محققان خصوصیات غشایی باکتری و تعامل آن با نقاط کوانتومی کربنی را در اثر ضدمیکروبی نقاط کوانتومی کربنی مؤثر دانستند (۲۶).

با توجه به افزایش میزان عفونت توسط میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی بیوتیک، توسعه عوامل ضد میکروبی جدید ضروری است. استفاده از ساختارهای نانو از جمله نقاط کوانتومی کربنی، گرافن و اکسید گرافن برای کنترل عوامل میکروبی بسیار مورد توجه قرارگرفته‌اند (۲۶). نقاط کوانتومی کربنی‌ها به دلیل عملکردهای چندگانه‌شان توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند. نقاط‌کوانتومی‌کربنی سبب مهار رشد یا مرگ باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های پیچیده از جمله تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تجزیه ساختار سلول، تکه‌تکه کردن و تراکم ژنوم و نشت سیتوپلاسم می‌شوند (۲۷،۲۸). همچنین نقاط کوانتومی کربنی می‌توانند سطح خارجی سلول‌ها را پوشش دهند، که این امر باعث توقف تبادل مواد و اختلال در رشد و بقاء سلول می‌گردد (۲۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نقاط کوانتومی کربنی سنتز شده از شاه‌توت به روش هیدروترمال اثرات ضدمیکروبی بر علیه عوامل بیماری‌زا دارد. این اثرات وابسته به باکتری است به طوریکه باکتری گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی حساسیت بیشتری نشان داد. حساسیت بیشتر باکتری گرم مثبت به عوامل مختلفی از جمله نوع خصوصیات باکتری، شکل و اندازه نقاط کوانتومی کربنی دارد. ساختار شیمیایی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت با گرم منفی متفاوت است. دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل پپتیدوگلیگان دارای ساختاری متخلل است (۳۰). این ساختار به قرارگرفتن نقاط کوانتومی کربنی در دیواره سلولی کمک می‌کند. از دیگر از عوامل تاثیرگذار، بار سطحی نقاط کوانتومی کربنی است که به نظر می‌رسد نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد استفاده در این مطالعه تمایل بیشتری دارد. اثبات این فرضیه نیازمند انجام مطالعات ساختاری تکمیلی نقاط کوانتومی کربنی است. در یک مطالعه کاملاً مشابه، Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۹ نقاط کوانتومی کربنی داپه با نیتروژن[1] سنتز کردند (۳۱). نتایج نشان داد نقاط کوانتومی کربنی سنتز شده فقط بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ضدمیکروبی دارد و روی *اشرشیا کلی* اثری نشان نداد. همچنین فعالیت‌های ضد باکتری و ضد قارچی نقاط کوانتومی کربنی تهیه شده از تمر هندی به طور خطی با افزایش غلظت نقاط کوانتومی کربنی افزایش می‌یابد. نتایج نشان داد که نقاط کوانتومی کربنی تمر هندی رشد *اشرشیاکلی* و *کاندیدا آلبیکانس* را در مقایسه با سایر میکروب‌های آزمایش شده (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا پنومونی* و *سودوموناس آئروژینوزا*) بیشتر مهار می‌کند. هاله ممانعت از رشد ۷ تا ۱۲ میلی‌متری برای تمامی باکتری‌ها و ۱۴ میلی‌متر برای سویه قارچی گزارش شد(۳۲). در مطالعه حاضر قطر هاله ممانعت از رشد در *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *اشرشیاکلی* ATCC 25922 به ترتیب ۱۱/۹ و ۱۰/۲ میلی‌متر بود. اثرات ضدمیکروبی نقاط کوانتومی کربنی سنتز شده از منابع مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، عملکرد باکتریوسیدال نقاط کوانتومی کربنی مشتق شده از نانو پودرهای کربنی تجاری برای مهار *اشرشیاکلی* گزارش شده است (۳۳). نانو کربن موجود در زردچوبه فعالیت آنتی باکتریال منحصر به‌فردی بر *اشرشیاکلی* دارد (۳۴).

