Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 39, No. 4, Page 655-672 (2023)

DOI: 10.22092/ijmapr.2023.358808.3175

Evaluation of color characteristics and antibacterial properties of wool and silk fibers dyed with henna (*Lawsonia inermis* L.) dye and its extracts

Saeedeh Rafiei[1*]

1*- Corresponding author, Department of Carpet, Shiraz University of Arts, Shiraz, Iran, E-mail: s_rafiei@shirazartu.ac.ir

Received: May 2022 Revised: July 2023 Accepted: July 2023

Abstract

Background and objectives: Henna (*Lawsonia inermis* L.) is one of the plant dyes used for dyeing textiles since ancient times. The active ingredient in this plant is Lawson, which causes its coloring and antibacterial properties. On the other hand, the surface of natural fiber textiles, including handwoven carpets, in the presence of moisture and heat, causes the growth and proliferation of bacteria. This leads to problems with the product's durability, appearance, and hygiene. In this research, in addition to evaluating the color characteristics of fibers dyed with dry henna and its aqueous and alcoholic extracts, the comparison of their antibacterial effect on two Gram-positive Staphylococcus aureus and Gram-negative Escherichia coli bacteria has also been investigated.

Methodology: The leaves of the native henna plant of Fars province were picked and dried in spring. Fibers of 4.5 metric meters and 63 deniers were used with Iranian wool and silk fibers. Considering that the extraction of the effective substance in plants depends on the type of solvent used, in addition to dry henna, three different solvents, water, ethanol, and methanol, were applied to prepare henna extracts. In this study, fibers were dyed with henna extracts, applying a simultaneous mordant method with Aluminum sulfate. Aqueous and alcoholic extracts were prepared by percolation and reflux methods in a Soxhlet extractor, respectively. For this purpose, a dyeing bath with L: R=1:50 containing natural fibers, 3% oxalic acid, 5% aluminum sulfate, and 30% dye was used. The dyeing process for both baths took 90 minutes in a bain marie. Color parameters (a*, b*, L*), color strength (K/S), reflective spectrum (R), light fastness, and antibacterial properties of each fiber dyed with dry henna and its extracts were evaluated. To measure the antibacterial properties, 0.03 grams of each dyed fiber was soaked in 1500 microliters of serum containing Staphylococcus aureus and Escherichia coli for 24 hours. Then, by dilution method in plates, Nutrient agar was cultured, and colonies were counted. Quantification of Lawson in the extracts was done using HPLC analysis.

Results: Reflective spectrophotometry showed that all wool and silk fibers dyed with henna and its extracts had positive a* and b* levels, which indicates the red and yellow undertones of the dyed samples. On the other hand, compared to silk fibers, wool fibers dyed with various types of henna dyes showed a higher degree of redness and yellowness and a lower percentage of brightness (L*). The numerical results were consistent with the qualitative and visual evaluations in the optical cabinet. In addition, natural fibers dyed with ethanol extract from henna had the lowest percentage of brightness and reflection and the highest color strength. The ethanol extract produced brilliant golden colors on silk fibers. Fibers dyed with all four types of henna dye had acceptable optical stability (7-8). Wool and silk samples dyed with alcoholic henna extracts, especially ethanol extract, showed a significant inhibition percentage for two types of bacteria, Escherichia coli and Staphylococcus aureus. This is due to secondary metabolites such as Lawson, which was detected using high-performance liquid

Copyright: © 2023 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

chromatography. On the other hand, the antibacterial activity against the second type of bacteria was higher than the first type (76-90%), which is due to the difference in the cell wall structure between the two. The amount of Lawson measured in the ethanol extract of henna was higher than the other two extracts (16%), which confirms the color strength, high stability, and antibacterial properties of this extract on fibers.

Conclusion: The findings of this study proved that the use of henna and its extracts in dyeing natural fibers can be a promising factor in preventing infectious diseases caused by E. coli and S. rause bacteria. On the other hand, it seems that the ethanol extract of henna is more effective than the rest of the tested solvents for color strength, brightness, light fastness, and antibacterial effects. In addition, the ethanol extract of henna created a very beautiful golden color on silk in the presence of aluminum mordant. This is a very popular and rare color in handwoven carpet natural dyeing.

Keywords: Traditional dyeing, natural fibers, henna extract, antibacterial property, Lawson.

ارزیابی مشخصه‌های رنگی و خصوصیات ضد باکتریایی الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با رنگ‌زای حنا (*Lawsonia inermis* L.) و عصاره‌های آن

سعیده رفیعی[۱*]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه فرش، دانشگاه هنر شیراز، شیراز، فارس، ایران، پست الکترونیک: s_rafiei@shirazartu.ac.ir

تاریخ دریافت: خرداد ۱۴۰۱ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: حنا (*Lawsonia inermis* L.) یکی از رنگ‌زاهای گیاهی است که از دوران باستان برای رنگرزی منسوجات استفاده شده است. ماده مؤثره این گیاه لاوسون است که عامل اصلی رنگدهی و خاصیت ضدباکتریایی آن محسوب می‌گردد. از سوی دیگر، سطح منسوجات با الیاف طبیعی ازجمله فرش‌های دستباف در حضور رطوبت و حرارت، سبب رشد و تکثیر باکتری‌ها می‌شود و این موضوع منجر به ایجاد مشکلاتی در دوام، زیبایی ظاهری و بهداشت آن می‌شود. در این تحقیق علاوه بر ارزیابی مشخصه‌های رنگی الیاف رنگرزی شده با حنای خشک و عصاره آبی و الکلی آن، مقایسه اثر ضدباکتری آنها بر روی دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیاکلی نیز بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: برگ گیاه حنای بومی استان فارس در بهار چیده و خشک شد. از الیاف پشم و ابریشم ایرانی، به‌ترتیب با نمره ۴/۵ متریک و ۶۳ دنیر استفاده گردید. با توجه به اینکه استخراج ماده مؤثره در گیاهان به نوع حلال مورد استفاده بستگی دارد، علاوه بر حنای خشک، از سه حلال مختلف آب، اتانول و متانول برای تهیه عصاره حنا استفاده کرده و الیاف مذکور با رنگ‌زاهای مستخرج به روش دندانه‌دهی همزمان با دندانه سولفات آلومینیوم رنگرزی شدند. عصاره آبی و الکلی به‌ترتیب به روش‌های پرکولایسون و برگشتی در دستگاه سوکسله تهیه شد. برای این منظور، از حمام رنگرزی با L:R=1:50 حاوی الیاف طبیعی، ۳٪ اگزالیک اسید، ۵٪ دندانه و ۳۰٪ رنگ‌زا استفاده گردید. فرایند رنگرزی برای هر دو حمام به مدت ۹۰ دقیقه در بن‌ماری حمام انجام شد. پارامترهای رنگی (a*, b*, L*)، قدرت رنگی (K/S)، طیف انعکاسی (R)، ثبات نوری و خاصیت ضد باکتری هر یک از الیاف رنگرزی شده با رنگ‌زاهای حنای خشک، عصاره آبی، اتانولی و متانولی حنا ارزیابی شدند. برای سنجش خاصیت ضد باکتری، مقدار ۰/۰۳ گرم از هر یک از الیاف رنگرزی شده با انواع رنگ‌زاهای مورد نظر در ۱۵۰۰ میکرولیتر سرم حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شدند و بعد با روش رقّت‌سازی در پلیت‌های حاوی نوترینت آگار کشت داده و کلنی‌ها شمارش گردیدند. کمّی‌سازی لاوسون در عصاره‌ها با استفاده از آنالیز HPLC انجام شد.

