



مطالعه تولید نانو الیاف کامپوزیت از ترکیبات هیدروکلوئیدی دانه *Salvia macrosiphon L.* به روش الکتروریسی

به منظور ریز پوشینه کردن ویتامین D₃

صدیقه یزدان پناه^{۱*}، مونا قربانی نژاد^۲

۱-دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۲-دانشجوی دکتری گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

| اطلاعات مقاله | چکیده |
|---|--|
| تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۱ | پیشرفت در فرآیندهای تولید نانو ساختارها با خصوصیات فرمولی مناسب، تولید نانوذرات پایدار با قابلیت کاربرد در صنعت غذا را فراهم می‌سازد. می‌توان ترکیبات زیست فعال ریزپوشانی شده را در فیبرهای الکتروریسی ادغام کرد تا پایداری بیشتر نانوذرات در برابر حرارت و نور که منجر به افزایش زمان نگهداری است، محقق شود. در مطالعه حاضر، لایه‌های نانوالیاف کامپوزیتی از موسیلاژ استخراجی از دانه <i>Salvia macrosiphon</i> با استفاده از الکتروریسی ساخته شدند. نانوکامپوزیت نانوالیاف از پلی وینیل الکل / ایزوله پروتئین سبوس برنج / موسیلاژ دانه <i>Salvia macrosiphon L.</i> در نسبت‌های مختلف آماده شد. سپس مورفولوژی و طیف سنجی FTIR مورد بررسی قرار گرفت. متوسط قطر نانوالیاف تولیدی حدود ۴۰ نانومتر و ضریب واریانس ۱۳٪ است، که نشان داد قطر الیاف نسبتاً یکنواخت است. افزایش غلظت محلول موسیلاژ و درصد ثابت پلی وینیل الکل باعث افزایش قطر نانوالیاف به طرز قابل توجهی شد. در مرحله بعد، ویتامین D ₃ درون نانوالیاف پلی وینیل الکل و کنسانتره پروتئین سبوس برنج کپسوله شد. نتایج FTIR وجود ویتامین D ₃ را در نانوالیاف تهیه شده تایید کرد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک در محیط واکنش، قدرت مهارکنندگی رایکال‌های آزاد موسیلاژ افزایش یافت. ترکیب نانوالیاف در نمودارهای طیف‌سنجی نشان داد که در نمونه‌های نانوکامپوزیت و ریزپوشانی شده، از ویتامین D ₃ ، دو پیک قوی در محدوده ۱۴۵۴ و ۱۷۴۳ بر سانتی‌متر وجود دارند که ارتعاشات کششی مربوط به گروه C=C در حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنولیک را نشان می‌دهند. بر اساس یافته‌ها، ترکیبات زیست‌فعال جهت افزایش دسترسی به ویتامین D ₃ را می‌توان در نانوالیاف الکتروریسی شده موسیلاژ <i>Salvia macrosiphon L.</i> / پلی وینیل الکل / کنسانتره پروتئین سبوس برنج محصور کرد. |
| کلمات کلیدی: الکتروریسی، نانوفیبر، <i>Salvia macrosiphon L.</i> | |
| DOI:10.22034/FSCT.22.158.155. * مسئول مکاتبات: yazdanpanah2004@gmail.com | |

۱-مقدمه

نانوفناوری در سال‌های اخیر به عنوان یکی از زمینه‌های پژوهشی و کاربردی پیشرفته در سطح جهان شناخته شده است [۱]. پیشرفت در فرآیندهای تولید نانو ساختارها و نانومواد با خصوصیات فرمولی مناسب، تولید نانوذرات پایدار با قابلیت کاربرد در صنعت غذا و صنایع وابسته را فراهم می‌سازد [۲ و ۳]. سازه‌های نانوالیافی جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده‌اند، زمانی که قطر الیاف پلیمری از میکرومتر به نانومتر کاهش پیدا می‌کند، خصوصیات جالب توجهی در آنها ظاهر می‌شود که می‌توان به بزرگ شدن نسبت سطح به حجم، افزایش قابلیت انعطاف پذیری در گروه‌های عاملی سطحی و عملکرد مکانیکی عالی مانند سختی و قدرت کششی اشاره نمود [۴ و ۵]. فرآیند الکترووریسی شامل اعمال ولتاژ بالا به پلیمرها در محلول یا مذاب است که منجر به ریسندگی الیافی به اندازه میکرون یا حتی نانومتر می‌شود و از مواد پلیمری زیست تخریب پذیر مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال استفاده می‌شوند [۶ و ۷]. الکتروپینینگ یک تکنیک ساده و کاربردی است و می‌توان ترکیبات زیست فعال را در فیبرهای الکترووریسی ادغام کرد این نانوالیاف دارای ویژگی‌های سودمندی مانند تخلخل بالا و مساحت سطحی خاص هستند. از جمله ریزپوشانی با کارایی بالا، ثابت و پایدار بودن مواد ریزپوشانی شده، پایداری بیشتر در برابر حرارت و نور که منجر به افزایش زمان نگهداری و حفاظت مواد فعال زیستی از تخریب مواد شیمیایی می‌شود [۸ و ۹]. پایداری امولسیون‌ها بخش مهمی از الکترووریسی امولسیون است، امولسیون‌ها در طول زمان تمایل به شکستن دارند، بنابراین برای افزایش پایداری باید امولسیفایر اضافه شود. یکی از امولسیفایرهای رایج سورفکتانت‌ها هستند، که با افزایش نیروهای دافعه از تجمع قطرات جلوگیری می‌کنند. بنابراین الکترووریسی با میکروامولسیون‌ها می‌تواند یک مزیت قابل توجه برای توسعه محصول جدید با عملکردهای بهبود یافته باشد [۱۰ و ۱۱]. پلیمرهای طبیعی به دلیل زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری بهتر و غیر سمی بودن توجه زیادی را به نانوالیاف به دست آورده‌اند در تحقیقاتی که انجام شده به دلیل عملکرد مفید در چرخش،

