



## استفاده از نانو الیاف حاصل از الکتروریسی کیتوزان به عنوان نانوحامل عصاره درمنه دشتی: بررسی ویژگی‌ها و خاصیت ضد میکروبی

میثم رضایی<sup>۱</sup>، مهدی آران<sup>۲\*</sup>، علی محمد امانی<sup>۳</sup>، محمد امین میری<sup>۴</sup>، داریوش رمضان<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۳- استادیار گروه نانو فناوری پزشکی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

۴- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

درمنه گیاهی با خاصیت دارویی فراوان می‌باشد که در درمان بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود و دارای خواص ضد میکروبی بالایی می‌باشد. این تحقیق با هدف ساخت نانو الیاف حاوی عصاره درمنه دشتی و بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوالیاف برای کنترل باکتری‌های سودمونس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد. بدین منظور ابتدا عصاره گیاه درمنه دشتی و محلول الکتروریسی حاوی ۰/۲ گرم پلی اتیلن اکساید، ۰/۰۵ گرم کیتوزان و ۱/۵ میلی لیتر اسید استیک تهیه و سپس به وسیله الکتروریسی محلول‌ها، نانوالیاف تولید و مورد بررسی قرار گرفت. بارگذاری عصاره درمنه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تاثیر معنی داری بر قطر الیاف نشان داد و میانگین قطر الیاف دارای عصاره (۲۱۸/۴ نانومتر) نسبت به الیاف فاقد عصاره (۲۰۴/۸ نانومتر) بیشتر بود. تنش در نقطه پارگی الیاف حاوی عصاره (۳/۰۴ MPa) به نسبت الیاف فاقد عصاره (۳/۴۶ MPa) پایین‌تر و همچنین تغییر طول در نقطه پارگی بالاتر (۷/۶ درصد) بودند. نانوالیاف حاوی عصاره مقاومت حرارتی بیشتری داشتند که به دلیل حالت کریستالی عصاره آرتمیزیا در نانوالیاف می‌باشد. نانو الیاف تولیدی حاوی عصاره درمنه برای هر دو باکتری مورد استفاده دارای خاصیت مهارکنندگی بود. در نانو الیاف حاوی ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره به طور کامل رشد باکتری کنترل شد و همچنین نانوالیاف دارای عصاره با غلظت ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر، بر باکتری گرم منفی سودمونس آئروژینوزا نسبت به باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهارکنندگی بهتری داشت. افزودن عصاره درمنه دشتی باعث بهبود ویژگی‌ها و خواص ضد میکروبی نانوالیاف کیتوزان شد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۵

کلمات کلیدی:

الکتروریسی،

ریزپوشانی،

گیاه دارویی،

عصاره درمنه

DOI: 10.52547/fsct.18.03.27

\* مسئول مکاتبات:

mehdiaran@uoz.ac.ir

## ۱- مقدمه

تحقیقات زیادی در زمینه اثرات بازدارندگی مواد طبیعی در برابر میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته و در این رابطه استفاده از ترکیباتی که برای انسان غیرسمی بوده و اثرات جانبی نداشته باشد، ضروری می‌باشد. استفاده از عصاره گیاهان به عنوان افزودنی‌های ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدان یکی از روش‌هایی می‌باشد که مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. تاکنون هزاران نوع عصاره گیاهی استخراج شده است که بعضی از آنها امروزه به دلیل خواص ضد میکروبی به عنوان افزودنی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲].

درمنه دشتی با نام علمی *Artemisia sieberi* Besser گیاهی مرتعی و دارویی با ارتفاع حدود ۶۰ سانتی‌متر، گل‌های زرد و گل‌آذین کاپیتول می‌باشد [۳]. پراکندگی جغرافیایی این گیاه به وسعت ایران بوده و از دشت‌های پست ساحلی تا ارتفاعات کوهستانی گسترده شده است. درمنه یکی از اصلی‌ترین و فراوان‌ترین گیاهان مناطق مرکزی و بیابانی ایران و مراتع کشور شناخته شده است. عصاره متانولی درمنه عمدتاً حاوی آرتمیزینین<sup>۱</sup>، ساپونین<sup>۲</sup>، تانن<sup>۳</sup>، آلفاپینن<sup>۴</sup> و کامفور<sup>۵</sup> می‌باشد. سایر مواد موثره شامل دی‌ترین‌ها مانند توتارول<sup>۶</sup> نیز می‌تواند در کاهش غلظت کلسیم داخل سلولی و تحریک ترشح اینترفرون آلفا و اینترلوکین ۶ روی باکتری‌های فوق‌الذکر اثر سمی داشته باشد [۴].

در بررسی فعالیت ضد باکتریایی و ضد اکسیدان‌های اسانس آرتمیزیا، اسانس این گیاه در مقابل تمام باکتری‌های مورد آزمون از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسایتوزنز* از خود فعالیت ضدباکتریایی نشان داد و پایینترین میزان MIC در باکتری *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسایتوزنز* برابر با ۲/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. اسانس این گیاه بر روی پرتئوس *میرابیلیس* مؤثر نبود [۵].

با بررسی اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی چندین گونه آرتمیزیا شامل: *آرتمیزیا ابسیسیوم*، *آرتمیزیا آربورسنس*، *آرتمیزیا کمپسترینس*، *آرتمیزیا اسکوپاریا*، *آرتمیزیا سنتونیکوم* و *آرتمیزیا ولگاریس* بر باکتریهای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیاکلی*، *انتروکوکوس فکالیس* و *قارچ کانیدا آلیکنس* گزارش شد که *استافیلوکوکوس اورئوس*، حساس‌ترین باکتری نسبت به اسانس تمامی گونه‌های آرتمیزیا می‌باشد [۶].

الکترورسی<sup>۷</sup> یکی از روش‌های جدید ریزپوشانی می‌باشد که قادر به تولید لایه پلیمری با ساختار نانوالیاف است. نانوالیاف تولید شده به روش الکترورسی، در تهیه سیستم‌های انتقال موضعی دارو، ریزپوشانی دارو، ویتامین‌ها و ... استفاده می‌شود [۷]. در این تحقیق از کیتوزان جهت تولید نانوالیاف و ریزپوشانی عصاره درمنه دشتی استفاده شده است. کیتوزان دارای ویژگی‌های ایده آل اثبات شده‌ای نظیر خواص بند آورندگی خون، ممانعت از رشد و فعالیت باکتری‌ها، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری است که این پلیمر را به یکی از پرکاربردترین پلیمرهای زیستی تبدیل کرده است [۸].