مطالعات نشان می‌دهد نانوالیاف سلولز باکتریایی، ساختار متخلخل با اندازه ۱۶۰-۱۲۰ نانومتر دارد (۳۵). این ساختار بسیار مناسب برای مولکول‌های خارجی از جمله ترکیبات ضدمیکروبی، آنتی اکسیدان و آنزیم‌ها است. لذا در این مطالعه، از نقاط کوانتومی کربنی به عنوان ترکیب ضدمیکروب که علاوه بر خصوصیات ضدمیکروبی، بر خصوصیات فیزیکی- مکانیکی و شیمیایی نانوسلولز اثر مثبت دارد استفاده شد. روش‌های مختلفی برای ورود ترکیبات عملکردی به نانوسلولز پیشنهاد شده است. در این مطالعه روش *ex-situ* به دلیل ظرفیت بالای جذب ماده عملکردی در مقایسه با روش *in-situ* (۳۶) انتخاب شد. نتایج بررسی‌های ضدمیکروبی نیز حاکی از جذب نقاط کوانتومی کربنی توسط نانوسلولز در این روش است.

تهیه فیلم نانوسلولز با استفاده از ترکیبات مختلف ضدمیکروب مورد بررسی قرار گرفته شده است. در یک مطالعه، اثرات ضدمیکروبی فیلم نانوسلولز حاوی لیزوزیم بر علیه برخی عوامل باکتریایی و قارچی مورد بررسی قرار گرفت (۳۷). محققان نشان دادند که خصوصیات ضدمیکروبی لیزوزیم با اضافه شدن آن به فیلم نانوسلولز افزایش می‌یابد. نتایج مشابه در مطالعه حاضر گزارش گردید. اثرات فیلم‌های ضدمیکروبی بر علیه عوامل میکروبی بستگی به نوع فیلم، نوع و میزان ترکیب ضدمیکروب و نوع میکروارگانیسم دارد. به عنوان مثال، ترکیب ضدمیکروب همچون لیزوزیم، فقط بر علیه باکتری‌های گرم مثبت اثر گذار است (۳۷). درحالی‌که اثرات ضدمیکروبی وارد کردن ترکیباتی از جمله اکسید

[1] Nitrogen-doped carbon dots

مس به نانوسلولز، در باکتری گرم مثبت(*استافیلوکوکوس اورئوس*) (هاله ممانعت ۱۱/۸ میلی‌متر) بیشتر از باکتری گرم منفی(*اشرشیاکلی*) (هاله ممانعت ۵/۶ میلی‌متر) است (۳۸). رضوی و همکاران در سال ۲۰۱۹ اقدام به سنتر فیلم نانوسلولز با خصوصیات ضدمیکروبی با استفاده از نانوذرات فلزی نمودند (۳۹). نتایج نشان داد، نانوسلولز خالی اثرات ضدمیکروبی ندارد ولی اضافه شدن نانوذرات به خصوص نانوذرات مس، باعث بروز اثرات ضدمیکروبی بیشتری روی باکتری گرم مثبت در مقایسه با باکتری گرم منفی شد. در مطالعه حاضر نیز اثربخشی فیلم نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* بود. در این مطالعه، دمای غوطه‌وری نقاط کوانتومی کربنی به منظور بررسی این پارامتر بر خصوصیات ضدمیکروبی نانوسلولز مورد بررسی قرار گرفت. به طورکلی غوطه‌وری در دمای پایین (۴ درجه حرارت) باعث کاهش در خصوصیات ضدمیکروبی فیلم نانوسلولز گردید. این یافته در مورد باکتری *اشرشیا کلی* به نحوی بود که نانوسلولز حاوی نقاط کوانتومی کربنی غوطه‌وری شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد، خصوصیات ضدمیکروبی از خود نشان نداد. این یافته به دلیل حلالیت پایین نقاط کوانتومی کربنی در دمای پایین است که نفوذ نقاط کوانتومی کربنی به نانوسلولز را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