گلوتن گندم برای اختلاط الکترووریسی و پردازش در لایه‌های نانوالیاف مرکب و بسته‌بندی آنتی‌باکتریایی فعال برای حامل‌های مواد غذایی و دارو استفاده شده است [۱۴ و ۱۳ و ۱۲]. پس از افزودن گلیسرول مونولورات به محلول الکترووریسی گلوتن گندم، الکترووریسی مخلوط را انجام دادند. فیلم‌های به دست آمده پایداری آب و فعالیت ضدباکتریایی خوبی داشتند و به عنوان مواد بسته بندی ضدباکتریایی مواد غذایی مناسب بودند. پلی وینیل الکل (PVA) به دلیل ماهیت غیرسمی، حلالیت عالی در آب و زیست تخریب پذیری کامل به عنوان یک ماده خام پلیمری بسیار مناسب برای الکترووریسی شناخته شده است. در نتیجه اغلب در محلول‌های الکترووریسی به‌عنوان یک اسپینینگ ادغام می‌شود تا خواص چرخشی محلول و ویژگی‌های مکانیکی لایه‌های نانوالیاف را افزایش دهد [۲]. عزیز و همکاران (۲۰۱۹) با موفقیت فیلم‌های نانوالیاف (پلی وینیل الکل/گلوتن گندم) PVA/WG را تهیه کرده‌اند که می‌توان از آنها برای بارگیری داروها استفاده کرد [۱۵]. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، می‌توان از تکنیک‌های اتصال عرضی استفاده کرد. روش‌های پیوند متقابل شیمیایی و آنزیمی معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما پسماندهای سمی تولید می‌کنند و نسبتاً دست و پا گیر هستند، در نتیجه اجرای آنها را در حوزه بسته‌بندی فعال مواد غذایی محدود می‌کنند [۱۶]. از این رو اتخاذ یک روش اتصال عرضی غیرسمی و ساده در نظر گرفته شد، با افزودن یک قند کاهنده (به عنوان مثال، گلوکز) به محلول الکترووریسی، و سپس قرار دادن فیلم الکترووریسی شده حاصل در دمای بالا برای ایجاد اتصال عرضی مایلارد که این واکنش بین گروه کربونیل الکتروفیل قند احیاکننده و گروه آمین آدپروتون در یک پروتئین رخ می‌دهد. این ترکیب و برهمکنش پروتئین را تغییر می‌دهد و منجر به پیوند متقابل مایلارد می‌شود [۱۷ و ۱۸]. در تحقیقی دیگر دنگ و همکاران (۲۰۱۹) گلوکز / ژلاتین / زئین را در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار دادند، و نشان داد که پایداری آب لایه‌های نانوالیاف ژلاتین اضافه شده با گلوکز را می‌توان تا ۱۴ روز پس از اتصال عرضی مایلارد را افزایش داد [۴]. مواد هیدروکلونیدی و عصاره‌های فنولی طبیعی

۱-۲- مواد اولیه

مواد اولیه اصلی مورد استفاده جهت تهیه نانوکامپوزیت الکتروریسی شده شامل دانه *Salvia macrosiphon L.* و سبوس برنج از بازار محلی (شهرکازرون، ایران)، پلی‌ونیل‌الکل با وزن مولکولی ۴۴/۰۵۳ گرم بر مول (مرک، آلمان) و جهت استخراج کنسانتره پروتئین سبوس گندم، مواد هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک (مرک، آلمان) تهیه و خریداری شد.

۲-۲- استخراج موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.*

جهت استخراج موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.* به نسبت ۲۰:۱ آب به دانه‌های *Salvia macrosiphon L.* اضافه شد. pH آب (۸/۵) با استفاده از سود ۰/۲ مولار تنظیم شد. سپس، به منظور جداسازی موسیلاژ از دانه‌های چیا، مخلوط به مدت ۱.۵ ساعت با استفاده از همزن هموژنایزر (HD3200, Berli، آلمان) با ۱۵۰۰ دور بر دقیقه به هم‌زده شد تا موسیلاژ جدا شود. با تشکیل دانه‌های متورم و ژل در اطراف آن‌ها، نمونه‌ها درون دستگاه سانتریفوژ (Hettich-320R Universal، آلمان) به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. موسیلاژ استخراج‌شده، و در آن به مدت ۲ ساعت و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک، سپس در کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شد و تا زمان مصرف در جای خشک و خنک نگهداری شد [۲۴].

۳-۲- ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد

غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰) از ترکیبات موسیلاژ استخراجی از دانه *Salvia macrosiphon L.* به همراه ۱ میلی‌لیتر از (diphenyl-1-picrylhydrazyl free) DPPH (radical) ۰/۱ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. بعد از ۳۰ دقیقه قراردادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل بلانک توسط دستگاه UV-Vis (Schimadzu UV/Vis-240 IPC، ژاپن) قرائت شد [۲۵].

درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%RSD = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

مواد ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانی هستند که معمولاً در بسته‌بندی مواد غذایی برای بهبود ایمنی و کاهش فساد مواد غذایی استفاده می‌شوند [۱۹ و ۱۸]. تخم مرو *Salvia macrosiphon L.* یا مرمرشک که با نام محلی "برویز" نیز شناخته می‌شود، به تخم‌های درخت مرو اطلاق می‌شود. هیدروکلونید تخم مرو به دلیل داشتن مواد مغذی مانند پروتئین، چربی‌های سالم، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی، و خواص آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک منبع غذایی مفید شناخته می‌شود [۲۰]. برای تامین تقاضای پروتئین توسط جمعیت رو به رشد و همچنین به حداقل رساندن استفاده از پروتئین از منابع حیوانی، ابتکاراتی برای یافتن روش‌های جایگزین پروتئین با کیفیت بالا از گیاهان انجام شده است [۲۱]. در بین منابع گیاهی، پروتئین برنج از چهار ماده اصلی آلبومین‌ها، گلوبولین‌ها، گلوپتین‌ها و پرولامین‌ها تشکیل شده است. در میان آنها، گلوپتین جزء اصلی پروتئین است که حدود ۸۰ درصد از کل پروتئین در آندوسپرم را تشکیل می‌دهد. در سبوس برنج پروتئین‌های محلول در آب مانند آلبومین پروتئین اصلی است. سبوس برنج حاوی آمینواسیدهای مهم آرژنین، ترئونین، گلايسين، سيستين، والين، متيونين، لوسين، ايزولوسين، تيروسين، لایزین، هیستیدین و فنیل آلانین است [۲۲]. امروزه کمبود ریز مغذی‌ها در جامعه انسانی، توجه به غنی‌سازی مواد غذایی احساس می‌شود ویتامین D₃ یک ترکیب از خانواده ویتامین D است که به طور طبیعی ۷-دهیدروکلسترول در پوست، با قرار گرفتن در معرض نور خورشید به ویتامین D₃ تبدیل می‌شود. تحقیقات نشان دادند علت مشکلات معده‌ای-روده‌ای که دردهای شکمی، یبوست، اسهال و تورم به همراه دارد به دلیل کمبود ویتامین D هستند [۲۳]. در پژوهش پیش رو با توجه و تکنیک‌های پیشرفته در افزایش پلیمرهایی با خاصیت ارزش بالای بهداشتی به تولید نانوالیاف کامپوزیت از ترکیبات هیدروکلونیدی دانه *Salvia L. macrosiphon* پلی‌ونیل‌الکل و کنسانتره پروتئین سبوس برنج به روش الکتروریسی به منظور ریز پوشینه‌کردن ویتامین D₃ پرداخته شده و خصوصیات نانوالیاف تولیدی را مورد بررسی قرار داده است.

۲- مواد و روش‌ها

ترکیبات گیاهی آزمایش شده یا ترکیبات جدا شده از نظر میکروبیولوژیکی فعال باشند، پس از انکوباسیون، یک ناحیه بازدارنده در اطراف دیسک کاغذ صافی ایجاد می شود. قطر ناحیه مهار به درستی قدرت ضد میکروبی ترکیبات گیاهی یا ترکیبات فردی را توصیف می کند. لازم به ذکر است که روش انتشار دیسک روش مناسبی برای عصاره های چربی دوست نمی باشد زیرا انتشار نامحلول در آب و ترکیبات آن از دیسک کاغذ صافی به محیط آگار ناکافی است. بنابراین، چربی دوست ها نتایج منفی یا مناطق بازدارندگی کوچکتری با روش انتشار دیسک نسبت به سایر آزمایش ها، می دهند. برای تعیین فعالیت ضد میکروبی از روش انتشار آگار استفاده شد. نمونه ها با استفاده از یک قالب به دیسک هایی به قطر ۱۰ میلی متر تبدیل شد. قبل از قراردادن دیسک ها روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوای تقریباً ۱۰^۸ CFU/ml از هر کدام از باکتری های (گرم منفی و گرم مثبت) آزمایش انجام گرفت. دیسک ها در شرایط کاملاً استریل بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. اختلاف قطر هاله های تشکیل شده از قطر دیسک ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی در نظر گرفته شد. در مواردی که هاله ای تشکیل نشده باشد، یعنی فعالیت ضد میکروبی وجود ندارد، اختلاف مساحت برابر صفر در نظر گرفته شد [۲۶].

