مقایسه پارامترهای رنگی و اثر ضدباکتریای دو رنگزای حنا و جفت بر روی ابریشم

سعیده رفیعی

استادیار، گروه فرش،دانشکده هنرهای کاربردی، دانشگاه هنر شیراز، شیراز، ایران

s_rafiei@shirazartu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش مشخصه‌های رنگی و خاصیت ضد باکتریایی دو رنگزای گیاهی جفت و حنا بر روی نخ ابریشم مقایسه و ارزیابی شد. این رنگزاها که به طور وسیعی جهت تامین شیدهای قرمز – قهوه ای در فرشهای دستباف استفاده می‌شوند، به دلیل دارا بودن متابولیت های ثانویه گیاهی در طب سنتی بسیار پرکار برد هستند. از سویی دیگر، سطح منسوجات با الیاف طبیعی از جمله فرش‌های دستباف در حضور رطوبت و حرارت، در معرض رشد و تکثیر باکتری ها قرار گرفته و منجر به ایجاد مشـکلاتی در دوام، زیبایی ظاهری و بهداشـت کالا می‌شـود. در این تحقیق علاوه بر ارزیابی پارامتر های رنگی (a*, b*, L*)، قدرت رنگی (K/S)، ثبات های عمومی ابریشـم رنگرزی‌شـده با عصـاره آبی و الکلی حنا و جفت، اثر ضـدباکتری آن‌ها بر روی دو باکتری گرم مثبت اسـتافیلوکوکوس‌اورئوس و گرم منفی اشـرشـیاکلی نیز مورد مقایسـه قرار گرفت. رنگرزی به روش دندانه‌دهی همزمان در حضـور دندانه مضـاعف سـولفات آلومینیوم و پتا سیم انجام شد. ارزیابی ا سپکتروفوتومتری اثبات کرد که هر دو رنگزا، با اختلاف فام اندکی، ته رنگ قرمز و زرد ایجاد کرده و عصاره اتانولی در هر دو رنگزای مورد پژوهش بیشترین قدرت رنگی را بر روی الیاف داشتند. نتایج آزمون ضد باکتری نشان داد که هر دو نوع رنگزا در مقابل باکتری های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌آرئوس درصد بازداری از رشد باکتری قابل قبولی نشان دادند که از این بین عصاره های اتانولی به علت وجود مقادیر بیشتر مواد موثره لاوسون و کوئرسیتین، قدرت ضدباکتریایی بالاتری را در مقابل باکتری‌ها نشان داد.

کلید واژه- رنگرزی سنتی، الیاف طبیعی، حنا، جفت، ضد باکتری

Comparison of colorimetric parameters and antibacterial effect of two dyes, henna and jaft, on silk

Saeedeh Rafiei

Assistant Professor, Farsh Department, Faculty of Applied Arts, Shiraz University of Arts, Shiraz, Iran

s_rafiei@shirazartu.ac.ir

Abstract:

In this research, the colorimetric characteristics and antibacterial properties of two herbal dyes, oak bark (Jaft) and henna, were compared and evaluated on silk yarn. These dyes, which are widely used to provide red-brown shades in handwoven carpets, are used in traditional medicine, due to the presence of plant secondary metabolites. On the other hand, the surface of textiles with natural fibers, including handwoven carpets, in the presence of moisture and heat, is exposed to the growth and proliferation of bacteria and leads to problems in the durability, appearance and health of the goods. In this research, in addition to evaluating colorimetric parameters (a*, b*, L*), color strength (K/S), general fastness of dyed wool by aqueous and alcoholic extracts of Henna and Jaft, their antibacterial effect on two Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Escherichia coli* bacteria was also compared. Dyeing was performed using the simultaneous mordanting method in the presence of potassium aluminum double sulfate. Spectrophotometric evaluation proved that both dyes produced red and yellow tones, with a slight color difference, and the ethanolic extract had the highest color strength on the fibers in both dyes in this research. The results of antibacterial test showed that both types of dyes showed an acceptable bacteria growth inhibition percentage against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, and among them, the ethanolic extracts showed a higher antibacterial power against bacteria due to the presence of higher amounts of Lawson and Quercetin active ingredients.

Key words - traditional dyeing, natural fibers, henna, oak bark (Jaft), antibacterial

۱. مقدمه

امروزه استفاده از رنگزاهای طبیعی حتی در کشورهایی که رنگرزی طبیعی در آنها پیشینه تاریخی ندارد، به موضوع مورد توجه علمی تبدیل شده است، که این موضوع عموماً ناشی از روند رو به رشد بازگشت به طبیعت و محصولات طبیعی است. برخی از عصاره های گیاهی ترکیبی از خواص رنگزا های طبیعی و داروهای گیاهی هستند، بنابراین محصول نهایی نه تنها دارای خواص پارچه رنگ شده بلکه التیام بخش و ضد عفونی کننده نیز می باشد[۱و۲]. به طور کلی، مواد رنگزای طبیعی شامل ترکیباتی هستند که منشاء گیاهی و از ریشه، گل، برگ، میوه و پوست تنه نباتات به دست می‌آیند، یا مواد رنگزای حیوانی که موجوداتی مانند حشره قرمزدانه و صدف ارغوان مولد آنها هستند و یا مانند خاک سرخ از معادن استخراج می‌شوند[۳و۴]. استفاده از رنگزاهای گیاهی خودرو در رنگرزی، علاوه بر کمک به حفظ محیط زیست و جلوگیری از آلودگی آبهای سطحی و زیر زمینی، مقرون به صرفه نیز هست. چراکه این گیاهان اغلب به وفور درطبیعت یافت می شوند[۵و۶].

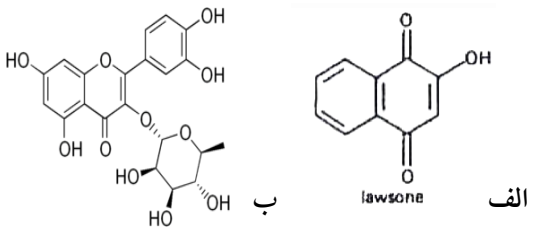
در فرآیند رنگرزی استفاده از برخی ترکیبات گیاهی می تواند خواص ضدباکتری، ضد میکروبی و ضد قارچ را حاصل نماید که این رنگزاها عصاره هایی از گیاهان هستند که در آنها تانن ها اغلب نقش مهمی دارند [۷]. اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی را می‌توان به ترکیبات زیست فعال موجود در آنها نسبت داد. این ترکیبات قادر به اتصال به سطح سلولی و نفوذ به لایه‌های فسفولیپیدی غشای سلولی هستند. ازدیاد و انباشته شدن این ترکیبات در سلول منجر به اختلال در یکپارچگی سلول و به دنبال آن تأثیر بر متابولیسم و در نهایت مرگ سلول باکتری می‌شود[۸و۹].