استفاده از عصاره‌های گیاهی در صنایع غذایی به علت داشتن مزه تند و تاثیر برخواص چشایی غذا با محدودیت روبرو است. همچنین این ترکیبات در مواد غذایی به اکسیژن، حرارت بالا، نور و ... حساس می‌باشد. به همین دلیل از روش‌های انکپسوله کردن مواد مؤثره (حالت مایع، جامد یا گاز) درون لایه‌ای از پلیمرهای مختلف (پروتئین، پلی‌ساکارید یا لیپید) استفاده می‌شود تا ماده مؤثره را تحت شرایط کنترل شده و در زمان دلخواه، درون ماده غذایی آزاد نموده و از بد طعمی در اثر مصرف بی‌رویه و زیاد غذا، جلوگیری کند [۹]. همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی دراز مدتی را برای نگهداری از مواد غذایی دارا می‌باشد [۱۰، ۱۱]. هدف از تحقیق حاضر ریزپوشانی عصاره درمنه دشتی با استفاده از روش الکترورسی جهت بهبود ویژگی‌ها و خواص ضد میکروبی غشاء نانوالیاف حاوی عصاره درمنه می‌باشد.

1. Artemisinin
2. Saponin
3. Tannin
4. Alpha-Pinene
5. Camphor
6. Totarol

7. Electrospinning

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- مواد اولیه

پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط از کمپانی سیگما آلدریچ، پلی اتیلن اکساید از شرکت اکسیر، اسید استیک با خلوص ۹۹/۷ درصد از شرکت مرک آلمان، محیط کشت‌های (RPMI Roswell Park Memorial Institute (1640 Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) Medium استفاده شد که از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شده است. آب مقطر دوبار تقطیر از سرم سازی ثامن مشهد تهیه گردید.

### ۲-۲- تهیه عصاره گیاهی

در این مطالعه بخش هوایی گیاه درمنه دشتی از کوه های منطقه‌ی داراب استان فارس جمع آوری شد. گیاهان مورد نظر در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل (با شماره هرباریومی ۸۶۶) مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه های جمع آوری شده در سایه و به دور از نور خورشید در دمای تقریباً ۳۰ درجه سانتی گراد و به مدت یک هفته خشک و سپس جهت آماده سازی برای عصاره گیری پودر شدند. با ۱۰۰ گرم از نمونه های پودر شده با استفاده از حلال متانول به روش سوکسله در دمای اتاق عصاره‌گیری انجام شد. عصاره‌ی به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ شده و سپس با دستگاه فریز درایر خشک و تا زمان مصرف در شیشه های رنگی و یخچال نگهداری شد [۱۲].

### ۲-۳- تهیه محلول الکترورسی

پلی اتیلن اکساید به میزان ۰/۲ گرم و کیتوزان به میزان ۰/۰۵ گرم به تدریج به ۳/۵ میلی لیتر آب دیونیزه و ۱/۵ میلی لیتر اسید استیک در دمای محیط و درحالی‌که بر روی همزن مغناطیسی هم‌زده می شد، اضافه شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا انحلال آن کامل گردد و بصورت محلول بی‌رنگ، ویسکوز، یکنواخت و همگنی درآید.

### ۲-۴- فرآیند الکترورسی

برای انجام الکترورسی از دستگاه ساخت شرکت فناوران نانومقیاس ایران (شکل ۱) استفاده شد. این دستگاه با توجه به ابعاد سرنگ استفاده‌شده، قابلیت تزریق مقدار معینی محلول را با حداقل سرعت تزریق  $0.5 \mu\text{l/h}$  و حداکثر سرعت تزریق  $1000 \text{ ml/h}$  دارا می باشد. از سرنگ ۵ میلی‌لیتر با قطر داخلی

۱۲/۵ میلی‌متر، برای پمپ کردن محلول درون سرنگ استفاده شد. از صفحات آلومینیومی به ابعاد  $25 \times 10$  سانتی‌متر مربع بعنوان جمع‌کننده روی غلتک استفاده شد و فاصله‌ی بین نازل و جمع‌کننده قبل از هر آزمایش با دقت اندازه‌گیری و تنظیم شد [۱۳]. غلظت‌های مختلف کیتوزان به همراه مقادیر مختلف نرخ تزریق ساخته شدند. سپس مورفولوژی و قطر الیاف با شرایط مختلف الکترورسی با عکس برداری SEM مورد بررسی قرار گرفتند. در الکترورسی این پارامترها باید به گونه ای تنظیم شوند که الیاف از نظر قطر و مورفولوژی و همچنین خواص مکانیکی بهینه شوند.



Fig 1 Electrospinning device used in this study

### ۲-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای بررسی مورفولوژی و ساختار میکروسکوپی نانوالیاف و همچنین تعیین قطر آنها، آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی بر روی الیاف انجام شد. الیاف به منظور آماده سازی برای SEM ابتدا به قطعه  $1 \times 1$  سانتی متر مربعی بر روی فویل آلومینیوم درآورده شد. در این تحقیق از میکروسکوپ الکترونی TESCAN VEGA محصول کشور جمهوری چک استفاده شد. قبل از عکس برداری نمونه‌های برش داده شده توسط پوشش طلا به ضخامت ۹۰۰ آنگستروم پوشش دهی شدند. آنالیز SEM به این صورت است که توسط دستگاه اشعه‌ی الکترونی به سمت سطح الیاف تابیده می شود که بازتاب این اشعه آشکارسازی شده و تصویری از سطح بر روی مانیتور نمایش داده می‌شود. به منظور آنالیز بهتر مورفولوژی، از الیاف در سه درشت‌نمایی ۱۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۹۰۰۰ برابر تصویر برداری شد. به منظور تعیین قطر نانوالیاف، تصاویر SEM نمونه‌ها توسط نرم افزار Image J مورد تحلیل قرار گرفتند. بدین منظور از هر نمونه ۴۰ الیاف به صورت تصادفی انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند [۱۴].

## ۲-۶- آزمون کشش

به منظور بررسی خواص مکانیکی نمونه‌ها، بر روی آنها آزمون کشش انجام شد. الیاف به شکل مستطیل با ابعاد  $6 \times 1$  cm تهیه و با سرعت ثابت تا رسیدن به نقطه‌ای که به دو نیم پاره شود، کشیده می‌شوند. نمونه‌ها ۹۴ ساعت قبل از انجام آزمایش درون آن خلأ در دما و رطوبت محیط قرار می‌گیرند. در این آزمون از دستگاه Universal Test Machine (شرکت ستام، ایران) استفاده شد. در این آزمایش از cell load 1/4 کیلوگرم استفاده شد و سرعت کشش ۱ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم گردید. از آنالیز نمودار تنش- کرنش گرفته شده از دستگاه می‌توان استحکام کششی و کرنش در نقطه‌ی پارگی را به دست آورد.

## ۲-۷- طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

### (FTIR)

به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و تعیین نوع واکنش یا پیوندهای برقرار شده بین کیتوزان، پلی‌اتیلن اکساید و عصاره درمنه دشتی در نانوالیاف الکتروریسی شده، طیف سنجی مادون قرمز انجام گرفت [۱۵]. برای این کار لایه‌ای از الیاف در خروجی دستگاه قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها توسط طیف سنج مادون قرمز مدل RX1 Spectrum ساخت شرکت Elmer Perkin استفاده شد.

