

خالص سازی اولئوصمغ آنگوزه (فرولا آسافوئیتید) جهت تولید نانوالیاف با پتانسیل ضدمیکروبی توسط تکنیک الکتروریسی

سعیده جعفری^۱، عبدالله همتیان سورکی^۲، صفورا پشنکه^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه جهرم، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار و عضو هیات علمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه جهرم، جهرم، ایران. پست الکترونیکی: a.hematian@jahromu.ac.ir

۳- استادیار و عضو هیات علمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۳

چکیده

سابقه و هدف: صمغ استخراج شده از ریشه فرولا آسافوئیتید دارای خواص ضدقارچ، ضد دیابت، ضد سرطان، ضد التهاب و ضد ویروسی است و شامل ترکیباتی مانند قندها، کومارین‌ها و پلی‌سولفیدها می‌باشد. این پژوهش با هدف خالص‌سازی بخش محلول در آب صمغ آنگوزه و بررسی خواص ضدمیکروبی آن و امکان استفاده از آن در تولید پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر با تکنیک الکتروریسی، انجام شد.

مواد و روش‌ها: پس از تأیید حضور ترکیبات زیست‌فعال با کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی و اثبات خاصیت ضدمیکروبی صمغ خالص آنگوزه با روش انتشار دیسک، نانوالیاف صمغ آنگوزه و پلی‌اتیلن اکساید با الکتروریسی تهیه و اثرات ضدمیکروبی آن‌ها بررسی شد. دو درصد پلی‌اتیلن اکساید به عنوان کمک فرآیند الکتروریسی (Co-Spinning Agent) به محلول صمغ آنگوزه اضافه شد.

یافته‌ها: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که الکتروریسی مخلوط صمغ خالص آنگوزه و پلی‌اتیلن اکساید به‌طور موفقیت‌آمیز انجام شده و نانوالیاف یکنواخت و بدون گویچه با قطر میانگین ۴۸۲ نانومتر تشکیل شده است. بیشترین تأثیر ضدمیکروبی نانوالیاف آنگوزه-پلی‌اتیلن اکساید در آزمون انتشار دیسک، بر *آسپرژیلوس نایچر* با قطر ناحیه عدم رشد ۲۰،۶۷ میلی‌متر مشاهده شد. نتایج نشان داد که صمغ خالص آنگوزه به‌تنهایی قابلیت الکتروریسی ندارد و استفاده از پلی‌اتیلن اکساید برای تولید نانوالیاف ضدمیکروبی ضروری است. آزمون انتشار دیسک نشان داد که نانوالیاف ترکیبی از صمغ آنگوزه و پلی‌اتیلن اکساید فعالیت ضدمیکروبی قابل توجهی علیه میکروارگانیسم‌های هدف دارند.

نتیجه‌گیری: صمغ خالص آنگوزه می‌تواند به عنوان یک پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر با خاصیت ضدمیکروبی بالا، به عنوان یک جزء هیدروکلوئیدی در تولید پوشش‌ها و بسته بندی‌های خوراکی زیست‌تخریب‌پذیر و فعال استفاده شود.

واژگان کلیدی: پلی‌اتیلن اکساید، خاصیت ضد قارچی، انتشار دیسک، الکتروهیدرودینامیک، اولئوصمغ بومی

پیام‌های اصلی

- بخش محلول در آب اولئوصمغ آنگوزه خاصیت ضد میکروبی بالایی دارد.
- پلی‌اتیلن اکساید به عنوان کمک فرآیند الکتروریسی، قابلیت تولید نانوالیاف از صمغ خالص آنگوزه را امکان‌پذیر می‌نماید.
- نانوالیاف حاصل از صمغ خالص آنگوزه و کمک فرایند پلی‌اتیلن اکساید، خاصیت ضد میکروبی بالایی بر علیه قارچ‌ها، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارند.

مقدمه

استفاده در صنایع بسته بندی، علاقه فزاینده‌ای به طراحی و تولید مواد تجزیه پذیر و سازگار با محیط زیست برای بسته‌بندی

امروزه در پاسخ به نگرانی‌ها مبتنی بر آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از پلاستیک‌ها و پلیمرهای دیرتجزیه‌پذیر مورد

مواد غذایی، در بین محققین دیده می‌شود. در همین راستا، مواد الکترورسی شده مبتنی بر پلیمرهای زیستی، به ویژه پلی ساکاریدهایی مانند کیتوزان، نشاسته و سلولز به عنوان جایگزین‌های قابل قبولی برای انواع پلیمرهای مصنوعی پیشنهاد شده‌اند که علاوه بر زیست تخریب‌پذیر بودن، از ویژگی‌های ممانعت‌کنندگی و مقاومت‌های فیزیک و حرارتی بالایی نیز برخوردار هستند (۱). فیلم‌ها و پوشش‌های ضد میکروبی خوراکی که حاوی اسانس‌ها و عصاره‌های طبیعی هستند؛ یک نوآوری در بسته بندی مواد غذایی محسوب می‌شوند. خصوصیتی شامل زیست تجزیه پذیر بودن، رهایش تدریجی ترکیبات زیست فعال، کاهش خروج رطوبت از مواد غذایی و جلوگیری از رهاشدن ترکیبات معطر، مزایای استفاده از این نوع بسته بندی‌ها می‌باشد (۲). اولئوصمغ آغوزه، یک پلی‌ساکارید غنی از ترکیبات فنولی می‌باشد که قابلیت ایجاد یک ماده بسته بندی سازگار با محیط زیست و با خواص عملکردی بالا را دارا می‌باشد. از صمغ رزینی استخراج شده از ریشه‌ی فرولا آسافوئیتیدا (آغوزه) در بسیاری از کشورها به عنوان داروی گیاهی استفاده می‌شود. این صمغ رزینی دارای فعالیت ضد قارچ، ضد دیابت، ضد سرطان، ضد تورم و التهاب و ضد ویروسی می‌باشد. دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات شیمیایی مانند قندها، کومارین‌های سسکوئی‌ترین و پلی‌سولفیدها از این گیاه جدا شده است (۳). امروزه برای استخراج ترکیبات موثره از بافت‌های گیاهی از روش‌های مختلف استخراج همچون استخراج با حلال‌های قطبی و غیرقطبی (۴)، استخراج با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی (۵)، استخراج با آب زیر بحرانی (۶)، استخراج با کمک امواج فراصوت (۷)، استخراج با کمک امواج مایکروویو (۸) و استخراج با روش‌های نوین غیر حرارتی (۹) استفاده می‌شود. اولئوصمغ آسافوئیتیدا که یک اولئورزین حاصل از ریشه گیاه می‌باشد؛ از طریق استخراج الکلی و سپس انحلال در آب استخراج و خالص سازی می‌شود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این اولئوصمغ با روش‌ها و آزمون‌های رنگ سنجی، اسپکتروفتومتری تبدیل فوریه مادون قرمز، کروماتوگرافی گازی-اسپکتروفتومتری جرمی تعیین شده است. این اولئوصمغ اساساً متشکل از کربوهیدرات‌ها با توزیع مونوساکاریدی گالاکتوز، آرابینوز، رامنوز و آرابینوگالاکتون می‌باشد (۱۰). در گونه‌ی آسافوئیتیدا، علاوه بر آلفاپاینین، ترکیبات گوگرددار همچون پروپینیل بوتیل دی سولفید و متیل پروپینیل دی سولفید نیز یافت شده است (۱۱).

