

بهینه‌سازی شرایط فرآیند عمل پارچه پنبه‌ای با عصاره Terminalia chebula برای کاربرد ضد باکتری

مترجم: امین رضایی

چکیده

عصاره‌های متانولی میوه‌های Terminalia chebula به عنوان عامل ضد باکتری و سیتریک اسید به عنوان عامل ایجاد کننده پیوند عرضی روی پارچه پنبه‌ای با بافت ساده به کار گرفته شد و سپس پارچه‌های عمل شده از نظر خواص ضد باکتری در برابر باکتری‌هایی مانند استافیلوکوک اورئوس و اشریشیا کولای با استفاده از تست نفوذ آگار و ارزیابی‌های کمی بررسی شدند. نتایج نشان داد که پارچه پنبه‌ای عمل شده فعالیت ضد باکتریایی واضحی را با منطقه بازدارنده ۲۷-۳۸ میلی‌متر در تست نفوذ آگار در برابر باکتری‌های اشاره شده دارد. نمونه‌های عمل شده در ارزیابی‌های کمی کاهش ۹۳/۳۳٪ در برابر استافیلوکوک اورئوس و کاهش ۸۲/۱۴٪ را در برابر اشریشیا کولای نشان دادند. نمونه‌های تکمیل شده از نظر خواص فیزیکی مانند استحکام کششی، استحکام پارگی، جذب آب و نفوذپذیری نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. پارامترهای فرآیند برای عملکرد بهتر با استفاده از روش شناسی رویه پاسخ و طراحی Box-behnken بهینه‌سازی شدند و معادلات رگرسیون برای خواص پارچه به دست آمد. پارامترهای فرآیند بهینه شده برای رسیدن به فعالیت ضد باکتری بالاتر نمونه عمل شده با خواص فیزیکی بهینه عبارت است از غلظت عصاره ۲۵٪، عامل ایجاد کننده پیوند عرضی ۷/۵٪ و دمای پخت ۹۴/۱۶ °C.

مقدمه

منسوجات محیطی مناسب برای تولید و پخش میکرو ارگانیسم‌ها هستند. در بین خواص کاربردی متفاوت، خاصیت ضد باکتری در مورد پارچه‌ها به دلیل اینکه در تماس مستقیم با بدن انسان هستند بسیار مهم است. کربوهیدرات موجود در الیاف سلولزی می‌تواند به عنوان یک ماده مغذی برای رشد میکرو ارگانیسم‌ها عمل کند. رشد میکرو ارگانیسم در لباس‌ها موجب ایجاد بوی نامطبوع، لک و از بین رفتن استحکام مکانیکی و همچنین مشکلات مرتبط با سلامتی برای مصرف کننده شود. از این رو، فراهم کردن محافظت لازم در برابر میکرو ارگانیسم و ایجاد خاصیت ضد باکتری برای پارچه از اهمیت بالایی برخوردار است. مواد ضد باکتری متفاوتی برای بهبود خواص کاربردی لباس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما اخیراً گیاهان طبیعی به دلیل ذات دوستدار طبیعت و بی‌خطر بودن آن‌ها برای سلامتی، توجه فراوانی را به عنوان عوامل ضد باکتری به خود جلب کرده‌اند.

قبل از این، فعالیت ضد باکتری عصاره‌های Terminalia chebula در برابر باکتری‌های مختلف گزارش شده بود. پیشرفت در بخش زخم‌بندی بهبود قابل توجهی را در حوزه‌های کاربرد پارچه پنبه‌ای به عنوان لایه تماسی زخم که در آن پنبه با تکمیل‌های مختلف برای محافظت زخم در برابر باکتری‌ها و عفونت‌ها پوشش داده شده نشان داده است. عصاره‌های قسمت‌های مختلف گونه‌های متنوع گیاهان مانند ریشه، گل، برگ‌ها و دانه‌ها که خواص ضد باکتری دارند، برای کاربردهای بهداشتی و محافظت زخم روی پنبه به کار گرفته می‌شود.

فعالیت ضد باکتری پارچه عمل شده با عصاره میوه Terminalia chebula با استفاده از هر دو عصاره آبی و متانولی پیش از این گزارش شده است. این تحقیق با هدف بررسی

اثر عمل ضد باکتری روی خواص فیزیکی پارچه انجام شده است. عصاره متانولی میوه Terminalia chebula به همراه یک عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (سیتریک اسید) به منظور بهبود ماندگاری عملیات روی پارچه پنبه‌ای به کار گرفته شد. اثرات پارامترهای فرآیند مختلف روی خواص پارچه نیز آنالیز شد.

هدف از این تحقیق ارزیابی خواص ضد باکتری پارچه عمل شده با عصاره Terminalia chebula بدون تغییر زیاد در خواص فیزیکی است. خواص فیزیکی مانند استحکام کششی، استحکام پارگی، جذب آب و نفوذپذیری پارچه اهمیت بالایی در حین کاربرد پارچه به عنوان مواد بهداشتی برای بهبود عملکرد دارد. از این رو، خواص فیزیکی پارچه پنبه‌ای تکمیل شده ارزیابی شد و پارامترهای فرآیند مانند غلظت عصاره، دمای پخت و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی برای عملکرد بهتر پارچه تکمیل شده با استفاده از روش شناسی رویه پاسخ (طراحی Box-behnken) که یک طرح عاملی کسری برای ۳ متغیر مستقل است، بهینه‌سازی شد. برای برآورد کردن ۱۰ ضریب مدل با استفاده از آنالیزهای رگرسیون خطی چندگانه ۱۵ آزمایش لازم بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ عصاره گیاهی

میوه‌های Terminalia chebula که برای این مطالعه انتخاب شده بودند از بازارهای تجاری Coimbatore District, Tamilnadu, India خریداری شدند. این میوه‌ها در سایه خشک شده و به صورت پودر درآمدند. عصاره متانولی این پودر به دست آمد. ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم از پودر به صورت جداگانه در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد تا محلولی با غلظت ۱۰٪ به دست آمد و مواد فعال در متانول حل شدند. عصاره به دست



آمده فیلتر شد و برای تکمیل ضد باکتری مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲ میکروارگانیزم

باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس (MTCC 737) و اشیریشیا کولای (MTCC 1687) مورد استفاده در این تحقیق از Microbial, IMTECH, Chandigarh (Type Culture Collection) (MTCC) تهیه شد.