نتایج: نتایج اسپکتروفوتومتری انعکاسی نشان داد که تمامی الیاف پشم و ابریشم رنگرزی شده با حنا و عصاره‌های آن میزان a* و b* مثبت داشتند که بیانگر ته رنگ قرمز و زرد نمونه‌های رنگرز شده می‌باشد. از سوی دیگر، الیاف پشم رنگرزی شده با انواع رنگ‌زاهای حنای مورد آزمایش، در مقایسه با الیاف ابریشم، میزان قرمزی و زردی بالاتر و درصد روشنایی (L*) کمتری را نشان می‌دهد. نتایج عددی با ارزیابی‌های کیفی و بصری در کابینت نوری مطابقت داشت. علاوه بر این، الیاف طبیعی رنگرزی شده با عصاره اتانولی حنا دارای کمترین درصد روشنایی و انعکاس و بیشترین قدرت رنگی بودند. عصاره اتانولی بر روی الیاف ابریشم رنگ طلایی درخشانی را بوجود آوردند. الیاف رنگ شده با هر ۴ نوع رنگ‌زای حنا از ثبات نوری قابل قبولی (۷-۸) برخوردار بودند. نمونه‌های پشم و ابریشم رنگ شده با عصاره‌های الکلی حنا، به‌ویژه عصاره اتانولی، درصد بازداری قابل توجهی را برای دو نوع باکتری اشرشیاکلی و استافیلو کوکوس اورئوس نشان دادند که علت این موضوع وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند لاوسون می‌باشد که به‌وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا شناسایی شد. از سوی دیگر، فعالیت ضد باکتری در مقابل باکتری نوع دوم بیشتر از نوع اول

(۹۰-۷۶٪) بود که علت آن تفاوت در ساختار دیواره سلولی این دو است. میزان لاوسون اندازه‌گیری شده در عصاره اتانولی حنا از دو عصاره دیگر بیشتر بود (۱۶٪) که تأییدکننده قدرت رنگی، ثبات بالا و خاصیت ضد باکتری این عصاره بر الیاف است.
نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه اثبات کرد که استفاده از حنا و عصاره‌های آن در رنگ‌زای الیاف طبیعی می‌تواند عاملی امیدبخش در پیشگیری از بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌های *E. coli* و *S. areuse* باشد. از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که عصاره اتانولی حنا در بخش قدرت رنگی، درخشندگی، ثبات نوری و اثر ضد باکتری از بقیه حلال‌های مورد آزمایش قوی‌تر عمل کرده است. علاوه بر این، عصاره اتانولی حنا در حضور دندانه آلومینیوم رنگ طلایی بسیار زیبایی بر روی ابریشم ایجاد کرد که رنگ بسیار محبوب و کمیابی در رنگرزی طبیعی فرش دستباف است.

واژه‌های کلیدی: رنگرزی سنتی، الیاف طبیعی، عصاره حنا، خاصیت ضد باکتری، لاوسون.

مقدمه

حضور رنگ در زندگی بشر، بیش از هر چیز برآمده از نوع نیاز روحی اوست. رنگ‌ها در زندگی معنوی و عاطفی انسان‌ها تأثیراتی انکارناپذیر دارند. رنگ در فرش هم دارای اهمیت خاصی است؛ اولین چیزی است که توجه بیننده را به خود جلب می‌کند. تلفیق و هماهنگی یا تضاد بین رنگ‌هاست که این پدیده هنری را زیبایی می‌بخشد و آن را در بین سایر دست‌بافت‌های انسان ممتاز می‌کند (Chitsazian, 2012). بهترین فرش‌ها اگر با رنگ مرغوبی بافته و رنگرزی نشده باشند، در زمان کوتاهی تحت تأثیر نور، شستشو و سایش، رنگ و طرح خود را از دست داده و تبدیل به بافته‌ای بی‌رنگ و رو خواهد شد که ارزش چندانی ندارد (Vaisian, 2013).

استفاده گسترده و بی‌رویه از مواد و رنگ‌های شیمیایی موجب آلودگی شدید محیط زیست می‌شود، در حالی که به سادگی می‌توان از بسیاری گیاهان خودرو که قابلیت رنگ‌دهی دارد، استفاده کرد و هیچ‌گاه با این ضایعات و خطرات مواجه نشد (Yusuf *et al.*, 2012 ؛Bayati, 2018). فرش و سایر دست‌بافت‌های ایرانی، بعد از نفت مهمترین اقلام صادراتی کشور ما را تشکیل می‌دهند. از این رو، گسترش تولید مواد اولیه آنها در داخل کشور، با توجه به کیفیت مرغوب رنگ‌های طبیعی، از یک‌سو می‌تواند از خروج ارز برای تهیه رنگ‌های شیمیایی تا حدود زیادی بکاهد و از سوی دیگر بازار جهانی فرش ایرانی را دوباره پر رونق کند (Jahanshahi afshar, 1996).

رنگ‌زای حنا که در این تحقیق به آن پرداخته شده است، یک رنگ‌زای گیاهی ارزان قیمت و دوستدار محیط زیست است که برای رنگرزی الیاف طبیعی اعم از پنبه (Rehman *et al.*, 2012)، کتان (Sharma *et al.*, 2019)، پشم (Haji, 2019) و ابریشم (Hong, 2011) به صورت خشک یا عصاره (Shaukat *et al.*, 2009) مورد استفاده قرار می‌گیرد. حنا یکی از گیاهانی است که علاوه بر رنگ کردن پوست و موی انسان برای چوب، پشم و چرم دارای خواص درمانی و پزشکی فراوانی می‌باشد. درمان جزام و اگزما، رفع جوش‌های دهان، بهبود سوختگی‌ها، رویاندن موی سر، رفع خارش پوست، اثرهای ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد توموری از خواص این گیاه هستند (Abbasi *et al.*, 2013). اولین مرحله کلیدی در استخراج ترکیبات مؤثره از یک گیاه، نحوه عصاره‌گیری از آن است. زیرا نوع ترکیب استخراج شده، کمّیت و کیفیت آن به شدت تحت تأثیر اندام گیاهی و سیستم‌های حلالی انتخاب شده می‌باشد. بنابراین انتخاب روش مناسب عصاره‌گیری می‌تواند کارایی استخراج مواد مؤثره موجود در گیاه را به‌طور چشمگیری افزایش دهد (Alebeid *et al.*, 2019 ؛Haji, 2019).

از آنجایی که الیاف و پارچه‌ها مکان‌های مناسبی برای رشد میکروب‌ها هستند و این موضوع باعث آسیب زدن به خود منسوجات و مصرف کننده آن می‌شود، مسئله ضد میکروب کردن آنها در دهه اخیر مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. سطح منسوجات در حضور رطوبت و حرارت، سبب رشد و تکثیر باکتری‌ها می‌شود و این

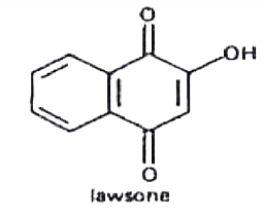
موضوع سبب ایجاد مشکلاتی برای منسوجات و مصرف کننده ازجمله بوی بد، لکه، رنگ‌پریدگی، کاهش استحکام و افزایش عفونت پوستی می‌شود (Ahmadi & Houjeghan, 2022). فرش‌های بافته شده با الیاف طبیعی پشم و ابریشم یکی از منسوجات مصرفی و تزئینی پرکاربرد است که همواره در معرض آلودگی‌های گوناگون از قبیل میکروب‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و بوی نامطبوع قرار می‌گیرد. علاوه بر آن، مسئله شستشوی فرش‌ها نیز به دفعات باعث صرف هزینه بالا و کاهش عمر مفید فرش خواهد شد. رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی فرش منجر به ایجاد مشکلاتی در زیبایی ظاهری و بهداشت آن و در مواردی لکه‌گذاری می‌شود. مشکل‌سازترین میکروارگانیزم‌ها قارچ‌ها و باکتری‌ها هستند. تحت شرایط بسیار مرطوب، کپک‌ها نیز می‌توانند روی منسوجات رشد کنند که به‌عنوان منابع تغذیه برای قارچ‌ها و باکتری‌ها عمل می‌کنند (Shindler & Hauser, 2004).