الکترورسی یک فرآیند الکترویهیدرودینامیک ارزان قیمت با کارایی و راندمان زیاد برای تولید پلیمرهایی با ابعاد میکرون،

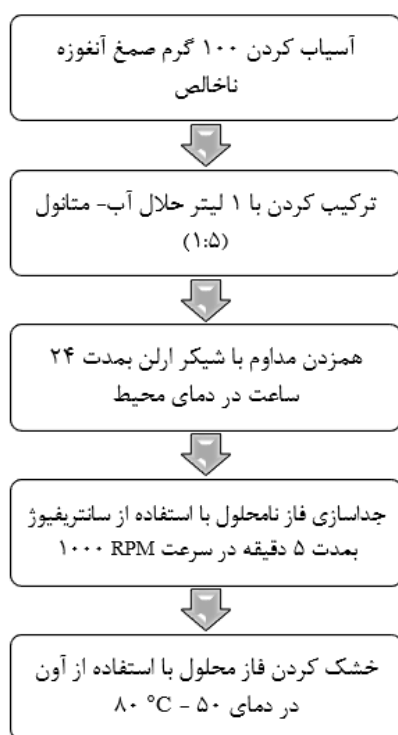
زیرمیکرون (Sub-micron) یا فوق نازک (Ultra-thin) و نانو می-باشد. الیاف حاصل از روش الکترورسی دارای دانسیته کم، تخلخل زیاد و منافذی با اندازه‌های متنوع هستند (۱۲). با هدف انجام موفق فرآیند الکترورسی صمغ‌های کربوهیدراتی، پارامترهای مختلفی همچون ساختار مولکولی صمغ، حلالیت در آب یا حلال‌های آلی، ترکیب و پیوستگی پلیمر-پلیمر باید ویژگی‌های صمغ در نظر گرفته شود. بنابراین به منظور دستیابی به قابلیت الکترورسی صمغ‌ها، می‌توان از راهکارهای اختلاط، کمک فرآیندهای پلیمری، مواد حامل (Carrier materials) و ایجاد کننده‌ی اتصالات عرضی (Crosslinking materials) استفاده نمود (۱۳). توانایی پلی اتیلن اکساید (PEO) Poly (Ethylene Oxide) به عنوان یک کمک فرآیند الکترورسی به اثبات رسیده است. با توجه به وزن مولکولی زیاد، قابلیت انحلال در آب و سایر حلال‌های قطبی و همچنین عدم سمیت پلی اتیلن اکساید، می‌توان از آن در تولید یک محلول قابل الکترورسی از صمغ‌ها، بهره گرفت (۱۴). پلی اتیلن اکسید یک پلیمر سنتزی زیست‌تخریب‌پذیر، سازگار با محیط زیست و محلول در آب است و همچنین یک کمک فرآیند کارآمد برای افزایش قابلیت الکترورسی پلیمرهای مختلف از جمله پلی لاکتیک اسید، ترکیب آلژینات/پکتین، ایزوله پروتئین سویا، ایزوله پروتئین آب پنیر، کنسانتره پروتئین میکروجلبک اسپیرولینا و آلژینات سدیم می‌باشد (۲۱-۱۵). این پلیمرهای همزمان الکترورسی شده (co-electrospun polymers) را می‌توان قبل از شروع فرآیند الکترورسی یا در حین الکترورسی، به یک سیال همگن تبدیل کرد (۲۲). Tajfiroozeh و همکاران (۲۰۲۳) با استفاده از روش الکترورسی، یک غشای نانوکامپوزیت متشکل از نانوالیاف کیتوزان-پلی اتیلن اکساید محتوی نایسین و گالیک اسید تولید کردند که با توجه به خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی این غشاء، برای بسته بندی مواد غذایی استفاده گردید (۲۳). نانوالیاف و پوشش‌های به دست آمده از روش‌های الکترورسی و الکترواسپری دارای مزایای مختلفی از جمله ظرفیت بالای نگهداری ترکیبات زیست فعال، و توانایی واکنش سریع نسبت به پارامترهای درونی (pH، فعالیت آبی، EH) و ترکیبات شیمیایی ماده غذایی (و بیرونی مواد غذایی (شرایط نگهداری (دما، اتمسفر بسته بندی) و آلودگی میکروبی اولیه) به دلیل سطح زیاد و رهایش قابل کنترل می‌باشند. همچنین با توجه به قطر اندک نانوالیاف، آنها یک مانع و سد بسیار کارآمد در برابر ویروس‌ها و میکروارگانیسم‌ها به حساب می‌آیند.

اولئوصمغ گیاه آغوزه یک پلیمر سبز (Green Polymer) می‌باشد که با توجه به زیست تجزیه‌پذیر و (Generally GRAS)

روش‌ها

خالص سازی اولئوصمغ آنگوزه

پس از حذف ناخالصی‌هایی همچون سنگ، خاک و بقایای گیاهی، اولئوصمغ آنگوزه به روش ایوبی و همکاران (۱۳۹۳) و با استفاده از حلال آبی - الکلی مطابق با فلوچارت زیر خالص سازی شد و جزء محلول در آب آن به عنون صمغ خالص آنگوزه جداسازی شد (شکل ۲) (۲۴).



شکل ۲. فرآیند خالص سازی اولئوصمغ آنگوزه

شناسایی ترکیبات زیست فعال صمغ آنگوزه به روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (Gas Chromatography- Mass Spectrometry)

شناسایی ترکیبات زیست فعال موجود در صمغ خالص آنگوزه با استفاده از کروماتوگرافی گازی مدل 7890B GC Agilent (USA) مجهز به آشکارساز طیف سنجی جرمی مدل ۵۹۷۷ B MSD انجام گردید. برنامه دمایی آون و شرایط آنالیز دستگاهی بدین صورت بوده است: حداکثر دمای آون ۳۰۰ °C، شروع با دمای ۶۰ °C، افزایش دمای ۶۰ °C/min تا ۲۴۰ °C، افزایش دمای ۲۰ °C/min تا ۲۴۰ °C، حجم تزریق محلول متانولی صمغ: یک میکرولیتر، حجم سرنگ ۱۰ : میکرولیتر، سرعت جریان : ۳۰۰ μL/min، مدت زمان آنالیز: یک ساعت، گاز حامل: هلیوم، دمای انژکتور ۲۴۰ °C، نسبت تقسیم ۱:۳۰، طیف سنج جرمی در حالت یونیزاسیون الکترون (۷۰eV) عمل کرد.

میکروبی (Recognized As Safe) بودن و همچنین دارا بودن خاصیت ضد میکروبی، هیدروکلوئیدی مناسب جهت تولید یک پوشش ضد میکروبی است. از طرفی علیرغم انجام پژوهش‌های مختلف در زمینه استفاده از فیلم‌های خوراکی تولید شده به روش ریخته گری مذاب (Casting) جهت پوشش‌دهی و بسته بندی مواد غذایی، پژوهش‌اندکی در زمینه کاربرد الکتروریسی در تولید پوشش‌های فعال، خوراکی و زیست تخریب پذیر با استفاده از صمغ‌های بومی انجام شده است. از همین رو با توجه به قابلیت‌های بالای فیلم‌های تولید شده به روش الکتروریسی نسبت به فیلم‌های تولید شده به روش ریخته گری مذاب، این پژوهش با هدف بررسی قابلیت الکتروریسی صمغ خالص آنگوزه و امکان سنجی تولید یک پوشش و فیلم ضد میکروبی از نانوالیاف و همچنین بررسی پروفایل ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی آن به عنوان یک پلیمر زیست تخریب پذیر انجام شد.

• مواد و روش‌ها

مواد

اولئوصمغ فرولا / آسافوئیتیدا (آنگوزه) از ارتفاعات زاگرس در استان فارس - بخش لارستان جمع آوری شد (شکل ۱). پلی اتیلن اکساید با میانگین وزن پلیمری ۹۰۰۰۰۰ (۹۰۰ کیلو دالتون) و توئین ۸۰ از نمایندگی شرکت سیگما آلدریج (سنت لوئیس، امریکا) خریداری گردید. اتانول، متانول و استیک اسید از نمایندگی شرکت مرک خریداری شد. در تهیه محلول‌ها از آب دوبار تقطیر شده استفاده شد. سویه‌های استاندارد میکروب‌های مورد آزمایش در این تحقیق به نام /شریشیاکلائی (ATTC 35218)، /استافیلوکوکوس /اورئوس (ATTC 6538) و کپک /آسپرژیلوس نایجر (ATTC 6275) از سازمان پژوهش‌های صنعتی ایران (تهران، ایران) خریداری و سوسپانسیون‌های موردنظر آماده سازی شدند. از محیط کشت‌های MHA (Mueller Hinton agar) و SDA (Sabouraud Dextrose Agar) (مرک، آلمان) جهت آزمون انتشار دیسک استفاده گردید.