۳-۲ عملیات تکمیل

پارچه پنبه‌ای با بافت ساده با تعداد تار در اینچ ۱۴۰ و پودر در اینچ ۷۸، قبل از انجام تکمیل ضد باکتری، آهارگیری، شسته و سفیدگری شد. پارچه در حمامی با نسبت L:R ۱:۱۰ با عصاره‌های متانولی Terminalia chebula آغشته و سپس پد خشک و در دمای ۱۰۰°C پخته شد. افزایش بیشتر دمای پخت تا ۱۲۰°C موجب زردی و تجزیه پارچه می‌شود و به همین دلیل دمای پخت تا ۱۱۰°C محدود می‌شود. در نهایت، نمونه‌های پارچه بر اساس استانداردهای AATCC از نظر فعالیت ضد باکتری آزمایش شدند.

۴-۲ ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی

۴-۲-۱ روش نفوذ آگار (SN 195920: 1992)

نمونه‌های عمل شده و عمل نشده در آگار بازدارنده رشد باکتری AATCC که قبلاً با ارگانیزم‌های مورد آزمایش (استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیا کولای) آغشته شده بود قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون، یک منطقه از رشد بی‌وقفه در زیر و پیرامون نمونه نشان‌دهنده کارایی ضد باکتری پارچه است. منطقه بازدارنده مقیاسی کیفی برای فعالیت ضد باکتری است.

۴-۲-۲ ارزیابی کمی (AATCC-100:2004)

نمونه‌های عمل شده به صورت دایره‌هایی با قطر ۴/۸ سانتی‌متر بریده شدند. پارچه‌ها داخل ظرف شیشه‌ای قرار گرفتند تا ۱ میلی‌لیتر از ماده کشت به طور کامل جذب شود. سپس نمونه‌ها با غلظت مشخصی از تعلیق باکتری تکان داده شدند و کاهش فعالیت باکتریایی در زمان استاندارد با استفاده از روش رقیق‌سازی‌های متوالی با آب مقطر برای دو باکتری مورد نظر اندازه‌گیری شد. بازده عمل ضد باکتری کردن با مقایسه کاهش غلظت باکتری نمونه عمل شده با نمونه کنترل تعیین و به صورت درصد کاهش زمان استاندارد بیان شد. برای محاسبه درصد کاهش باکتری از فرمول زیر استفاده شد:

$$R = [(B - A)/B] \times 100 \quad (1)$$

$$R = [(C - A)/C] \times 100 \quad (2)$$

که در آن R، درصد کاهش؛ A، تعداد باکتری باقی‌مانده از نمونه عمل شده بعد از زمان تماس (۲۴ ساعت)؛ B، تعداد باکتری باقی‌مانده از نمونه عمل شده بلافاصله بعد

از آغشته‌سازی (زمان صفر)؛ و C، تعداد باکتری باقی‌مانده از نمونه عمل نشده بلافاصله بعد از آغشته‌سازی (زمان صفر). اگر B و C یکسان نباشند، مقدار بیشتر باید استفاده شود.

۲-۵ ارزیابی خواص فیزیکی

نمونه پارچه‌های پنبه‌ای عمل شده برای ارزیابی خواص فیزیکی بر اساس روش‌های استاندارد مورد آزمایش قرار گرفتند. ۱۰ نمونه برای هر تست استفاده شد و مقدار میانگین اندازه‌گیری شد. استانداردهای مورد استفاده شامل ASTM D-5035 برای استحکام کششی، ASTM D-1424-96 برای استحکام پارگی، ASTM D 737-99 برای نفوذپذیری و AATCC 39-1980 برای جذب آب بودند.

۲-۶ بهینه‌سازی فرآیند با روش‌شناسی رویه پاسخ

روش‌شناسی رویه پاسخ یک تکنیک مدل‌سازی تجربی برای ارزیابی رابطه یک مجموعه از عوامل آزمایشی کنترل شده و نتایج مشاهده شده است. در این تحقیق، متغیرهایی مانند غلظت عصاره (۱۵٪، ۲۰٪ و ۲۵٪)، درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (۵، ۱۰ و ۱۵) و دمای پخت (۹۰°C، ۱۰۰°C و ۱۱۰°C) متغیرهای معنی‌دار هستند که به ترتیب با X_1 ، X_2 و X_3 مشخص شده‌اند. سطوح پایین، وسط و بالای متغیرها به ترتیب با -۱، ۰ و +۱ مشخص می‌شوند. محاسبه با استفاده از آنالیزهای رگرسیون چندگانه و روش حداقل مربعات انجام شد.

معادلات چندجمله‌ای درجه دوم، رابطه ریاضی ۳ متغیر مستقل X_1 ، X_2 و X_3 روی

$$Y = C_0 + C_1X_1 + C_2X_2 + C_3X_3 + C_{12}X_1X_2 + C_{13}X_1X_3 + C_{23}X_2X_3 + C_{11}X_1^2 + C_{22}X_2^2 + C_{33}X_3^2$$

که Y، پاسخ پیش‌بینی شده؛ C_0 ، مقدار ثابت، C_1 ، C_2 و C_3 ، ضرایب خطی؛ C_{12} ، C_{13} و C_{23} ، ضرایب ضرب خارجی؛ و C_{11} ، C_{22} و C_{33} ، ضرایب درجه دوم هستند. ضرایب با استفاده از آنالیزهای رگرسیون چندگانه برای پیش‌بینی پاسخ به دست آمدند. طراحی آزمایش با استفاده از طراحی‌های Box-Behnken با ۳ متغیر انجام شد. بازدارندگی باکتری و خواص فیزیکی مانند استحکام کششی، استحکام پارگی، جذب آب و نفوذپذیری نیز ارزیابی شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ کارایی ضد باکتری

۳-۱-۱ تست نفوذ آگار

شکل ۱ کارایی ضد باکتری پارچه‌های عمل شده را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان دهنده حضور منطقه بازدارنده با قطر ۳۲ و ۳۴ میلی‌متر برای پارچه عمل شده با عصاره متانولی در برابر میکروارگانیزم‌های استافیلوکوک اورئوس (گرم مثبت) و اشیریشیا کولای (گرم منفی) است. پارچه عمل نشده (کنترل) رشد باکتری در زیر نمونه را نشان می‌دهد. در شکل ۱، رنگ قهوه‌ای نشان دهنده انتشار عصاره گیاهی از پارچه است. در



شکل ۱. تست نفوذ آگار روی پارچه پنبه‌ای عمل شده [منطقه بازدارنده در برابر (a) اشیریشیا کولای و (b) استافیلوکوک اورئوس]

است. شکل ۲ نشان دهنده مقادیر مختلف واحدهای کولنی تشکیل شده در حین رقیق‌سازی در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۵ است.