## ۲-۸- آنالیز حرارتی به روش وزن سنجی

### حرارتی (TGA)

با استفاده از روش TGA می‌توان تغییرات جرم ماده را نسبت به دما یا زمان ثبت کرد. در آنالیز وزن سنجی حرارتی (TGA) کاهش یا افت وزن به دلیل تجزیه یا از دست دادن آب و همچنین افزایش وزن به دلیل جذب یا اکسید شدن به صورت پیوسته اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به اینکه زمان اندازه‌گیری TGA، طولانی است باید پایداری و خواص ضد ارتعاش نمونه‌ها در نظر گرفته شود.

## ۲-۹- ارزیابی فعالیت ضد باکتری

فعالیت ضد میکروبی نانوالیاف تولیدی حاوی غلظت‌های ۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره درمنه دشتی در برابر باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا (*P. aeruginosa*) (ATCC 27853) و استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*)

ATCC 25923 که از بخش باکتری شناسی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه گردید، طبق استاندارد AATCC100-2004 مورد بررسی قرار گرفت [۱۶]. ابتدا مقداری از کلونی باکتری از کشت ۲۴ ساعته با استفاده از نرمال سالین به کدورت ۰/۵ مک فارلند رسانده شد. در این کدورت تعداد باکتری برابر با  $10^6 \times 1/5$  در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون می‌باشد. سپس این باکتری‌ها با استفاده از محیط کشت مولر هیتون براث ۱۰۰ برابر رقیق شد که تعداد باکتریها تقریباً  $10^6$  باکتری در هر میلی‌لیتر بود.

نمونه‌های الیاف مورد بررسی به شکل دایره‌ای با قطر  $0/1 \pm$  ۴/۸ سانتیمتر آماده شد. سوسپانسیون میکروبی را باید از کشت مایع ۲۴ ساعت از ارگانسیم موردنظر با رقت مناسبی در محیط مغذی مایع تهیه کرد. پس از تلقیح یک میلی‌لیتر سوسپانسیون با نمونه‌ها (که بتوانند یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی را جذب کنند) نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده می‌شوند. پس از آن ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیکی به آنها اضافه و به مدت یک دقیقه ورتکس می‌گردد. به منظور بدست آوردن باکتری‌های زنده نمونه‌ها شمارش می‌شوند.

## ۲-۱۰- سنجش سمیت سلولی به روش MTT

در این آزمون سلولهای فیروپلاست پوست ابتدا از تانک نیتروژن خارج و یخ‌زدایی شد و سپس آنها درون فلاسک قرار داده و مقداری RPMI 1640 به همراه ۱۰ درصد FBS به فلاسک اضافه شد. میزان اضافه کردن محیط کشت به میزان حضور سلول‌ها درون فلاسک بستگی دارد. سپس هر ۷ روز یک بار فلاسک با PBS شسته شد تا سلول‌های مرده جدا شوند و سپس به آن محیط جدید اضافه شد.

به منظور بررسی سمیت سلولی نانوالیاف تولید شده با غلظتهای ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از روش غیر مستقیم طبق استاندارد ایزو ۱-۱۰۲۲۷ و از سلولهای فیروپلاست پوست استفاده شد. بر اساس استاندارد مساحتی به میزان ۶ سانتیمتر مربع از هر کدام از الیاف ابتدا به منظور میکروب زدایی به مدت یک ساعت در معرض پرتو فرابنفش قرار گرفتند. سپس هر نمونه در درون ۱ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI قرار داده شد و محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار گرفتند.

الکتروریسی با غلظت پلی وینیل اتیلن اکساید ۴ درصد و کیتوزان ۳ درصد بهترین نمونه را معرفی کرد که قطر الیاف به طور میانگین ۲۰۴/۸ نانومتر را داشت و با توجه به غلظت بالاتر کیتوزان الیاف مناسبی برای استفاده در کاربردهای پزشکی می‌باشد و به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد. ولتاژ بهینه ۱۰ کیلوولت، فاصله بین نوک نازل تا جمع کننده ۱۱ سانتی متر، سرعت جمع کننده ۶۰۰ دور بر دقیقه و سرعت تزریق بهینه نیز ۰/۹ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

### ۳-۲- آنالیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی

#### رویشی SEM

شکل ۲ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه‌های الکتروریسی شده الیاف کیتوزان پیش از بارگذاری (a) و پس از بارگذاری عصاره درمنه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر (b) را نشان می‌دهد. تمام الیاف الکتروریسی شده دارای مورفولوژی مناسب و الیافی یک دست و فاقد گویچه می‌باشند. با در نظر گرفتن میانگین قطر الیاف حاوی عصاره درمنه که ۲۱۸/۴ نانومتر و میانگین قطر الیاف فاقد عصاره که ۲۰۴/۸ نانومتر بود، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) از نظر میانگین قطر الیاف بین دو نمونه وجود داشت و با افزودن عصاره، میانگین قطر الیاف افزایش یافت.

با افزودن عصاره درمنه دشتی به محلول پلیمری قطر الیاف تولید شده افزایش یافت که این افزایش را می‌توان به هدایت الکتریکی و ویسکوزیته محلول‌ها نسبت داد. با افزایش عصاره، هدایت الکتریکی کاهش می‌یابد و افزایش قطر الیاف به دلیل کاهش هدایت الکتریکی می‌باشد. به طور کلی، با افزایش هدایت الکتریکی محلول، چگالی بار جت افزایش می‌یابد. بنابراین، افزایش بارهای حاصل از محلول باعث افزایش کشش محلول می‌شود. افزایش کشش محلول منجر به تولید الیاف هایی با قطر کوچکتر می‌شود [۱۵، ۱۸، ۱۹، ۲۰]. افزودن تیمول به محلول پلیمری باعث افزایش ویسکوزیته می‌شود که در نتیجه آن قطر الیاف تولید شده افزایش یافت [۲۱، ۲۲، ۲۳]. افزودن اسانس آویشن شیرازی به محلول پلیمری باعث افزایش معنی دار قطر نانوالیاف زئین بارگذاری شده نسبت به شاهد شد [۲۴]. تصاویر SEM نانوالیاف‌های الکتروریسی شده کیتوسان و پلی اتیلن اکساید حاوی عصاره حنا نشان داد که با افزایش عصاره حنا نشان داد که با افزایش قطر نانوالیاف تولیدی افزایش یافت [۲۵] که نتایج ذکر شده با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