شکل ۱. گیاه فرولا / آسافوئیتیدا (آنگوزه)

بررسی خصوصیات ضد میکروبی صمغ خالص آنگوزه

خاصیت ضد میکروبی صمغ خالص آنگوزه به روش انتشار دیسک (Disc Diffusion Assay) علیه باکتریهای /شریشیاکلاهی (نماینده (Prototype) باکتریهای پاتوژن گرم منفی عامل بیماریهای غذایی)، /استافیلوکوکوس /اورئوس (نماینده باکتریهای پاتوژن گرم مثبت عامل بیماریهای غذایی) و کپک /آسپرژیلوس /نایجر (نماینده فسادهای قارچی مواد غذایی)، مورد بررسی قرار گرفت. جهت تلقیح باکتریها، از محیط کشت مولر هینتون آگار (Muller Hinton Agar) و جهت کپک مورد نظر، از سابوراد دکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar) استفاده گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از کشت اولیه میکروبها (استافیلوکوکوس /اورئوس و /شریشیاکلاهی در محیط کشت مولر هینتون آگار و /آسپرژیلوس /نایجر در سابوراد دکستروز آگار) در ۵ میلی لیتر محیط مایع TSB (Trypticase Soy Broth) تلقیح شد و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ °C، گرمخانه گذاری (Incubation) گردید. پس از تهیه محیط کشت های مورد نیاز و تطابق کدورت سوسپانسیون های میکروبی با استاندارد نیم مک فارلند، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی بر روی سطح آگار بطور یکنواخت پخش گردید و حدود ۱۵ دقیقه فرصت داده شد تا بر روی سطح آگار بخوبی جذب شوند. در نهایت، قطعه های مربع شکل از صمغ خالص آنگوزه (با مساحت تقریبی ۲ سانتی متر مربع) پس از استریل شدن با لامپ فرابنفش، بر روی سطح آگار تلقیح شده قرار داده شدند و بمدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرمخانه گذاری گردید (۲۵).

انتخاب غلظت بهینه محلول الکترورسی

به منظور بررسی قابلیت الکترورسی (Electro-spinnability) صمغ خالص آنگوزه، غلظت های متفاوت (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ درصد وزنی/ حجمی) از صمغ خالص آنگوزه در حلال استیک اسید ۴۰ درصد (حجمی/ حجمی) تهیه گردید. با توجه به ویسکوزیته محلول هایی با غلظت متفاوت از صمغ خالص آنگوزه، بررسی ظاهری فویل های پوشش دهی شده و تصاویر میکروسکوپ الکترونی، قابلیت الکترورسی صمغ خالص آنگوزه مورد بررسی قرار گرفت.

آماده سازی محلول الکترورسی

توسط پیپت حجمی، دقیقاً ۹،۹۹ میلی لیتر حلال استیک اسید ۴۰ درصد (حجمی/ حجمی) به یک بشر شیشه ای ۵۰ میلی لیتری منتقل شد. سپس ۱۰ میکرولیتر تئوئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و کاهش دهنده کشش سطحی محلول الکترورسی به بشر اضافه شد. مقدار لازم از صمغ خالص آنگوزه (جهت تولید

محلول هایی با غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی/ حجمی) توسط ترازوی دیجیتال مدل AUW220 (شیمادزو، ژاپن) با دقت توزین شد و به حلال اضافه شد. مخلوط حلال، صمغ آنگوزه و سورفکتانت با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۳۰ دقیقه، در دمای محیط کاملاً مخلوط گردید. سپس پلی اتیلن اکساید (۰/۲ گرم) به عنوان کمک فرایند الکترورسی به محلول صمغ اضافه شد و تا انحلال کامل، همزدن ادامه یافت (۱۴).

انجام فرآیند الکترورسی

مقداری از محلول الکترورسی داخل یک سرنگ ۵ میلی لیتری ریخته شد و بر روی پمپ سرنگی دستگاه الکترورسی مدل D-RC (فناوران نانو مقیاس، ایران) قرار گرفت. فاصله ی نوک سرنگ تا جمع کننده ثابت دستگاه به میزان ۱۸ سانتی متر تنظیم شد. جهت انتقال محلول از نوک سرنگ به جمع کننده یک میدان الکتریکی با ولتاژ ۲۰ کیلوولت توسط دستگاه تأمین اختلاف پتانسیل بالا مدل High Voltage Power Supply (D-RC Series) (فناوران نانومقیاس، ایران) ایجاد شد. سرعت جریان محلول الکترورسی توسط پمپ سرنگی به میزان ۳ میلی لیتر/ ساعت تنظیم شد. فرآیند الکترورسی به مدت ۳۰ دقیقه و به صورت پیوسته ادامه یافت تا یک مت سفید رنگ بر روی فویل آلومینیوم نصب شده بر روی جمع کننده ایجاد شود.

ارزیابی مورفولوژی الیاف حاصل از الکترورسی

بررسی ظاهر کلی و اندازه گیری قطر میانگین الیاف با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل TESCAN-VEGA3 ساخت کمپانی TESCAN (جمهوری چک) انجام گردید. از فویل آلومینیوم پوشش دهی شده با الیاف الکترورسی، مربع هایی با مساحت تقریبی یک سانتی متر مربع جدا گردید و پس از رسانا کردن سطح الیاف با پوشش طلا توسط دستگاه پوشش دهنده طلا مدل R-ES150Q ساخت کمپانی Quorum Technologies انگلستان، تصویربرداری انجام شد.

بررسی خصوصیت ضد میکروبی دیسک های پوشش دهی

شده با نانوالیاف (Electrospun Fiber) صمغ خالص آنگوزه

خاصیت ضد میکروبی فویل های آلومینیوم پوشش دهی شده با نانوالیاف صمغ خالص آنگوزه به روش انتشار دیسک علیه باکتریهای /شریشیاکلاهی، /استافیلوکوکوس /اورئوس و کپک /آسپرژیلوس /نایجر، مورد بررسی قرار گرفت. جهت تلقیح باکتریها، از محیط کشت مولر هینتون آگار و جهت کپک مورد نظر، از سابوراد دکستروز آگار استفاده گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از کشت اولیه میکروبها در ۵ میلی لیتر محیط مایع

بررسی خاصیت ضد میکروبی صمغ خالص آنگوزه به روش انتشار دیسک

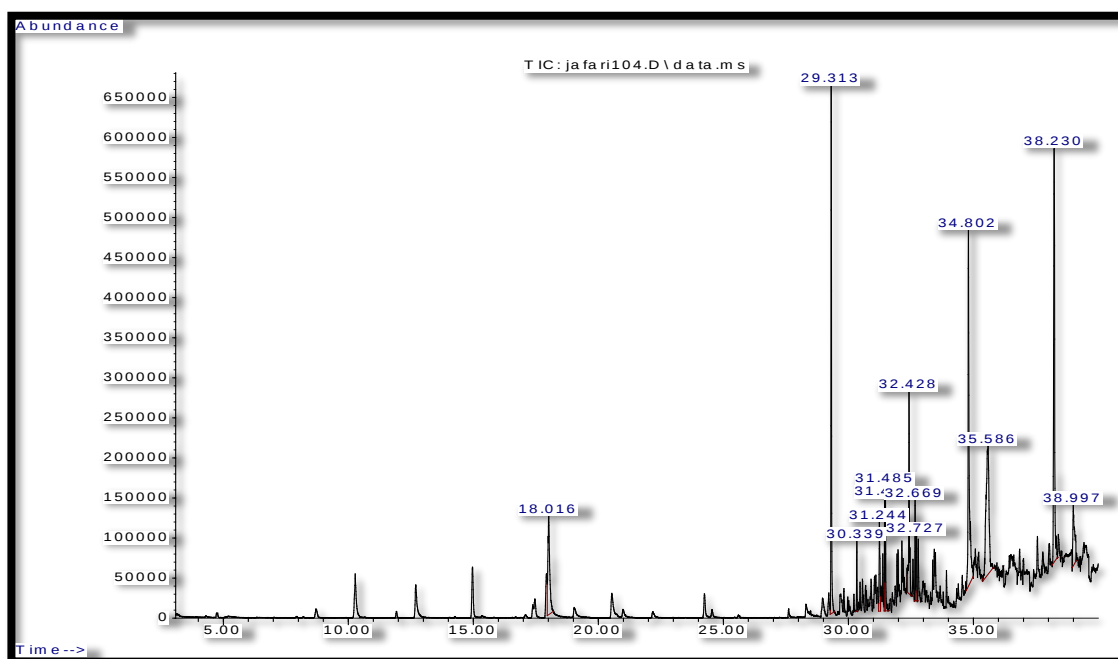
از قطعات صمغ خالص آنگوزه به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی بر روی میکروارگانیسم‌های هدف استفاده گردید. با توجه به نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک قطعات صمغ خالص (شکل ۴)، مشخص گردید که صمغ خالص آنگوزه دارای اثرات ضد میکروبی علیه میکروارگانیسم‌های /شریشیاکلاهی، /استافیلوکوکوس /اورئوس و /اسپرژیلوس نایچر بود و در اطراف قطعات صمغ خالص، هاله عدم رشد (Inhibition Zone) مشاهده گردید. پس از کشت سطحی میکروب‌ها، قطعات صمغ خالص بر روی سطح تلقیح شده قرار دادند و بعد از دوره انکوباسیون، هاله عدم رشد در اطراف صمغ خالص بخوبی مشاهده گردید. نتایج نشان داد که رشد هر سه میکروارگانیسم هدف در این آزمون، نسبت به حضور صمغ آنگوزه در محیط کشت حساس بود. بیشترین تأثیر ضد میکروبی صمغ خالص آنگوزه بر روی کپک /اسپرژیلوس نایچر (شکل ۴-ب) بود به طوری که بیشترین هاله عدم رشد در پلیت‌های حاوی این کپک عامل فساد مواد غذایی تشکیل شد. همچنین با مقایسه ظاهری قطر هاله عدم رشد در پلیت‌های تلقیح شده با /شریشیاکلاهی و /استافیلوکوکوس /اورئوس، می‌توان بیان کرد که صمغ خالص آنگوزه خاصیت ممانعت‌کنندگی رشد بیشتری بر /استافیلوکوکوس /اورئوس نسبت به /شریشیاکلاهی دارد.