۲-۶- استخراج کنسانتره پروتئینی سبوس برنج

برای استخراج کنسانتره پروتئینی سبوس برنج ابتدا ۱۰۰ گرم سبوس برنج به روش کلدال، روغن گیری شد. سپس سبوس برنج روغن گیری خشک شده را با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱ (وزنی/وزنی) مخلوط شد. با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم با غلظت ۱/۱ مولار، pH محلول را به ۱/۱ رسانده و به مدت یک ساعت در دمای محیط همزده شد. مخلوط را در سانتریفیوژ در ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. pH سوپرناتانت (مایع بدست آمده بعد از سانتریفیوژ) را با استفاده از اسید کلریدریک به ۱/۴ رسانده و به مدت نیم ساعت همزده شد. سپس به همراه پروتئین ها، سوپرناتانت را در دمای ۴ درجه سانتی-

RSD%: درصد مهار رادیکال آزاد (درصد بازدارندگی آنتی اکسیدان در برابر رادیکال های آزاد)

A₀: جذب شاهد (که حاوی یک میلی لیتر از متانول و یک میلی لیتر از محلول DPPH می باشد)

A: جذب نمونه (که حاوی حجم های مختلفی از موسیلاژ BHT و DPPH می باشد)

۲-۴- اندازه گیری محتوای تام فنلی

میزان ترکیبات فنولی کل بر اساس روش رنگ سنجی Folin-ciocaltue و بر حسب اسید گالیک اندازه گیری شد. محلول های استاندارد با غلظت های ۱۲.۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲.۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ بی پی ام از اسید گالیک (مرک، آلمان) در محلول ۶۰٪ متانول تهیه شد، سپس از هر یک، ۰/۱ میلی لیتر به لوله آزمایش منتقل شد و به آن ها ۰/۵ میلی لیتر از محلول ۱۰٪ واکنش گر فولین - سیو کالتیو (مرک، آلمان) اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن ۰/۴ میلی لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد، آنگاه لوله ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب نوری به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر (Schimadzu UV/Vis-240 IPC، ژاپن) در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد. سپس ۱ گرم از موسیلاژ خشک شده را در متانول ۶۰٪ حل شد و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده و بر اساس روش فولین-سیو کالتیو میزان فنول کل تعیین شد، با این تفاوت که به جای محلول استاندارد، ۰/۱ میلی لیتر از محلول موسیلاژ اضافه شد، سپس میزان جذب قرائت شده را در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنول کل ترکیبات هیدروکلوئیدی بر حسب معادل اسید گالیک (میلی گرم بر میلی لیتر) به دست آمد [۲۵].

۲-۵- بررسی فعالیت ضد میکروبی

بررسی خاصیت ضد میکروبی به روش انتشار دیسک به عنوان یک روش انتشار آگار طبقه بندی می شود، چرا که ترکیبات گیاهی که باید آزمایش شود از مخزن خود از طریق محیط آگار بذر شده با میکروارگانیسم آزمایش پخش می شود. به طور کلی، مخزن یک دیسک کاغذ صافی است که در بالای سطح آگار قرار می گیرد. اگر

2000X، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب، شرایط مناسب برای دستیابی به الیاف با کمترین گره و بیشترین یکنواختی تعیین شد. در مرحله اول غلظت‌های متفاوت موسیلاژ با ۳ میلی‌متر آب مقطر حل شد. سپس ۰/۴ پلی وینیل الکل و ۰/۴ کنسانتره پروتئینی سبوس برنج در دمای محیط به مدت ۱۵ ساعت هم زده شد. تا یک محلول یک دست و یکنواخت بوجود آمد. سپس محلول آماده شده با اولتراسونیک فراصوت پروپ‌دار از جنس تیتانیوم (HD3200, Berlin، آلمان) به خوبی همگن شدند. و محلول تهیه‌شده درون سرنگ ۵ میلی‌لیتری منتقل شدند و با استفاده از دستگاه الکتروریسی (Full Option Lab 2ESII-II، ایران) با ولتاژ مثبت ۱۸ کیلو ولت الکتروریسی شدند. فاصله تا نوک سوزن ۱۲ سانتی‌متر در نظر گرفته‌شد و سرعت درام جمع‌کننده ۵۰۰ دور بر دقیقه بود.

گرا برای یک شب نگهداری شد تا پروتئین‌ها رسوب کنند. لایه‌ی رسوبی را با دقت از بالای مخلوط جدا شد و پروتئین‌های رسوب یافته را با آب مقطر شسته و خنثی شد [۲۷].

۷-۲- الکتروریسی محلول

در این آزمایش، الکتروریسی محلول با نسبت‌های مختلف جدول ۱ در شرایط محیطی و شرایط مختلف دستگاهی شامل ولتاژ در محدوده ۱۲ تا ۲۰ کیلوولت، نرخ تغذیه محلول الکتروریسی در محدوده ۰/۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر بر ساعت و فاصله سر سوزن تا سطح جمع‌کننده نانوالیاف در محدوده ۹ تا ۱۵ سانتی‌متر بررسی شد [۲۸]. برای انتخاب شرایط دستگاهی بهینه، محدوده ۹ سانتی‌متر تا در هر بار دو پارامتر ثابت در نظر گرفته شد و پارامتر سوم در محدوده ذکر شده تغییر داده شد. سپس تمام نمونه‌ها پس از الکتروریسی، توسط میکروسکوپ نوری (HUTACT-40 X-

Table 1. Solution samples for electrospinning.

| Treatment | Mucilage (%) | Polyvinyl alcohol (%) | Protein Concentrate (%) |
|-----------|--------------|-----------------------|-------------------------|
| A | 0.1 | 4 | 4 |
| B | 0.3 | 4 | 4 |
| C | 0.5 | 4 | 4 |
| D | 0.7 | 4 | 4 |

ساعت الکتروریسی شد [۲۹]. ابتدا غلظت‌های مختلف موسیلاژ طبق جدول ۲ و ویتامین به نسبت ۱ به ۴ به ۱/۵ میلی‌لیتر آب اضافه و به مدت ۴۵ دقیقه روی همزن قرار داده شد تا ویتامین در ساختار محلول پلیمر قرار بگیرد و در نهایت داخل سرنگ کشیده و آماده الکتروریسی شد.