در این آزمون از پلیت ۲۶ چاهکی به منظور انجام تست استفاده شد. برای بررسی میزان تکثیر سلولی ابتدا ۱۰۰۰ سلول به همراه ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت درون هر چاهک پلیت کشت سلولی ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. پس از گذشت ۲۴ ساعت محیط کشت روی سلول‌ها تا حد امکان خارج شد. ۹۰ میکرولیتر از محلول عصاره‌ها به همراه ۱۰ میکرولیتر FBS درون هر چاهک ریخته شد. برای اطمینان بیشتر از نتیجه‌ی آزمایش هر تست ۳ مرتبه تکرار شد. در این بین نمونه کنترل فقط شامل ۹۰ میکرولیتر RPMI تازه و ۱۰ میکرولیتر FBS بود. سلول‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه و غلظت کربن دی اکسید ۱ درصد نگهداری شدند. پس از گذشت این زمان، محیط کشت روی سلول‌ها خارج شد و ۱۰۰ میکرولیتر MTT با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر چاهک ریخته شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از گذشت ۴ ساعت محلول روی سلول‌ها خارج شد و ایزوپروپانول به آنها اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. علت اضافه کردن ایزوپروپانول به منظور حل کردن بلورهای بنفش رنگ ایجاد شده است. پس از حل شدن بلورهای بنفش و وضوح رنگ نمونه، ۱ پلیت درون دستگاه الیزا ریدر (omega star Polar) به منظور خوانده شدن شدت جذب نور در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرار گرفت. فرمول زیر رابطه اعداد خوانده شده با سمیت و نرخ زنده ماندن را نشان می‌دهد [۱۷].

$$\text{Toxicity \%} = \left(1 - \frac{\text{mean OD of sample}}{\text{mean OD of control}}\right) \times 100$$

$$\text{Viability \%} = 100 - \text{Toxicity \%}$$

### ۲-۱۱- مطالعات آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام و داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تولید نانوالیاف

در این پژوهش، به منظور ساخت نانوالیاف، پارامترهای مختلف الکتروریسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پارامترهای به دست آمده برای تولید الیاف بهینه شامل گنج نازل ۲۱، محلول

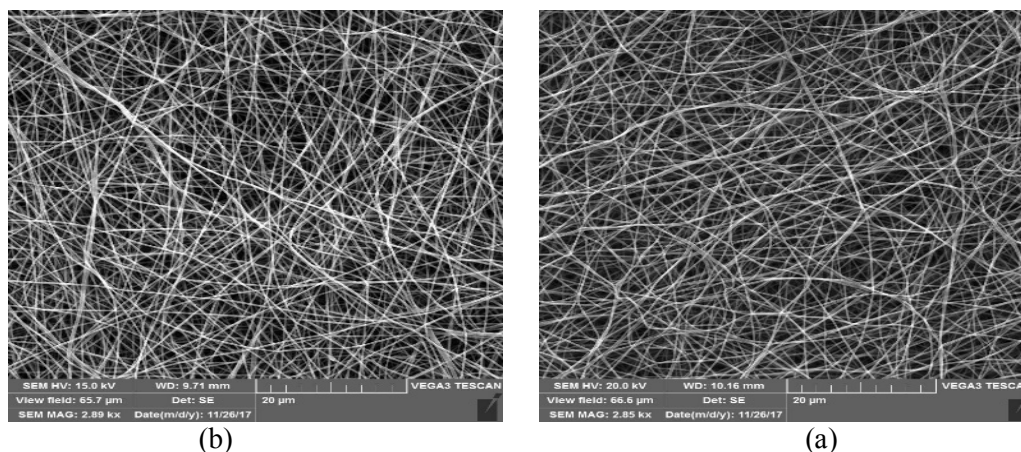


Fig 2 SEM images of Chitozan fibers electrospun (a) free of Artemisia Extract, (b) loaded with 100 mg/l Artemisia extract at 4000x

که هیچ نوع واکنشی بین کیتوزان و عصاره درمنه دشتی که منجر به تولید ترکیبات جدید شود رخ نداده است که با سایر نتایج [۲۶] مطابقت دارد.

### ۳-۴- آزمون کشش

در این آزمون دو نمونه از الیاف تحت آزمون کشش قرار گرفتند تا اثر عصاره‌ی بارگذاری شده بر مقاومت مکانیکی الیاف بررسی شود. این دو نمونه شامل الیاف بدون عصاره و الیاف دارای عصاره گیاهی با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بود. نمودار تنش بر حسب درصد تغییر شکل نمونه‌ها در شکل ۴ آورده شده است و همچنین تنش و تغییر طول در نقطه پارگی نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تنش در نقطه پارگی الیاف حاوی عصاره (۳/۰۴ MPa) به نسبت الیاف فاقد عصاره (۳/۴۶ MPa) پایین‌تر و همچنین تغییر طول در نقطه پارگی بالاتر (۷/۶ درصد) بود و قرارگیری عصاره در بافت الیاف سبب افزایش الاستیسیته آن و الاستیک‌تر شدن الیاف می‌شود.

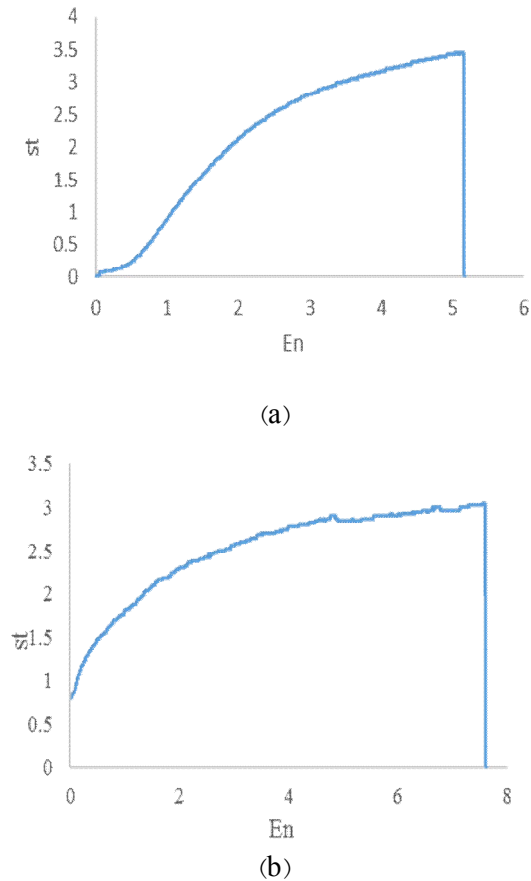
گزارش شده است که تنش در نقطه پارگی الیاف کیتوزان/ پلی اتیلن اکساید حاوی عصاره چای سبز و گیاه *Falcaria vulgaris* با غلظت کمتر نسبت به الیاف دارای عصاره بیشتر بالاتر بود و بیشترین خاصیت الاستیسیته در غلظت عصاره بالاتر مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۲۷]. [۲۸] میزان تنش برشی و استحکام در ساختار کامپوزیتی نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتان و پلی‌پورتان به میزان قابل توجهی افزایش یافت و تفاوت معنی داری با ساختار منفرد مربوط به هر کدام از پلیمرها داشت [۲۹]. مشخص شده است که مقاومت کششی نانوالیاف الکتروریسی در محدوده ۰/۸ تا ۱۸ برای کشت سلول‌های پوستی و برنامه های پانسمان زخم