TSB تلقیح شد و به مدت ۱۶ ساعت در دمای 37°C ، گرمخانه‌گذاری گردید. پس از تهیه محیط کشت‌های مورد نیاز و تطابق کدورت سوسپانسیون‌های میکروبی با استاندارد نیم مک فارلند، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی بر روی سطح آگار بطور یکنواخت پخش گردید و حدود ۱۵ دقیقه فرصت داده شد تا بر روی سطح آگار بخوبی جذب شوند. در نهایت، قطعه‌های مربع شکل از فویل‌های آلومینیوم پوشش‌دهی شده (با مساحت تقریبی دو سانتی‌متر مربع) پس از استریل شدن با لامپ فرابنفش، بر روی سطح آگار تلقیح شده قرار داده شدند و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری گردید (با ۴ تکرار). قطر هاله عدم رشد به وسیله کولیس کالیبره اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌متر گزارش گردید (۲۶).

• یافته‌ها

شنا سایی ترکیبات زیست فعال صمغ آنگوزه به روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی

کروماتوگراف به دست آمده از عصاره متانولی صمغ آنگوزه نشان‌دهنده‌ی حضور ترکیبات زیست فعال مختلفی در ترکیب شیمیایی آن می‌باشد (شکل ۳). اجزاء اصلی تشکیل دهنده عصاره صمغ آنگوزه در جدول ۱ ارائه شده است. در مجموع ۱۴ ترکیب در عصاره متانولی صمغ آنگوزه شناسایی شده است. بر اساس آنالیز GC-MS، مهمترین ترکیبات موجود در عصاره صمغ آنگوزه، دی متیل آمینو بنزیلیدن (۱۹/۰۲٪)، اولئیک اسید (۱۷/۳۱٪)، پایریمیدین (۱۶/۹۸٪) و جرانیل استات (۱۴/۲۳٪) می‌باشد.



شکل ۳. کروماتوگرام شناسایی ترکیبات زیست فعال عصاره متانولی صمغ آنگوزه

جدول ۱. اجزاء اصلی تشکیل دهنده عصاره متانولی صمغ آنگوزه

ردیف	ترکیبات متشکله	زمان بازداری (Retention Time) (دقیقه)	درصد
۱	بتا پاینین (Beta-Pinene)	۱۵/۰۷	۵/۱۲
۲	۵-نونانول (5-Nonanol)	۱۸/۰۱	۸/۰۳
۳	جرانیل استات (Geranyl acetate)	۲۹/۳۳	۱۴/۲۳
۴	آریستولن (Aristolene)	۳۰/۳۴	۱/۴۵
۵	بتا-کادینن (Beta-Cadinene)	۳۱/۲۴	۳/۱۵
۶	آلفا گورجونه (Alpha-Gurjunene)	۳۱/۴۵	۲/۰۷
۷	نفتالن (Naphthalene)	۳۱/۴۸	۲/۸۹
۸	بتا-مایسرن (Beta-Myrcene)	۳۲/۴۳	۶/۵۰
۹	جونپیر کامفور (Juniper camphor)	۳۲/۶۷	۲/۱۱
۱۰	سانتولینا تری ان (Santolina triene)	۳۲/۷۳	۱/۷۴
۱۱	اولئیک اسید (Oleic acid)	۳۴/۸۰	۱۷/۳۱
۱۲	پایریمیدین (Pyrimidine)	۳۵/۵۹	۱۶/۹۸
۱۳	دی متیل آمینو بنزلیدن (2-dimethylamino-4-oxo-8-benzylidene)	۳۸/۲۳	۱۹/۰۲
۱۴	پروپان-دی نیتریل (Propanedinitrile)	۳۸/۹۹	۴/۵۱



شکل ۴. تصاویر آزمون انتشار دیسک با استفاده از قطعات صمغ خالص آنگوزه علیه میکروارگانیسم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (الف)، *آسپرژیلوس نایجر* (ب) و *اشریشیا کلائی* (ج).

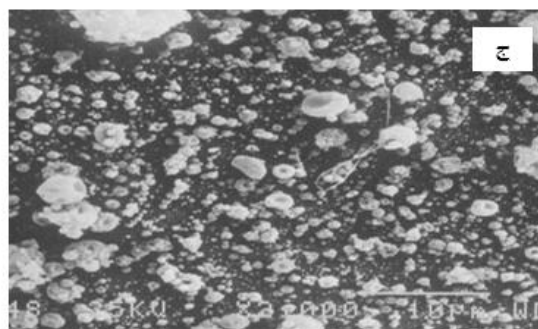
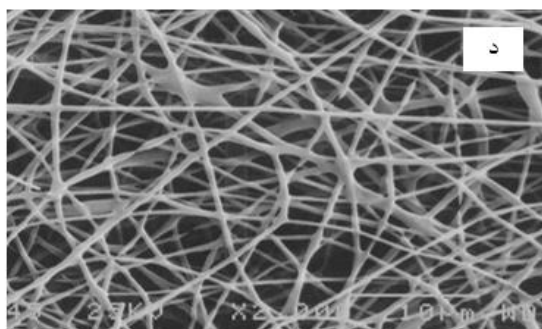
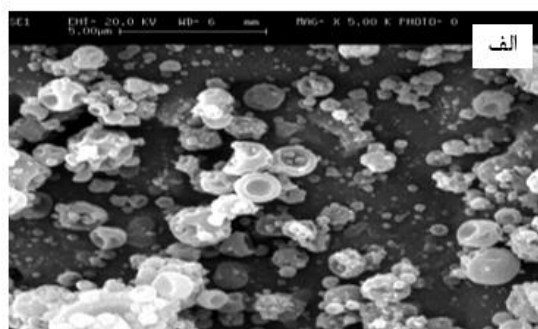
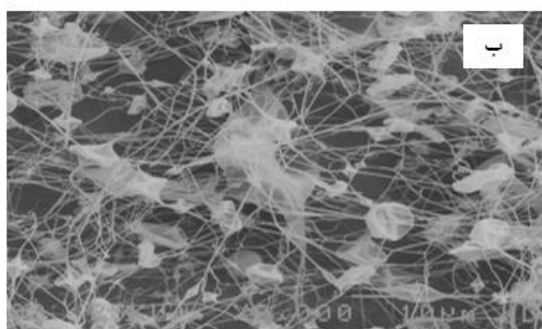
انتخاب غلظت مناسب محلول الکتروریسی