درخت بلوط در ایران بیشتر در دامنه های زاگرس و مناطق لر نشین دیده می شود. مناطق اصلی بلوط استان های فارس، چهار محال بختیاری، کهگلویه و بویر احمد و ایلام است. دشت برم در کازرون نیز بزرگترین دشت بلوط ایران است که در غرب استان فارس قرار دارد. این درخت در مناطق مختلف آذربایجان، کردستان، لرستان و فارس به نام‌های محلی دارمازو، مازو، داری مازو یا برودار و داربلی معروف است. عصاره پوست بلوط در طب سنتی به دلیل دارا بودن انواع تانن ها در مهار و توقف خونریزی استفاده می‌شود، چرا که تانن ها توانایی انعقاد پروتئین ها را دارند و در نتیجه نفوذپذیری عروق و ترشح سلول و بافت را کاهش می دهند [۱۰و۶]. علاوه بر این، تحقیقات نشان می دهد که پوست درخت بلوط به دلیل حضور تانن ها و ترکیبات فلانوییدی دارای خاصیت ضد عفونی کنندگی بوده و اثر ضد باکتریایی آن به اثبات رسیده است. اثر مهاری بر روی آنزیم های باکتریایی به دلیل توانایی تانن ها در انعقاد پروتئین ها و تشکیل کمپلکس با فلزات رخ می دهد. این توانایی همچنین امکان اتصال مستقیم به گیرنده‌های پروتئینی در سطح غشاهای باکتریایی را فراهم می‌کند و ریزمغذی‌های ضروری مورد نیاز برای رشد میکروبی مانند آهن یا روی را از بین می‌برد [۱۱و ۱۲].

گونه ای درخت بلوط جنگلی است که در ایران در کوه‌های کردستان،کهکیلویه بویر احمد و لرستان به طور خودرو

یافت می‌شود. پوست زیرین ساقه این درخت که جفت نامیده می‌شود، حاوی مقدار قابل توجهی مواد رنگی و مازوجی است[۱۳]. جفت بلوط علاوه بر کاربردهای درمانی در رنگرزی نخ خام، تولیدات صنایع دستی و دباغی پوست دام کاربرد دارد. پوست بلوط منبعی غنی از تانن‌ها (پلی فنول های محلول در آب) است که می‌تواند پروتئین ها را منعقد کرده و با فلزات کمپلکس هایی با اثرات بیوژنیک متعدد تشکیل دهد. رنگزای مستخرج از ساقه این گیاه قادر است در حضور دندانه‌های زاج سفید رنگ زرد و دندانه زاج سیاه خاکستری و در نهایت دندانه کروم و این رنگ قهوه ای ایجاد کند[۱۴و ۱۵].

رنگزای حنا یکی دیگر از رنگزای گیاهی ارزان قیمت و دوستدار محیط زیست است که در این تحقیق به آن پرداخته شده است، حنا نیز همانند جفت برای رنگرزی الیاف طبیعی اعم از پنبه، کتان، ابریشم، ابریشم، به صورت خشک یا عصاره مورد استفاده قرار می گیرد. مهمترین ماده فعال گیاه حنـا، لاوسـون (Lawsone) (۲- هیدروکسی، ۱و۴-دی نفتوکینون) است که یک ترکیب رنگی می‌باشد (شکل ۱)[۱۴].



شکل ۱- ساختار شیمیایی مواد موثره رنگزاهای گیاهی مورد پژوهش: الف) لاوسون در رنگزای حنا[۱۴] و ب) کوئرستین در رنگزای جفت

عصاره‌گیری در واقع به معنی جداسازی بخش‌هایی از ترکیبات فعال رنگی یا دارویی از بافت‌های انتخابی گیاه بـا استفاده از حلال مناسب از طریق روش‌های استاندارد است. تکنیک‌های استخراج، متابولیت‌های گیاهی محلول را از نامحلول جدا می‌کند. حاصل استخراج، مخلوط نسبتاً پیچیـده به صورت مایع یا نیمـه جامد یا جامد (پس از حذف حلال) از متابولیت‌ها بوده که به صورت خوراکی یا خارجی استفاده می‌شود [۱۶و۱۷].

الیاف و پارچه ها مکان های مناسبی برای رشد انواع میکروب ها می باشند. رشد و تکثیر میکرو ارگانیسم ها در منسوجات سبب بوی بد، کاهش عمر منسوج و لکه دار شدن آن شده و مشکلاتی از قبیل بیماری های پوستی و حساسیت برای مصرف کننده ایجاد می کنند [۱۸و۱۹]. از طرفی دیگر، وجود گروه‌های کربوکسیل در اسیدهای آمینه آسپارتیک و گلوتامین موجود در ماکرومولکول‌های پروتئینی سازنده الیاف طبیعی پشم و ابریشم، امکان اتصال مواد ضدمیکروبی، ضد قارچ و ضد بید را در این منسوجات افزایش می‌دهد، لذا منسوجات تشکیل شده از الیاف طبیعی بیشتر در معرض آلودگی به وسیله میکروارگانیسم ها هستند[۲۰و۲۱]. فرش های دستباف، یکی از انواع منسوجات پرکاربرد هستند که از الیاف طبیعی ساخته شده و به دلیل استفاده در مکان‌های عمومی و پر رفت و آمد همچون مساجد و غیره، بیشتر در معرض آلودگی قرار میگیرند. علاوه بر آن، مسئله شستشوی فرش ها نیز به

دفعات باعث صرف هزینه بالا و کاهش عمر مفید فرش خواهد شد [۲۲].

پژوهش های متعددی در زمینه بهینه سازی رنگرزی الیاف طبیعی پشم و ابریشم با رنگزای گیاهی حنا [۲۳]، روش های استخراج این رنگزا [۲۴]و اثرات پارامترهای مؤثر بر رنگرزی با ثبات های نوری و شستشویی بالا صورت گرفته است [۲۵]. در زمینه ارزیابی خواص ضد باکتری و ضد قارچ این گیاه بر روی منسوجات رنگ شده تحقیقات اندکی صورت گرفته که تمرکزی بر روی الیاف مورد استفاده در فرش‌های دستباف نداشته است[۲۶].