به‌طور کلی ترکیبات ضد میکروبی بسیاری وجود دارد، مانند (جنتامایسین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، نمک‌ها، استرها، الکل‌ها و...) که از آنها در صنایع متفاوتی استفاده می‌گردد. تمامی این مواد ریشه شیمیایی داشته و خود می‌توانند به منسوج، مصرف کننده و محیط زیست آسیب وارد کنند. در حالی که رنگرزی طبیعی با برخی ترکیبات گیاهی (رنگ دهنده و یا غیر رنگی) می‌تواند خواص ضدباکتری، ضد میکروبی و ضد قارچ را بدون آسیب به محیط زیست حاصل نماید.

پژوهش‌های متعددی در زمینه بهینه‌سازی رنگرزی الیاف طبیعی پشم و ابریشم با رنگ‌زای گیاهی حنا (Javidtash, 2000)، روش‌های استخراج این رنگ‌زا (Singam *et al.*, 2020) و اثر پارامترهای مؤثر بر رنگرزی با ثبات‌های نوری و شستشویی بالا انجام شده است (Yusuf *et al.*, 2012). در زمینه ارزیابی خواص ضد باکتری و ضد قارچ این گیاه بر روی منسوجات رنگ شده تحقیقات اندکی انجام شده که تمرکزی بر روی الیاف مورد استفاده در فرش‌های دستباف نداشته است (Mirjalili *et al.*, 2014؛ Singam *et al.*, 2020). در این تحقیق علاوه بر ارزیابی مشخصه‌های رنگی الیاف طبیعی پرکاربرد در فرش دستباف، روش‌های استخراج این رنگ‌زا و مقایسه اثر ضد باکتری الیاف طبیعی رنگ شده با رنگ‌زای حنا به صورت خشک و عصاره آبی و الکلی بر روی دو باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیاکلی به نمایندگی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی بررسی شد.

معرفی گیاه

حنا گیاهی وابسته به خانواده Lythraceae است که با نام علمی *Lawsonia inermis* خوانده می‌شود. حنا به‌طور متوسط دارای ۸-۷٪ تانن، ۱٪ مواد چرب، ۲/۱٪ اسانس، ۳٪ مواد رزینی و ۲٪ لاوسون (یک ماده رنگی قابل تبلور)، موسیلاژ، رطوبت، گلوکز و مانیتول است. سایر ترکیبات مؤثر موجود در این گیاه عبارت از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کوئینون، کومارین‌ها، گزانتون‌ها و اسیدهای چرب مانند لینولئیک، پالمئتیک و اولئیک اسید می‌باشد. عصاره برگ‌های حنا به‌عنوان آنتی‌بیوتیک طبیعی عمل می‌کند، به‌طوری که می‌تواند گروه گسترده‌ای از باکتری‌ها را از بین برده بدون این که اثرهای جانبی یا مقاومت باکتریایی ایجاد نماید. برگ‌های حنا حاوی ماده‌ای رنگی به نام لاوسون یا هیدروکسی نفتوکینون است که از آن در تولید رنگ‌های نارنجی، قرمز و قهوه‌ای استفاده می‌شود (Khalaf Tabrizi, 1997). در منابع مکتوب طب سنتی خواص متعددی برای حنا ذکر شده است و به قابلیت آن برای درمان بیماری‌های پوستی مختلف اشاره شده است (Mirheidar, 2003). حنا یکی از گیاهان مؤثر در درمان آبله و جذام بوده و به طرق مختلفی در درمان این بیماری‌ها استفاده می‌شده است (Abbasi Damshahri, 2007). مهمترین ماده فعال گیاه حنا، لاوسون (Lawsone) (۲- هیدروکسی، ۱و۴-دی نفتوکینون) است که یک ترکیب رنگی می‌باشد (شکل ۱) (Balai Kahnamooi *et al.*, 2019).



شکل ۱- ساختار شیمیایی لاوسون در رنگینه حنا

Figure 1. Lawson chemical structure in henna dye (Balai Kahnamooi *et al*., 2019)

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 (Azadbakht *et al*., 2016).

مواد و روش‌ها

در این پژوهش الیاف پشم و ابریشم با رنگ‌زای حنا به صورت خشک و عصاره با استفاده از حلال‌های آب، متانول و اتانول در حضور دندانه فلزی سولفات آلومینیوم رنگرزی شده است. رنگرزی پشم در دمای جوش (۱۰۰ °C) و ابریشم در دمای ۷۰ °C به مدت ۹۰ دقیقه انجام شد (Jahanshahi afshar, 1996).

مواد و دستگاه‌ها

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده در این پژوهش عبارت است از برگ گیاه حنای بومی استان فارس که در بهار چیده شده و به صورت پودر در آمد. علاوه بر این، از الیاف پشمی ایرانی با نمره ۴/۵ متریک و ۶۵ تاب در متر و الیاف ابریشمی صمغ‌گیری شده با نمره ۶۳ دنیر تولید شده در گیلان استفاده شد. شـوینده غیریـونی Triton X-100 با خلوص ۱۰۰٪، دندانه آلومینیوم یا زاج سفید، اگزالیک اسید با خلوص ۱۰۰٪ و حلال‌های قلیایی اتانول و متانول با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. از کاغذ صافی ورقه‌ای با تخلخل ۱۱ میکرون استفاده شد و آزمون ضد باکتری با استفاده از دو باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس طبق استاندارد AA T CC ۱۰۰ ۷۰ انجام شد. تمام مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده برای تجزیه‌وتحلیل ماده مؤثره لاوسون (Lawsone) و استاندارد آن از سیگما آلدریچ (دیزنهوفن، آلمان) خریداری شد. استونیتریل درجه HPLC، آب و اسید تری‌فلورواستیک از Merck (دارمشتات، آلمان) تهیه گردید.

از ترازوی AND مدل DJ-V300A برای اندازه‌گیری نمونه‌ها 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 مدل 7000A 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 حنای استان فارس با توجه به حلال‌های بکار رفته استفاده شد.

مراحل آزمایش

در طراحی این آزمایش با توجه به محاسبات انجام شده L:R=1:50 در نظر گرفته شد که نسبت حجم مایع رنگرزی به وزن کالا (Liquor Ratio) می‌باشد. برای آزمایش، دو حمام رنگرزی یکی برای الیاف پشمی و دیگری برای الیاف ابریشمی در نظر گرفته شد که در هر دو حمام حجم کالا (الیاف مذکور) را ۲g در نظر گرفته و با توجه به آن مقدار اسید، دندانه و آب محاسبه شد. بقیه حجم حمام را ۳٪ اسید اگزالیک، ۵٪ دندانه سولفات آلومینیوم، ۳۰٪ رنگ‌زای حنا و آب تشکیل داد. الیاف پشم و ابریشم برای سهولت در رنگرزی و از بین بردن آلودگی‌های آن، پیش از رنگرزی با شوینده شستشو داده و آبگیری شد، سپس حمام‌های مورد نظر را آماده کرده و به مدت ۹۰ دقیقه در بن ماری با دمای جوش برای حمام پشمی و دمای ۷۰°C برای حمام ابریشم قرار گرفت. برای یکنواختی در رنگرزی نیز هر ۱۵ دقیقه یک بار حمام به‌هم زده شد (Rafiei, 2022).

در مرحله عصاره‌گیری رنگرزی، به منظور کاهش میزان خطای ناشی از میزان رنگ‌زای موجود در برگ‌های گیاه حنا و افزایش بازده رنگی آن، عملیات استخراج ماده رنگ‌زا با سه حلال آب، اتانول و متانول به منظور ارزیابی و انتخاب بهترین حلال (هم از جهت قدرت و ثبات رنگی و هم خاصیت ضد باکتری) انجام شد. با این توضیح که ابتدا برگ گیاه حنا آسیاب و از الک با مش۴ عبور داده شد و بعد به منظور استخراج عصاره حنا از روش پرکولاسیون (خیساندن) استفاده گردید. برای تهیه عصاره آبی حنا، برای رنگرزی ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۳ گرم پودر حنا 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. عصاره حاصل تغلیظ شد. عصاره‌های الکلی (اتانولی و متانولی) به روش برگشتی در دستگاه سوکسله تهیه شد. 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 پلیت‌های 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).