به منظور مطالعه ماهیت پیوندها و مشخصات سطوح فیلم نانوسلولزی اصلاح شده با نانونقاط کوانتومی کربنی، طیف FTIR فیلم نانوسلولزی بعد از مجاورت با عامل اصلاحگر پیشنهادی ثبت (شکل ۶ج) و با فیلم نانوسلزی خالی مقایسه گردید. همانگونه که مشاهده می‌شود، باند پهن و نسبتاً قوی در محدوده $۳۳۹۷\ cm^{-1}$ (مربوط به ارتعاشات کششی پیوند O-H) در فیلم مجاور شده به سمت اعداد موجی کوچکتر جابجا شده است. بر اساس مطالعات انجام شده، این جابجایی می‌تواند دلیلی بر شرکت پیوندهای هیدروژنی گروه‌های موجود بر روی سطح نقاط کوانتومی سنتز شده با گروه‌های هیدروکسیل در ساختار فیلم نانوسلولزی باشد. از طرف دیگر، جابجایی نوارعبوری در ناحیه $۱۶۳۵\ cm^{-1}$ در فیلم قبل از اصلاح (شکل ۶ب) به سمت اعداد موجی کوچکتر در طیف مربوط به فیلم بعد از مجاورت با عامل اصلاحگر ($۱۶۰۵\ cm^{-1}$) می‌تواند شاهدی بر ادعای ما مبنی بر دخالت گروه‌های کربوکسیلیک اسید در این پیوندها باشد. نکته حائز اهمیت در طیف‌های ثبت شده مربوط به فیلم نانوسلولزی قبل از اصلاح می‌باشد که در شکل ۶ج این نوار عبوری حذف شده است. براساس جداول مرجع مربوط به فرکانس‌های باندهای ارتعاشی، نوارهای محدوده $۱۵۰۰\ cm^{-1}$ تا $۱۶۰۰\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات پیوندهای C=C آروماتیک می‌باشد که در ساختار فیبرهای سلولزی وجود دارد. بنابر این حذف این نوار جذبی را شاید بتوان به پدیده اشتراک الکترون‌های π غیر مستقر در ساختارهای آروماتیک و عامل اصلاحگر نسبت داد (۴۰، ۴۱). بهینه سازی روش غوطه‌وری ترکیبات ضدمیکروب از جمله نقاط کوانتومی کربنی در فیلم نانوسلولز از چالش‌های پیش‌رو در این تحقیق و مطالعات مشابه است که لازم است تحقیقات تکمیلی در این خصوص انجام پذیرد.

در این مطالعه، برای اولین بار نقاط کوانتومی کربنی با خصوصیت ضدمیکروبی از میوه شاه‌توت به روش هیدروترمال تهیه گردید. نقاط کوانتومی کربنی تهیه شده در ابعاد کمتر از ۱۰ نانومتر اثرات ضدمیکروبی بر علیه عوامل بیماری‌زای گرم مثبت و منفی نشان داد. این اثر در باکتری گرم مثبت به طور معنی‌داری بیشتر بود. نتایج طیف سنجی نقاط کوانتومی کربنی هم نشان داد که نانوساختارها، دارای گروه‌های سطحی متنوعی می‌باشد که توانایی برقراری اتصالات فیزیکی و شیمیایی با فیلم نانوسلولز دارد. بعد از وارد کردن نقاط کوانتومی کربنی در فیلم نانوسلولز، فیلم ضدمیکروبی بر علیه هردو عامل بیماری‌زا تهیه شد. خصوصیت ضدمیکروبی و جذب نور ماوراء بنفش باعث می‌شود این فیلم قابلیت بالقوه برای استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی و پانسمان زخم در انسان و حیوان پیدا نماید. که این امر مستلزم انجام تحقیقات تکمیلی است که توسط این گروه تحقیقاتی در حال انجام است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه به خاطر تأمین مالی این کار تحقیقاتی کمال تشکر به عمل می‌آید. همچنین نویسندگان از سرکار خانم کوشه برای همکاری در تهیه فیلم نانوسلولز باکتریایی نهایت امتنان را دارند.