بر خلاف رنگزای حنا، بررسی خصوصیات و ثبات‌های رنگی گیاه بلوط به عنوان رنگزا بر روی الیاف طبیعی موضوع تعداد اندکی از مقالات پژوهشی بوده است[۱۵و ۲۷]. از سویی دیگر، مطالعات فیتوشیمیایی و ارزیابی خواص ضد باکتریایی، ضد قارچ و آنتی اکسیدان بودن بخش های مختلف گیاه بلوط اعم از پوسته ساقه آن، موضوع تحقیقات گیاه شناسی متعدی می باشد[۱۰و۱۱و۲۸]. اما مطالعه خاصیت ضد باکتریایی این گیاه به عنوان رنگزایی طبیعی بر روی الیاف تا کنون ارزیابی نشده است.

در این تحقیق علاوه بر ارزیابی مشخصه‌های رنگی ابریشم رنگرزی شده با رنگزاهای مستخرج از عصاره های آبی و الکلی حنا و جفت، روش‌های استخراج این رنگ‌زا و مقایسه اثرات ضد باکتریایی ابریشم رنگرزی شده با این رنگزاها، بر روی دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیاکلی بـه نمایندگی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی بررسی شده است.

۲. تجربیات

مواد مورد استفاده در این پژوهش عبارتند از برگ گیاه حنای بومی استان فارس و پوست درخت بلوط خودرو در دامنه زاگرس (جفت) که هر دو در بهار جمع آوری شده، خشک و آسیاب شدند.

علاوه بر این، از الیاف ابریشمی صمغ‌گیری شده با نمره ۶۳ دنیر تولید شده در گیلان استفاده شد. شـوینده غیریـونی 100-X Triton با خلوص ۱۰۰٪، سولفات مضاعف آلومینیوم پتاسیم ، اگزالیک اسید با خلوص ۱۰۰٪ و حلال‌های اتانول و متانول با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. کاغذ صافی ورقه‌ای با تخلخل ۱۱ میکرون جهت استخراج عصاره مورد استفاده قرار گرفت و آزمون ضد باکتری با استفاده از دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس طبق استانداردAATCC 100 test method انجام شد. تمام مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده برای تجزیه‌وتحلیل ماده مؤثره لاوسون (Lawsone) و کوئرستین و استاندارد آنها از سیگما آلدریچ (دیزنهوفن، آلمان) و استونیتریل درجه HPLC، آب و اسید تری‌فلورواستیک از Merck (دارمشتات، آلمان) تهیه گردید. استاندارد مورد استفاده در آنالیز جفت، کوئرستین Quercetin dehydrate با نام علمی ۵،۷،۴′،۳′،۳-Pentahydroxyflavone- با فرمول مولکولی$C_{15}H_{10}O_72H_2O$ با جرم مولکولی ۳۳۸/۲۷ Mw از شرکت Fluka خریداری گردید.

از ترازوی AND مدل DJ-V300A برای اندازه‌گیری نمونه ها و رنگ‌زاها استفاده شد. بن ماری ساخت فن آزما گستر ایران برای تأمین حرارت حمام رنگرزی استفاده گردید. در

بخش ارزیابی ثبات الیاف رنگ شده، از دستگاه ثبات‌سنج نوری ریس‌سنج مدل RSX92 برای سنجش ثبات نوری نمونه‌های رنگ شده و کابینت نوری مدل ICS-TEXICON با ۴ منبع نوری متفاوت به منظور ارزیابی بصری نمونه‌های رنگی، بررسی تغییرات رنگ و مقایسه نمونه‌های رنگ شده با دندانه‌های مختلف استفاده شد. دستگاه اسپکتروفتومتر انعکاسی JASCO ARN-570 UV/Vis/NIR برای اندازه‌گیری درصد انعکاس نمونه‌ها و اسپکتروفتومتر انعکاسی ساخت شرکت GretagMacbeth مدل Color-Eye ۷۰۰۰ A برای اندازه‌گیری مشخصه‌های رنگی و روشنایی الیاف رنگ شده تحت منبع نوری D65 و زاویه مشاهده کننده ۱۰ درجه و در فضای رنگی L* a* b* مورد استفاده قرار گرفت.

همچنین از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مدل GC-MSD ساخت شرکت Agilent Technologies و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا High Performance Liquid Chromatography (HPLC) مدل AZURA ساخت شرکت KNAUER آلمان برای اندازه‌گیری مواد مؤثره موجود در برگ گیاه مورد بحث با توجه به حلال‌های بکار رفته استفاده شد.

در مرحله عصاره‌گیری رنگرزی، به منظور کاهش میزان خطای ناشی از میزان رنگ‌زای موجود در برگ گیاه حنا و پوست درخت بلوط و افزایش بازده رنگی آن، عملیات استخراج ماده رنگ‌زا با سه حلال آب، اتانول و متانول انجام شد. ابتدا هر دو رنگزای مدنظر آسیاب و از صافی با مش۴ عبور داده شدند. عصاره گیری آبی با روش پرکولاسیون (خیساندن) انجام شد[۱۷]. به این صورت که، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۳ گرم پودر حنا و جفت اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. محلول مورد نظر برای حذف ذرات بزرگتر دکانته و ذرات کوچک‌تر با عبور از صافی غشائی ۰/۴۵ µm حذف گردیدند. عصاره‌های الکلی (اتانولی و متانولی) به روش برگشتی در دستگاه سوکسله تهیه شد[۲۰]. در این روش، اتانول و متانول به شیوه برگشتی و به‌عنوان حلال تحت فشار کم در یک دستگاه چرخشی تبخیر گردید تا عصاره بدست آید. بخش اعظم حلال‌ها با استفاده از دستگاه تبخیر گردان چرخنده (روتاری) حذف گردید. عصاره تغلیظ شده در سطح پلیت های شیشه‌ای به صورت ورقه نازک پخش و آنگاه به آون تحت خلأ با دمای ۲۵ °C منتقل گردیدند تا باقیمانده حلال هم حذف گردد. به این ترتیب اثر کشندگی و ضد باکتریایی ذاتی حلال‌های اتانول و متانول در نتیجه نهایی بی‌تأثیر می‌شود. پس از خشک شدن، عصاره‌ها به‌وسیله تیغه فلزی از روی سطح پلیت‌های شیشه‌ای خراش داده شد و تا رسیدن به وزن ثابت خشک، در دسیکاتور قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری میزان ماده استخراجی بازده استخراج، ابتدا وزن پلیت خالی محاسبه و بعد ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی یا الکلی به پلیت اضافه گردید و در دمای اتاق خشک شد. بعد از خشک شدن، وزن پلیت حاوی عصاره اندازه‌گیری و اختلاف وزن آنها محاسبه شد. میانگین حاصل از ۳ تکرار به‌عنوان وزن خشک عصاره گزارش گردید (جدول ۱).