جدول ۱- تأثیر حلال‌های مختلف بر بازده استخراج حنا

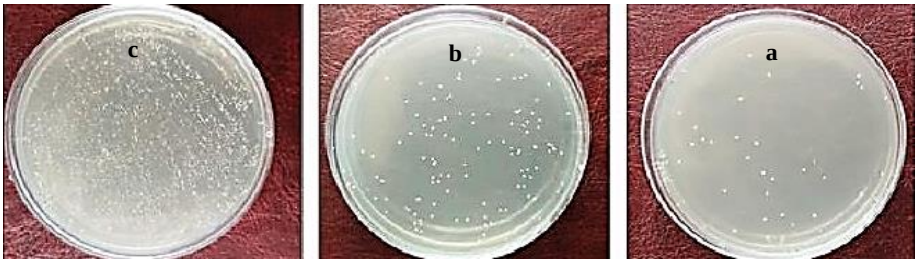
Table 1. Effects of different solvents on henna extraction efficiency

Solvent	Extraction efficiency (%)
Water	51
Ethanol	64
Methanol	59

رنگرزی الیاف پشم و ابریشم حنا در L:R ذکر شده در حمام رنگرزی حاوی اگزالیک اسید، دندانه آلومینیوم، عصاره‌های حنا و حنای خشک انجام شد. حمام‌های کالای ابریشمی در دمای ۷۰°C و کالای پشمی در دمای ۱۰۰°C در بن‌ماری به مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفتند. برای آزمون خاصیت ضد باکتری الیاف رنگ شده، ابتدا دو نوع میکروب اشرشیاکلی (*Escherichia coli*) و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) که منشأ عفونت بوده انتخاب کرده و طبق مراحل زیر کشت میکروب انجام شد.

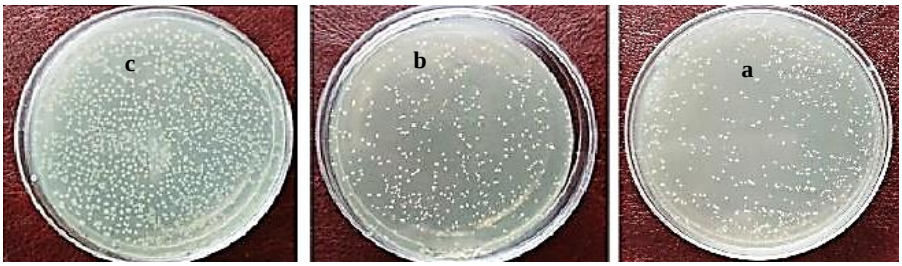
ابتدا ظروف و لوله‌های آزمایش برای استریزه شدن در دمای ۱۲۱°C اتوکلاو قرار گرفت تا سترون شود. برای انجام

این آزمایش، حجم‌های یکسان از هر سوسپانسیون باکتریایی شامل CFU/ml ۱۰^۵ در لوله آزمایش روی نمونه‌ها ریخته شد و در شرایط انکوباتور و در دمای ۳۷°C و به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از آن، با استفاده از پیپت پاستور، میزان یکسانی از هر باکتری 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. مقدار ۰/۰۳ گرم از هر یک از الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با انواع رنگزاهای حنای مورد بحث در ۱۵۰۰ میکرولیتر سرم حاوی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (Shaker) قرار گرفت و بعد با روش رقّت‌سازی در پلیت‌های حاوی نوترینت آگار کشت داده شدند، سپس با دستگاه کلنی کانتر کلونی‌ها شمارش گردید. روش رقّت‌سازی در پلیت یکی از روش‌های رایج برای شمارش میکروارگانیسم‌ها می‌باشد که در این روش به کمک سرم فیزیولوژی یا آب استریل، سوسپانسیون میکروبی تهیه شده و به‌صورت پشت سر هم رقّت‌گیری می‌شود تا جایی که شمارش آنها ممکن گردد. شکل‌های ۲ و ۳ رشد باکتری‌های مورد مطالعه را بر روی نمونه‌های پشمی رنگرزی شده با عصاره‌های آبی و الکلی حنا نشان می‌دهد.



شکل ۲- رشد باکتری ***Escherichia coli*** در نمونه‌های پشمی رنگرزی شده با عصاره‌های حنا: عصاره‌های **a**) متانولی، **b**) اتانولی و **c**) آبی

Figure 2. *Escherichia coli* growth in wool samples dyed with henna extracts: a) methanol, b) ethanol, and c) aqueous extracts



شکل ۳- رشد باکتری ***Staphylococcus aureus*** در نمونه‌های پشمی رنگرزی شده با عصاره‌های حنا: عصاره‌های **a**) متانولی، **b**) اتانولی و **c**) آبی

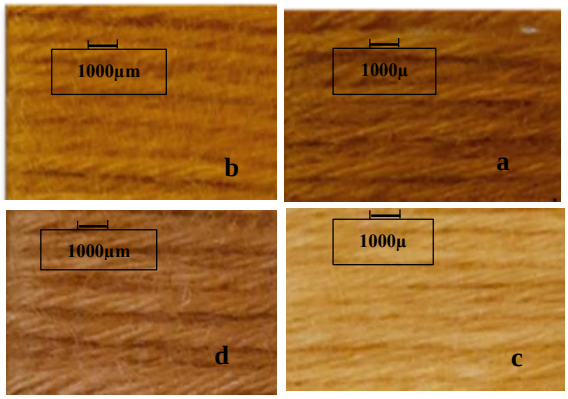
Figure 3. *Staphylococcus aureus* growth in wool samples dyed with henna extracts: a) methanol, b) ethanol, and c) aqueous extracts

برای سنجش مواد سازنده عصاره‌های آبی و الکلی حنا، فرایند استخراج و جداسازی جهت استفاده در کروماتوگرافی گازی به شرح زیر انجام شد: ۰/۵ گرم از حنای خشک و پودر شده به مدت یک شب در ۲۵ میلی‌لیتر EtOH، MeOH و آب (1:50, w/v) خیس شد و بعد عصاره‌ها فیلتر شدند. این روش دو بار دیگر با حلال تازه تا بدست آوردن فیلتر کافی تکرار شد. سپس عصاره‌ها با استفاده از اواپراتور چرخشی در دمای ۴۰°C تغلیظ شدند تا بقایای جامد بدست آید. در نهایت عصاره‌های خام بدست آمده با روش‌های HPLC و GC-Mass آنالیز گردیدند.

کمّی‌سازی لاوسون در عصاره‌ها با استفاده از سیستم HPLC Infinity Agilent 1260 (ایالات متحده آمریکا) مجهز به پمپ انتقال حلال، گاززدا، نمونه‌گیری خودکار و Photo Diode Array detector انجام شد. برای ثبت کروماتوگرام از نرم‌افزار Chemstation استفاده گردید. ستون zorbax C18 برای تجزیه‌وتحلیل استفاده شد. فاز متحرک شامل حلال A (آب + ۰/۱٪ تری فلوئورواستیک اسید) و حلال B (استونیتریل + ۰/۱٪ TFA) بود. کروماتوگرام‌ها در ۲۸۰ نانومتر در شکل ۷ گزارش شدند.