References:

1. Ye S-L, Huang J-J, Luo L, Fu H-J, Sun Y-M, Shen Y-D, et al. Preparation of carbon dots and their application in food analysis as signal probe. Chinese J Anal Chem 2017;45(10):1571–81.
2. Wang H, Xie Y, Liu S, Cong S, Song Y, Xu X, et al. Presence of fluorescent carbon nanoparticles in baked lamb: their properties and potential application for sensors. J Agric Food Chem 2017; 65(34): 7553–9.

3. Zuo P, Lu X, Sun Z, Guo Y, He H. A review on syntheses, properties, characterization and bioanalytical applications of fluorescent carbon dots. Microchim Acta 2016;183(2):519–42.
4. Zhao A, Chen Z, Zhao C, Gao N, Ren J, Qu X. Recent advances in bioapplications of C-dots. Carbon 2015; 85: 309–27.
5. Janjarasskul T, Suppakul P. Active and intelligent packaging: The indication of quality and safety. Crit Rev Food Sci Nutr 2016; 58(5):808-831.
6. Razavi-Rohani SM, Moradi M. Food application of natural antimicrobial compounds. First edition. Urmia, Iran: Jahad Daneshghahi; 2017.
7. Sukhtezari S, Almasi H, Pirsa S, Zandi M, Pirouzifard M. Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of Scrophularia striata Boiss. extract. Carbohydr Polym 2017; 156: 340–50.
8. Liyaskina E, Revin V, Paramonova E, Nazarkina M, Pestov N, Revina N, et al. Nanomaterials from bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. J Phys Conf Ser 2017; 784(1): 12034.
9. Kuswandi B, Moradi M. Improvement of Food packaging based on functional nanomaterial. In: Siddiquee S, Melvin, Gan, Jet H, Rahman M, editors. Nanotechnology: applications in food and energy. Fisrt edition. Springer publishing; 2019.
10. Nikkhah E, Khayyami M, Heidari R. Effect of some chemicals on stability of anthocyanins from blackberry (Morus nigra). Iranian J Biol 2012; 25 (1): 32-43
11. Akin M, Eyduran SP, Ercisli S, Kapchina-Toteva V, Eyduran E. Phytochemical profiles of wild blackberries, black and white mulberries from southern Bulgaria. Biotechnol Biotec Eq 2016; 30(5): 899–906.
12. Sahu S, Behera B, Maiti TK, Mohapatra S. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. Chem Commun 2012; 48(70): 8835–7.
13. NCCLS. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M11-A6 (ISBN 1-56238-517-8). National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) .Wayne, PA, USA.; 2004.
14. Shirdel M, Tajik H, Moradi M. Combined activity of colloid nanosilver and zataria multiflora boiss essential oil-mechanism of action and biofilm removal activity. Adv Pharm Bull 2017; 7(4): 621–8.
15. Rodrigues AC, Fontão AI, Coelho A, Leal M, Soares da Silva FAG, Wan Y, et al. Response surface statistical optimization of bacterial nanocellulose fermentation in static culture using a low-cost medium. N Biotechnol 2019; 49: 19–27.
16. Divsalar E, Tajik H, Moradi M, Forough M, Lotfi M, Kuswandi B. Characterization of cellulosic paper coated with chitosan-zinc oxide nanocomposite containing nisin and its application in packaging of UF cheese. Int J Biol Macromol 2018; 109: 1311–8.
17. De B, Karak N. A green and facile approach for the synthesis of water soluble fluorescent carbon dots from banana juice. RSC Adv 2013; 3(22): 8286–90.
18. Tadesse A, Rama Devi D, Hagos M, Battu G, Basavaiah K. Facile green synthesis of fluorescent carbon quantum dots from citrus lemon juice for live cell imaging. Asian J Nanosci Mater 2018 1(1): 36–46.
19. Klemm D, Schumann D, Udhardt U, Marsch S. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery. Prog Polym Sci 2001; 26(9): 1561–603.
20. Wei J, Liu B, Zhang X, Song C. One-pot synthesis of N, S co-doped photoluminescent carbon quantum dots for Hg2+ ion detection. New Carbon Mater 2018; 33(4): 333–40.