رنگرزی ابریشم با عصاره های دو رنگزای حنا و جفت به صورت همزمان حنا در L:R برابر با ۱:۵۰ در حمام رنگرزی حاوی اگزالیک اسید انجام شد. حمام‌های رنگرزی در دمای ۷۰°C در بن‌ماری به مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفتند. نمونه های رنگرزی شده به روش اسپکتروفوتومتری انعکاسی رنگ سنجی شده و پارامتر های رنگی آنها مقایسه گردید. برای اندازه‌گیری کمّی ویژگی‌های رنگی الیاف رنگ شده، مؤلفه های رنگی و قدرت رنگی الیاف رنگرزی شده براساس رابطه کیوبلکا مانک بدست آمد.

$$K/s = \frac{(1-R)^2}{2R}$$ رابطه (۱)

در این رابطه K ضریب جذب ، S ضریب انتشار و R کمترین میـزان انعکـاس هـر نمونـه (بیشـترین مقدار جذب) در محدوده طول موج مرئی ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر است.

قدرت رنگی الیاف ابریشم رنگرزی شده با عصاره های آبی و الکلی حنا و جفت در جدول ۲ نشان داده شده است.

ثبات‌های نوری و شستشویی نمونه‌ها مطابق استانداردهای: ISO 105-B01: 2010 و ISO 105-C10: 2006 مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی و مقایسه خاصیت ضد باکتریایی ابریشم رنگرزی شده، ابتدا دو نوع میکروب اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) که منشأ عفونت بوده انتخاب کرده و میزان فعالیت ضدباکتری الیاف رنگرزی شده به روش شمارش تعداد سلول زنده و تحت شرایط تماسی مطابق با استاندارد JIS L 1902/ISO 20743 ارزیابی شد.

برای کشت باکتری ها، ظروف و لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱°C اتوکلاو استرلیزه شد. پس از آن، حجم‌های یکسان از هر سوسپانسیون باکتریایی شامل 10^5 CFU/ml باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی و محیط کشت نوتیرنت آگار در داخل پلیت‌ها ریخته شد و چندین بار جهت عقربه‌های ساعت حرکت دورانی داده و بعد خلاف جهت عقربه ساعت حرکت دورانی داده تا کاملاً میکروب‌ها و محیط کشت با هم مخلوط شود. سپس، مقدار ۰/۰۳ گرم از ابریشم رنگرزی شده با انواع رنگزاهای مورد بحث به آن اضافه کرده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C شیک گردید و سپس با دستگاه کلنی کانتر کلونی‌ها شمارش گردید[۲۰و ۲۲].

نتایج حاصل ازکشت انواع باکتری ها روی تمام نمونه ها به صورت درصد باز داری و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شده است.

$$Reduction\ rate\ \% = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$ رابطه (۲)

A = تعداد کلنی باکتری اولیه

B = تعداد کلنی باکتری بعد از ۲۴ ساعت

۳. بحث و نتایج

جدول ۱: تأثیر حلال‌های مختلف بر بازده استخراج رنگزا

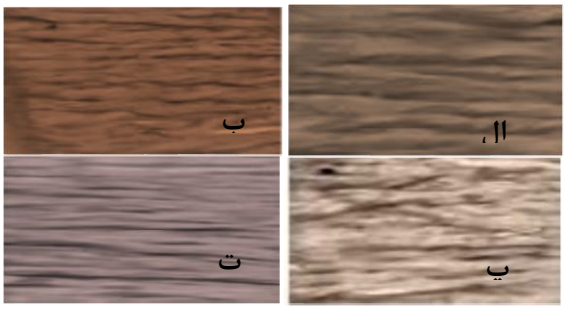
حلال	بازده استخراج حنا (٪)	بازده استخراج جفت (٪)
آب	52	45
اتانول	64	95
متانول	59	58

تاثیر حلال های مختلف آبی، اتانولی و متانولی رنگزاهای حنا و جفت بر بازده استخراج در جدول ۱ گزارش شده است، همانطور که مشاهده می‌شود، حلال های الکلی به خصوص اتانول درصد بالاتری از ماده موثره رنگزا را در طی فرایند

عصاره گیری از گیاه استخراج کردند. این موضوع با تحقیقات قبلی انطباق دارد[۲۰و۲۱].

قدرت رنگی ابریشم رنگ شده با انواع عصاره و رنگزاهای مورد بحث در این تحقیق که از طریق جایگذاری مقدار انعکاس رابطه کیوبلکا مانک بدست آمد، نشان داد که بیشترین قدرت رنگی متعلق به نمونه ابریشم رنگرزی شده با عصاره اتانولی هر دو رنگزا و کمترین قدرت رنگی متعلق به ابریشم رنگرزی شده با عصاره آبی است (شکل ۲و۳، جدول ۲). در هر دسته از الیاف رنگ شده، نمونه رنگ شده با عصاره اتانولی قدرت رنگی بیشتری را نسبت به سایر عصاره‌ها نشان می‌دهد که بیان کننده درصد بالای ماده رنگ‌زا در این عصاره است. داده های گزارش شده در جدول ۶ که میزان مواد موثره رنگی موجود در عصاره های مختلف گیاه را گزارش میکند نیز این موضوع را تایید می نماید. علاوه بر این، بر اساس جدول ۱، بازده استخراج رنگزا با حلال اتانول بیشتر از سایر حلال هایت که این موضوع نیز باعث افزایش قدرت رنگزایی عصاره های اتانولی گیاهان مورد مطالعه می‌شود. این نتایج با نتایج تحقیقات نوری و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد[۲۹]. از سوی دیگر، مقایسه داده‌های جدول‌های ۲ و ۳ نشان می‌دهد که هر چه درصد روشنایی نمونه رنگ شده بیشتر باشد، جذب رنگ آن کمتر بوده و از قدرت رنگی کمتری برخوردار است، این نتایج با تحقیقات قبلی مطابقت دارد[۳۰].