### ۳-۳- طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

#### ( FTIR ) غشاء نانو الیاف

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و تعیین نوع واکنش یا پیوندهای برقرار شده بین کیتوزان-پلی اتیلن اکساید و عصاره درمنه در الیاف الکتروریسی شده، انجام گرفت (شکل ۳). با توجه به شکل (3a) پلی اتیلن اکساید دارای یک پیک در  $cm^{-1}$  ۲۸۹۳/۵۲ است که مربوط به پیوندهای  $CH_2$  و مربوط به کش آمدن پیوند C-H است و یک پیک قوی در ناحیه  $cm^{-1}$  ۳۴۳۳/۵۰ که مربوط به گروه O-H می باشد. با توجه به شکل (3b)، کیتوزان یک پیک بزرگ بین طول موج  $cm^{-1}$  ۳۴۴۱/۲۹ دارد که مربوط به گروه O-H و برهم‌کنش هیدروژنی بین مولکولی آنها می‌باشد. پیک در طول موج  $cm^{-1}$  ۲۸۷۲/۷۶ نیز مربوط به پیوندهای C-H است. در ناحیه  $cm^{-1}$  ۱۶۰۸/۴۰ پیک مربوط به گروه C=O و هیدروژن‌های گروه آمین دیده می‌شود که به دلیل نزدیکی هم پوشانی کرده و بصورت یک پیک پهن دیده می‌شود. شکل 3c نیز طیف FTIR مربوط به عصاره گیاه درمنه را نشان می‌دهد و در نهایت شکل 3d طیف مربوط به نانوالیاف دارای عصاره گیاهی را نشان می‌دهد که مجموعه‌ای از پیک‌های مربوط به ترکیبات تشکیل دهنده در آن مشاهده می‌شود.

نتایج FTIR نشان داد که با قرار گرفتن عصاره درمنه دشتی در بین ساختار پلیمری کیتوزان، پیوند هیدروژنی بین ملکولی در بین عصاره و کیتوزان بیشتر شده است. همچنین تغییری در پیک های شاخص بستر پلیمری کیتوزان شامل حذف پیک و یا ظاهر شدن پیک جدید مشاهده نشد. این پدیده نشان می دهد



**Fig 4** Stress –Elongation of fibers (a) free of Artemisia Extract, (b) loaded with Artemisia Extract

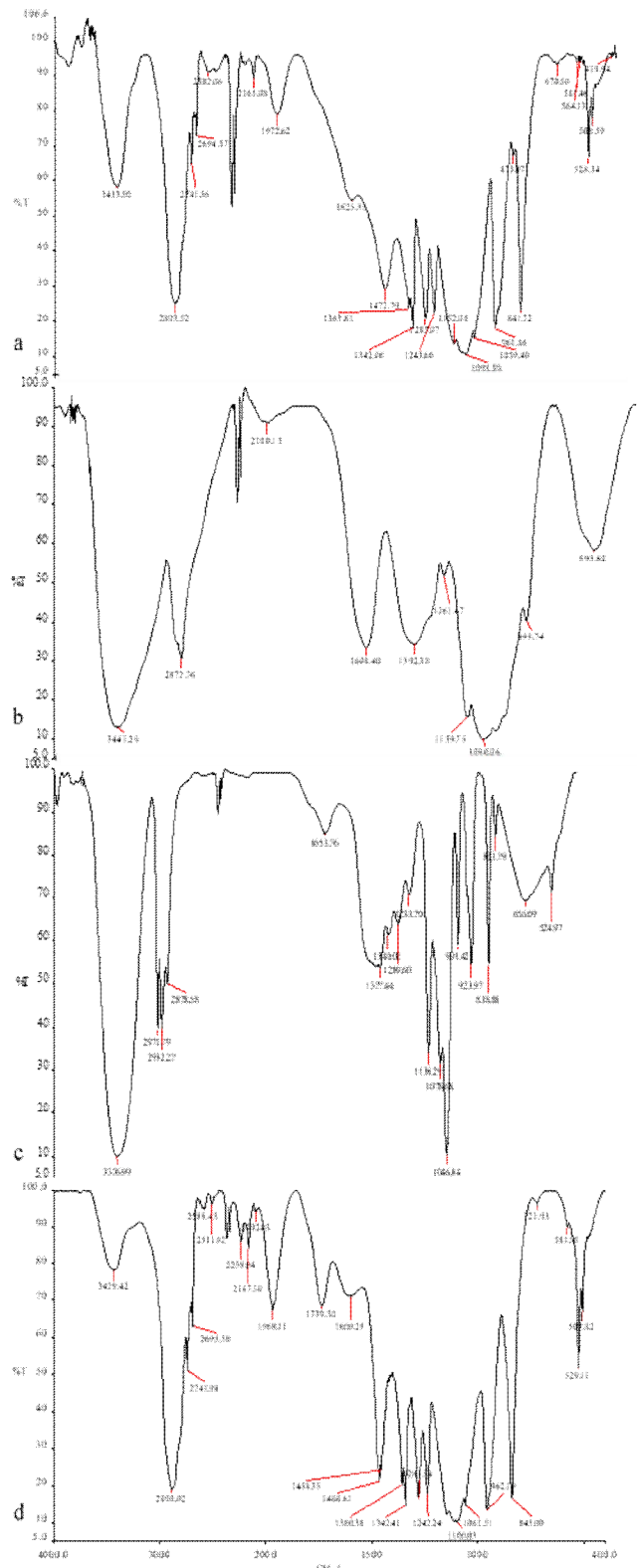
**Table 1** Stress - Elongation of fibers (a) free of Artemisia Extract, (b) loaded with Artemisia Extract

Sample	Stress (MPa)	Elongation at break (%)
Fibers with free of Artemisia Extract	3.46	5.16
fibers with loaded with Artemisia Extract	3.04	7.6

### ۳-۵- آنالیز تجزیه حرارتی (TGA)

نمودار آنالیز تجزیه حرارتی نانوالیاف فاقد عصاره و نانوالیاف دارای عصاره درمنه دشتی با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر در شکل ۵ نشان داده شده است. نمودارها بیانگر این است که سه مرحله اصلی برای تخریب نانوالیاف پلی اتیلن اکساید/کیتوزان وجود دارد. در مرحله اول، یک کاهش وزن ملایم (۴/۵ درصد) بین ۱۰۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد وجود دارد که به تبخیر آب ناخواسته از الکترویسندگی مربوط می‌شود. در مرحله دوم، تخریب بین ۲۵۰ تا ۴۰۰ درجه

مناسب هستند [۳۰،۳۱]. بنابراین، نانوالیاف تهیه شده در این کار دارای خواص مکانیکی کافی هستند تا در کشت سلول و همچنین به عنوان پانسمان زخم مورد استفاده قرار گیرند.



**Fig 3** FTIR spectra of (a) polyethylene oxide, (b) chitosan, (c) Artemisia Extract, (d) fibers loaded with Artemisia Extract

عصاره واضح تر است که نشان دهنده ماهیت کریستالی الیاف است. نتایج آزمون TGA همچنین تایید کننده ریزپوشانی عصاره درمنه در نانوالیاف کیتوزان می باشد. میرزایی و همکاران (۲۰۱۶) عصاره یونجه زرد را در نانوالیاف کیتوزان ریزپوشانی نمودند و با بررسی TGA چنین نتیجه گرفتند که عصاره یونجه زرد باعث افزایش پایداری حرارتی نانوالیاف کیتوزان شده است [۳۲]. پائولا و همکاران (۲۰۱۱) با ریزپوشانی اسانس گیاه *Lippia sidoides* در غلظت های ۲/۴ تا ۴/۴ درصد باعث افزایش پایداری حرارتی کیتوزان شدند [۳۳].