در پیش آزمون‌های اولیه، غلظت‌های مختلف صمغ خالص آنگوزه تهیه و امکان الکتروریسی آنها و تولید نانوالیاف بررسی شد. نتایج پیش آزمون‌ها نشان داد که محلول‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ درصد به دلیل ویسکوزیته نامطلوب قابلیت الکتروریسی ندارند و بنابراین غلظت ۲۰ درصد به دلیل گرانی و مطلوب و عبور پیوسته از نازل الکتروریسی وارد فرآیند الکتروریسی با ولتاژ ۱۵، ۱۸ و ۲۰ کیلوولت و فاصله (سرسرنگ تا کالکتور) ۱۰، ۱۵ و ۱۸ سانتی‌متر، شد. همچنین نتایج آزمون‌های اولیه نشان داد بهترین ولتاژ میدان و بهترین فاصله از نوک نازل تا جمع کننده برای الکتروریسی صمغ خالص آنگوزه به ترتیب ۲۰ کیلو ولت و ۱۸ سانتی‌متر بود. در این شرایط فرآیند الکتروریسی به

صورت پیوسته و بدون توقف انجام شد. با بررسی ظاهری فویل‌های پوشش‌دهی شده و تصاویر میکروسکوپ الکترونی (شکل ۵) مشخص گردید که صمغ خالص آنگوزه به تنهایی قابلیت الکتروریسی ندارد و باید برای ریسش این صمغ از مواد کمک فرآیند الکتروریسی استفاده شود. بدین منظور پلی اتیلن اکساید، سلولز استات و ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) (Whey Protein Isolate) به عنوان کمک فرآیند الکتروریسی مورد آزمون قرار گرفتند. با توجه به بررسی غلظت و ویسکوزیته ظاهری محلول ۲۰ درصد صمغ خالص آنگوزه در پیش تست‌ها، این غلظت برای ترکیب با مواد کمک فرآیند الکتروریسی انتخاب گردید. محلول‌های ۷ و ۱۰ درصد (وزنی/ حجمی) ایزوله پروتئین آب پنیر، ۲ و ۴ درصد (وزنی/ حجمی) پلی اتیلن

عنوان کمک فرایند، نانوالیاف ریشش شد ولی نانوالیاف حاصل یکنواخت نبوده و حاوی مقادیر بالایی گویچه بود که نشان از کارایی پایین این کمک فرایند در شرایط الکترورسی مذکور بود. استفاده از ۲ درصد پلی اتیلن اکساید به عنوان کمک فرایند به محلول صمغ خالص آنغوزه موجب تولید نانوالیافی یکنواخت و بدون گویچه با کیفیت ظاهری بالا بود (شکل ۵-د). شایان ذکر است که تفاوت رخ داده از نظر تولید/عدم تولید نانوالیاف در هر کدام از تیمارها کاملاً وابسته به پارامترهای دخیل در یک فرایند الکترورسی و همچنین ویژگی‌های صمغ و کمک فرایند می‌باشد؛ از قبیل هدایت الکتریکی، ویسکوزیته، کشش سطحی بالا و عدم درهم تنیدگی مولکولی، که همگی در تشکیل مخروط تیلولر بصورت پایدار موثر هستند. بنابراین با توجه به سرعت بالای تشکیل مت سفیدرنگ بر روی جمع کننده و همچنین ارزیابی تصاویر میکروسکوپ الکترونی، پلی اتیلن اکساید با غلظت ۲ درصد به عنوان بهترین کمک فرایند برای تولید نانوالیاف از صمغ خالص آنغوزه انتخاب شد.

اکساید و ۶ و ۱۲ درصد (وزنی/ حجمی) سلولز استات برای تهیه نانوالیاف استفاده گردید. پس از مشاهده تصاویر میکروسکوپ الکترونی و با در نظر گرفتن لزوم استفاده از مواد پایه‌ی غذایی (Food Grade)، محلول حاوی ۲۰ درصد صمغ آنغوزه و ۲ درصد پلی اتیلن اکساید انتخاب گردید. همچنین شرایط دستگاهی مطلوب جهت فرایند الکترورسی، ولتاژ ۲۰ کیلوولت و فاصله سرسرنگ تا کالکتور، ۱۸ سانتی‌متر تشخیص داده شد؛ به گونه‌ای که در این شرایط، مخروط تیلولر بخوبی تشکیل شد و الکترورسی بدون وقفه انجام شد. با توجه به تصاویر می‌توان نتیجه گرفت که فرایند الکترورسی بطور موفقیت آمیز انجام گرفته است؛ به گونه‌ای که در این ساختارهای نانو، الیاف یکنواخت و بدون گویچه دیده می‌شود و البته بیانگر ضرورت بکارگیری پلی اتیلن اکساید جهت ریشش مطلوب می‌باشد. با توجه به شکل ۵ (الف-د)، در مت‌های حاصل از الکترورسی صمغ خالص آنغوزه بدون استفاده از کمک فرایند الکترورسی و همچنین با افزودن ۱۰ درصد ایزوله پروتئین آب پنیر، هیچ الیافی ریشش نشده است. با افزودن ۱۲ درصد سلولز استات به



شکل ۵. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح فویل آلومینیوم پوشش‌دهی شده با محلول صمغ آنغوزه در حلال استیک اسید در غلظت ۲۰ درصد با شرایط دستگاهی بهینه

(الف: محلول ۲۰ درصد صمغ آنغوزه بدون استفاده از کمک فرایند الکترورسی ؛ ب: محلول ۲۰ درصد صمغ آنغوزه با استفاده از ۱۲ درصد سلولز استات ؛ ج: محلول ۲۰ درصد صمغ آنغوزه با استفاده از ۱۰ درصد ایزوله پروتئین آب پنیر ؛ د: محلول ۲۰ درصد صمغ آنغوزه با استفاده از ۲ درصد پلی اتیلن اکساید)

(DNA) و همراه با سیتوزین هستند. علاوه بر این، آنالوگ‌های مختلف پیریمیدین‌ها دارای خصوصیات ضد باکتری، ضد قارچ، ضد التهاب، ضد درد، ضد فشار خون، تب بر، ضد ویروسی، ضد دیابت، ضد حساسیت، ضد تشنج، آنتی اکسیدان، آنتی هیستامین، علف کش و ضد سرطان می‌باشند (۲۸). جرانیل استات به میزان ۱۴ درصد در عصاره متانولی صمغ آنگوزه یافت شد که طبق پژوهش Kabotso و همکاران (۲۰۲۲) گزارش گردیده که سیترا ل خواص ضد عفونی کنندگی، ضد باکتری، ضد قارچ، ضد التهاب، آفت کشی و خوشبو کنندگی بالایی دارد (۲۹). Arjmand و همکاران (۲۰۱۹) ترکیبات متشکله اسانس بخش هوایی و ریشه‌ی گیاه فرولا هاسکنچی را با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی شناسایی و اندازه گیری کردند. ۶۲ ترکیب در ریشه و ۶۴ ترکیب در بخش هوایی این گیاه، شناسایی شد که به ترتیب ۹۴/۶ و ۹۲/۸ درصد کل اسانس را شامل می‌شوند. بیشترین درصد در هر دو نوع اسانس مربوط به ترکیبات کامفن (Camphene)، آلفا پاینین (Alpha Pinene) و ایزووربانول (Isoverbanol) بوده است. مهمترین ترکیبات اسانس بخش هوایی گیاه فرولا شویتزانا (Ferula Szowitsiana)، پاینین، جرماکین و بتاپاینین گزارش شده است و ترکیبات گوگردی صرفاً در صمغ اولئورزینی گیاه فرولا آسافوئیتیدا شناسایی شد (۱۱). Saadatfar و همکاران (۲۰۲۱) نیز ترکیبات مشابهی با پژوهش فوق در اسانس گیاه فرولا آسافوئیتیدا شناسایی کردند (۳۰).