۸-۲- ریزپوشینه‌دار کردن

در این مرحله از نسبت‌های مختلف طبق جدول ۲ در شرایط محیطی استفاده و هم‌زده و بلافاصله محلول حاصل به مدت ۲

Table 2. Samples containing encapsulated composite compounds

| Treatment | Encapsulated with nano composite |
|-----------|--|
| Control | Polyvinyl alcohol 4% + rice bran protein 4% + 1% vitamin D3 |
| A | Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.1% <i>Salvia macrosiphon L.</i> seed mucilage |

| | |
|---|--|
| B | Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.3% <i>Salvia macrosiphon L.</i> seed mucilage |
| C | Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.5% <i>Salvia macrosiphon L.</i> seed mucilage |
| D | Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.7% <i>Salvia macrosiphon L.</i> seed mucilage |

۱۰-۲-آزمون طیف سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR از دستگاه (Spectrum Two, FTIR) (Perkin Elemer, USA) استفاده شد. قرص‌های نازکی از نمونه‌های خشک‌شده با ضخامت کمتر از یک میلی‌متر و پوشش دادن با پتاسیم برمید در دستگاه تهیه قرص به دست آمد و طیف عبور نمونه‌ها در محدوده عدد موجی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر و با قدرت تفکیک ۵ بر سانتی‌متر مورد آنالیز قرار گرفت [۳۱].

۱۱-۲-آنالیز آماری

در این پژوهش تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده شد. کلیه آزمایشات بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگن‌ها با آزمون دانکن و در سطح ۵٪ انجام شد. رسم منحنی‌ها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

۳-بحث و نتایج

۱-۳-ارزیابی مهار رادیکال آزاد DPPH و فنل کل موسیلاژ *Salvia macrosiphon L.*

در جدول ۳ و ۴ به بررسی ارزیابی مهار رادیکال آزاد DPPH و فنل کل موسیلاژ *Salvia macrosiphon L.* پرداخته شده است. اثرات رادیکال آزاد DPPH در هیدروکلوئیدها به عنوان یک دسته گسترده از مواد پلیمری محلول در آب، مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفته است. هیدروکلوئیدها شامل پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌شوند که خواص زیستی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند. علاوه بر این، این پلی‌ساکاریدها می‌توانند محتوای سوپراکسید

۹-۲-مورفولوژی نانو الیاف با استفاده از دستگاه

میکروسکوپ الکترونی

از آنجا که نمونه‌های حاوی آب، سیستم‌های تحت خلاء مانند محفظه میکروسکوپ الکترونی روبشی را دچار مشکل خروج گاز می‌کنند، نمونه‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی باید خشک باشند. همچنین ممکن است دمای سطح نمونه در اثر برخورد الکترون‌های پراثرژی به آن، افزایش یافته و موجب پدیده تبخیر و گاززدایی و همچنین افزایش آلاینده‌های موجود در محفظه، و در نتیجه کاهش کیفیت تصویر شود. علاوه بر آن، بالارفتن دمای سطح نمونه می‌تواند منجر به آسیب دیدن نمونه شود. افزون بر خشک بودن، نمونه میکروسکوپ الکترونی روبشی باید رسانا نیز باشد تا از تجمع بار الکتریکی بر روی سطح نمونه در اثر برخورد پرتو الکترونی جلوگیری شود. بدین منظور نمونه‌های نارسانا با لایه‌ای نازک از ماده‌ای رسانا پوشش داده می‌شوند.

بوسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (TESCAN vega3, Czech Republic، چین) برای مطالعه سطح نمونه‌های نانوکامپوزیت حاوی ویتامین D₃ با توان ۵ کیلو وات، قطعات کوچک از نمونه‌های نانوکامپوزیت به کمک چسب نقره به پایه نگهدارنده آلومینیومی چسبانده و پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده/پاشنده به مدت ۵ دقیقه با طلا (DSR1)، شرکت پوشش نانو ساختاری، ایران) پوشش داده و تصویر برداری در محدوده بزرگنمایی ۲۰۰۰۰ انجام شد [۳۰].

IC₅₀ به آن غلظت از عصاره گفته می‌شود که در این غلظت نیمی از رادیکال‌های آزاد مهار شده است. این مقدار برای رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام (۷۳/۰۸ درصد) از موسیلاژ مشاهده شد. با توجه به تنوع ترکیبات موجود در گیاهان مختلف، معمولاً از روش‌های متعددی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. نتایج مطالعات مختلف نشان داده‌اند که هیدروکلوئیدهای پروتئینی و پلی‌ساکاریدی دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی و توانایی کاهش رادیکال‌های آزاد هستند [۳۵ و ۳۴].

دیسموتاز را افزایش دهند که از مکانیسم آنتی‌اکسیدانی پشتیبانی می‌کند [۳۲]. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد DPPH در شش غلظت مختلف نشان داده شده است. ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد، DPPH نشان داد افزایش غلظت تاثیر معنی‌داری بر مهار رادیکال آزاد دارد یعنی فعالیت مهار رادیکال آزاد غلظت‌های مختلف موسیلاژ وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت موسیلاژ، میزان مهار رادیکال آزاد بیشتر شده است [۳۳]. برای مقایسه فعالیت مهار رادیکال آزاد موسیلاژ از فاکتوری به نام IC₅₀ استفاده شده است. طبق تعریف

Table 3. Evaluation evaluation of DPPH radical inhibition in the extracted mucilage of *Salvia macrosiphon L.* seed

| Concentration (µg/ml) | Control absorption | <i>Salvia macrosiphon L.</i> mucilage | RSA % | IC ₅₀ (mg/ml) |
|--------------------------|-----------------------|--|-------|-----------------------------|
| 50 | 0.52 | 0.312 | 40.00 | 2.34 |
| 100 | 0.52 | 0.291 | 44.04 | 7.73 |
| 150 | 0.52 | 0.228 | 56.15 | 13.12 |
| 200 | 0.52 | 0.180 | 65.38 | 18.51 |
| 250 | 0.52 | 0.140 | 73.03 | 23.90 |
| 300 | 0.52 | 0.075 | 85.58 | 29.29 |
| 350 | 0.52 | 0.035 | 93.27 | 34.68 |

شرایط آب و هوایی و عوامل دیگر متغیر است. توانایی و قدرت مهارکنندگی فنل‌ها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل در ملکول‌های آن‌ها است [۳۷]. افزایش غلظت ترکیبات فنلی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌ها و هیدروکلوئیدهای مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنلی در محیط واکنش، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی موسیلاژ افزایش می‌یابد [۳۸]. پتریسیون و همکاران (۲۰۱۵) اثر پوشش میوه کیتوزان در به تاخیر انداختن صفات کیفی و غذایی سه رقم توت‌فرنگی به نام‌های "کاندونگا"، "جونیکا" و "سابرینا" و همچنین اثر کیتوزان بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. خواص فیزیکیوشیمیایی (کاهش وزن، محتوای جامد

موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.* حاوی ترکیبات فنلی است محتوای فنلی صمغ با دستگاه اسپکتروفتومتر مورد سنجش قرار گرفت. نتایج به دست آمده در جدول ۴ گزارش شده است. فنولیک اسیدها و مشتقات پلی‌فنلی از جمله ترکیباتی هستند که در این موسیلاژ موجود هستند. این ترکیبات به دلیل ساختار آب دوست که دارند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند. همچنین میزان ترکیبات فنلی در موسیلاژ دانه حدود ۱۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) معادل گالیک اسید به دست آمد. این مقدار نشان‌دهنده وجود سطح قابل توجهی از ترکیبات فنلی در موسیلاژ است که می‌تواند به عنوان یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها مورد استفاده قرار گیرد [۳۶]. مقدار فنولیک‌ها در مواد غذایی متفاوت است و بستگی به نوع ماده غذایی، روش کشت، فصل رشد،

در محتوای پلی فنل، آنتوسیانین و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه‌های توت فرنگی پوشش داده شده با کیتوزان به تعویق افتاد. پوشش کیتوزان فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش داد و از قهوه‌ای شدن گوشت جلوگیری کرد [۳۹] که با نتایج تحقیق حاضر حداکثر محتوای فنلی کل تأیید شد، مطابقت داشت.

محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون) و مغذی (پلی فنل کل، آنتوسیانین، فلاونوئید، محتوای اسیداسکوربیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی) همراه با فعالیت آنزیمی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، گاپاکول پراکسیداز و لیپوکسیژناز مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمار کیتوزان به طور قابل توجهی از دست دادن آب را کاهش داد و تغییرات کیفی در رنگ، اسیدیته قابل تیتراسیون و محتوای اسیداسکوربیک به تاخیر انداخت. علاوه بر این، تغییرات

Table 4. Examination of the total phenol of extracted *Salvia macrosiphon L.* mucilage

| Factor | The amount of | |
|--------------|---------------|-------|
| Total phenol | 10.24 | μg/ml |

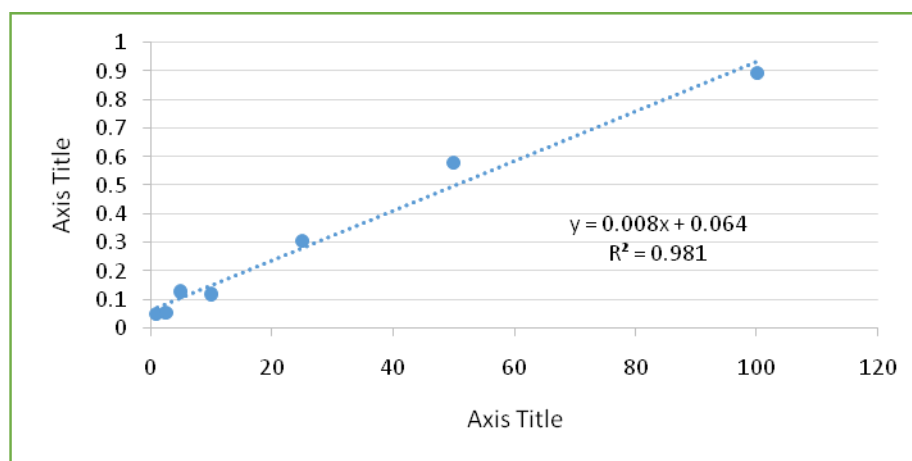


Figure 1. Absorption diagram of the calibration of mucilage extracted from *Salvia macrosiphon L.* seed based on gallic acid (μg/ml)

دارای اثرات ضد میکروبی مشخصی است و حساسیت بیشتری بر روی *استافیلوکوکوس* نشان داده است دلیل حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به علت عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی در باکتری‌های گرم مثبت باشد [۴۰]. در باکتری‌های گرم منفی، دیواره سلولی از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری می‌کند به دلیل وجود غشاهای خارجی احاطه کننده، دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی، به نسبت باکتری‌های گرم مثبت کمتر حساسیت نشان می‌دهند. غشا خارجی باکتری‌های گرم منفی مانع از انتشار مواد چربی دوست از میان لایه پوشاننده لیپوپلی ساکاریدی می‌شود. در باکتری‌های گرم مثبت، تماس

۲-۳- خصوصیات ضد میکروبی موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.*

قطر هاله عدم رشد (هاله بازدارندگی) به روش انتشار با استفاده از دیسک برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در جدول ۵ نشان داده شده است. در مقدار میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری گرم منفی و گرم مثبت در تیمارهای تفاوت معناداری مشاهده شد ($p \leq 0/05$). در بررسی باکتری گرم منفی قطر هاله عدم رشد برای نمونه کنترل و *استافیلوکوکوس* به ترتیب ۲۳ و ۸ میلی متر تعیین گردید. همچنین در بررسی باکتری گرم مثبت قطر هاله عدم رشد برای نمونه کنترل و *شرشیا کلاسی* به ترتیب ۱۵ و ۳ میلی متر نشان داده است. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که موسیلاژ دانه مرورو

مطالعه ساکتیول و همکاران (۲۰۱۲) و سفری و همکاران (۲۰۱۵)، نشان داده شده است که استخراج متابولیت‌های ثانویه میکروبی، باعث اثر ضد میکروبی در گیاهان است [۴۲ و ۴۱]. بنابراین پژوهش حاضر با پژوهش‌های پیشین مطابقت دارد.

مستقیم ترکیبات هیدروفوب با فسفولیپید دو لایه‌ای صورت می‌گیرد. این تماس محلی است که ترکیبات هیدروکلوئیدی اثر خود را برجای می‌گذارند. این اثر می‌تواند به صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و ترکیبات حیاتی سلول یا نشت ترکیبات حیاتی سلول رخ دهد و یا سیستم آنزیمی باکتری را ناتوان کند [۴۱]. در

Table 5. Investigating the antimicrobial properties of the mucilage of *Salvia macrosiphon L.* seed using the average diameter of the halo of non-growth (disc diffusion).

| Factor | Treatment | The diameter of the aura of lack of growth (mm) |
|------------------------|-----------------------|---|
| Gram positive bacteria | Control | 23.00±1.00 ^A |
| | <i>Staphylococcus</i> | 8.00±0.2 ^B |
| Gram negative bacteria | Control | 15.00±0.5 ^A |
| | <i>Staphylococcus</i> | 3.00±0.2 ^B |

The results are presented in the form of average standard deviation for each treatment, all experiments were done in three repetitions. Values with different capital letters are significantly different from each other at the 5% level.

موسیلاژ، قطر نانوالیاف به شکل قابل توجهی افزایش می‌یابد و این افزایش به دلیل افزایش گرانیروی محلول پلیمری رخ می‌دهد. سطح تماس موسیلاژ با نوک نازل و جمع‌کننده نیز می‌تواند تأثیرگذار باشد. سطح تماس بالا و یکنواخت میان موسیلاژ و سطح نوک نازل و جمع‌کننده می‌تواند به تشکیل نانوالیاف مسطح کمک کند. تنش سطحی موسیلاژ نیز می‌تواند در تشکیل نانوالیاف مسطح تأثیرگذار باشد. تنش سطحی بالا می‌تواند منجر به تسهیل تشکیل نانوالیاف مسطح شود. چن و همکاران (۲۰۱۰) به عنوان نتیجه تجربیات الکتروریسی کلاژن و کیتوزان در تری‌فلورواستیک اسید، گزارش کرده اند که قطر متوسط الیاف بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ نانومتر است [۴۴]. همچنین گزارش کرده‌اند که با افزایش میزان کیتوزان، قطر الیاف کاهش می‌یابد، اما به دلیل ایجاد ویسکوزیته بالا در غلظت‌های بیشتر کیتوزان، امکان الکتروریسی آن‌ها وجود نداشته است. در این تجربه، با افزایش غلظت موسیلاژ، احتمالاً ویسکوزیته محلول پلیمری افزایش یافته است. این ویسکوزیته بالا

۳-۳- خصوصیات تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانو الیاف قبل و بعد از ریزپوشانی