۳-۲-۳ بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند

۳-۲-۳-۱ طراحی آزمایش

متغیرهای فرآیند، مقدار فعالیت ضد باکتری در برابر استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیا کولای و خواص فیزیکی پارچه‌های عمل شده در جدول ۲ مشاهده می‌شود.

۳-۲-۳-۲ توسعه مدل تجربی

جدول ۳ روابط تجربی بین پارامترهای اصلی فرآیند، یعنی غلظت عصاره X_1 (ECON) درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی X_2 (CA) و دمای پخت X_3 (TEM) را نشان می‌دهد. معادله رگرسیون به دست آمده بعد از تحلیل واریانس، سطح کارایی ضد باکتری پارچه عمل شده را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و خواص فیزیکی پارچه مانند استحکام کششی، استحکام پارگی، نفوذپذیری و جذب آب را به صورت تابعی از غلظت، درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت مختلف مشخص می‌کند. در اینجا Y_1, Y_2, Y_3, Y_4 به ترتیب پاسخ‌های پیش‌بینی شده برای استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیا کولای، استحکام کششی، استحکام پارگی، نفوذپذیری و جذب آب هستند. برای تمام پاسخ‌ها سطح معنی‌دار معادله رگرسیون درجه دو و مجذور رگرسیون به

جدول ۱. درصد کاهش رشد باکتری با ارزیابی کمی

رقیق‌سازی	استافیلوکوک اورئوس			اشیریشیا کولای		
	زمان تماس صفر		زمان تماس ۲۴ ساعت	زمان تماس صفر		زمان تماس ۲۴ ساعت
	CFU کنترل	CFU عمل شده		CFU کنترل	CFU عمل شده	
۱۰ ^۰	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
۱۰ ^۱	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
۱۰ ^۲	TNTC	TNTC	۱۶۸(۰/۹)	TNTC	TNTC	TNTC
۱۰ ^۳	۲۵۲(۳/۵)	۲۴۲(۴/۱)	۹۲(۲/۳)	TNTC	TNTC	TNTC
۱۰ ^۴	۱۹۲(۲/۴)	۲۰۴(۰/۵)	۵۴(۳/۰)	۲۷۸(۱/۲)	۲۵۴(۱/۵)	۷۱(۱/۲)
۱۰ ^۵	۸۴(۱/۰)	۸۰(۱/۸)	TFTC	۱۷۴(۲/۱)	۱۶۸(۴/۵)	۹۴(۳/۶)
	درصد کاهش ۹۳/۳۳٪			درصد کاهش ۸۲/۱۴٪		

TNTC تعداد خیلی زیاد، TFTC تعداد خیلی کم

حین دوره آنکوباسیون، عصاره در بین آگار مهاجرت می‌کند. اگر ماده ضد باکتری اتصال با ثباتی به پارچه داشته باشد (مثلاً کووالانسی)، به دلیل ممانعت از نفوذ آن به آگار نباید انتظار منطقه بازدارنده را داشت. در این مورد فعالیت ضد میکروبی تنها در زیر نمونه قابل مشاهده است. اگر ماده ضد باکتری بتواند به داخل آگار نفوذ کند، یک منطقه بازدارنده آشکار می‌شود که اندازه آن نشان دهنده توان فعالیت ضد باکتری یا نرخ آزادسازی عامل فعال است. با این حال، استفاده از عامل ایجاد کننده پیوند عرضی به عنوان یک عامل تثبیت کننده بین پارچه و عصاره برای جلوگیری از آزادسازی سریع آن از پارچه ضروری است. مطالعات HPLC روی عصاره میوه Terminalia chebula نشان داده است که ساپونین، آسکوربیک اسید و گالیک اسید مواد فعال مسئول فعالیت ضد میکروبی هستند. در این مورد، سیتریک اسید یکی از شناخته شده ترین مواد ضد باکتری است. مطالعات مقدماتی نشان داده است که توانایی ضد باکتری سیتریک اسید در غلظت‌های پایین (۵٪) کمتر است و در غلظت ۱۵٪ منطقه بازدارنده با قطر ۲۶-۲۴ میلی‌متر را در برابر استافیلوکوک اورئوس و اشیریشیا کولای به وجود می‌آورد. از این رو، فعالیت ضد میکروبی کلی پارچه پنبه‌ای عمل شده (۳۳-۳۲ میلی‌متر)، ترکیبی از عصاره گیاهی و سیتریک اسید است.

۳-۱-۲ ارزیابی کمی

در فرآیند ارزیابی کمی، نمونه با قطر ۴/۸ سانتی‌متر برای جذب ۱ میلی‌لیتر ماده کشت مورد استفاده قرار گرفت. از آنجا که نمونه‌های عمل شده (B) و نمونه کنترل (C) مشابه نیستند و همچنین مقدار نمونه کنترل از نمونه عمل شده در زمان صفر بیشتر است، مقادیر C برای محاسبه درصد کاهش باکتری استفاده شد. نتایج در جدول ۱ جمع‌آوری شده است. این نتایج نشان دهنده درصد کاهش باکتری بالای نمونه‌های عمل شده در برابر هر دو نوع باکتری بیماری‌زا است. نمونه عمل شده میانگین کاهش ۹۳/۳۳٪ را در برابر استافیلوکوک اورئوس و کاهش ۸۲/۱۴٪ را در برابر اشیریشیا کولای نشان می‌دهد. نتایج واحدهای تشکیل دهنده کولنی (CFU) که میانگینی از دو تکرار است و انحراف معیار بین آزمایش‌ها در جدول ۱ آمده

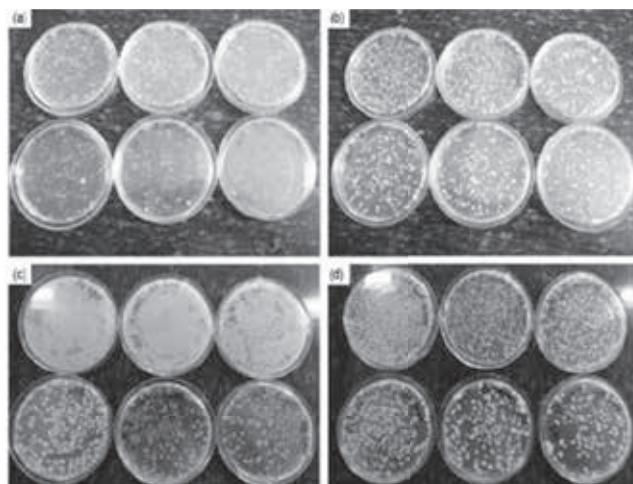


توضیح دهد. مدل‌هایی با مقدار R_2 بالاتر از $0/6$ (60%) می‌توانند به عنوان مدل معتبر در نظر گرفته شوند.