شکل ۲: تنالیته های رنگی ایجاد شده بر روی ابریشم با: الف) رنگزای حنای خشک ، ب) عصاره حنای محلول در اتانول، پ) عصاره حنای محلول در متانول، ت) عصاره حنای محلول در آب



شکل ۳: تنالیته های رنگی ایجاد شده بر روی ابریشم با: الف) رنگزای جفت خشک ، ب) عصاره جفت محلول در اتانول، پ) عصاره جفت محلول در متانول، ت) عصاره جفت محلول در آب

جدول ۲: مقایسه پارامتر های رنگی (L* b* a*) ابریشم رنگرزی شده با عصاره و رنگزای خشک حنا و جفت

رنگزا	نوع رنگزا	a *	b *	L *	K/S
حنا	عصاره آبی	5.81	14.91	77.61	1.52
	عصاره اتانولی	5.73	17.44	70.36	3.91
	عصاره متانولی	2.57	27.20	82.92	1.75
	پودر	5.45	20.92	73.31	1.94
جفت	عصاره آبی	7.29	16.07	63.19	1.45
	عصاره اتانولی	6.67	19.11	70.36	3.91
	عصاره متانولی	3.18	25.20	82.92	1.57
	پودر	6.20	22.76	73.31	2.02

جدول ۳: مقایسه ثباتهای نوری و شستشویی ابریشم رنگرزی شده با عصاره و رنگزای خشک حنا و جفت

رنگزا	نوع رنگزا	ثبات نوری	ثبات شستشویی
حنا	عصاره آبی	6	4
	عصاره اتانولی	6-7	4-5
	عصاره متانولی	6	4-5
	پودر	8	5
جفت	عصاره آبی	6-7	5
	عصاره اتانولی	7	4-5
	عصاره متانولی	6-7	4-5
	پودر	7-8	5

همانطور که ذکر شد، مشخصه رنگی*a، بیانگر میزان قرمزی و سبزی سطوح رنگی است، به این صورت که مقادیر مثبت آن نشانگر وجود قرمزی و مقادیر منفی نشان از وجود سبزی دارد. مشخصه رنگی*b، بیانگر میزان زردی و آبی بودن سطوح رنگی است، به این صورت که مقادیر مثبت آن نشانگر وجود زردی و مقادیر منفی نشان از وجود آبی دارد. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که تمامی الیاف ابریشم رنگرزی شده با رنگزاهای مورد پژوهش میزان*a و*b مثبت داشتند که بیانگر ته رنگ قرمز و زرد نمونه‌های رنگ شده می‌باشد. از سویی دیگر بررسی های بصری نمونه های رنگرزی شده در کابینت نوری نشان داد که الیاف رنگرزی شده با جفت به قهوه ای تمایل بیشتری دارد. داده های اسپکترو فوتومتری نیز میزان*a و*b بیشتری را برای این الیاف گزارش کرده به این صورت که الیاف ابریشم رنگرزی شده با عصاره های آبی و الکلی جفت، در مقایسه با حنا، میزان قرمزی و زردی بالاتر و درصد روشنایی (*L) کمتری را نشان می‌دهند. نتایج عددی با ارزیابی‌های کیفی بصری در کابینت نوری مطابقت دارد (شکلهای ۲ و ۳). بنابراین اگر چه هر دو این رنگزا برای ایجاد فام رنگی قرمز-قهوه ای کاربرد دارند، در شرایط یکسان رنگرزی، رنگزای جفت رنگ تیره تری ایجاد می‌کند. بر اساس بررسی داده های اسپکتروفومتری انعکاسی، برای هر دو نوع رنگزای مورد بحث، الیاف ابریشم رنگرزی شده با عصاره آبی و متانولی حنا به نسبت سایر رنگ‌زاها انعکاس بالاتری نشان می‌دهند که نشان از جذب رنگ کمتر این نمونه‌ها دارد. این نتیجه با یافته‌های سایر محققان همخوانی دارد[۳۱و ۳۲] . با توجه به داده‌های جدول ۳، مشاهده می شود که اگرچه نمونه‌های رنگرزی شده با عصاره های رنگزا نسبت رنگ‌زای خشک در اثر تابش نور، کمی دچار رنگ پریدگی شدند، ولی به‌طور کلی هر چهار نمونه ثبات نوری قابل قبولی داشتند. دلیل این امر بالا بودن ثبات‌های رنگی ساختارهای شیمیایی کینونی و همین طور وجود تانن در ساختار گیاهان حنا و جفت می‌باشد.

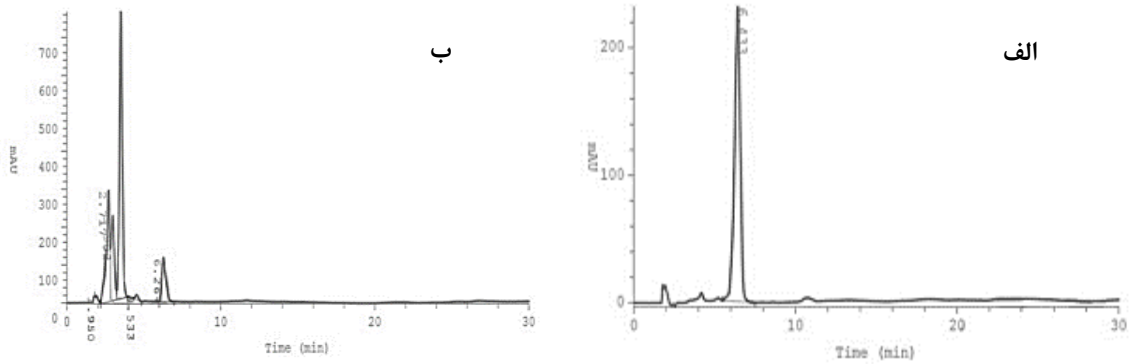
بررسی اثر نوع رنگزای حنا و جفت بر روی درصد بازداری رشد باکتری برای دو باکتری مورد آزمایش قرار گرفته است. در جدول ۴ آمده است. علاوه بر این در جدول ۵، تعداد متوسط باکتری های مورد آزمایش بر روی ابریشم رنگ شده با عصاره های آبی و الکلی حنا و جفت گزارش شده است. ابریشم بی رنگ عمل شده با حلال های الکلی مورد مطالعه نیز به عنوان نمونه شاهد تحت این آزمون قرار گرفت. نتایج در جدول ۵ نشان داده شده است.

جدول ۴ : درصد بازداری رشد میکروب *S.areuse* و *E.coli* برای نخ ابریشم رنگ شده با عصاره های آبی و الکلی حنا و جفت

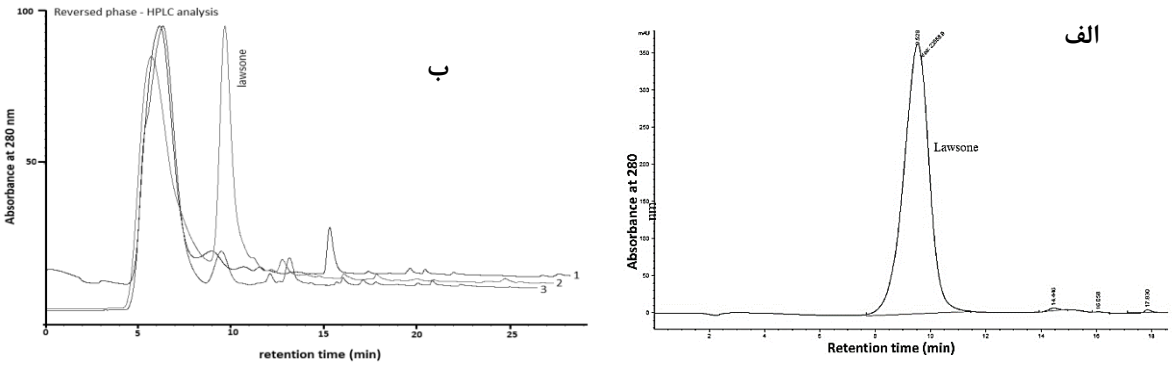
رنگزا	حنا			جفت		
درصد رشد بازداری	عصاره آبی	عصاره اتانولی	عصاره متانولی	عصاره آبی	عصاره اتانولی	عصاره متانولی
S.areuse	72	90	84	65	70	67
E.coli	71	85	78	60	74	72

جدول ۵: تعداد متوسط با کتری های مورد آزمایش بر روی ابریشم رنگرزی رنگ شده با انواع رنگزای حنا بعد از ۲۴ ساعت.