با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی در غلظت‌های مختلف وزنی، نانوالیاف موسیلاژ مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تصاویر نشان می‌دهند که الیاف تولید شده در غلظت‌های متفاوت دارای ساختار مسطح و یکنواخت هستند. متوسط قطر این نانوالیاف حدود ۴۰ نانومتر با ضریب واریانس ۱۳٪ است، که نشان می‌دهد قطر الیاف نسبتاً یکنواخت است. نانوالیاف مسطح به دلیل عدم تبخیر حلال در فاصله بین نوک نازل و جمع‌کننده تولید می‌شوند. بنابراین، افزایش غلظت محلول موسیلاژ و درصد ثابت پلی‌وینیل‌الکل باعث افزایش قطر نانوالیاف به طرز قابل توجهی می‌شود (نمونه کنترل حاوی کنسانتره پروتئینی سبوس برنج و پلی‌وینیل‌الکل). این افزایش قطر نانوالیاف به دلیل افزایش گرانیروی محلول پلیمری رخ می‌دهد [۴۳]. شکل ۱ نیز تأثیر غلظت موسیلاژ بر قطر نانوالیاف را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت محلول

یا زیاد باشد مانع از تشکیل ایاف بر روی سطح می شود و این امر بر روی خصوصیات سطح کششی و هدایت الکتریکی جریان می-گذارد. به همین دلیل، برای تشکیل نانوالیاف مسطح با خواص مطلوب، ممکن است نیاز به انتخاب نمونه هایی با قطر مناسب تری باشد.

می تواند باعث کاهش جریان الکتریکی و مشکل در الکتروریسی الیاف شود. به عبارت دیگر، در غلظت های بیشتر موسیلاژ، الیاف تشکیل شده به دلیل ویسکوزیته بالا و شرایط الکتریکی ناتوان در الکتروریسی هستند. که بهترین نمونه از لحاظ قطر کمتر نمونه B به دلیل اینکه اگر میزان موسیلاژ کمتر در محلول الکتروریسی کم

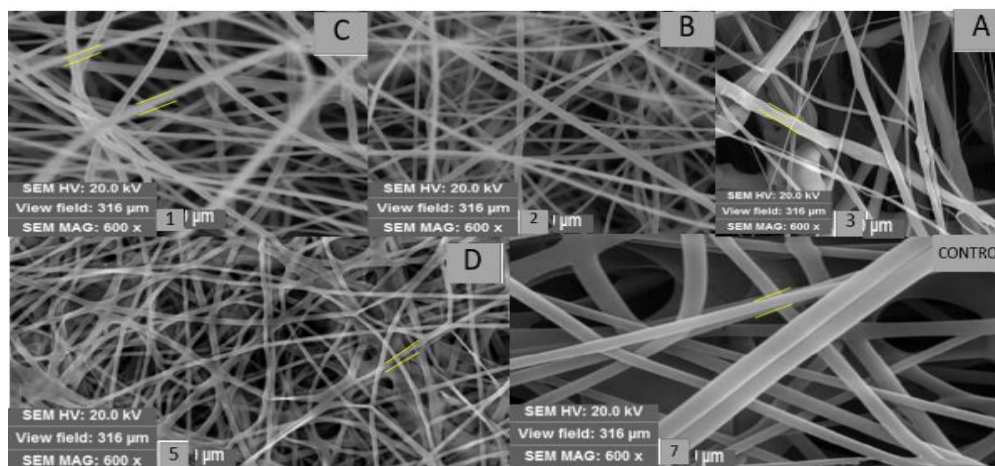


Figure 1. Morphology of nanofibers produced from extracted mucilage of *Salvia macrosiphon L.* seeds in samples containing composite nanofibers (Control: Polyvinyl alcohol 4% + rice bran protein 4% + 1% vitamin D3, A: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.1% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, B: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.3% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, C: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.5% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, D: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.7% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage).

با نسبت وزن متفاوت نایلون-۶ به کیتوزان با استفاده از فرایند الکتروریسی ساختند. آن ها متوجه شدند که مورفولوژی و قطر نانوالیاف تحت تأثیر غلظت محلول و نسبت وزن مواد تشکیل دهنده آن ها قرار دارد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان دادند که با استفاده از مخلوط نایلون-۶/کیتوزان با نسبت های مختلف وزن، قطرهای مختلفی از فیبر تشکیل می شود. با توجه به نتایج، نانوالیاف دارای میانگین قطر ۱۰۰ تا ۲۵۰ نانومتر بودند. هنگامی که محتوای کیتوزان افزایش می یابد قطر فیبر به تدریج کاهش می یابد، به خصوص زمانی که محتوای کیتوزان بیش از ۳۱ درصد وزنی می شود. پژوهش حاضر با پژوهش های پیشین مطابقت دارد.

در شکل ۲ نانوالیاف الکتروریسی شده با غلظت های متفاوت موسیلاژ و درصد ثابت پلی ونیل الکل و ایزوله پروئینی و بستر ریزپوشانی شده ویتامین D₃ مشاهده شد در نمونه ای که حاوی غلظت ۰/۵ موسیلاژ است.

وان سالک و همکاران (۲۰۱۴) از کامپوزیت ایجاد شده از ژئین و کیتوزان برای ریز پوشانی کردن آلفاتوکوفرول استفاده کردند و میانگین قطر به دست آمده را بین ۵۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر گزارش کردند [۴۵]. یک غشای کامپوزیتی از نانوالیاف نایلون-۶/کیتوزان

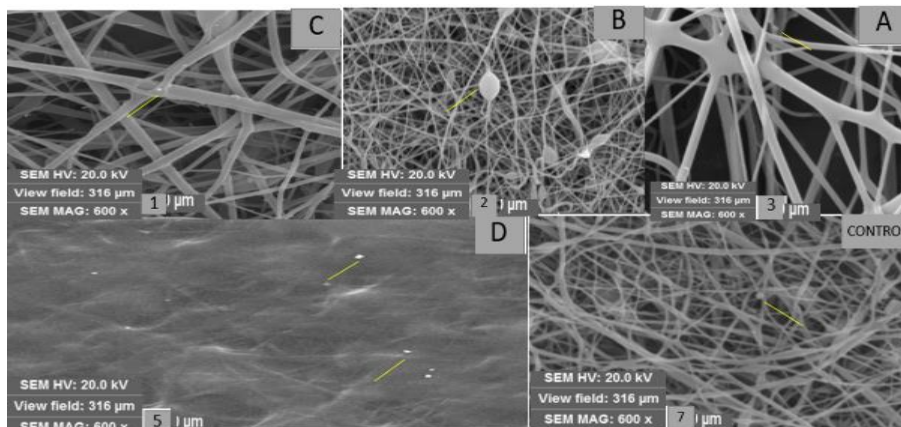


Figure 2. Morphology of nanofibers produced from extracted mucilage of *Salvia macrosiphon L.* seeds in samples containing encapsulated composite nanofibers (Control: Polyvinyl alcohol 4% + rice bran protein 4% + 1% vitamin D3, A: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.1% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, B: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.3% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, C: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.5% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, D: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D3 + 0.7% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage).