سانتی گراد صورت گرفته است و کاهش وزن ۶۷ درصدی حاصل شده که به علت تجزیه زنجیره ها می باشد. آخرین مرحله، کاهش وزن بین ۴۱۵ تا ۶۱۰ درجه سانتی گراد می باشد که با تخریب فرآورده های فرعی همراه است. آنالیز حرارتی معمولا به منظور بررسی میزان پایداری در برابر حرارت انجام می شود. نتایج این آزمون نشان می دهد که نانوالیاف حاوی عصاره درمنه اولین مرحله را نشان نمی دهد، زیرا حاوی رطوبت نیستند. نانو الیاف بارگذاری شده نشان دهنده پایداری حرارتی بالاتری در مرحله دوم بین ۳۵۰ تا ۴۳۰ درجه سانتی گراد است. مرحله تخریب نیز در نمونه بارگیری

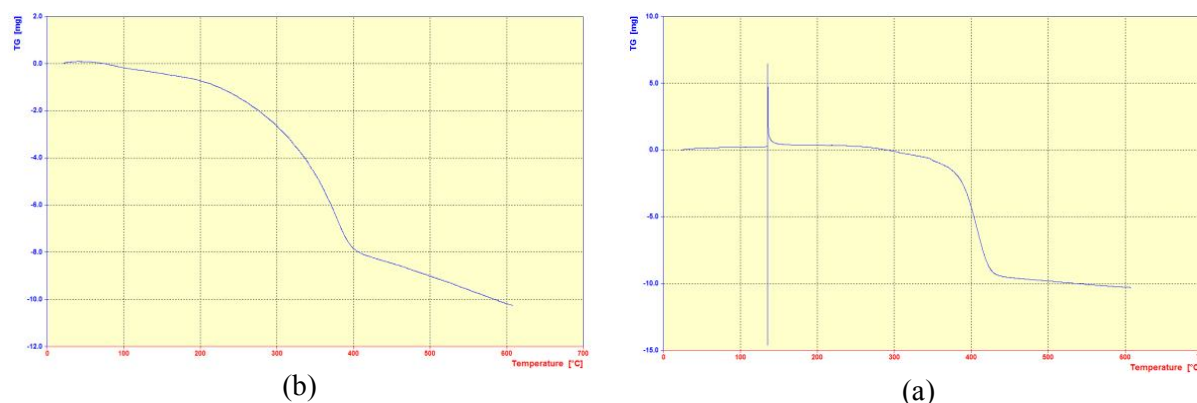


Fig 5 TGA analysis of fibers of (a) free of Artemisia Extract, (b) loaded with Artemisia Extract

### ۳-۶- فعالیت ضد باکتریایی

نانوالیاف دارای ۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ی گیاه درمنه دشتی در تست ضد میکروبی در برابر باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب دارای درصد کاهش رشد باکتری ۲/۳، ۵۲/۳۳، ۸۹/۳۴ و ۱۰۰ درصد بود (شکل ۷). در مقایسه ی بین دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی، مشاهده می شود که عصاره در برابر باکتری گرم منفی اثر بهتری در مهار رشد و کشندگی دارد.

نتایج آزمون میکروبی نشان داد که نانوالیاف کیتوزان حاوی عصاره گیاه درمنه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر باعث کنترل هر دو باکتری مورد بررسی شد.

نانوالیاف در غلظت های کمتر عصاره نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تاثیر کمتری بر کنترل باکتری های مورد بررسی داشت (خصوصا بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس).

عصاره متانولی درمنه دشتی عمدتا حاوی آرتیمیزین، تانین، ساپونین، آلفاپینن و کامفر می باشد و مکانیسم تأثیر موثره این گیاه تخریب دیواره باکتری است.

نانوالیاف دارای ۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ی گیاه درمنه دشتی در تست ضد میکروبی در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب دارای درصد کاهش رشد ۲/۴، ۶/۸۱، ۱۱/۸۴ و ۱۰۰ درصد بود (شکل ۶).

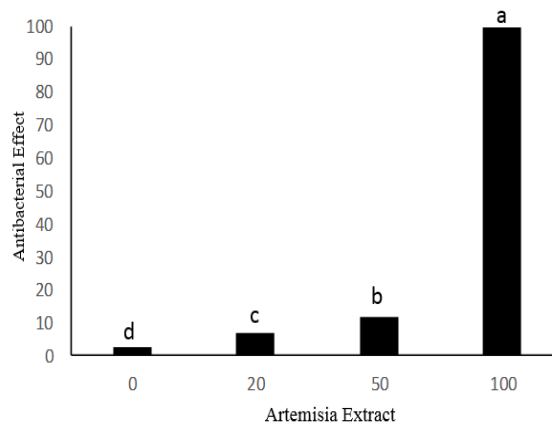


Fig 6 Antibacterial effect of loaded fibers on *S. aureus* bacteria



الیزا ریدر می‌باشد، بر اساس قیاس با نمونه کنترل که در آن تنها فیبروبلاست حضور داشت، می‌توان دریافت تمامی الیاف زنده ماندن سلولی خوبی را از خود نشان داده‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که الیاف بدون عصاره و حاوی عصاره با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب درصد زنده ماندن ۸۳، ۸۴ و ۸۳ درصد را از خود نشان داده‌اند که نتیجه مطلوبی است. با مقایسه الیاف با درصدهای مختلف عصاره می‌توان دریافت که غلظت عصاره تأثیری بر سمیت سلولی نداشته و در غلظت‌های مختلف عصاره سمیت یکسان بوده است. در بررسی آزمون سمیت نانوالیاف تولیدی کتیرا-ژلاتین، مقدار زنده ماندن سلول‌ها در مجاورت نانوالیاف در مقایسه با نمونه‌های شاهد تغییر قابل توجهی را نشان نداد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۳۸].