21. Zhuo Y, Miao H, Zhong D, Zhu S, Yang X. One-step synthesis of high quantum-yield and excitation-independent emission carbon dots for cell imaging. Mater Lett 2015; 139: 197-200.
22. Xu H, Yang X, Li G, Zhao C, Liao X. Green synthesis of fluorescent carbon dots for Selective Detection of tartrazine in food samples. J Agric Food Chem 2015; 63(30): 6707–14.
23. Yin B, Deng J, Peng X, Long Q, Zhao J, Lu Q, et al. Green synthesis of carbon dots with down- and up-conversion fluorescent properties for sensitive detection of hypochlorite with a dual-readout assay. Analyst 2013; 138(21): 6551–7.
24. Zhou Y, Liu Y, Li Y, He Z, Xu Q, Chen Y, et al. Multicolor carbon nanodots from food waste and their heavy metal ion detection application. RSC Adv 2018; 8(42): 23657–62.
25. Sachdev A, Gopinath P. Green synthesis of multifunctional carbon dots from coriander leaves and their potential application as antioxidants, sensors and bioimaging agents. Analyst 2015; 140(12): 4260–9.
26. Zou X, Zhang L, Wang Z, Luo Y. Mechanisms of the antimicrobial activities of graphene materials. J Am Chem Soc 2016; 138(7): 2064–77.
27. Vermote A, Van Calenbergh S. Small-molecule potentiators for conventional antibiotics against staphylococcus aureus. ACS Infect Dis 2017; 11:780–96.
28. Li Y-J, Harroun SG, Su Y-C, Huang C-F, Unnikrishnan B, Lin H-J, et al. Synthesis of self-assembled spermidine-carbon quantum dots effective against multidrug-resistant bacteria. Adv Healthc Mater 2016; 5(19): 2545–54.
29. Akhavan O, Ghaderi E, Esfandiar A. Wrapping bacteria by graphene nanosheets for isolation from environment, reactivation by sonication, and inactivation by near-infrared irradiation. J Phys Chem B 2011; 115(19): 6279–88.
30. Yuan H, Liu Z, Liu L, Lv F, Wang Y, Wang S. Cationic conjugated polymers for discrimination of microbial pathogens. Adv Mater 2014; 26(25): 4333–8.
31. Zhao C, Wang X, Wu L, Wu W, Zheng Y, Lin L, et al. Nitrogen-doped carbon quantum dots as an antimicrobial agent against staphylococcus for the treatment of infected wounds. Colloid Surface B 2019; 179: 17–27.
32. Asha Jhonsi M, Thulasi S. A novel fluorescent carbon dots derived from tamarind. Chem Phys Lett 2016; 661: 179–84.
33. Chun S, Muthu M, Gansukh E, Thalappil P, Gopal J. The ethanopharmacological aspect of carbon nanodots in turmeric smoke. Sci Rep 2016; 6: 35586.
34. Meziani MJ, Dong X, Zhu L, Jones LP, LeCroy GE, Yang F, et al. Visible-light-activated bactericidal functions of carbon “quantum” dots. ACS Appl Mater Interfaces 2016; 8(17): 10761–6.
35. Shahmohammadi Jebel F, Almasi H. Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. Carbohydr Polym 2016; 149: 8–19.
36. Mirtalebi SS, Almasi H, Alizadeh Khaledabad M. Physical, morphological, antimicrobial and release properties of novel MgO-bacterial cellulose nanohybrids prepared by in-situ and ex-situ methods. Int J Biol Macromol 2019; 128: 848–57.
37. Bayazidi P, Almasi H, Asl AK. Immobilization of lysozyme on bacterial cellulose nanofibers: Characteristics, antimicrobial activity and morphological properties. Int J Biol Macromol 2018; 107: 2544–51.
38. Almasi H, Jafarzadeh P, Mehryar L. Fabrication of novel nanohybrids by impregnation of CuO nanoparticles into bacterial cellulose and chitosan nanofibers: Characterization, antimicrobial and release properties. Carbohydr Polym 2018; 186: 273–81.