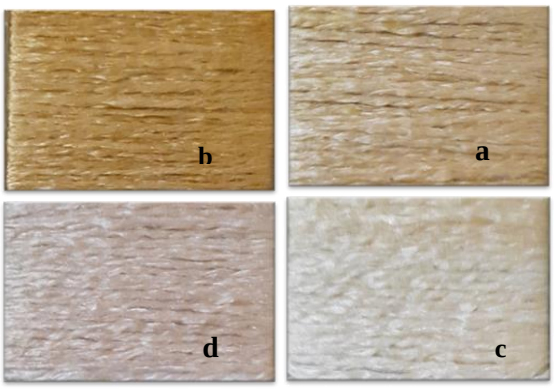
نتایج

در ابتدا، الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با حنا و عصاره‌های آن، برای بررسی مشخصه‌های رنگی ایجاد شده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر انعکاسی مورد ارزیابی و رنگ سنجی قرار گرفتند. در این مرحله پارامترهای رنگی a* و b* و L* که به‌ترتیب عبارت است از: میزان سبزی یا قرمزی، میزان زردی یا آبی و درصد روشنایی الیاف رنگ شده، به‌وسیله این دستگاه بررسی شد. نتایج در شکل‌های ۴ و ۵ قابل مشاهده است.



شکل ۴- تنالیته‌های رنگی ایجاد شده بر روی پشم با: **a**) رنگزای حنای خشک، **b**) عصاره اتانولی حنا، **c**) عصاره متانولی حنا و **d**) عصاره آبی حنا

Figure 4. Color tones created on wool with: a) dry henna dye, b) ethanol henna extract, c) methanol henna extract, and d) aqueous henna extract



شکل ۵- تنالیته‌های رنگی ایجاد شده بر روی ابریشم با: **a**) رنگزای حنای خشک، **b**) عصاره اتانولی حنا، **c**) عصاره متانولی حنا و **d**) عصاره آبی حنا

Figure 5. Color tones created on silk with: a) dry henna dye, b) ethanol henna extract, c) methanol henna extract, and d) aqueous henna extract

برای اندازه‌گیری کمّی ویژگی‌های رنگی الیاف رنگ شده، مؤلفه‌های رنگی و منحنی انعکاس نمونه‌ها در طول موج ۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و قدرت رنگی نمونه‌ها براساس رابطه کیوبلکا مانک در طول موج ۴۰۰ نانومتر بدست آمد.

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

طول‌موج مرئی ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر است. قدرت رنگی الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با رنگ‌زای حنای خشک و عصاره‌های حنا در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- قدرت رنگی عصاره‌های حنا و رنگزای خشک آن در طول موج ۴۰۰ نانومتر

Table 2. Color strength of henna extracts and its dry dye at a wavelength of 400 nm

Sample	Dye	K/S
Silk	Aqueous extract	1.45
Silk	Ethanol extract	3.91
Silk	Methanol extract	1.64
Silk	Dry powder	1.94
Wool	Aqueous extract	4.36
Wool	Ethanol extract	15.46
Wool	Methanol extract	6.66
Wool	Dry powder	11.67

*K/S: Ratio of the absorption coefficient to the emission coefficient of the color (Color strength)

میزان مشخصه‌های رنگی الیاف پشم و ابریشم رنگرزی شده با پودر حنای خشک و عصاره‌های آبی و الکلی آن، در جدول ۳ گزارش شده است. برای این منظور، ۱۰ نقطه متفاوت از سطح رنگ شده هر یک از نمونه‌ها به‌وسیله اسپکتروفتومتر انعکاسی ارزیابی شدند و میانگین مشخصه‌های رنگی a*، b* و L* برای نمونه‌های ذکر شده در جدول ۳ قابل مشاهده است.

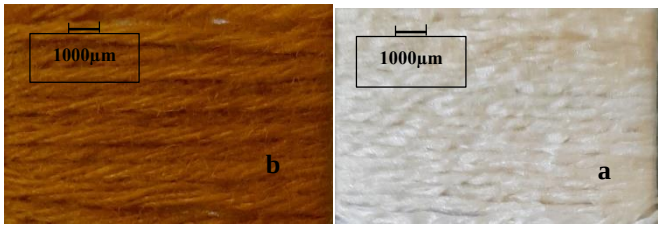
در شکل ۶، الیاف رنگ شده با بیشترین و کمترین درصد روشنایی و قدرت رنگی براساس داده‌های کمّی و کیفی انتخاب شده‌اند.

جدول ۳- پارامترهای رنگی نمونه‌های رنگ شده با عصاره‌ها و رنگزای خشک حنا

Table 3. Color parameters in samples dyed with extracts and henna dry dye

Sample	Dye	a*	b*	L*
Silk	Aqueous extract	5.81	14.91	87.61
Silk	Ethanol extract	5.73	17.44	70.36
Silk	Methanol extract	2.57	27.20	82.92
Silk	Dry powder	5.45	20.92	73.31
Wool	Aqueous extract	11.46	23.20	67.23
Wool	Ethanol extract	11.00	30.29	51.33
Wool	Methanol extract	9.95	29.02	66.51
Wool	Dry powder	13.73	34.22	51.50

a*: Amount of greenness or redness; b*: Amount of yellowness or blueness; L*: Brightness percentage.



شکل ۶- الیاف رنگ شده با: **a**) بیشترین روشنایی و کمترین قدرت رنگی (ابریشم با عصاره متانولی حنا) و **b**) کمترین روشنایی و بیشترین قدرت رنگی (پشم رنگ شده با حنای خشک)

Figure 6. Colored fibers with: a) highest brightness and lowest color strength (silk dyed with methanol extract) and b) lowest brightness and highest color strength (wool dyed with dry henna)

جدول ۴- میزان قرمز-سبزی و زرد-آبی نمونه‌های رنگ شده با عصاره‌ها و رنگزای خشک حنا

Table 4. Red-green and yellow-blue degree in samples dyed with extracts and henna dry dye

b*	a*	Dye	Sample
14.91	5.81	Aqueous extract	Silk
17.44	5.73	Ethanol extract	Silk
27.20	2.57	Methanol extract	Silk
20.92	5.45	Dry powder	Silk
23.20	11.46	Aqueous extract	Wool
30.29	11	Ethanol extract	Wool
29.02	9.95	Methanol extract	Wool
34.22	13.73	Dry powder	Wool

a*: Amount of greenness or redness; b*: Amount of yellowness or blueness

در جدول ۴، میزان دو پارامتر میزان قرمز-سبزیت a* و میزان زرد-آبیت b* نمونه‌های رنگ شده با عصاره و رنگزای خشک حنا با یکدیگر مقایسه شده است. برای این منظور، ۱۰ نقطه متفاوت از سطح رنگ شده هر یک از نمونه‌ها به‌وسیله اسپکتروفتومتر انعکاسی ارزیابی شدند و میانگین مشخصه‌های رنگی a* و b* برای نمونه‌های ذکر شده در جدول ۴ قابل مشاهده است. جدول ۵، میزان میانگین انعکاس نمونه‌های رنگ شده در طول موج ۴۰۰ نانومتر را برای ۱۰ نقطه از سطوح الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با حنا و عصاره‌های آن را برای انتخاب درخشان‌ترین لیف رنگ شده، مقایسه می‌کند.

جدول ۵- انعکاس (در محدوده ۴۰۰ نانومتر) نمونه‌های رنگ شده با عصاره‌ها و رنگزای خشک حنا

Table 5. Reflectance (within 400 nm) in samples dyed with extracts and henna dry dye

Reflectance	Dye	Sample
21.26	Aqueous extract	Silk
10.28	Ethanol extract	Silk
19.67	Methanol extract	Silk
17.50	Dry powder	Silk
6.55	Aqueous extract	Wool
3.04	Ethanol extract	Wool
9.40	Methanol extract	Wool
3.59	Dry powder	Wool

برای اندازه‌گیری ثبات نوری نمونه‌ها، الیاف پشم و ابریشم رنگ شده پس از شست و شو به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه ثبات نوری قرار گرفته و ثبات نوری آنها اندازه‌گیری شد. سپس اختلاف درصد روشنایی و رنگ نمونه‌های قرار گرفته در معرض نور با قسمت‌های پوشیده شده در برابر نور (نمونه شاهد) بررسی گردید. پس از آن رنگ نمونه‌ها را دوباره به‌وسیله دستگاه سنجش رنگ مورد بررسی قرار داده و تغییرات درصد روشنایی آنها بررسی و ثبات نوری به صورت کمّی طبق استاندارد ISO 105-B01:2010 و به‌وسیله معیار آبی که به هشت درجه تقسیم می‌شود (در این سنجش یک ضعیف‌ترین و هشت بهترین حالت است)، اندازه‌گیری و در جدول ۶ گزارش شد.