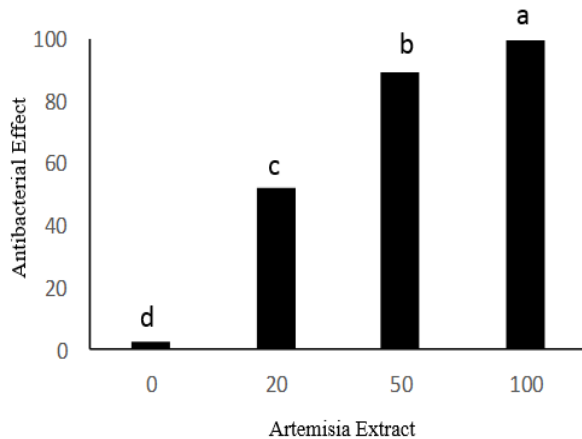


Fig 7 Antibacterial effect of loaded fibers on *P. aeruginosa* bacteria

سایر مواد موثره شامل دی‌ترین‌ها مانند توتارول نیز می‌تواند در کاهش غلظت کلسیم داخل سلولی و تحریک ترشح اینترفرون الف و اینترلوکین ۶ روی باکتری‌های فوق الذکر اثر سمی داشته باشد [۴]. اثر ضد باکتریایی قوی برای عصاره درمنه گزارش شد، بطوریکه برای رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* MIC برابر با ۱۰۰ و MBC برابر با ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر را گزارش نمودند و حداقل غلظت کشنده عصاره درمنه برای باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آوردند [۳۴]. محققین دیگر فعالیت ضد باکتریایی ضعیف‌تری را برای عصاره درمنه در برابر ۸ گونه میکروبی از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* گزارش نمودند [۳۵]. تفاوت در نتایج فعالیت ضد میکروبی عصاره خالص درمنه مطالعات فوق الذکر عمدتاً به دلیل تفاوت در شرایط آزمایشگاهی، غلظت عصاره درمنه، شرایط محیطی و آب و هوایی که گیاه رشد کرده، نوع حلال و روش استخراج عصاره بستگی دارد. انکپسوله کردن عصاره حنا با استفاده از کیتوزان غشاهای کیتوزان حاوی عصاره حنا فعالیت ضد میکروبی قوی را نشان داد [۳۶،۳۷].

باتوجه به اینکه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری گرم مثبت است و دارای دیواره سلولی ضخیم تری می‌باشد، از این رو در برابر مواد ضدباکتریایی از باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مقاومت بیشتری نشان می‌دهد [۳۷].

### ۳-۷- آزمون سمیت

آزمون سمیت برای الیاف بدون عصاره و عصاره با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در شکل ۸ نمایش داده شده است. با توجه به این شکل که خوانش رنگ توسط دستگاه

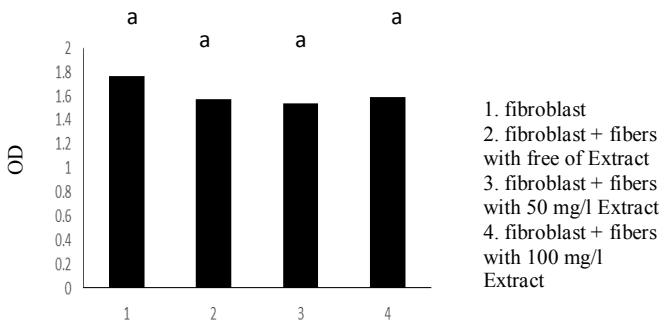


Fig 8 Absorbance of skin fibroblast cells at 570 nm by MTT assay

## ۴- نتیجه گیری

در این تحقیق الیاف کیتوزان بارگذاری شده با عصاره به روش الکتروریسی، دارای مورفولوژی مناسب و الیافی یک دست و فاقد گویچه بودند. بررسی ویژگی‌های نانوالیاف نشان داد که افزودن عصاره باعث بهبود ویژگی‌های نانوالیاف شد. افزودن عصاره گیاه درمنه خصوصاً در غلظت ۱۰ درصد (حجمی/حجمی) به نانوالیاف کیتوزان باعث افزایش خواص ضد میکروبی آن‌ها شد. نتایج نشان داد که نانوالیاف تولید شده می‌تواند به عنوان بسته بندی مواد غذایی، پوشش زخم و ممانعت از رشد باکتری‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

## ۵- قدردانی

نویسندگان از دانشگاه زابل بخاطر حمایت مالی (UOZ-GR-9618-107) در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌کنند.

methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *Vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15(7): 549 - 57.

- [13] Miri MA, Habibi Najafi MB, Movaffagh J, Najafi M, Ghorani B, Koocheki A. 2016. Optimization of Electrospinning Process of Zein Using Central Composite Design. *Fiber Polym*. 17(5): 769-777.
- [14] Movaffagh J, Amiri N, Ebrahimi S, Kalalinia BF, Fazli Bazaz BS, Azizzadeh M, Arabzadeh S, Miri MA. 2018. Electrospun zein nanofibers as nanocarrier of vancomycin: Characterization, release and antibacterial properties. *JFST*. 80(15): 199-212.
- [15] Ramakrishna S, Fujihara K, Teo W, Lim T, Ma Z. 2005. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Singapore.
- [16] AATCC 100. 2004. Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of Developed from American Association of Textile Chemists and Colorists.
- [17] Pagliacci M, Spinozzi F, a Migliorati, G. 1993. Genistein inhibits tumour cell growth in vitro but enhances mitochondrial reduction of tetrazolium salts: a further pitfall in the use of the MTT assay for evaluating cell growth and survival. *Eur J Cancer*. 29: 1573-1577.
- [18] Nayak R, Padhye R, Kyratzis IL, Truong YB, Arnold L. 2013. Effect of viscosity and electrical conductivity on the morphology and fiber diameter in melt electrospinning of polypropylene. *Text. Res. J*. 83(6): 606-617.
- [19] Rezaei B, Mousavi Shoushtari A, Rabiee M, Uzun L, Turner APF, Mak WCh. 2018. Multifactorial modeling and optimization of solution and electrospinning parameters to generate superfine polystyrene nanofibers. *Adv Polym Tech*. 37(8): 2743-2755.
- [20] Tan SH, Inai R, Kotaki M, Ramakrishna S. 2005. Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. *Polymer*. 46(16): 6128-6134.
- [21] Aytac Z, Ipek S, Durgan E, Tekynay T, Uyar T. 2017. Antibacterial electrospun zein nanofibrous web encapsulating thymol/cyclodextrin-
- [1] Thielmann J, Kohnen S, Hauser C. 2017. Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. *Int. J. Food Microbiol*. 251: 48 - 66.
- [2] Shariatifar N, Kamkar A, Shamse Ardekani M R, Misagi A, Akhonzade A, Jamshidi AH. 2014. Composition and antioxidant activities of Iranian *Pulicaria gnaphalodes* essential oil in Soybean oil. *PJPS*. 27(4): 807-812.
- [3] Aftab T, Ferreira JF, Khan MMA, Naeem M. 2014. *Artemisia annua*-pharmacology and biotechnology. Heidelberg: Springer. pp: 292.
- [4] Kalembe D, Kusewicz D, Świąder K. 2002. Antimicrobial properties of the essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai. *Phytother Res*. 16(3): 288-291.
- [5] Laciari A, Vaca Ruiz ML, Carrizo Flores R, Saad JR. 2009. Actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial extraído de *Artemisia echegarayi* Hieron. *Rev Argent Microbiol*. 41(4): 226-231.
- [6] Baykan EŞ, Reznicek G, Senol SG, Yavasoglu NUK, Konyalioglu S, Zeybek AU. 2012. Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turk J Biol*. 36: 75-84.
- [7] Grossman PH. 2006. Achauer and Sood's Burn Surgery: Reconstruction and Rehabilitation. *Plast. Reconstr. Surg*. 118(5): 1270.
- [8] Ghanbarzade B, Almasi M, Zahedi Y. 2009. Food and drug Biodegradable biopolymers. Amir Kabir Publishing CO. Tehran.
- [9] Lee K, Kim H, Khil M, Ra Y, Lee D. 2003. Characterization of nano-structured poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nonwoven mats via electrospinning. *Polymer*. 44(4): 1287-94.
- [10] Bhattarai N, Edmondson D, Veisheh O, Matsen FA, Zhang M. 2005. Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*. 26(31): 6176-84.
- [11] Li D, Xia Y. 2004. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? *Adv. Mater*. 16(14): 1151-70.
- [12] Şahin F, Gulluce M, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M, Agar G, Ozer H. 2004. Biological activities of the essential oils and