39. Razavi R, Molaei R, Moradi M, Tajik H, Ezati P, Shafipour Yordshahi A. Biosynthesis of metallic nanoparticles using mulberry fruit (Morus alba L.) extract for the preparation of antimicrobial nanocellulose film. Appl Nanosci 2019; In press.
40. Wang H, Ning G, He X, Ma X, Yang F, Xu Z, et al. Carbon quantum dots derived by direct carbonization of carbonaceous microcrystals in mesophase pitch. Nanoscale 2018; 10(45): 21492–8.
41. Fan M. Fourier .Transform infrared spectroscopy for natural fibres. In: Dai D, editor. Rijeka: IntechOpen; 2012.

Original Article

PREPARATION OF ANTIMICROBIAL FILM BASED ON BACTERIAL NANOCELLULOSE AND CARBON QUANTUM DOTS

Fatemeh Salimi [1], Hossein Tajik[2], Rahim Molaei[3], Mehran Moradi[4]

Received: 10 Aug, 2019; Accepted: 20 Oct, 2019

Abstract

Background & Aims: Carbon quantum dot (CQD) is a new platform of nanomaterials in the range of 1 to 10 nm. This novel material has received extensive attention in the food industry due to its excellent fluorescence properties, high solubility in water, biocompatibility, and antimicrobial properties. In this experimental study, CQD was prepared using black mulberry and its antibacterial activity was evaluated individually and after impregnation in the bacterial nanocellulose (BNC) on Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Escherichia coli ATCC 25922.

Materials & Methods: CQD was fabricated according to a hydrothermal procedure using black mulberry water extract. The size, UV−vis absorption spectrum, FTIR, and antibacterial activity of CQD were examined according to the agar well diffusion method. BNC was prepared from Komagataeibacter xylinus and CQD was added into BNC by ex-situ method and antibacterial properties were then assessed on both pathogens based on an agar diffusion method.

Results: CQDs have narrow size distribution and more than 95% of CQDs were less than 10 nm in size. The diameter zone of inhibition of CQD was 11.9 and 10.2 mm in S. aureus and E. coli, respectively. , Similar results were also obtained after addition of CQD into BNC. Accordingly, BNC films represented potent antibacterial activity on gram-positive bacterium than gram-negative one. Impregnation of CQD in BNC at 30 ºC significantly ($p < 0.05$) affected the antibacterial activity compared to impregnation at 4 ºC.

Conclusion: Owing to the typical antibacterial and UV−vis absorption spectrum, CQD incorporated BNC has an important capacity for the fabrication of antimicrobial films.

Keywords: Active packaging, black mulberry, nanotechnology, antimicrobials

Address :Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 1177, Urmia, Iran.
Tel: 04431942633
Email: moradi.mehran@yahoo.com; m.moradi@urmia.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2019: 30(9): 743 ISSN: 1027-3727

[1] MSc Student, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 1177, Urmia, Iran.
[2] Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 1177, Urmia, Iran.
[3] Postdoctoral Researcher, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 1177, Urmia, Iran.
[4] Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 1177, Urmia, Iran. (Corresponding Author)