رنگزا	انواع رنگزا	میانگین تعداد باکتری Staphylococcus aureus bacteria (CFU/ml)	میانگین تعداد باکتری Escherichia coli bacteria (CFU/ml)
حنا	رنگزای خشک	11000	10700
	عصاره آبی	150	142
	عصاره اتانولی	32	11
	عصاره متانولی	1890	1800
جفت	رنگزای خشک	12700	14700
	عصاره آبی	2820	2290
	عصاره اتانولی	78	52
	عصاره متانولی	320	180
نمونه های شاهد	ابریشم بدون رنگ عمل شده با اتانول	1300	1120
	ابریشم بدون رنگ عمل شده با متانول	1020	980



شکل ۴: تجزیه و تحلیل HPLC فاز معکوس در ۲۸۰ نانومتر، (الف) ماده استاندارد کوئرستین، (ب) عصاره های آبی و الکلی جفت.



شکل ۵: تجزیه و تحلیل HPLC فاز معکوس در ۲۸۰ نانومتر، (الف) ماده استاندارد لاوسون، (ب) عصاره های آبی و الکلی حنا.

جدول ۶: محتوای لاوسون و کوئرستین در عصاره های اتانولی، متانولی و آبی حنا و جفت

رنگزا	عصاره	میزان ماده موثره در هرلیتر از عصاره (mg/L)	میزان ماده موثره در هر گرم از رنگزای خشک (mg/g)
حنا	اتانولی	15.91	1.35
	متانولی	2.49	0.21
	آبی	1.33	0.11
جفت	اتانولی	13.08	1.66
	متانولی	6.32	0.87
	آبی	3.03	0.41

همانطور که در جداول ۴ و ۵ ملاحظه می‌گردد، درصد بازداری رشد باکتری *S. areuse* و *E. coli* را در نمونه‌های ابریشم رنگرزی شده با عصاره های هر دو رنگزا مقدار قابل توجهی است چرا که در ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی، درصد بازداری از رشد باکتری بالاتر از ۶۰ درصد مناسب در نظر گرفته می‌شود[۱۶و۳۳]. به منظور ارزیابی و حذف تاثیرات ضد باکتریایی حلال های الکلی، نمونه های شاهد بی رنگ عمل شده با اتانول و متانول نیز تحت آزمون سنجش اثرات ضد باکترایی قرار گرفتند که درصد کاهش رشد باکتری در آنها قابل توجه نبود. داده های جدول ۵ نیز نشان می دهد تعداد باکتری های موجود بر سطح ابریشم بی رنگ عمل شده با اتانول و متانول، بعد از گذشت ۲۴ ساعت تفاوت چندانی نکرده است. لذا قابلیت رنگزا در کشتن باکتری به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه موجود در خود گیاه بوده و حلال الکی تاثیری در این امر ندارد.

به این ترتیب قابلیت هر دو رنگزا طبیعی در ضد باکتری نمودن الیاف ابریشم، که بسیار حساس و آسیب پذیر است، مورد تأیید قرار می‌گیرد. علت این موضوع را می‌توان چنین توضیح داد که همان گونه که نتایج حاصل از آنالیزهای فیتوشیمیایی HPLC و GC-Mass نشان می‌دهد (شکل های ۴و ۵)، تحت شرایط در نظر گرفته شده در این پژوهش، عصاره‌های گیاهان رنگزای حنا و جفت، دارای متابولیت‌های

ثانویه‌ای مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تانن‌ها می‌باشد (جدول ۶). این ترکیبات به دلیل برخورداری از گروه‌های فنلی در ساختار خود می‌توانند اثرهای ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای را روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها به وجود بیاورند[۳۴و ۳۵]. ماده موثره کوئرسیتین که در پوست درخت بلوط یافت می شود، یکی از انواع ترکیبات فلاونوئیدی گیاهی بوده که از طریق نفوذ به غشاء سلولی باکتری و تخریب پروتئینهای سازنده آنها و واکنش با گروههای عاملی در میکروارگانیسم ها قادر به حذف باکتری می‌باشد[۲۸و۳۶]. تحقیقات نشان داده است که ترکیبات فلاونوئیدی قادر به کراسلینک، انعقاد و تجمع یاخته‌های باکتری هستند. علاوه بر این، آنها می‌توانند با گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها واکنش داده و با ترشحات پروتئین باکتری تداخل کرده و در نهایت منجر به غیرقابل دسترس شدن بسترها برای میکروارگانیسم‌ها شوند[۳۷و ۳۸].

از سوی دیگر، تحقیقات متعددی به ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی ماده موثره گیاهی لاوسون (Lawsone) (۲-هیدروکسی، ۱و۴-دی نفتوکینون) موجود در حنا که از خانواده کینون هاست پرداخته است. کینون ها به قادر به تشکیل پیوند با پروتئین‌های موجود در باکتری‌ها هستند که منجر به تشکیل کمپلکس‌های پایداری می‌گردد که صورت‌بندی ساختار باکتری‌ها را تغییر داده و از تکثیر باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. در مطالعات مختلف اثر ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف گیاه حنا با حلال‌های گوناگون بررسی شده است. محققان معتقدند که این گیاه علاوه بر دارا بودن ترکیب لاوسون از ترکیبات فنولی و فنالوئیدی دیگری همچون تیمول و کارواکرول برخوردارند که قدرت زیادی در مهار پاتوژن‌های گیاهی از قارچ‌ها و باکتری‌های مولد بیماری‌ها از خود نشان می‌دهد.

نتایج گزارش شده در جدول ۴ نشان می‌دهد که از میان تمام رنگزاها، عصاره‌های اتانولی حنا و جفت حداکثر خاصیت ضد باکتری را نشان می‌دهند. دلیل این امر وجود مقادیر بالاتری از مواد موثره گیاهی معرفی شده (لاوسون و کوئرسیتین) در عصاره های اتانولی رنگزا است که در جدول ۶ گزارش شده است.