خواص ضد میکروبی صمغ خالص آنگوزه

Zare و همکاران (۲۰۱۱) اثرات ضد ویروسی و ضد میکروبی رزین آنگوزه بر ویروس آنفلونزا، استرپتوکوکوس پائروجنز و استرپتوکوکوس پنومونیه را بررسی نمودند (۳۱). آنها گزارش کردند که رزین حاصل از اولئوصمغ آنگوزه خاصیت ضد میکروبی و ضد ویروسی بالایی دارد. دهپور جویباری (۱۳۹۲) اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه آنگوزه را بر روی ۵ سوش باکتریایی با روش انتشار دیسک و اندازه گیری قطر هاله عدم رشد بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که عصاره اتانولی صمغ آنگوزه بیشترین تأثیر را در بین میکرواورگانسیم های هدف بر روی استافیلوکوکوس اورئوس داشت (۳۲). جعفری و همکاران (۱۳۹۳) گزارش نمودند که عصاره تام آبی برگ و سرشاخه های هوایی گیاه آنگوزه، اثر مهار کنندگی و کشندگی بالایی علیه مخمر کاندیدا آلبیکانز دارد (۳۳). در راستای همین نتایج، بیات و همکاران (۱۳۹۵) اثبات نمودند که عصاره آبی ریشه آنگوزه با قطر هاله عدم رشد ۰/۶ میلی متر بیشترین خاصیت ضد میکروبی را در بین سایر عصاره های گیاهی بر علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس دارد (۳۴). جهانی و همکاران (۱۳۹۵)

بررسی خصوصیت ضد میکروبی دیسک های پوشش دهی شده با نانوالیاف پلی اتیلن اکساید- صمغ خالص آنگوزه

از دیسک های آلومینیوم پوشش دهی شده به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی بر روی میکرواورگانسیم های هدف استفاده گردید. با توجه به نتایج حاصل از آزمون انتشار دیسک، نانوالیاف پلی اتیلن اکساید- صمغ خالص آنگوزه دارای اثرات ضد میکروبی علیه میکرواورگانسیم های /شریشیا کلاهی، /استافیلوکوکوس اورئوس و /اسپرژیلوس نایجر بودند و در اطراف دیسک های حاوی نانوالیاف الکترورسی شده، هاله عدم رشد مشاهده گردید. همچنین مشخص گردید که /اسپرژیلوس نایجر حساستر از باکتریهای ارزیابی شده می باشد. قطر هاله عدم رشد به صورت میانگین از چهار تکرار در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، لیاف الکترورسی پلی اتیلن اکساید- صمغ آنگوزه، از پتانسیل مطلوبی برای تولید بسته بندی ضد میکروبی مواد غذایی برخوردار می باشد.

جدول ۲. اندازه قطر هاله عدم رشد حاصل از دیسک هایی از لیاف الکترورسی پلی اتیلن اکساید- صمغ آنگوزه

نام میکرواورگانسیم	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر)
/شریشیا کلاهی	$9/17 \pm 0/51^c$
/استافیلوکوکوس اورئوس	$11/09 \pm 1/11^b$
/اسپرژیلوس نایجر	$20/67 \pm 0/71^a$

حروف مختلف در ستون میانگین قطر هاله عدم رشد، نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار است ($p < 0/05$)

• بحث

شناسایی ترکیبات زیست فعال صمغ آنگوزه

یکی از مهمترین ترکیبات جداسازی شده از این صمغ، بتا پاینین (۵/۱۲٪) می باشد که در پژوهش انجام شده توسط Arjmand و همکاران (۲۰۱۹) در اسانس بخش هوایی و ریشه گیاه فرولا هاسکنچی (Ferula haussknechtii) شناسایی گردید (۱۱). دی متیل آمینو بنزیلیدن به عنوان ترکیب غالب در صمغ آنگوزه، دارای مشتقاتی با اثرات آنتی باکتریال علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی است (۲۷). پیریمیدین ها، ترکیبات آروماتیک هتروسیکلیک مشابه بنزن و پیریدین هستند که حاوی دو اتم نیتروژن در موقعیت های ۱ و ۳ از حلقه های شش عضوی هستند. پیریمیدین ها از نظر بیولوژیکی هتروسیکل های بسیار مهمی هستند و تا حد زیادی فراوان ترین اعضای خانواده دیازین ها هستند که اوراسیل و تیمین از اجزای تشکیل دهنده اسید ریبونوکلیک (RNA) و دی اکسی ریبونوکلیک اسید

درون زنجیره ای پیوندهای هیدروژنی اذعان نمودند. آنها معتقدند که استفاده از پلیمرهای مصنوعی مانند پلی اتیلن اکسید و پلی وینیل الکل به عنوان پلیمر کمک فرایند برای تشکیل الیاف فوق ریز هیبریدی ضروری است (۴۰). Zaitoon و Lim (۲۰۲۰) معتقدند که هنگام تغییر حلال در محلول الکتروریسی، کشش سطحی مهمترین پارامتر در میان پارامترهای دیگر بود. آنها گزارش نمودند که افزودن یک درصد پلی اتیلن اکساید به محلول، قابلیت الکتروریسی را با جت‌های پلیمری پایدار افزایش داد (۱۵). Yu و همکاران (۲۰۲۳) به منظور تولید فیلم ضد میکروبی زئین- پلی اتیلن اکساید- نایسین به روش الکتروریسی، این فرآیند را در شرایط بهینه ۱۵ کیلو ولت، سرعت جریان ۳ میلی‌لیتر در ساعت و فاصله ۱۲ سانتی‌متر انجام دادند که منجر به تولید نانوالیاف بدون گویچه با مورفولوژی یکنواخت گردید (۴۱).

بررسی خواص ضد میکروبی نانوالیاف حاصل از الکتروریسی محلول‌ها

در پژوهش Fouda و همکاران (۲۰۱۳)، اثرات ضد میکروبی نانوالیاف کربوکسی متیل کیتوزان- پلی اتیلن اکساید دارای نانوذرات نقره با استفاده از روش انتشار دیسک بر روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها بررسی گردید. نتایج آنها نشان داد که /ستافیلوکوکوس/ اورئوس با قطر هاله عدم رشد ۳۰-۱۵ میلی‌متر، حساسترین میکروب در برابر دیسک‌های ضد میکروبی بوده است. از طرفی کلاندید/آلبیکانز با عدم مشاهده هاله عدم رشد، مقاومترین میکروارگانیسم مورد بررسی بوده است (۴۲). Yu و همکاران (۲۰۲۳) پس از تولید فیلم ضد میکروبی زئین- پلی اتیلن اکساید به روش الکتروریسی، اثر ضد میکروبی نانوالیاف بدست آمده را در دو حالت بدون نایسین و دارای نایسین مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که نانوالیاف زئین- پلی اتیلن اکساید به تنهایی هیچ اثر ضد میکروبی ندارد و صرفاً در صورتیکه نایسین به میزان ۱-۱۵ درصد وزنی/ وزنی به محلول الکتروریسی افزوده شود؛ هاله عدم رشد مشاهده می‌شود (۴۱). این در حالی است که در پژوهش حاضر، نانوالیاف پلی اتیلن اکساید- صمغ آنگوزه به تنهایی و بدون افزودن ترکیبات آنتی بیوتیک، دارای اثرات قابل ملاحظه بر روی میکروارگانیسم‌های هدف بوده است. این نتیجه بیانگر قدرت ضد میکروبی بسیار بالای صمغ خالص آنگوزه می‌باشد که در صورت استفاده از این صمغ در پوشش‌های خوراکی و بسته بندی مواد غذایی احتمالاً نیاز به استفاده از ترکیبات ضد میکروب شیمیایی یا سنتزی نیست.

نانوکپسول‌های ژلاتینی ادغام شده با عصاره روغنی آنگوزه تهیه کردند و گزارش نمودند که این نانوکپسول‌ها علاوه بر داشتن شکل فیزیکی بسیار مناسب، یک آنتی اکسیدان و آنتی باکتریال قوی هستند که می‌توانند در تولید داروهای ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانت‌های طبیعی استفاده شوند (۳۵). دهقان و همکاران (۱۳۹۲)، اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه فرولا *زویتسیانا* (*Ferula Szowitsiana*) (کمای بیابانی) را با استفاده از روش انتشار دیسک بر روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره و اجزای مختلف کمای بیابانی، اثرات ضد میکروبی معنی داری بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمون داشتند. میانگین قطر هاله‌های عدم رشد بین ۷ تا ۲۳ میلی‌متر برای اجزای مختلف عصاره گزارش شد. عمده‌ترین اثر ضد میکروبی عصاره کمای بیابانی بر روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و قارچ *کریپتوکوکوس نوئوفورمانس* (به ترتیب با قطر هاله ۱۵/۴ و ۲۳/۱ میلی‌متر) دیده شد (۳۶). Asili و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثرات ضد میکروبی گونه دیگری از گیاه فرولا (*فرولا بادرکما*) (*Ferula Badrakema*) را گزارش کرده‌اند. پلی سولفیدهایی در اسانس‌ها و رزین‌های اولئو صمغ به دست آمده از برخی گونه‌های فرولا وجود دارند که به عنوان اجزاء اصلی دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع شناخته شده‌اند؛ فعالیت‌هایی نظیر ضد باکتری، ضد قارچ، ضد سرطان و آنتی اکسیدان. آنها گزارش کردند که اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس و عصاره‌ی گونه‌های فرولا، مربوط به میزان زیاد آلفا پینین و بتا پینین است (۳۷). اگرچه مکانیسم عمل پلی فنول‌ها به طور کامل مشخص نشده است، اما به نظر می‌رسد پلی فنول‌ها به غشای سلولی باکتری آسیب می‌رسانند یا در تولید اسیدهای آمینه مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها دخالت می‌کنند. همچنین به نظر می‌رسد که آنها مقاومت باکتریایی را با مهار پمپ‌های جریان باکتریایی که آنتی بیوتیک‌ها را دفع می‌کنند یا با مهار آنزیم‌هایی که آنها را غیرفعال می‌کنند، تغییر می‌دهند (۳۸). Alizadeh و Behbahani و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که عصاره متانولی مورد (*Myrtus communis*) دارای خاصیت ضد باکتریایی قابل توجهی در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در برابر /ستافیلوکوکوس/ پیدرمیدیس و /انتروکوکوس فکالیس/ با قطر ناحیه عدم رشد برابر با ۲۰ میلی‌متر بوده است؛ در حالی که ناحیه عدم رشد مربوط به /شریشیا کلاهی/ و /شیگلا فلکسنری/، ۱۴ میلی‌متر گزارش شده است (۳۹).