بود (منسوب به ارتعاش C-O گلوکز). سپس، شدت مشخصه ها در ۱۰۸۰-۱۰۹۰ بر سانتی متر در ۱۰۸۰ و ۱۱۲ بر سانتی متر به اوج می رسد [۴۶]. گادهاو و همکاران (۲۰۱۹) نیز نتیجه مشابهی را گزارش کردند که نمایه FTIR فیلم کامپوزیت پلی ونیل-الکل/نشاسته به سمت اعداد موج پایین با افزایش غلظت تغییر مکان داد [۴۷]. بر اساس مطالعات قبلی، الکترورسی محلول های کامپوزیتی ممکن است منجر به تغییراتی در ترکیب محلول بعد از ریزپوشانی از الکترورسی نانوالیاف تولید شود به همین دلیل ترکیب نانوالیاف با نمودارهای طیف سنجی نشان می دهد که در نمونه های نانوکامپوزیت و ریزپوشانی شده، از ویتامین D₃، دو پیک قوی در محدوده ۱۴۵۴ و ۱۷۴۳ بر سانتی متر وجود دارند که ارتعاشات کششی مربوط به گروه C=C در حلقه های آروماتیک ترکیبات فنولیک را نشان می دهند. پیک های مشاهده شده در محدوده ۲۹۲۳ و ۲۸۵۴ بر سانتی متر نیز به ارتعاشات کششی گروه H-C گروه های متیلن موجود در حلقه های فنولیک اشاره دارند. نوار پهن در با مرکزیت در ۳۳۳۱ بر سانتی متر به دلیل وجود گروه های هیدروکسیل و ویتامین D₃، ایجاد (O=C) گروه کربوکسیل به همراه پیوندهای متیل را نشان می دهد. پیک های مشاهده شده در ۱۱۵۶ و ۱۰۸۷ بر سانتی متر به ارتعاشات کششی نامتقارن O-C و ارتعاشات کششی N-C مربوط هستند. همچنین،

۳-۴- خصوصیات گروه های عاملی نانو الیاف نانو الیاف قبل و بعد از ریزپوشانی

آنالیز طیف سنجی FTIR یکی از روش های مورد استفاده در بررسی گروه های آلی موجود در هیدروکلئیدها است. در این روش، نور مادون قرمز از طریق نمونه عبور داده می شود و سپس با ماده جامدی تداخلی برخورد کرده و به شکل یک طیف جذب و شکست یافته نمایش داده می شود [۱۳]. طیف های حاصل از سامانه طیف سنجی FTIR مربوط به نمونه هیدروکلئید نانوالکترورسی از موسیلاژ در شرایط بهینه (توان برابر با ۶۰۰ وات، زمان برابر با ۴ دقیقه و pH برابر با ۰/۱) در شکل ۳ نشان داده شده است. ناحیه جذبی قوی بین ۳۵۰۰-۳۳۰۰ بر سانتی متر مربوط به گروه های عاملی OH موجود در قسمت های مختلف ساختار پلیمر موسیلاژ است. پیک ظاهر شده در نوار ۲۱۲۲ بر سانتی متر مربوط به ارتعاشات کششی آلیفاتیک H-C می باشد که شامل ارتعاشات خمشی و کششی گروه های CH₃، CH₂، CH است. به همین ترتیب، نوار ظاهر شده در ۱۷۴۳ مربوط به ارتعاشات CH-O₃ می باشد. سیمون و همکاران (۲۰۱۴) به این نتیجه رسیدند که بیشترین تغییرات جذب نسبی داربست های ژلاتینی پس از اتصال عرضی میلارد ۱۰۸۱ و ۱۰۳۵ بر سانتی متر

مربوط می‌شوند. با توجه به ترکیبات موجود، در محدوده ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ بر سانتی‌متر می‌توان پیک‌های مربوط به گروه‌های آمید، C-H آلیفاتیک و آروماتیک، و C=C آلکن‌ها را مشاهده کرد که به مرور کاهش یافته‌اند. یافته مشابهی توسط وانگ و همکاران (۲۰۱۵) گزارش شده است [۴۸].

پیک‌های مشاهده شده در ۷۲۲ و ۸۷۸ بر سانتی‌متر به خمش‌های خارج از صفحه‌ای پیوندهای H-C حلقه‌های فنولیک اشاره می‌کنند. در نمودارهای، طیف‌سنجی ریزپوشانی شده از ویتامین D₃ نیز پیک‌هایی در محدوده‌های ۱۴۵۸، ۱۵۱۷، ۲۸۵۴ و ۳۳۲۹ بر سانتی‌متر نشان می‌دهد. این پیک‌ها به ترتیب ارتعاشات کششی H-O، ارتعاشات کششی H-C ناشی از گروه‌های CH₃، آمیدهای نوع اول، آمیدهای نوع دوم، خمش‌های H-C و آمیدهای نوع سوم

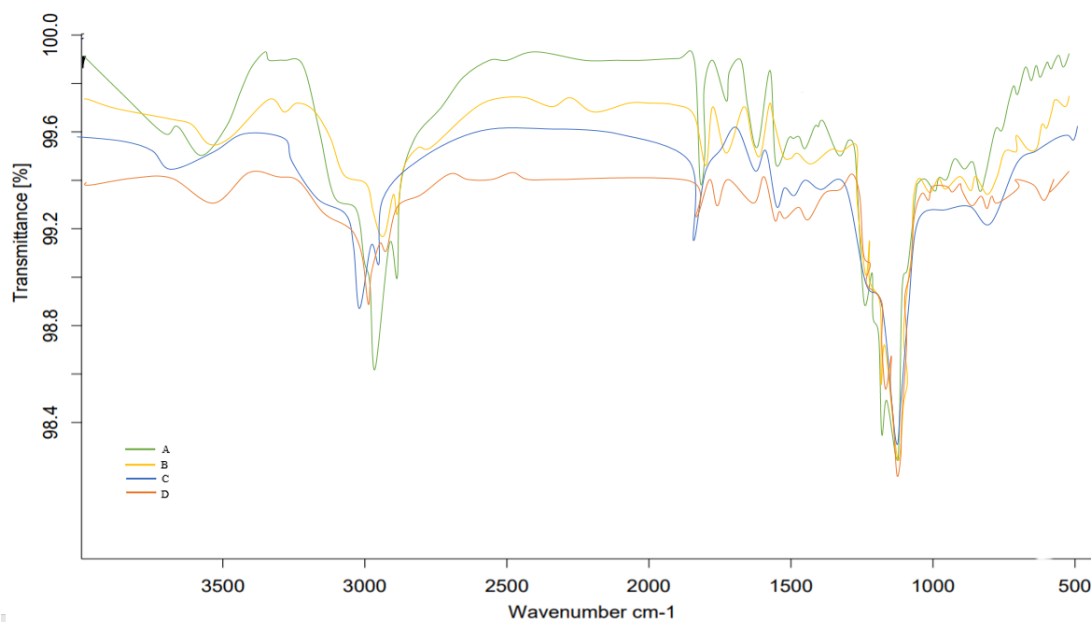


Figure 3. FTIR spectroscopy in the range of 400 to 4000 cm^{-1} in the samples containing micro-coated composite nanofiber compounds. (A: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D₃ + 0.1% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, B: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D₃ + 0.3% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, C: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D₃ + 0.5% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage, D: Polyvinyl alcohol 4% + rice sauce protein 4% + 1% vitamin D₃ + 0.7% *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage).