جدول ۶- روشنایی نمونه‌های رنگ شده با عصاره و رنگزای خشک حنا قبل و بعد از تابش نور جهت تشخیص ثبات نوری

Table 6. Brightness in samples dyed with extract and henna dry dye before and after light irradiation to determine light fastness

Sample	Dye	Light fastness	L*(Before light irradiation)	L*(After light irradiation)
Silk	Ethanol extract	7-8	70.36	75.99
Silk	Methanol extract	7-8	71.12	75.32
Silk	Dry powder	6-7	73.31	74.13
Wool	Ethanol extract	7-8	51.33	62.73
Wool	Methanol extract	7-8	52.72	62.22
Wool	Dry powder	6-7	51.50	53.28

L*: Brightness percentage

برای آزمون خاصیت ضد باکتریایی الیاف رنگ شده، ابتدا دو نوع میکروب اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس که منشأ عفونت بوده انتخاب شده و مورد کشت قرار گرفتند. نتایج حاصل از کشت انواع میکروب‌ها روی تمام نمونه‌ها به صورت درصد بازداری و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شده است.

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

A= تعداد کلنی باکتری اولیه

B= تعداد کلنی باکتری بعد از ۲۴ ساعت

بررسی اثر نوع رنگزای حنا بر روی درصد بازداری رشد میکروب برای دو میکروب آزمایش شده است (جدول ۸). علاوه بر این، در جدول ۷، تعداد متوسط باکتری‌های مورد آزمایش بر روی نمونه‌های الیاف طبیعی رنگ شده با حنای خشک و عصاره‌های آبی و الکلی آن مقایسه شده است.

جدول ۷- تعداد با کتری‌ها روی نمونه‌های رنگ شده با عصاره‌ها و رنگزای خشک حنا بعد از ۲۴ ساعت

Table 7. Bacteria number on samples dyed with extracts and henna dry dye after 24 hours

Sample	*Staphylococcus aureus* (CFU.ml^{-1})	*Escherichia coli* (CFU.ml^{-1})
Silk dyed with dry henna	15300	13600
Wool dyed with dry henna	10700	11000
Silk dyed with aqueous henna extract	1900	3600
Wool dyed with aqueous henna extract	1890	1890
Silk dyed with ethanol henna extract	28	41
Wool dyed with ethanol henna extract	11	32
Silk dyed with methanol henna extract	146	173
Wool dyed with methanol henna extract	142	150
Undyed wool treated with ethanol	980	1020
Undyed wool treated with methanol	1120	1300
Undyed silk treated with ethanol	1600	2530
Undyed silk treated with ethanol	1800	2600

جدول ۸- درصد بازداری رشد باکتری‌ها در نمونه‌های رنگ شده با عصاره‌ها و رنگزای خشک حنا

Table 8. Bacteria growth inhibition percentage in samples dyed with extracts and henna dry dye

Dye	*Staphylococcus aureus* growth inhibition (%)		*Escherichia coli* growth inhibition (%)	
	Wool	Silk	Wool	Silk
Dry powder	51	43	55	43
Aqueous extract	72	51	72	63
Ethanol extract	90	80	85	76
Methanol extract	84	73	78	72

جدول ۹- درصد وزنی و زمان بازداری برخی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌های اتانولی و متانولی حنا

Table 9. Weight percentage and some constituents retention time of ethanol and methanol henna extracts

Number	RT (min)	Compound	Area (%)	
			Ethanol henna extract	Methanol henna extract
1	3.716	Pyrrolidine	0.755	-
2	17.816	2,H-Indene-1,3-dione-2-carboxylic acid, ethyl ester	0.057	3.706
3	18.813	2-Acetylmethylbenzoate	4.228	-
4	20.509	5,6,7,8,Tetrahydro-4H-thieno[3,2-b]indole ,4H-Thieno[3,2-b]indole, 5,6,7,8-tetrahydro-	4.474	0.543
5	26.028	1(Hydroxymethyl)-1-methyl-7-methoxy-1,2-dihydronaphthalene	-	5.307
6	26.949	Tetradecanoic acid, Myristic acid	2.565	0.076
7	28.109	Ethyl 4-(trifluoromethyl)benzoate	3.029	4.228
8	28.115	Neophytadiene	1.1334	1.163
9	31.041	Hexadecanoic acid, Palmitic acid, Pentadecanecarboxylic	8.585	8.123
10	34.334	Linoleic acid,Linoleic, Telfairic acid	6.462	7.380
11	34.439	Octadecenoic acid	14.962	15.624
12	42.43	Di-(2-ethylhexyl)phthalate	44.872	40.880
13	42.447	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	42.447	56.037
14	48.148	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene	0.089	2.588

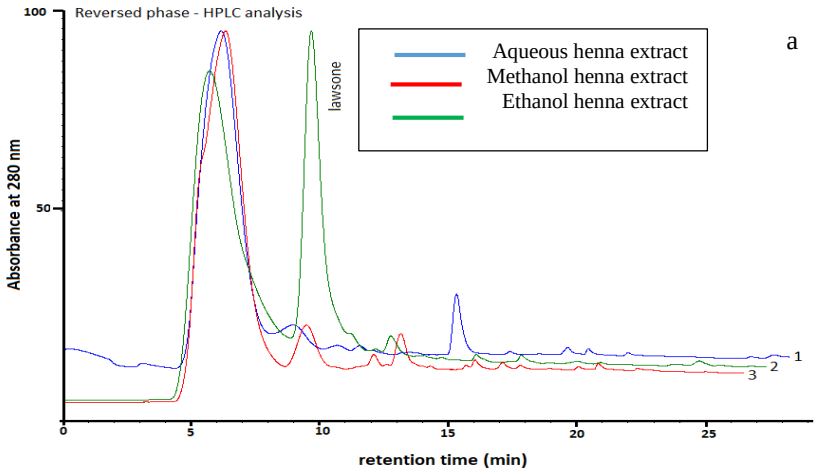
RT: Retention time

روش آنالیز GC-Mass تنها قادر به آنالیز موادی است که نسبتاً فرّار بوده و در محدوده ۳۵۰ تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد از فشار بخار قابل ملاحظه‌ای برخوردار باشد، یا اینکه با افزایش سریع دما اجزاء نمونه بدون آنکه تخریب و یا تجزیه شود، تبخیر گردد. بنابراین بخش عمده مواد معدنی و بسیاری از مواد آلی دیرجوش را نمی‌توان توسط کروماتوگرافی گازی آنالیز کرد. برخی از مواد شناسایی شده در ساختار عصاره‌های مورد پژوهش در جدول ۹ قابل مشاهده هستند.

همانطور که مشاهده می‌شود، ماده مؤثره لاوسون (۲-هیدروکسی، ۲و ۴-نفتوکینون) به علت عدم فرّاریت (دمای جوش ۱۹۵°C-۱۹۲) به‌وسیله آنالیز GC-Mass

شناسایی نشده است که تأییدکننده ثبات رنگی و ماندگاری خاصیت ضد باکتریایی این ماده بر روی منسوج می‌باشد.

شکل ۷ کروماتوگرام‌های حاصل از آنالیز HPLC عصاره‌های مورد استفاده و ماده مؤثره آن (لاوسون) در رنگرزی الیاف طبیعی مذکور را نشان می‌دهد. میزان لاوسون موجود در عصاره‌های آبی و الکلی حنا در جدول ۱۱ قابل مشاهده هستند.