الکتروریسی صمغ خالص آنگوزه

An و همکاران (۲۰۰۹) به عدم قابلیت الکتروریسی کیتوزان خالص بدلیل حلالیت محدود و برهمکنش بین زنجیره ای و

نتیجه گیری کلی

اولئوصمغ آنگوزه به دلیل حضور ترکیبات شیمیایی مختلف با قابلیت انحلال متفاوت، در یک سیستم حلال ثابت قابل حل نیست. از همین رو جهت فرآوری و استفاده، باید بخش‌های مختلف تشکیل دهنده آن به روش انحلال در سیستم‌های حلال مختلف از یکدیگر جداسازی و خالص سازی شوند. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد بخش محلول در آب اولئوصمغ آنگوزه، خاصیت ضد میکروبی بالایی در مقابل میکروارگانیزم‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌های عامل فساد مواد غذایی دارد. نتایج نشان داد صمغ خالص آنگوزه به همراه پلیمر کمکی پلی اتیلن اکساید قابلیت الکترورسی بالایی

دارد و می‌تواند نانوالیاف زیست تخریب پذیر با ویژگی‌های مورفولوژیکی مطلوبی تولید نماید. همچنین نتایج نشان داد بیشترین خاصیت ممانعت کنندگی از رشد، توسط نانوالیاف حاصل از الکترورسی صمغ خالص آنگوزه و پلی اتیلن اکساید به ترتیب در برابر *آسپرژیلوس نایجر* (نماینده قارچ‌های عامل فساد مواد غذایی)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (نماینده باکتری‌های گرم مثبت بیماریزا) و *اشریشیا کلای* (نماینده باکتری‌های گرم منفی بیماریزا) بود. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که صمغ خالص آنگوزه می‌تواند به عنوان یک پلیمر زیست تخریب پذیر با خاصیت ضد میکروبی بالا، به عنوان یک جزء هیدروکلوئیدی در تولید پوشش‌ها و بسته بندی‌های خوراکی زیست تخریب پذیر و فعال استفاده شود.

References

- Amorim, L.F., C. Mouro, and I.C. Gouveia, Electrospun fiber materials based on polysaccharides and natural colorants for food packaging applications. *Cellulose*, 2024; p. 1-27.
- Tanavar, H., H. Barzegar, B. Alizadeh Behbahani, and M.A. Mehrnia, Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4 C). *Food Science & Nutrition*, 2021. 9(10): p. 5600-5615.
- Iranshahy, M., M. Iranshahi, Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *asafoetida* (*Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin)—A review. *Journal of ethnopharmacology*, 2011. 134(1): p. 1-10.
- Zonouzi, A., M. Auli, M.J. Dakheli, and M. Hejazi, Oil extraction from microalgae *Dunalliella* sp. By polar and non-polar solvents. *International journal of agricultural and biosystems Engineering*, 2016. 10(10): p. 642-645.
- Xiong, K. and Y. Chen, Supercritical carbon dioxide extraction of essential oil from tangerine peel: Experimental optimization and kinetics modelling. *Chemical Engineering Research and Design*, 2020. 164: p. 412-423.
- Cheng, Y., F. Xue, S. Yu, S. Du, and Y. Yang, Subcritical water extraction of natural products. *Molecules*, 2021. 26(13): p. 4004.
- Hematian Sourki, A., A. Koocheki, and M. Elahi, Ultrasound-assisted extraction of β -D-glucan from hull-less barley: Assessment of physicochemical and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017. 95: p. 462-475.
- Drinić, Z., D. Pljevljakušić, J. Živković, D. Bigović, and K. Šavikin, Microwave-assisted extraction of *O. vulgare* L. spp. *hirtum* essential oil: Comparison with conventional hydro-distillation. *Food and Bioproducts Processing*, 2020. 120: p. 158-165.
- De Aguiar Saldanha Pinheiro, A.C., F.J. Martí-Quijal, F.J. Barba, S. Tappi, and P. Rocculi, Innovative non-thermal technologies for recovery and valorization of value-added products from crustacean processing by-products—An opportunity for a circular economy approach. *Foods*, 2021. 10(9): p. 2030.
- Saeidy, S., A. Nasirpour, J. Keramat, J. Desbrières, D. Le Cerf, G. Pierre, et al., Structural characterization and thermal behavior of a gum extracted from *Ferula assa foetida* L. *Carbohydrate polymers*, 2018. 181: p. 426-432.
- Arjmand, Z. and D. Dastan, Chemical characterization and biological activity of essential oils from the aerial part and root of *Ferula haussknechtii*. *Flavour and fragrance journal*, 2020. 35(1): p. 114-123.
- Bhushani, J.A. and C. Anandharamakrishnan, Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications. *Trends in Food Science & Technology*, 2014. 38(1): p. 21-33.
- Gagaoua, M., V.Z. Pinto, G. Göksen, L. Alessandrini, M. Lamri, A.L. Dib, et al., Electrospinning as a promising process to preserve the quality and safety of meat and meat products. *Coatings*, 2022. 12(5): p. 644.
- Tavana, F., A. Hematian Sourki, and M.-T. Golmakani, Fabrication and characterization of bio-nanocomposites based on kafirin and polyethylene oxide as auxiliary polymer: Process optimization, rheological, morphological and thermal properties. *Journal of Food Science and Technology*, 2023. 60(11): p. 2881-2892.
- Zaitoon, A. and L.-T. Lim, Effect of poly (ethylene oxide) on the electrospinning behavior and characteristics of ethyl cellulose composite fibers. *Materialia*, 2020. 10: p. 100649.
- Honarbaksh, S. and B. Pourdeyhimi, Scaffolds for drug delivery, part I: electrospun porous poly (lactic acid) and poly (lactic acid)/poly (ethylene oxide) hybrid scaffolds. *Journal of materials science*, 2011. 46: p. 2874-2881.
- Alborzi, S., L.-T. Lim, and Y. Kakuda, Encapsulation of folic acid and its stability in sodium alginate-pectin-poly (ethylene oxide) electrospun fibres. *Journal of microencapsulation*, 2013. 30(1): p. 64-71.
- Xu, X., L. Jiang, Z. Zhou, X. Wu, and Y. Wang, Preparation and properties of electrospun soy protein isolate/polyethylene oxide nanofiber membranes. *ACS applied materials & interfaces*, 2012. 4(8): p. 4331-4337.
- Colin-Orozco, J., M. Zapata-Torres, G. Rodriguez-Gattorno, and R. Pedroza-Islas, Properties of poly