## ۶- منابع

- Fasa University of Medical Sciences. 9(3): 1632-1645.
- [30] Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. 2007. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59: 1413-1433.
- [31] Gomes SR, Rodrigues G, Martins GG, Roberto MA, Mafra M, Henriques CM, Silva JC. 2015. In vitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: a comparative study, *Mater. Sci. Eng.*, 46: 348-358.
- [32] Mirzaei E, Sarkar S, Mahdi Rezayat S, Faridi-Majidi R. 2016. Herbal Extract Loaded Chitosan-Based Nanofibers as a Potential Wound-Dressing. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies.* 2(1): 141-150.
- [33] Paulaa HC, Sombraa FM, Cavalcantea RF, Abreua FOMS, Paula RCM. 2011. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Materials Science and Engineering: C.* 31(2):173-178.
- [34] Niakan M, Attar Pour Yazdi M, Safaei-Ghomi J, Khaloei M, a Djafari Z. 2011. Effect of Methanol Extracts of *Artemisia persica* on Kinetic Growth of *S. aureus* and *B. subtilis* Bacteria. *J. Med. Plants*, 4 (40): 139-143.
- [35] Ramezani M, Fazli-Bazzaz BS, Saghafi-Khadem F, Dabaghian A. 2004. Antimicrobial activity of four *Artemisia* species of Iran. *Fitoterapia.* 75(2): 201-3.
- [36] Yousefi I, Pakravan M, Rahimi H, Bahador A, Farshadzadeh Z, Haririan I. 2017. An investigation of electrospun Henna leaves extract-loaded chitosan based nanofibrous mats for skin tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C.* 75: 433-444.
- [37] Dev VRG, Venugopal J, Sudha S, Deepika G, Ramakrishna S. 2009. Dyeing and antimicrobial characteristics of chitosan treated wool fabrics with henna dye, *Carbohydr. Polym.* 75: 646-650.
- [38] Meghdadi Kasani R, Boddohi S. 2019. Preparation and Investigation of Gum Tragacanth/Gelatin Nanofibers for Antibacterial Drug Delivery Systems. *Iran. J. Polym. Sci. Technol.* 32 (2): 145-155.
- inclusion complex for food packaging. *Food Chem.* 233: 117-124.
- [22] Teilaghi-S, Movaffagh J, Bayat Z. 2020. Preparation as well as evaluation of the nanofiber membrane loaded with nigella sativa extract using electrospinning method. *J. Polym Environ.* 28: 1614-1625.
- [23] Amiri N, Ajami S, Shahroodi A, Jannatabadi N, Amiri Daraban S, Fazli Bazzaz B.S, Pishavar S, Kalalinia F, Movaffagh J. 2020. Teicoplanin-loaded chitosan-PEO nanofibers for local antibiotic delivery and wound healing. *Int. J. Bio. Macromolecule.* 162: 645-656.
- [24] Dabbagh Moghaddam A, Kazemi M, Movaffagh J, sharifan A. 2019. Design of Zein Electrospinning Nanofiber Packaging Containing Zataria Multiflora Essential Oil to Preserve the Ration Food. *Journal of food technology and nutrition*, 16(3): 91-102.
- [25] Sadri M, Yousofi I, Vatani H. 2019. Preparation of chitosan and Lawsonia inermis nano-fiber and evaluation of its antibacterial and biocompatibility properties. *Daneshvar Medicine*, 117: 59-71.
- [26] Neo YP, Ray S, Easteal AJ, Nikolaidis MG, Quek SY. 2012. Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter. *J Food Eng.* 109(4): 645-651.
- [27] Barzegari A, Shariatinia Z. 2018. Fabrication of Chitosan-Polyethylene Oxide Electrospun Nanofibrous Mats Containing Green Tea Extract. *Iranian Journal of Chemical Engineering.* 15(2):6577.
- [28] Kohsari I, Shariatinia Z, Pourmortazavi SM. 2016. Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing bioactive silver nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 140, 287-298.
- [29] Jirofti N, Mohebbi-Kalhari D, Hadjizadeh A, Kazemzadeh GH, Taheri R. 2019. Experimental Study and Evaluation of Mechanical Properties of Nano-Scale Single and Composite Structures (PCL/PU) Fabricated by Co-Electrospinning and Blend-Electrospinning Methods. *Journal of*



## Use of Electrospun Chitosan Nanofibers as Nanocarriers of *Artemisia sieberi* Extract: Evaluation of Properties and Antimicrobial effects

Rezaei, M. <sup>1</sup>, Aran, M. <sup>2\*</sup>, Amani, A. M. <sup>3</sup>, Miri, M. A. <sup>4</sup>, Ramezan, D. <sup>2</sup>

1. Former M.Sc. student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
3. Assistant Professor, Department of Medical Nanotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Shiraz University of Medical Sciences
4. Assistant Professor, Department of Food Industry, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 01 October 2020 Accepted 05 December 2020</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Artemisia extract, Electrospinning, Encapsulation, Medicinal plant.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.18.03.27</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: mehdian@uoz.ac.ir</p>	<p>Artemisia is an important medicinal plant which is widely used in the treatment of skin diseases and it has antimicrobial properties. This research was carried out with the aim of making nano-fibers with <i>Artemisia sieberi</i> Besser extract to study its antimicrobial properties against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria. Artemisia extract and electrospinning solution containing 0.2 g of polyethylene oxide, 0.05 g of chitosan and 1.5 ml of acetic acid were prepared and then nanofibers were produced by electrospinning of the solutions. Artemisia Extract loading with 100 mg/ml extract had a significant effect on the diameter of fibers and the average fiber diameter with Artemisia extract (218.4 nm) compared to the fibers without extract (204.8 nm) were higher. The tensile stress at the tear point of the nanofibers with Artemisia extract (3.04 MPa) was lower than the fibers without the extract (3.46 MPa) and elongation at break was higher (7.6%). The nanofibers with the extract had more resistance temperature than non-extract fibers. This is due to the crystal state of Artemisia extract in the fibers. The nanofibers produced with Artemisia extract had inhibitory properties for both studied bacteria. Nanofibers with 100 mg/ml extract completely controlled the bacterial growth. Nanofibers with 20 and 50 mg/ml of extract had a better inhibitory effect on <i>Pseudomonas aeruginosa</i> than <i>Staphylococcus aureus</i>. The Addition of Artemisia extract improved the antimicrobial properties of chitosan nanofibers.</p>