علاوه براین نتایج نشان می دهد که تحت شرایط در نظر گرفته شده در این پژوهش، فعالیت ضد باکتری عصاره‌های هر دو رنگزا در مقابل باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری گرم منفی اشریشیاکلی است. علت این موضوع را می‌توان به تفاوت‌های موجود در ساختار سلول باکتری‌های گرم مثبت و منفی نسبت داد. دیواره سلولی در باکتری‌های گرم مثبت به‌طور کامل از پلیگلایکوژن پپتیدی تشکیل شده است که این لایه به مولکول‌های خارجی اجازه می‌دهد تا به راحتی وارد سلول شوند. این در حالی است که دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی دو لایه بوده و دارای یک غشای بیرونی متشکل از لیپوپلی‌ساکارید، لیپوپروتئین و فسفولیپیدها هستند که به‌عنوان یک سد در برابر مولکول های خارجی عمل می‌کنند. [۳۹-۴۱].

۴. نتیجه گیری

در این مقاله به مقایسه مشخصه‌های رنگی و خاصیت ضد باکتریایی ابریشم رنگرزی شده با عصاره‌های آبی و الکلی حنا

و جفت و رنگ‌زای خشک آنها پرداخته شد. در این پژوهش، از انحلال این رنگ‌زاها در حلال‌های ذکر شده، عصاره‌هایی با قابلیت رنگدهی متفاوتی از رنگزاهای گیاهی مورد بحث ایجاد شد. بررسی‌های اسپکتروفتومتری نمونه‌های رنگ شده نشان داد که عصاره های حنا و جفت مشخصات رنگی مشابهی بر روی الیاف ابریشم ایجاد می کنند به این صورت که مقادیر*a و *b نمونه ها در بازه مثبت بوده که نشان از وجود ته رنگ قرمز و زرد نمونه‌های رنگ شده دارد. علاوه بر این، عصاره اتانولی حنا و عصاره متانولی جفت، در حضور دندانه آلومینیوم، به ترتیب، رنگهای طلایی و بژ بر روی ابریشم ایجاد کرد که طیف رنگی محبوب و کمیابی در رنگرزی طبیعی فرش دستباف هستند. نتایج حاصل از ارزیابی ثبات نوری نشان داد که هر تمام نمونه های مورد ارزیابی از ثبات نوری قابل قبول و خوبی برخوردار هستند. یافته‌های این مطالعه نشان دار که هر دو رنگزای حنا و جفت به علت دارا بودن متابولیت های ثانویه کوینونی و فلاونوئیدی مانند لاوسون و کوئرسیتین تا حد قابل توجهی قادر به حذف باکترها هستند که رنگزای حنا، از این بین، درصد بازداری از رشد باکتری قابل ملاحظه تری ارائه نموده است. از سویی دیگر، نمونه های رنگرزی شده با عصاره استخراج شده در حلال اتانول، برای هر دو رنگزای حنا و جفت، از قدرت و ثبات های رنگی و خاصیت ضد باکتریایی بیشتری برخوردار بودند که به دلیل بازده بالاتر استخراج رنگزا با این حلال و همینطور میزان بیشتر ماده موثره گیاه در این عصاره می باشد.

لذا استفاده از این دو رنگزا را به‌عنوان یک ماده رنگ‌زای ضد باکتری مناسب برای طیف قرمز -قهوه ای بر روی الیاف طبیعی پیشنهاد می شود.

با توجه به خاصیت ضد باکتری قابل توجه ایجاد شده در الیاف طبیعی رنگرزی شده با حنا و جفت در این پژوهش، پیشنهاد می‌گردد که اثر مهارکنندگی عصاره‌های این گیاهان رنگزا روی سایر باکتری‌های مضر نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

۵. تقدیر و تشکر

از همکاری و حمایت مادی و معنوی دانشگاه هنر شیراز کـه امکـان انجام این پژوهش را فراهم کردند قدردانی می نماید.

۶. مراجع

1. Shamsnateri, A., & Veysian, M. (2021). Past, Present, and Future of Application of Natural Dyes in Hand-Woven Carpets. Journal of Studies in Color World, 11(2), 33-42.

2. Heidari Golfazani, M. E., Shirazi, M., Hamzehzadeh, K., & Bisadi, M. (2022). Investigating the effect of mordant type, temperature and pH of dyeing bath on the color properties of acrylic yarn dyed with turmeric. Journal of Apparel and Textile Science and Technology, 11(4), 15-25.

3. Jafari, R., & Gharanjig, K. (2018). A Study on Colorimetric Attributes of Natural Fibers Dyed with Natural Colorants. Journal of Studies in Color World, 8(1), 63-74.

4. Mousavi, A., Zakariaee Kermani, I., & Haji Gholam Saryazdi, A. (2023). Identifying and Developing Strategies for the Use of Natural Dyes in the Art of the Handwoven Carpet

Industry. Journal of Studies in Color World, 13(1), 51-61.

5. Sanjeeda, I. and A.N. Taiyaba, Natural dyes: their sources and ecofriendly use as textile materials. Journal of Environmental Research and development, 2014. 8(3A): p. 683.

6. Křížová, H., Natural dyes: their past, present, future and sustainability. Recent Developments in Fibrous Material Science. Prague: Kosmas Publishing, 2015: p. 59-71.

7. Ahmadi, Z., & gholami Houjeghan, F. (2019). A Review on Antibacterial, Antifungal and Microbial Properties of Natural Herbals and Their Application on the Textiles. Journal of Studies in Color World, 9(1), 41-58.

8. Bahmani N. Antibacterial Effect of Alcoholic Extracts of the Eugenia Caryophyllata, Rosmarinus Officinalis, Hibiscus sabdariffa, Camellia sinensis, and Mentha Pulegium Plants on Some of Bacteria in the Oral Cavity: A Laboratory Study. JRUMS 2023; 22 (2) :147-160.

9. Ghorbani, Mazaher, Ahmady Asbchin, Salman, & Rezaei, Hassan. (2018). Evaluation of antibacterial effects of ethanol extracts of thyme, fennel, parsley, coriander and oregano on Staphylococcus aureus (ATCC 33591), Escherichia coli (ATCC 23591), Klebsiella (ATCC 10031) and Salmonella typhimurium bacteria. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 25(4), 591-598. SID. https://sid.ir/paper/82128/en

10. Bahmani, M., et al., Oak (Quercus branti): an overview. J chem pharm res, 2015. 7(1): p. 634-9.

11. Deryabin, D.G. and A.A. Tolmacheva, Antibacterial and anti-quorum sensing molecular composition derived from Quercus cortex (Oak bark) extract. Molecules, 2015. 20(9): p. 17093-17108.