- (ethylene oxide)/whey protein isolate nanofibers prepared by electrospinning. *Food Biophysics*, 2015. 10: p. 134-144.
20. Moreira, J.B., L.-T. Lim, E. da Rosa Zavareze, A.R.G. Dias, J.A.V. Costa, and M.G. de Moraes, Antioxidant ultrafine fibers developed with microalga compounds using a free surface electrospinning. *Food Hydrocolloids*, 2019. 93: p. 131-136.
 21. Lu, J.-W., Y.-L. Zhu, Z.-X. Guo, P. Hu, and J. Yu, Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide). *Polymer*, 2006. 47(23): p. 8026-8031.
 22. Taokaew, S. and T. Chuenkaek, Developments of Core/Shell chitosan-based nanofibers by electrospinning techniques: a review. *Fibers*, 2024. 12(3): p. 26.
 23. Tajfiroozeh, F., A. Moradi, F. Shahidi, J. Movaffagh, H. Kamali, S. Roshanak, et al., Fabrication and characterization of gallic-acid/nisin loaded electrospun core/shell chitosan/polyethylene oxide nanofibrous membranes with free radical scavenging capacity and antimicrobial activity for food packing applications. *Food Bioscience*, 2023. 53: p. 102529.
 24. Ayoubi, A.R., R. Valizadeh, J. Arshami, and Z. Mousavi, The effect of water-alcoholic extracted gum of ferula asafoetida on body and testes weight, testosterone and spermatogenesis in adult male wistar rat. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 2014. 6(2): p. -.
 25. Tabatabaei Yazdi, F., B. Alizadeh Behbahani, and H. Zanganeh, The comparison among antibacterial activity of *Mespilus germanica* extracts and number of common therapeutic antibiotics "in vitro". *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 2015. 17(12): p. 1-6.
 26. Li, M., H. Yu, Y. Xie, Y. Guo, Y. Cheng, H. Qian, et al., Fabrication of eugenol loaded gelatin nanofibers by electrospinning technique as active packaging material. *Lwt*, 2021. 139: p. 110800.
 27. Rehman, W., S. Haq, F. Rahim, S. Khan, M. Waseem, M. Nawaz, et al., Synthesis, Characterization and Antibacterial Screening of Diorganotin(IV) Complexes Derived From 2-[(4-Dimethylamino-Benzylidene)Amino]Phenol. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2017. 51(2): p. 115-118.
 28. Sharma, V., N. Chitranshi, and A.K. Agarwal, Significance and biological importance of pyrimidine in the microbial world. *International journal of medicinal chemistry*, 2014. 2014(1): p. 202784.
 29. Kabotso, D.E., D. Neglo, P. Kwashie, I.A. Agbo, and D.A. Abaye, GC/MS Composition and Resistance Modulatory Inhibitory Activities of Three Extracts of Lemongrass: Citral Modulates the Activities of Five Antibiotics at Sub-Inhibitory Concentrations on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Chemistry & Biodiversity*, 2022. 19(9): p. e202200296.
 30. Saadatfar, A., S.H. Jafari, and I. Tavassolian, Improving biochemical traits, oleo-gum yield and compositions of asafoetida (*Ferula assa-foetida* L.) essential oil using 24-epibrassinolide in Kerman natural habitats (Iran). *Journal of Medicinal Plants*, 2021. 20: p. 93-107.
 31. Zare, A., M. Omidi, H.F. Hoseini, D. Yazdani, S. Rezazadeh, N. Irvani, et al., A review on pharmacological effects of *Ferula assa-foetida* L.: a systematic review. *Journal of Medicinal Plants*, 2011. 10(40): p. 17-25.
 32. Dehpour Joybari, A.A., Identification of components of essential oils and antibacterial activity of ethanolic extract of Anghouzeh plant. *Biotechnology and Applied Microbiology journal*, 2013. 2(3): p. 33-40.
 33. Jafari, A., H. Jafari, A. Deghanbanadkoki, and M. Baghbanian, Antifungal Activity of Aqueous Extracts from *Ferula Assa foetida* Aerial parts on *Candida Albicans* and its Comparison with Fluconazole in vitro. *Tolooebehdasht*, 2014. 13(3): p. 171-181.
 34. Bayat, Z., N. Mollania, M. R. Vaezi-Kakhki, and M. Kheirabadi, Evaluation of the Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of *Artemisia vulgaris* L. , *Ziziphora persica* Bunge, *Ferula assa-foetida* L. on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in 19th National and 7th International Congress on Biology. 2016: Tabriz, Iran.
 35. Jahani, S., M. Salehi, A. Shakiba, A. Moradipour, and F. Forouzandeh, Production and study of antioxidant and antibacterial activities of gelatin nano-capsules containing *Ferula assa-foetida* essential oil. *J. Arak Uni. Med. Sci*, 2015. 18(5): p. 33-48.
 36. Dehghan, G., G. Zarini, and M. Hajizadeh, Phytochemical investigation and antibacterial, antifungal and synergistic effects of chloroform fractions of desert coma plant root extract. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 2014. 15(6): p. 10-17.
 37. Asili, J., A. Sahebkar, B.S. Fazly Bazzaz, S. Sharifi, and M. Iranshahi, Identification of Essential Oil Components of *Ferula badrakema* Fruits by GC-MS and 13C-NMR Methods and Evaluation of its Antimicrobial Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2009. 12(1): p. 7-15.
 38. Bubonja-Šonje, M., S. Knežević, and M. Abram, Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 2020. 71(4): p. 300-311.
 39. Alizadeh Behbahani, B., F. Tabatabaei Yazdi, H. Noorbakhsh, F. Riazi, A. Jajarmi, and F. Tabatabaei Yazdi, Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 2016. 18(2).
 40. An, J., H. Zhang, J. Zhang, Y. Zhao, and X. Yuan, Preparation and antibacterial activity of electrospun chitosan/poly (ethylene oxide) membranes containing silver nanoparticles. *Colloid and Polymer Science*, 2009. 287: p. 1425-1434.
 41. Wei Yu, J.G., Yuanyuan Liu, Xiaoge Xue, Xiangru Wang, Lili Wei , Lei Mao , Zhihao Zhang, Yiming Zhuo, Shuixin Li, Jiage Ma, Dong Xu, Fabrication of novel electrospun zein/polyethylene oxide film incorporating nisin for antimicrobial packaging. *LWT - Food Science and Technology* 185 (2023) 115176, 2023.
 42. Fouda, M.M., M. El-Aassar, and S.S. Al-Deyab, Antimicrobial activity of carboxymethyl chitosan/polyethylene oxide nanofibers embedded silver nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 2013. 92(2): p. 1012-1017.

Purification of Anghoze Oleo-gum (*Ferula assafoetida*) to Produce Antimicrobial Nanofibers Using Electrospinning Technique

Jafari S¹, Hematian Sourki A^{2*}, Pashangeh S³

1- Master of Science, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

2- *Corresponding author: Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran. Email: a.hematian@jahromu.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

Received 23 Jun, 2024

Accepted 29 Oct, 2024

Background and Objectives: The aim of this study was to purify the water-soluble fraction of *Ferula assafoetida* gum, investigate its antimicrobial characteristics and explore its potential for use in producing biodegradable coatings through the electrospinning technique. Gum extracted from *Ferula assafoetida* root shows antifungal, antidiabetic, anticancer, anti-inflammatory and antiviral activities, containing compounds such as sugars, coumarins and polysulfides. This study investigated antimicrobial characteristics of the purified gum and its nanofibers against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria and food spoilage-causing molds (*Aspergillus niger*).

Materials & Methods: After verifying presence of bioactive compounds through gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and validating antimicrobial characteristics of the purified gum using disc diffusion method, nanofibers of *Ferula assafoetida* gum and polyethylene oxide (PEO) were prepared via electrospinning. Antimicrobial effects of the nanofibers were assessed. Two-percent polyethylene oxide was added to the *Ferula assafoetida* gum solution as a co-spinning agent to facilitate the electrospinning process.

Results: Scanning electron microscopy images showed that the electrospinning process of the purified gum and PEO mixture was successful, producing uniform nanofibers with an average diameter of 482 nm. The highest antimicrobial activity of the *Ferula assafoetida* gum-PEO nanofibers was observed against *Aspergillus niger* with an inhibition zone diameter of 20.67 mm in disc diffusion assessment. Results demonstrated that purified *Ferula assafoetida* gum alone was not electrospinnable and PEO was needed as a co-spinning agent to produce antimicrobial nanofibers. The disc diffusion assessment showed that the *F. assafoetida* gum-PEO nanofibers included significant antimicrobial activities against the target microorganisms.

Conclusion: Pure *Ferula assafoetida* gum, as a biodegradable polymer with strong antimicrobial characteristics, can be used as a hydrocolloid component in production of biodegradable and active edible coatings and packaging.

Keywords: Polyethylene oxide, Anti-fungal characteristics, Disc diffusion, Electrohydrodynamic, Native oleo-gum