شکل ۷- تجزیه و تحلیل HPLC فاز معکوس در ۲۸۰ نانومتر: (a) عصاره‌ها و (b) ماده استاندارد لاوسون

Figure 7. Reversed phase HPLC analysis at 280 nm: (a) extracts and (b) lawsone standar

جدول ۱۰- محتوای لاوسون در عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی حنا

Table 10. Lawsone content in ethanol, methanol, and aqueous extracts of henna

Extract type	Area (%)	$mg.l^{-1}$ of extract
Ethanol extract	79.836	15.91
Methanol extract	13.118	2.49
Aqueous extract	7.044	1.33

بحث

قدرت رنگی الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با حنا که از طریق جایگذاری مقدار انعکاس رابطه کیوبلکا مانک بدست آمد، نشان داد که بیشترین قدرت رنگی متعلق به نمونه پشمی رنگ شده با عصاره اتانولی و کمترین قدرت رنگی متعلق به نمونه ابریشمی رنگ شده با عصاره آبی است (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 و با نتایج بدست آمده توسط Nouri و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد. 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 (Rafiei, 2022).

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 ۳ نشان می‌دهد که تمامی الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با حنا و عصاره‌های آن میزان a* و b* مثبت داشتند که بیانگر ته رنگ قرمز و زرد نمونه‌های رنگ شده می‌باشد.

الیاف پشم رنگرزی شده با انواع رنگ‌زاهای حنای مورد آزمایش، در مقایسه با الیاف ابریشم، میزان قرمزی و زردی بالاتر و درصد روشنایی (L*) کمتری را نشان می‌دهند. نتایج عددی با ارزیابی‌های کیفی بصری در کابینت نوری مطابقت دارد. به‌طور خلاصه، نمونه پشمی رنگ شده با رنگ‌زای خشک حنا بیشترین قرمزی و نمونه ابریشم رنگ شده با عصاره متانولی حنا کمترین ته رنگ قرمز را هم در مقایسه چشمی و هم اسپکتروفتومتری دارند. از سوی دیگر، بیشترین ته رنگ زرد متعلق به الیاف پشم رنگ شده با پودر حنای خشک است، در حالی که ابریشم رنگ شده با عصاره آبی حنا حداقل میزان ته رنگ زردی را دارد (جدول ۴).

بررسی نتایج مقایسه میانگین انعکاس ابریشم و پشم رنگ شده با رنگ‌زاهای مختلف حنا، در جدول ۵، نشان می‌دهد که الیاف ابریشم در شرایط رنگرزی یکسان، اصولاً انعکاس بیشتری از خود نشان می‌دهند که به علت مورفولوژی خاص ابریشم، ساختار مولکولی منظم و سطح مقطع مثلثی شکل الیاف آن می‌باشد. از سوی دیگر، طبق داده‌های این جدول، در هر دسته از الیاف رنگ شده، نمونه‌های 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. با توجه به تصاویر نمونه‌های رنگی، الیاف ابریشم رنگ شده با عصاره متانولی حنا، بیشترین روشنایی و کمترین قدرت رنگی و الیاف پشم رنگ شده با عصاره اتانولی حنا کمترین روشنایی و بیشترین قدرت رنگی را برخوردار هستند (شکل ۴). این نتیجه با یافته‌های سایر محققان همخوانی دارد (Alebeid *et al.*, 2019؛ Ahmadi & Houjeghan, 2022).

مطابق داده‌های جدول ۶ نمونه‌های رنگ شده با عصاره اتانولی به نسبت رنگ‌زای خشک پس از تابش نور دارای L* یا روشنایی بیشتری هستند که نشان از جذب نور بیشتر نمونه‌های رنگ شده با عصاره دارد. با توجه به داده‌های این جدول، مشاهده می‌شود که نمونه‌های رنگ شده با عصاره به نسبت رنگ‌زای خشک، کمی رنگ پریدگی بیشتری داشته‌اند، ولی به‌طور کلی هر چهار نمونه ثبات نوری قابل قبولی داشتند.

همانطور که در شکل‌های ۲ و ۳ ملاحظه می‌گردد تمام نمونه‌های رنگرزی شده با عصاره‌های مختلف، فعالیت ضدباکتری مناسبی را از خود نشان می‌دهند. به این ترتیب قابلیت رنگ‌زای طبیعی حنا در ضد باکتری نمودن الیاف طبیعی پشم و ابریشم مورد تأیید قرار می‌گیرد. علت این موضوع را می‌توان چنین توضیح داد که همان گونه که نتایج حاصل از آنالیزهای HPLC و GC-Mass نشان می‌دهد، تحت شرایط در نظر گرفته شده در این پژوهش، عصاره‌های حنا علاوه بر دارا بودن ماده مؤثره لاوسون دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تانن‌ها می‌باشد (جدول ۱۰). 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.

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. در مطالعات مختلف اثر ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف گیاه حنا با حلال‌های گوناگون بررسی شده است. محققان معتقدند که این گیاه به دلیل دارا بودن مقادیر بالایی از تیمول و کارواکرول قدرت زیادی در مهار پاتوژن‌های گیاهی از قارچ‌ها و باکتری‌های مولد بیماری‌ها از خود نشان می‌دهد (Muhammad & Muhammad, 2005؛ Habbal *et al.*, 2005).

از سویی تحقیقات نشان داده است که ترکیبات فنلی 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. از سوی دیگر،

پیوند میان تانن‌ها با پروتئین‌های موجود در باکتری‌ها منجر به تشکیل کمپلکس‌های پایداری می‌گردد که صورت‌بندی ساختار باکتری‌ها را تغییر داده و از تکثیر باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. به‌طوری که، وجود گروه‌های کربوکسیل در اسیدهای آمینه آسپارتیک و گلوتامین موجود در ماکرومولکول‌های پروتئینی سازنده الیاف پشم و ابریشم، امکان اتصال مواد ضدمیکروبی، ضد قارچ و ضد بید را در این منسوجات افزایش می‌دهد (Freddi *et al*., 2001؛ Hee Yeon *et al*., 2007).

همچنین، نتایج نشان می‌دهد که تحت شرایط در نظر گرفته شده در این پژوهش، فعالیت ضد باکتری عصاره‌های حنا 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 مولکول‌های خارجی عمل می‌کنند.

جدول‌های ۸ و ۹ درصد بازداری رشد باکتری *S. areuse* و *E. coli* را در نمونه‌های پشم و ابریشم رنگ شده با انواع رنگ‌زای حنا نشان می‌دهد. هر دو نوع الیاف پشم و ابریشم رنگ شده با انواع رنگ‌زاهای حنا، درصد بازداری قابل توجهی را برای این دو نوع باکتری نشان می‌دهند. از میان تمام نمونه‌ها، الیاف پشم رنگ شده با عصاره‌های اتانولی و متانولی حنا حداکثر خاصیت ضد باکتری را نشان می‌دهند.

در این مقاله به مقایسه مشخصه‌های رنگی و خاصیت ضد باکتریایی الیاف پشم و ابریشم رنگرزی شده با عصاره‌های آبی و الکلی حنا و رنگ‌زای خشک آن پرداخته شد. حنا رنگ‌زایی طبیعی است که خاصیت ضد باکتری بسیار قوی دارد و قابل حل در حلال‌های متفاوتی مانند آب، اتانول و متانول است. در این پژوهش، از انحلال این رنگ‌زا در حلال‌های ذکر شده، عصاره‌هایی با قابلیت رنگدهی متفاوتی از این گیاه ایجاد شد. بررسی‌های اسپکتروفتومتری نمونه‌های رنگ شده نشان داد که تمام رنگ‌زاهای مختلف حنای مورد استفاده مقادیر a* و b* را در بازه مثبت نشان می‌دهد که نشان از وجود ته رنگ قرمز و زرد نمونه‌های رنگ شده دارد. علاوه بر این، عصاره اتانولی حنا در حضور دندانه آلومینیوم رنگ طلایی بسیار زیبایی بر روی ابریشم ایجاد کرد که رنگ بسیار محبوب و کمیابی در رنگرزی طبیعی فرش دستباف است. نتایج حاصل از ارزیابی ثبات نوری نشان داد که هر چهار نمونه مورد ارزیابی از ثبات نوری قابل قبول و خوبی برخوردار هستند. یافته‌های این مطالعه استفاده از حنا و عصاره‌های آن را به‌عنوان یک ماده رنگ‌زای ضد باکتری مناسب بر روی الیاف طبیعی پیشنهاد می‌نماید و به نظر می‌رسد که این رنگ‌زای طبیعی می‌تواند عامل امیدبخش در پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌های مورد آزمایش *E. coli* و *S. areuse* باشد. از سوی دیگر، به نظر می‌رسد حلال اتانول در عصاره‌گیری حنا در بخش قدرت رنگی، درخشندگی، ثبات نوری و اثر ضد باکتری از بقیه حلال‌های مورد آزمایش قوی‌تر عمل کرده است.