۳-۳ اثر پارامترهای فرآیند روی فعالیت ضد میکروبی

۳-۳-۱ استافیلوکوک اورئوس

شکل ۳(a) نمودار کانتور مقدار فعالیت ضد میکروبی را که در مقابل غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی ترسیم شده است نشان می‌دهد. در اینجا فعالیت نمونه عمل شده با افزایش غلظت عصاره افزایش و با افزایش درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی کاهش می‌یابد. بیشترین مقدار منطقه بازدارنده با قطر 36 میلی‌متر در غلظت عصاره $26-24\%$ و غلظت عامل ایجاد کننده پیوند عرضی $6-4\%$ مشاهده شد. نمودار کانتور شکل ۳(b) منطقه بازدارنده را در مقابل غلظت عصاره و دمای پخت نشان می‌دهد. در اینجا، فعالیت ضد میکروبی با افزایش غلظت عصاره و دمای پخت افزایش می‌یابد. فعالیت ضد میکروبی در غلظت عصاره $25-24\%$ و دمای پخت $90^\circ C$ به بیشترین مقدار خود با قطر 36 میلی‌متر می‌رسد. نمودار شکل ۳(c) فعالیت ضد میکروبی را در مقابل درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت نشان می‌دهد. افزایش در دمای پخت باعث افزایش منطقه بازدارنده می‌شود. شرایط بهینه برای فعالیت بهتر در 4% عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت $110^\circ C$ مشاهده شد.



شکل ۳. کاهش باکتری در رقیق‌سازی‌های مختلف در زمان تماس صفر (a) اشیریشیا کولای و (b) استافیلوکوک اورئوس و در زمان تماس ۲۴ ساعت (c) اشیریشیا کولای و (d) استافیلوکوک اورئوس

همراه نسبت F و مقادیر P در جدول ۳ آمده است. مقادیر P به عنوان وسیله‌ای برای بررسی معنی‌دار بودن هر ضریب به کار می‌رود که نشان دهنده شدت تعامل بین هر متغیر مستقل نیز می‌باشد. هرچه مقدار P کمتر باشد معنی‌دار بودن ضریب متناظر با آن بیشتر خواهد بود. R_2 نشان دهنده نسبتی است که مدل می‌تواند برای تغییر پاسخ‌ها

جدول ۲. طراحی Box-Behnken برای ۳ متغیر مستقل

غلظت عصاره، %	عامل ایجاد کننده پیوند عرضی، %	دمای پخت، $^\circ C$	منطقه بازدارندگی، mm		خواص فیزیکی			
			گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس)	گرم منفی (اشیریشیا کولای)	استحکام کششی، lbs	استحکام پارگی، kg	نفوذپذیری، $cc/cm^2/s$	جذب آب، s
۱۵	۵	۱۰۰	۳۲	۳۳	۱۴۰	۲۵	۹/۱۳	۱۸
۲۵	۵	۱۰۰	۳۶	۲۴	۱۶۰	۲۵	۱۰/۸	۲۳
۱۵	۱۵	۱۰۰	۲۹	۲۹	۱۴۰	۲۷	۱۰/۸	۲۷
۲۵	۱۵	۱۰۰	۲۸	۲۶	۱۵۵	۳۲	۱۱/۴	۱۸
۱۵	۱۰	۹۰	۲۶	۲۹	۱۲۵	۳۹	۱۱/۳	۳۰
۲۵	۱۰	۹۰	۳۴	۳۱	۱۱۰	۳۱	۸/۱۲	۲۵
۱۵	۱۰	۱۱۰	۳۲	۲۷	۱۵۵	۲۷	۹/۷۲	۴۰
۲۵	۱۰	۱۱۰	۳۳	۲۷	۱۵۰	۳۳	۱۱/۴	۳۱
۲۰	۵	۹۰	۳۰	۲۱	۱۲۵	۳۹	۱۰	۳۲
۲۰	۱۵	۹۰	۲۹	۲۰	۱۴۰	۳۰	۹/۶	۳۹
۲۰	۵	۱۱۰	۳۱	۲۹	۱۵۰	۳۳	۸/۶۶	۵۷
۲۰	۱۵	۱۱۰	۲۷	۳۲	۱۳۰	۳۲	۹/۴	۲۸
۲۰	۱۰	۱۰۰	۲۹	۲۷	۱۴۵	۲۵	۱۲/۳	۲۰
۲۰	۱۰	۱۰۰	۲۹	۲۷	۱۴۵	۲۵	۱۲/۳	۲۰
۲۰	۱۰	۱۰۰	۲۹	۲۷	۱۴۵	۲۵	۱۲/۳	۲۰



جدول ۳. مدل‌های تجربی

مقدار p	نسبت F	R ² /	R/	معادله پاسخ	تست در برابر
۰/۰۸۳	۳/۶۸۰	۸۶/۹	۹۳/۲	$Y_1 = -26 + 0.9X_1 + 2X_2 + 0.650X_3 - 0.050X_1X_2 - 0.035X_1X_3 - 0.015X_2X_3 + 0.085X_1^2 + 0.005X_2^2 + 0.001X_3^2$	گرم مثبت
۰/۸۷۱	۰/۴۳۱	۴۴	۶۶	$Y_2 = 77 + 0.2X_1 + 0.85X_2 - 1.325X_3 - 0.04X_1X_2 - 0.01X_1X_3 + 0.02X_2X_3 + 0.03X_1^2 + 0.09X_2^2 + 0.008X_3^2$	گرم منفی
۰/۴۰۵	۱/۳۰۱	۷۰/۱	۸۳/۷	$Y_3 = -1061.5 - 10.17X_1 + 72.10X_2 + 23X_3 - 0.171X_1X_2 + 0.078X_1X_3 - 0.836X_2X_3 + 0.079X_1^2 + 2.237X_2^2 - 0.105X_3^2$	استحکام کششی
۰/۰۱۲	۹/۳۲۱	۹۴/۴	۹۷/۱	$Y_4 = 53.4 + 1.792X_1 - 69.77X_2 - 8.09X_3 + 0.298X_1X_2 - 0.021X_1X_3 + 0.474X_2X_3 - 0.015X_1^2 + 0.298X_2^2 + 0.034X_3^2$	استحکام پارگی
۰/۹۲۳	۰/۱۵۴	۸۳/۳	۹۱/۳	$Y_5 = -79.02 - 2.44X_1 + 4.627X_2 + 2.185X_3 - 0.031X_1X_2 + 0.031X_1X_3 + 0.040X_2X_3 - 0.014X_1^2 - 1.286X_2^2 - 0.015X_3^2$	نفوذپذیری
۰/۱۱۹	۳/۰۱۴	۸۴/۴	۹۱/۹	$Y_6 = 1753.0 - 8.756X_1 + 52.35X_2 - 34.313X_3 - 0.331X_1X_2 + 0.89X_1X_3 - 0.715X_2X_3 - 0.005X_1^2 + 3.768X_2^2 + 0.174X_3^2$	جذب آب