12. Veisi, H., et al., Green synthesis and characterization of monodispersed silver nanoparticles obtained using oak fruit bark extract and their antibacterial activity. Applied Organometallic Chemistry, 2016. 30(6): p. 387-391.

13. Hosseinnezhad, M., et al., Cleaner colorant extraction and environmentally wool dyeing using oak as eco-friendly mordant. Environmental Science and Pollution Research, 2021. 28: p. 7249-7260.

14. Balaei Kahnamoei, M., et al., Study of henna in Persian medicine and new studies. Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine, 2019. 10(1): p. 57-70.

15. Jia, Y., et al., Dyeing characteristics and functionability of tussah silk fabric with oak bark extract. Textile Research Journal, 2017. 87(15): p. 1806-1817.

16. Aghamohammadi, A., M. Azadbakht, and S.J. Hosseinimehr, Quantification of thymol content in different extracts of Zataria multiflora by HPLC method. Pharmaceutical and Biomedical Research, 2016. 2(1): p. 8-13.

17. Taghizadeh Borujeni R, Akbari A, Gharehbaii A. Extraction and dyeing of wool fibers with Walnut Shell using ultrasonic waves. goljaam 2016; 11 (28) :93-114.

18. Zare, A., Rahimnezhad, H., & Rahimnezhad, S. (2022). A Review of the Various Methods of Antimicrobial Treatment of Military Textiles. Journal of Military Medicine, 23(12), 963-977. doi: 10.30491/JMM.23.12.963

19. Hivechi, A., Sharahi, M., Sarli, M., & Brouki Milan, P. (2020). Demand for nanotech masks with superior protection in the world after Corona. Journal of Apparel and Textile Science and Technology, 9(1), 39-49.

20. Rafiei, S. (2023). Evaluation of color characteristics and antibacterial properties of wool and silk fibers dyed with henna (Lawsonia inermis L.) dye and its extracts. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 39(4), 655-672. doi: 10.22092/ijmapr.2023.358808.3175

21. Zare, A., & Tabatabaei, S. M. (2021). New Dyeing Technology and Finishings Used in the Floor Coverings. Journal of Studies in Color World, 11(2), 63-80.

22. Rajabi, F., Babaahmadi, V., & Nouri, S. (2023). Dyeing of wool yarns with clove and investigation of antibacterial and ultraviolet protection properties. JJournal of Apparel and Textile Science and Technology, 11(4), 1-14.

23. Javidtash, I., & Roshandel, L. (2000). Collection, determination and characterization of dying plants of the Fars province and methodical dying of wool and silk Yarns.. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 6(1), 67-95.

24. Singam, T., et al., A review on characteristics and potential applications of henna leaves (Lawsonia inermis). Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, 2020. 17(2-3): p. 603-612.

25. Yusuf, M., et al., Assessment of colorimetric, antibacterial and antifungal properties of woollen yarn dyed with the extract of the leaves of henna (Lawsonia inermis). Journal of cleaner production, 2012. 27: p. 42-50.

26. Mirjalilia, M., et al., Effect of henna natural dye on antibacterial properties of dyed nylon fabric with various mordants. Iran. J. Org. Chem, 2014. 6(4).

27. rahimpour, S. (2019). Identification of carpet dyeing traditions and analysis of dyeing situation in Markazi province. Journal of Apparel and Textile Science and Technology, 8(1), 21-29.

28. Şöhretoğlu, D. and G. Renda, The polyphenolic profile of Oak (Quercus) species: A phytochemical and pharmacological overview. Phytochemistry Reviews, 2020. 19(6): p. 1379-1426.

29. Nouri, L. and Shams Natri, A., 2013, Wool dyeing with yellow natural dye extracted from spark, 8th National Conference on Textile Engineering, Yazd, https://civilica.com/doc/171400

30. Rafiei, S. (2022). Dyeing of silk fibers with natural dye extracted from different parts of Ficus Johannis Boiss plant. Journal of Apparel and Textile Science and Technology, 11(2), 1-17.

31. Ahmadi, Z. and F. Gholami Houjeghan, Assessment of Antibacterial, Antimicrobial, and Colorimetric Properties of Cotton and Woolen Yarns Dyed with Some Plants Extracts. Textile & Leather Review, 2022. 5: p. 463-483.

32. Alebeid, O.K., et al., Sustainable wool fibers dyeing using henna extract in non-aqueous medium. Environmental Chemistry Letters, 2020. 18(2): p. 489-494.

33. Yıldırım, F.F., et al., Sustainable antifungal and antibacterial textiles using natural resources. Sustainability in the textile and apparel industries: sourcing natural raw materials, 2020: p. 111-179.

34. Babadi, F., & Rezaeifar, K. (2021). Compression of Antibacterial Effect of Some Herbal Mouthwash Containing Oak Extract: Review Paper. Jundishapur Scientific Medical Journal, 20(4), 300-311. doi: 10.32598/JSMJ.20.4.2190

35. Ebrahimi A, khayami M, nejati V. Comparison of Antimicrobial effect of different parts of Quercus persica against Escherichia coli O157:H7. Intern Med Today 2012; 17 (4) :11-17.

36. Şöhretoğlu, D. and G. Renda, The polyphenolic profile of Oak (Quercus) species: A phytochemical and pharmacological overview. Phytochemistry Reviews, 2020. 19(6): p. 1379-1426.

37. Alpaslan, D., T.E. Dudu, and N. Aktas, Synthesis of poly (Oak bark) particles from oak bark extract and its utilization as a drug carrier material. Vietnam Journal of Chemistry, 2023. 61(6): p. 719-731.

38. Ki, H.Y., et al., A study on multifunctional wool textiles treated with nano-sized silver. Journal of Materials Science, 2007. 42: p. 8020-8024.

39. Freddi, G., et al., Binding of metal cations to chemically modified wool and antimicrobial

41. Habbal, O.A., et al., In-vitro antimicrobial activity of Lawsonia inermis Linn (henna). A pilot study on the Omani henna. Saudi medical journal, 2005. 26(1): p. 69-72.

42. Usman, R. and U. Rabiu, Antimicrobial activity of Lawsonia inermis (henna) extracts. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 2018. 11(1): p. 167-171.

properties of the wool–metal complexes. Journal of Applied Polymer Science, 2001. 82(14): p. 3513-3519.

40. salmanian S, sadeghi mahoonak A, Alami M, Ghorbani M. Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Anthocyanin Compounds, Antibacterial and Antioxidant Activity of Hawthorn (Crataegus Elbursensis) Fruit Acetonic Extract. JRUMS 2014; 13 (1) :53-66.