با توجه به اینکه آزمایش‌های انجام شده در حضور یک دندانه ثابت (دندانه آلومینیوم یا زاج سفید) و با غلظت‌های مساوی از رنگ‌زاهای مختلف حنا انجام شده است، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده اثر دندانه‌های مختلف معدنی و گیاهی، اثر غلظت‌های دیگر رنگ‌زای حنا و حلال‌های دیگر نیز بر مشخصه‌های رنگی و خاصیت ضد باکتری الیاف طبیعی بررسی شود. علاوه بر این، پیشنهاد می‌شود متابولیت‌های ثانویه دخیل در کنترل باکتری حنا نیز ارزیابی شود. با توجه به خاصیت ضد باکتری قابل توجه ایجاد شده در الیاف طبیعی رنگ شده با حنا در این پژوهش، پیشنهاد می‌گردد که اثر مهارکنندگی عصاره‌های حنا روی سایر باکتری‌های مضر نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری و حمایت مادی و معنوی مسئولان محترم دانشگاه هنر شیراز کـه امکـان انجام این پژوهش را فراهم کردند، قدردانی می‌شود.

References

- Abbasi Damshahri, R., 2007. Henna in Hormozgan. Culture of the Iranian people, 11: 120-135.
- Abbasi, M., Tatian, M., Tamratash, R. and Fattahi, B., 2013. A Study of Medicinal Plants of Lashkar Protected Area in Malayer. The First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, Hamedan, Iran, 10 October: 12.
- Ahmadi, Z.G. and Houjeghan, F., 2022. Assessment of antibacterial, antimicrobial, and colorimetric properties of cotton and woolen yarns dyed with some plants extracts. Textile & Leather Review, 463-483.
- Alebeid, O.K., Pei, L., Zhou, W. and Wang, J., 2019. Sustainable wool fibers dyeing using henna extract in non-aqueous medium. Environmental Chemistry Letters, 18: 489-494.
- Azadbakht, M., Hosseini, A. and Fakhri, M., 2016. The need to standardize medicinal plant extracts in research and how to do it. Razi Medical Sciences (Journal of Iran University of Medical Sciences), 152(23): 8-17.
- Balai Kahnamooi, M., Bozorgi, M., Khanavi, M., Shams Ardakani, M., Akbarzadeh, T., Saeedi, M. and Haji Mahmoudi, M., 2019. Investigation of henna plant in Iranian traditional medicine and new studies. Traditional medicine of Islam and Iran, 10(1): 57-69.
- Bayati, Sh., 2018. Dyeing and stability properties of henna on woolen fabric. 11th National Conference on Textile Engineering of Iran, Guilan, Rasht, 9 May: 8.
- Chitsazian, A., 2012. Dye and dyeing in Kashan carpet. Kashan Shenasi, 5(2): 116-135.
- Freddi, G., Arai, T., Colonna, G.M., Boschi, A. and Tsukada, M., 2001. Binding of Metal Cations to Chemically Modified Wool and Antimicrobial Properties of the Wool-Metal Complexes". Applied Polymer Science, 82: 3513-3519.
- Habbal, O.A., Al-Jabri, A.A., El-Hag, A.H., Al-Mahrooqi, Z.H. and Al-Hashmi, N.A., 2005. In-vitro antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* Linn (henna). A pilot study on the Omani henna. Saudi Medical Journal, 26(1): 69-72.
- Haji, A., 2019. Natural dyeing of wool with henna and yarrow enhanced by plasma treatment and optimized with response surface methodology. The Journal of The Textile Institute, 111: 467-475.
- Hee Yeon, K., Jong Hoon, K., Soon Chul, K. and Sung Hoon, J., 2007. A study on multifunctional wool textiles treated with nano-sized silver. Journal of Materials Science, 42: 8020-8024.
- Hong, L., De Feng, Z. and Rui, L., 2011. Dyeing of Natural Dyestuff Extracted from Henna to Silk Fabric. Advanced Materials Research, 331: 302-305.
- Jahanshahi Afshar, V., 1996. The process and methods of dyeing fibers with natural dyes, Tehran University of Arts, Tehran, 264p.
- Javidtash, I. and Roshan Del, L., 2000. Revival of traditional vegetable dyeing using scientific methods on natural wool and silk fibers. Research and Construction, 13: 57-63.
- Mirheydar H., 1997. Plant Breeding, Plant Use in the Prevention and Treatment of Diseases, Volume 3, Office of the Publishing of Islamic Culture, Tehran, 548p (In Persian)
- Mirjalili, M., Karimi, L., Paydar, H. and Chizarifard, Gh., 2014. Effect of henna natural dye on antibacterial properties of dyed nylon fabric with various mordants. Iranian Journal of Organic Chemistry, 6: 1389-1395.
- Khalaf Tabrizi, M.H., 1997. Borhane Ghate. Amirkabir Publications, Tehran, 552p.
- Muhammad, H.S. and Muhammad, S., 2005. The use of *Lawsonia inermis* Linn (henna) in the management of burn wound infections. African Journal of Biotechnology, 4: 934-937.
- Nouri, L., 2012. Dyeing wool with natural yellow dye extracted from spark. 8th National Conference of Iranian Textile Engineering, Yazd, 8 May: 6.
- 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: 1-17.
- Rehman, F., Adeel, Sh., Qaiser, S., Bhatti, I., Shahid, M. and Zuber, M., 2012. Dyeing behavior of gamma irradiated cotton fabric using Lawson dye extracted from henna leaves (*Lawsonia inermis*). Radiation Physics and Chemistry, 81(11): 1752-1756.
- Sharma, A., Kadam, S., Mathur, P., Islam, S. and Sheikh, J., 2019. Re-using henna natural dyeing wastewater for coloration and multifunctional finishing of linen fabric. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 11: 17-22.
- Shaukat, A., Tanveer, H. and Rakhshanda, N., 2009. Optimization of alkaline extraction of natural dye from Henna leaves and it's dyeing on cotton by exhaust method. Journal of Cleaner Production, 17: 61-66.
- Shindler, W.D. and Hauser, P.J., 2010. Chemical finishing of textiles, Mortazavi. M., Kamali

Moghadam. M., Safi, S., Arkan Danesh publication, Tehran, 292p.
- Singam, T., Rupashinii, AP., Noraini, M., Rashid, A., Hani, A., Nasir, S., Ibrahim, S., Roslan, M., Huzaisham, N., Athirah, N., Fodzi, M. and Haikal, M., 2020. A Review on Characteristics and Potential Applications of Henna Leaves (*Lawsonia inermis*). Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, 17(2-3): 603-612.
- Vaisian, S.M., 2014. Plant dyeing and strategies to improve its quality. The third premium carpet festival, Iranian Carpet Scientific Association, Tehran, 28 February.
- Yusuf, M., Ahmad, A., Shahid. M., Khan, M,. Khan. Sh., Manzoor, N. and Mohammad, F., 2012. Assessment of colorimetric, antibacterial and antifungal properties of woolen yarn dyed with the extract of the leaves of henna (*Lawsonia inermis*). Journal of Cleaner Production, 27: 42-50.