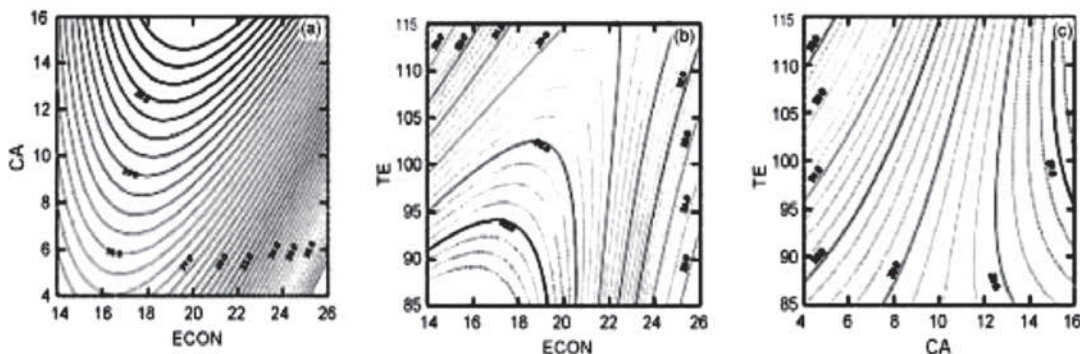
۳-۲ اثر شیشیا کولای

بین حلقه انیدرید و گروه هیدروکسیل روی سلولز و همچنین با گروه کربوکسیلیک ماده فعال عصاره است. بنابراین، سیتریک اسید بین دو ماکرو مولکول به طور موثری پیوند عرضی ایجاد می‌کند که منجر به بهبود پیوند عرضی بین عصاره و پارچه پنبه‌ای می‌شود. افزایش دمای پخت به همراه عامل ایجاد کننده پیوند عرضی باعث بهبود نرخ تثبیت عامل ضد باکتری روی سطح پارچه شده که در نهایت باعث افزایش منطقه بازدارنده نمونه عمل شده در برابر دو باکتری می‌شود.

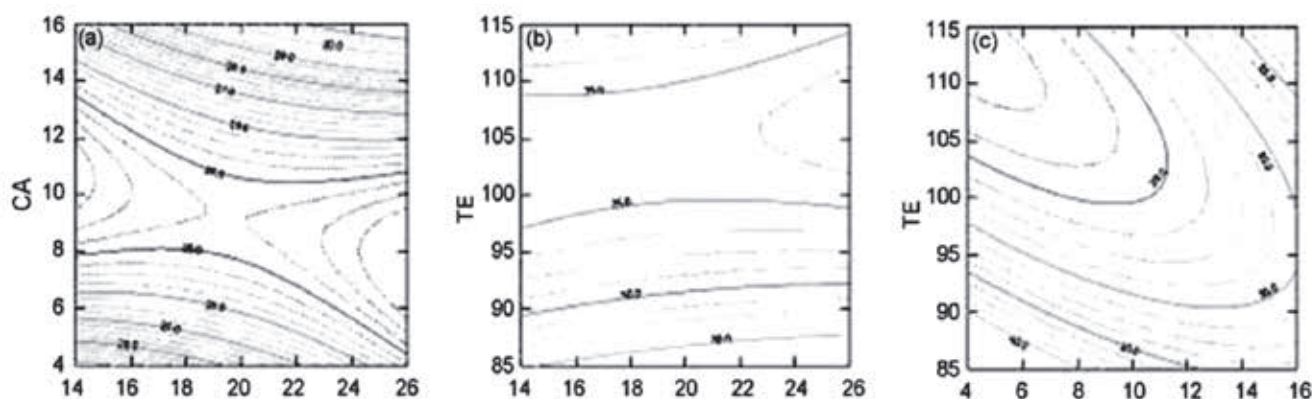
۳-۴ اثر پارامترهای فرآیند روی استحکام کششی

شکل (a) اثر غلظت عصاره و عامل ایجاد کننده پیوند عرضی را روی استحکام کششی نشان می‌دهد که مشخص می‌کند که استحکام کششی در غلظت‌های بالا ماکزیمم است. اما افزایش درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی باعث کاهش استحکام کششی نمونه می‌شود. این می‌تواند به دلیل خاصیت اسیدی عامل ایجاد کننده پیوند عرضی باشد که کالای سلولزی را تخریب می‌کند. بیشترین استحکام با مقدار ۱۵۰ lbs

شکل (a) نشان دهنده افزایش منطقه بازدارنده با افزایش غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی است. بیشترین بازدارندگی در ۱۳٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و غلظت عصاره ۲۵٪ با قطر ۲۸ میلی‌متر مشاهده شد. این شرایط بهینه فرآیند برای محافظت پارچه در برابر اشیریشیا کولای خواهد بود. شکل (b) نشان می‌دهد که منطقه بازدارنده با افزایش غلظت عصاره و دمای پخت افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار بازدارندگی در غلظت عصاره ۲۴-۲۵٪ و دمای پخت ۱۱۰°C مشاهده شد. شکل (c) نشان می‌دهد که افزایش در عامل ایجاد کننده پیوند عرضی در ابتدا باعث افزایش فعالیت شده اما بعد از ۱۰٪ کاهش می‌یابد. با در نظر گرفتن دمای پخت، بیشترین منطقه بازدارنده در ۱۰٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت ۱۱۰°C مشاهده شد. برای هر دو باکتری افزایش در غلظت عصاره باعث افزایش در فعالیت پارچه پنبه‌ای عمل شده می‌شود. سیتریک اسید به عنوان عامل ایجاد کننده پیوند عرضی نقشی کلیدی را ایفا می‌کند که واکنش دادن با گروه هیدروکسیل سلولز و ایجاد پیوند استری



شکل ۳، بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی باکتری گرم مثبت



شکل ۴، بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی باکتری گرم منفی

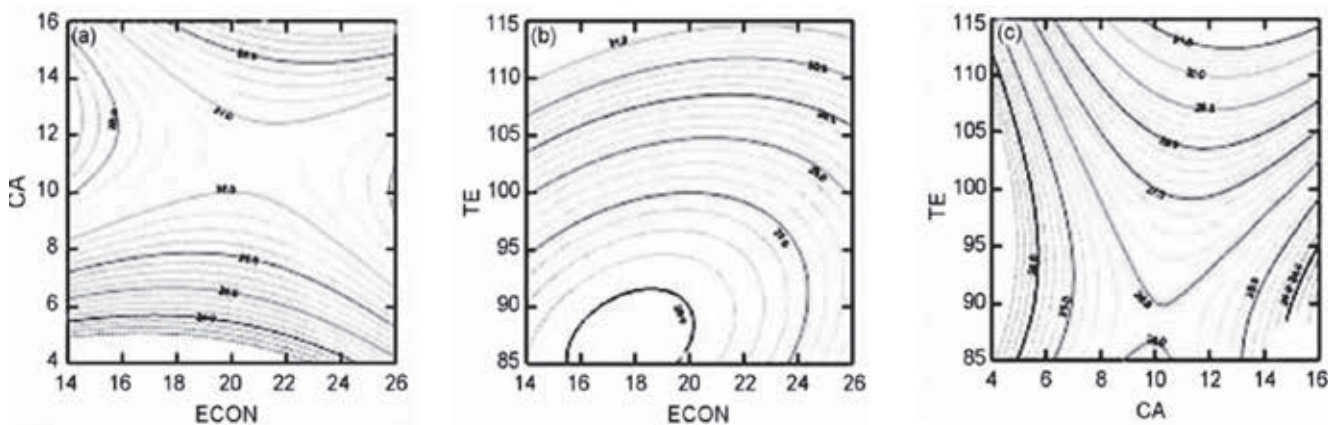
پایین اغلب به دلیل تخریب پلیمر و کاهش قدرت اتصال فصل مشترک بین مناطق بلوری و آمورف اتفاق می‌افتد. در دمای بالا، کاهش استحکام به دلیل ایجاد پیوند عرضی و گسست پلیمری ماکرو مولکول‌ها اتفاق می‌افتد.

۳-۵ اثر پارامترهای فرآیند روی استحکام پارگی

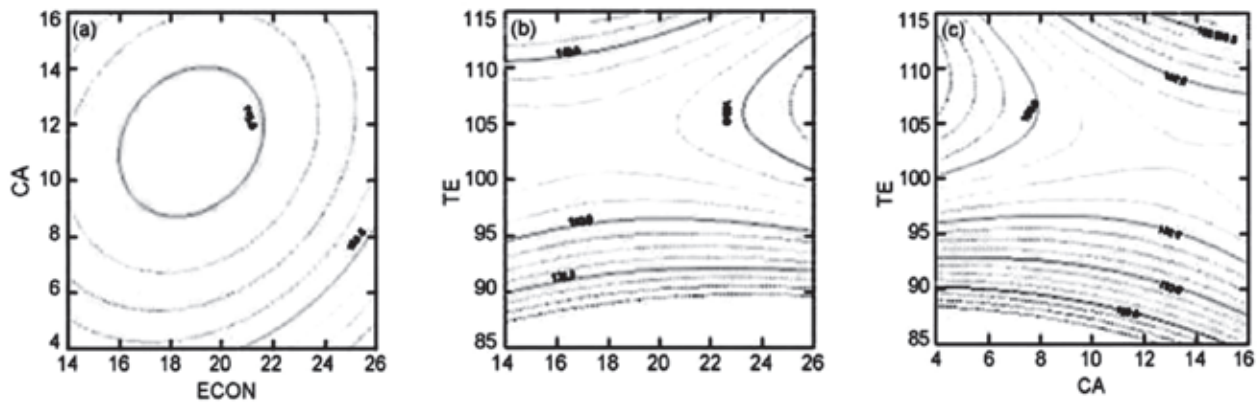
شکل (a) اثر ترکیبی غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی را روی استحکام پارگی نمونه‌های عمل شده نشان می‌دهد. مشاهده شد که غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی اثر کمی روی استحکام پارگی دارند. شکل (b) نشان دهنده اثر غلظت عصاره و دمای پخت روی استحکام پارگی نمونه است. از روی نتایج مشخص می‌شود که غلظت عصاره تاثیر کمی روی استحکام پارگی دارد. شکل‌های (b) و (c) نشان می‌دهد که استحکام پارگی با افزایش درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت کاهش می‌یابد. این می‌تواند به همان دلایلی باشد که قبلاً در مورد استحکام کششی گفته شد. کاهش استحکام پنبه عمل شده با پلی کربوکسیلیک اسید در نتیجه گسست پلیمری کاتالیز شده با اسید مولکول‌های سلولز است. ایجاد پیوند عرضی بین مولکول‌های سلولز باعث افزایش شکنندگی الیاف پنبه شده که به نوبه خود باعث کاهش استحکام پارچه می‌شود. کاهش استحکام با افزایش میزان پیوند عرضی بیشتر می‌شود. واکنش‌های پیوند عرضی تنها در دماهای بالا قابل انجام هستند. بنابراین کاهش استحکام در دماهای

غلظت ۲۵٪ و مقدار کم عامل ایجاد کننده پیوند عرضی به دست آمد. شکل (b) اثر غلظت و دمای پخت را روی استحکام کششی کالا نشان می‌دهد. مشاهده شد که زمانی که مقدار عامل ایجاد کننده پیوند عرضی ثابت باشد، غلظت عصاره تاثیر کمی روی استحکام دارد. مقادیر بالاتر استحکام کششی در دماهای بالاتر مشاهده شد. با این حال، افزایش دما تا بیشتر از 110°C منجر به کاهش استحکام می‌شود. این امر به دلیل تخریب ساختاری در دماهای بالاتر است.

شکل (c) تغییرات استحکام کششی را در مقابل درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت نشان می‌دهد. بیشترین استحکام با مقدار ۱۵۰ lbs در دمای 110°C و ۴٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی به دست آمد. قدرت اسیدی پلی کربوکسیلیک اسید در مقایسه با غلظت عصاره و دمای پخت اثر قابل توجهی در کاهش استحکام کششی پنبه عمل شده دارد. کاهش استحکام پارچه پنبه‌ای عمل شده با پلی کربوکسیلیک اسید در نتیجه گسست پلیمری کاتالیز شده با اسید مولکول‌های سلولز است. ایجاد پیوند عرضی بین مولکول‌های سلولز باعث افزایش شکنندگی الیاف پنبه شده که به نوبه خود باعث کاهش استحکام پارچه می‌شود. کاهش استحکام با افزایش میزان پیوند عرضی بیشتر می‌شود. واکنش‌های پیوند عرضی تنها در دماهای بالا قابل انجام هستند. بنابراین کاهش استحکام در دماهای



شکل ۵، بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی استحکام کششی



شکل ۶. بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی استحکام کششی

دست آمد.

۳-۶ اثر پارامترهای فرآیند روی نفوذپذیری

شکل ۷ اثر غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی را روی نفوذپذیری پارچه عمل شده نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی تا ۱۲٪ باعث افزایش اندک در نفوذپذیری شده و افزایش بیشتر آن به دلیل اثر ایجاد کننده پیوند عرضی در سطح مولکولی و مورفولوژیکی منجر به کاهش نفوذپذیری می‌شود. مقادیر نفوذپذیری کالای پنبه‌ای عمل شده، با غلظت عصاره و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی نسبت عکس دارد. زمانیکه دما ثابت باشد غلظت عصاره اثر کمتری روی نفوذپذیری خواهد داشت. افزایش غلظت عصاره باعث کاهش نفوذپذیری و افزایش دمای پخت تا 100°C باعث بهبود نفوذپذیری و در دماهای بالاتر باعث کاهش آن می‌شود. پر شدن منافذ و حفره‌های بین الیاف در پارچه پنبه‌ای در غلظت‌های بالاتر عصاره منجر به کاهش نفوذپذیری می‌شود. مقدار ماکزیم $12\text{ cc/cm}^3/\text{s}$ در غلظت ۲۰٪ و ۶٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت 100°C مشاهده شد.

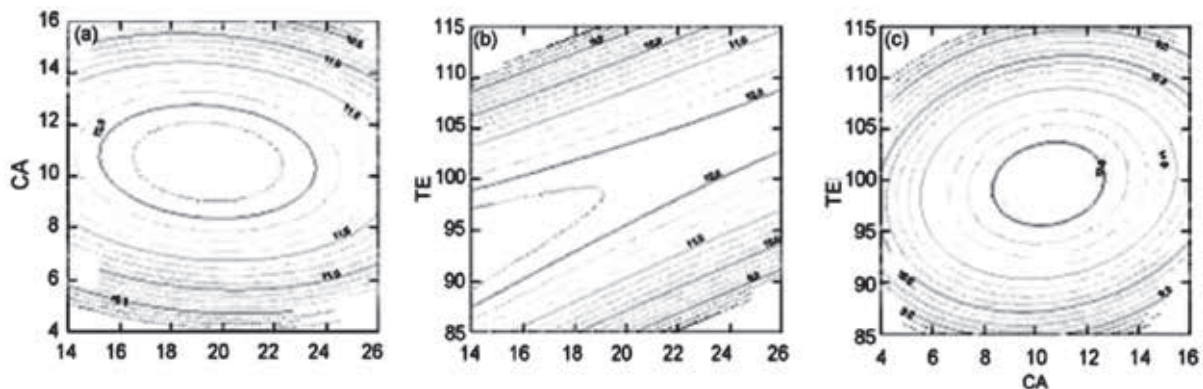
۳-۷ اثر پارامترهای فرآیند روی جذب آب

شکل ۸ نشان می‌دهد که جذب آب کالای عمل شده با افزایش غلظت عصاره بهبود

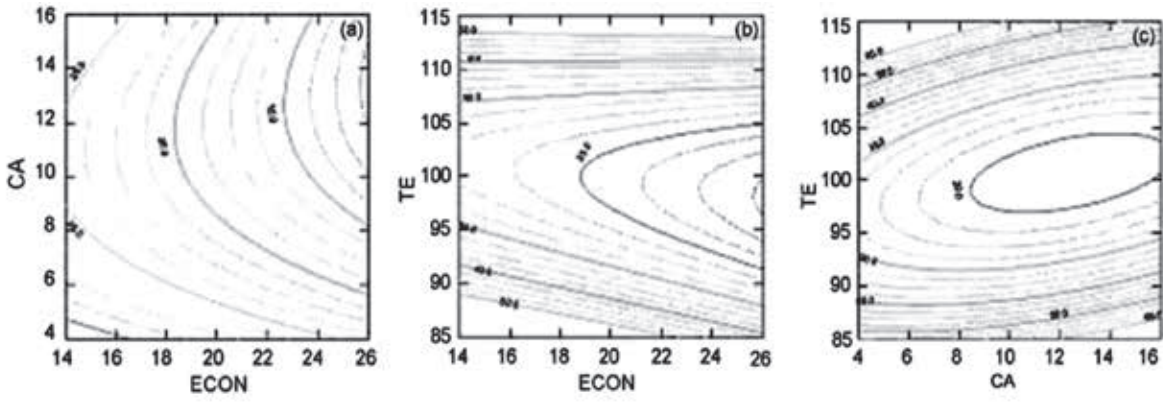
می‌یابد. درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت تاثیر کمتری روی جذب آب دارد. با این حال، افزایش این دو عامل می‌تواند باعث کاهش مناطق بلوری و استحکام پارچه عمل شده شود. کاهش در میزان مناطق بلوری نقش مهمی در کاهش قدرت اتصال فصل مشترک بین مناطق بلوری و آمورف دارد. کاهش در میزان مناطق بلوری و قدرت اتصال فصل مشترک ممکن است باعث نرم شدن کالا و بهبود جذب آب کالای تکمیل شده شود. این نتایج توسط یافته‌های Ibrahim و همکارانش نیز تأیید شده است. بیشترین مقادیر جذب آب در غلظت ۲۵٪، ۶٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت 100°C مشاهده شد.

۳-۸ بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند برای پاسخ‌ها

بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند در مقابل پاسخ‌ها به وسیله روش بهینه‌سازی عددی و با کمک نرم افزار Design Expert انجام شد. بهینه‌سازی عددی با استفاده از مدل‌های ساخته شده در آنالیزها فضای طراحی را می‌گردد تا تنظیمات عوامل را که با هدف مطابقت دارد پیدا کند. در این تحقیق هدف اصلی دستیابی به فعالیت ضد باکتری بهتر پارچه‌های عمل شده است. بنابراین، روی نتایج بازدارندگی میکروبی نسبت به خواص فیزیکی تاکید و اهمیت بیشتری وجود داشت. با این حال، آن‌ها در درجه دوم اهمیت قرار داشتند. بر اساس این شرایط، آنالیزهای بهینه‌سازی عددی



شکل ۷. بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی نفوذپذیری



شکل ۸، بهینه‌سازی (a) غلظت عصاره (ECON) با عامل ایجاد کننده پیوند عرضی (CA)، (b) غلظت عصاره با دمای پخت (TE) و (c) عامل ایجاد کننده پیوند عرضی با دمای پخت روی جذب آب

با *Terminalia chebula* علاوه بر ضد باکتری بودن، متوقف کننده رشد باکتری نیز هستند. منطقه بازدارنده نمونه عمل شده با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد. اثر دمای پخت و درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی روی منطقه بازدارنده برای هر دو باکتری قابل توجه است. در مورد خواص فیزیکی، پارامترهای فرآیند انتخاب شده اثر قابل توجهی روی پاسخ‌ها دارند. استحکام کششی، استحکام پارگی و نفوذپذیری نمونه‌های عمل شده با افزایش درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی کاهش می‌یابد. تغییر در جذب آب پارچه عمل شده نسبت به پارامترهای فرآیند ناچیز است. این نتایج همچنین با همبستگی عالی به دست آمده بین نتایج تجربی و نتایج مدل شده با فرموله کردن رابطه خطی بین عامل ایجاد کننده پیوند عرضی، غلظت عصاره و دمای پخت تأیید می‌شود. پارامترهای فرآیند بهینه شده برای فعالیت ضد باکتریایی بالاتر پارچه عمل شده به همراه خواص فیزیکی بهینه عبارت است از غلظت عصاره ۲۵٪، ۷/۵٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت $94/16^{\circ}C$.

مجموعه‌ای از ۱۱ ترکیب پارامترهای فرآیند را فراهم می‌کند که محافظت میکروبی بالاتری را به همراه خواص فیزیکی بهتر ایجاد می‌کنند (جدول ۴). مشاهده شد که غلظت عصاره ۲۵٪، ۷/۵٪ عامل ایجاد کننده پیوند عرضی و دمای پخت $94/16^{\circ}C$ فعالیت ضد باکتری بالاتری را برای پارچه عمل شده به همراه خواص فیزیکی بهینه فراهم می‌کند. فعالیت ضد باکتری پارچه پنبه‌ای عمل شده عدد صحیح خواهد بود. با این حال، دو رقم اعشار توسط نرم افزار اضافه شده چون ۱۰ شرایط بهینه اولیه تنها در رقم‌های اعشاری با یکدیگر تفاوت دارند.

۴- نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که نمونه‌های عمل شده کاهش ۹۳/۳۳٪ را در میزان باکتری دارند. نمونه‌های تست آگار مناطق بازدارنده بزرگ و واضحی (۲۷-۳۸ میلی‌متر) را در برابر طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زا نشان می‌دهند. نمونه‌های عمل شده

جدول ۴، نتایج بهینه‌سازی عددی ۱۱ ترکیب اولیه از پارامترهای فرآیند

جذب آب، s	نفوذپذیری، cc/cm ² /s	استحکام پارگی، kg	استحکام کششی، lbs	گرم منفی (اشریشیا کولای)	گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس)	دمای پخت، °C	درصد عامل ایجاد کننده پیوند عرضی، %	غلظت عصاره، %
۱۹/۳۸	۱۰/۳۵	۲۸/۶۴	۱۳۵/۹۶	۲۶/۹۱	۳۴/۷۹	۹۴/۱۶	۷/۵۸	۲۵/۰۰
۱۹/۳۳	۱۰/۳۶	۲۸/۶۲	۱۳۵/۹۵	۲۶/۹۳	۳۴/۷۵	۹۴/۱۶	۷/۶۴	۲۵/۰۰
۱۹/۴۲	۱۰/۳۴	۲۸/۷۲	۱۳۵/۶۶	۲۶/۹۳	۳۴/۷۷	۹۴/۰۷	۷/۶۳	۲۵/۰۰
۱۹/۵۸	۱۰/۳۰	۲۸/۷۸	۱۳۵/۶۷	۲۶/۸۷	۳۴/۸۶	۹۴/۰۷	۷/۴۷	۲۵/۰۰
۱۹/۴۱	۱۰/۳۴	۲۸/۷۵	۱۳۵/۵۱	۲۶/۹۶	۳۴/۷۳	۹۴/۰۲	۷/۷۱	۲۵/۰۰
۱۹/۸۹	۱۰/۲۲	۲۹/۰۰	۱۳۵/۲۱	۲۶/۸۱	۳۴/۹۷	۹۳/۹۳	۷/۳۱	۲۵/۰۰
۱۹/۵۶	۱۰/۳۴	۲۸/۴۶	۱۳۶/۹۷	۲۶/۷۲	۳۵/۰۲	۹۴/۴۹	۷/۱۴	۲۵/۰۰
۱۹/۳۹	۱۰/۳۹	۲۸/۷۱	۱۳۵/۴۷	۲۶/۹۷	۳۴/۵۲	۹۴/۰۲	۷/۸۵	۲۴/۹۲
۲۷/۹۶	۱۱/۴۶	۲۸/۱۰	۱۴۶/۸۴	۲۹/۹۲	۳۰/۳۱	۱۱۰/۰۰	۱۱/۵۱	۲۵/۰۰
۲۸/۱۲	۱۱/۴۶	۲۷/۹۹	۱۴۶/۹۷	۲۹/۹۲	۳۰/۳۶	۱۱۰/۰۰	۱۱/۴۴	۲۵/۰۰
۳۰/۲۸	۹/۷۰	۲۸/۷۱	۱۳۹/۸۹	۳۰/۸۶	۳۰/۲۳	۱۰۷/۹۳	۱۳/۸۸	۱۵/۳۰