۴-نتیجه گیری

در کپسول‌ها و الیاف با ظرفیت بالا کپسوله شد. ادغام موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.* / پلی‌ونیل‌الکل / کنسانتره پروتئین سبوس برنج باعث کاهش میانگین قطر الیاف و افزایش میانگین قطر کپسول‌ها شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که کپسول‌ها و الیاف حاوی ویتامین مواد کاربردی برای استفاده در صنایع غذایی هستند، به‌ویژه آنهایی که اهمیت بالایی از لحاظ ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی دارند. زیرا تخریب ویتامین با ریزپوشانی کاهش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند. از

پیشرفت در فرآیندهای تولید نانو ساختارها و نانومواد با خصوصیات فرمولی مناسب، تولید نانوذرات پایدار با قابلیت کاربرد در صنعت غذا و صنایع وابسته را فراهم می‌سازد در میان آنها، فیلم‌های نانوالیاف دارای توزیع قطر یکنواخت‌تر و جهت‌گیری بهتری هستند. موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon L.* پتانسیل زیادی به عنوان یک پلیمر برای تولید کپسول و الیاف با استفاده از تکنیک الکتروریسی نشان داد. ویتامین D₃ با موفقیت

ویتامین‌ها، اسیدهای چرب ضروری و املاح معدنی) به عنوان نانوحامل‌های قدرتمند در سیستم‌های غذایی به‌ویژه غذای کودکان جهت افزایش ریزمغذی‌ها بهره برد.

موسیلاژ دانه *Salvia macrosiphon* L. / پلی‌ونیل‌الکل / کنسانتره پروتئین سیوس برنج که یک ترکیب ارزان و قابل دسترس است با استفاده از روش الکتروریسی که دارای پتانسیل بالایی به دلیل برخورداری از ویژگی‌های منحصر به فرد مانند نسبت سطح به حجم بالا، تخلخل قابل کنترل و ظرفیت بالای بارگذاری (دارو،

ه-منابع

- [1] Zurutuza, A., & Marinelli, C. (2014). Challenges and opportunities in graphene commercialization. *Nature Nanotechnology*, 9(10), 730–734. <http://dx.doi.org/10.1038/nnano.2014.225>
- [2] Yang, D. Z., Yu, K., Ai, Y. F., Zhen, H. P., Nie, J., & Kennedy, J. F. (2011). The mineralization of electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) nanofibrous membranes. *Carbohydrate Polymers*, 84(3), 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.057>
- [3] Zeng, Y., Zhu, Z., Du, D., & Lin, Y. (2016). Nanomaterial-based electrochemical biosensors for food safety. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 781, 147–154. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.10.030>
- [4] Deng, L. L., Li, Y., Feng, F. Q., & Zhang, H. (2019). Study on wettability, mechanical property and biocompatibility of electrospun gelatin/zein nanofibers cross-linked by glucose. *Food Hydrocolloids*, 87, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.042>
- [5] Yun, P., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2021). Microstructures of encapsulates and their relations with encapsulation efficiency and controlled release of bioactive constituents: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 1768–1799. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12701>
- [6] Wen, P., Zong, M. H., Linhardt, R. J., Feng, K., & Wu, H. (2017). Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 70, 56–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.009>
- [7] Otoni, C. G., Avena-Bustillos, R. J., Azeredo, H. M., Lorevice, M. V., Moura, M. R., Mattoso, L. H., et al. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1151–1169
- [8] Xu, Cai, S. B., Sellers, A., & Yang, Y. Q. (2014). Electrospun ultrafine fibrous wheat glutenin scaffolds with three-dimensionally random organization and water stability for soft tissue engineering. *Journal of Biotechnology*, 184, 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.05.011>
- [9] Santos, F. N., Souza, E. J. D., Souza, J. F., Pires, J. B., Siebeneichler, T. J., Kringel, D. H., ... Zavareze, E. D. R. (2022). Encapsulation of anthocyanic extract of jambolan (*Syzygium cumini* (L.)) in zein sub-micron fibers produced by electrospinning. *Food Biophysics*. <https://doi.org/10.1007/s11483-022-09758-3>
- [10] De Freitas Z^ompero, R. H., L'opez-Rubio, A., de Pinho, S. C., Lagaron, J. M., & de la Torre, L. G. (2015). Hybrid encapsulation structures based on β -carotene-loaded nanoliposomes within electrospun fibers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 134, 475–482. [10.1016/j.colsurfb.2015.03.015](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.03.015)
- [11] Najafi Z., Cetinkaya, T., Bildik, F., Altay F., & Şahin-Yeşilçubuk, N., 2022. Nanoencapsulation of saffron (*Crocus sativus* L.) extract in zein nanofibers and their application for the preservation of sea bass fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 163 (2022) 113588. [10.1016/j.lwt.2022.113588](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113588)
- [12] Wang, Yi, S., Chu, C., Liu, H., & Jiang, S. (2015). Preparation, antimicrobial and release behaviors of nisin-poly (vinyl alcohol)/wheat gluten/ZrO₂ nanofibrous membranes. *Journal of Materials Science*, 50(14), 5068–5078. <https://doi.org/10.1007/s10853-015-9059-0>

- [13] Xu, Li, J. J., Yu, D. G., Williams, G. R., Yang, J. H., & Wang, X. (2017). Influence of the drug distribution in electrospun gliadin fibers on drug-release behavior. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106, 422–430. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.06.017>
- [14] Zhang, Deng, L., Zhong, H., Pan, J., & Zhang, H. (2020). Superior water stability and antimicrobial activity of electrospun gluten nanofibrous films incorporated with glycerol monolaurate. *Food Hydrocolloids*, 109, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106116>.
- [15] Aziz, S., Hosseinzadeh, L., Arkan, E., & Azandaryani, A. H. (2019). Preparation of electrospun nanofibers based on wheat gluten containing azathioprine for biomedical application. *International Journal of Polymeric Materials*, 68(11), 639–646. <https://doi.org/10.1080/00914037.2018.1482464>
- [16] Elham, T.-K., Hossein Goli, S. A., & Milad, F. (2017). Fabrication and characterization of electrospun gelatin nanofibers crosslinked with oxidized phenolic compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1062–1068. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.152>
- [17] Feng, L., Li, R., Song, R., & Wang, R. (2010). Formation process of a strong waterrepellent alumina surface by the sol-gel method. *Applied Surface Science*, 256(10), 3191–3196. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2009.12.004>
- [18] Mir, S. A., Dar, B. N., Wani, A. A., & Shah, M. A. (2018). Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 141–154. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.004>
- [19] Mayeli, M., Mehdizadeh, T., Tajik, H., Esmaeli, F., & Langroodi, A. M. (2019). Combined impacts of zein coating enriched with methanolic and ethanolic extracts of sour orange peel and vacuum packing on the shelf life of refrigerated rainbow trout. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(6), 460–470.
- [20] Pham, T. T., Nguyen, L. L. P., Dam, M. S., & Baranyai, L. (2023). Application of edible coating in extension of fruit shelf life. *AgriEngineering*, 5, 520–536.
- [21] Singh, T. S., & Sogi, D. S. (2018). Comparative study of structural and functional characterization of bran protein concentrates from superfine, fine and coarse rice cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 281–288.
- [22] Amaglian, L., Jonathan, O'R., Kelly, Mahony, J. A. (2017). Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients. *Journal of Food Composition and Analysis* 59, 10.1016/j.jfca.2016.12.026
- [23] Mallard S.R., A.S. Howe, L.A. Houghton, Vitamin D status and weight loss: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized controlled weight-loss trials, *Am. J. Clin. Nutr.* 104 (4) (2016) 1151–1159, <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.13.6879>.
- [24] Tavares, L. S., Junqueira, L. A., Guimarães, I. C. O., & Resende, J. V. (2018). Coldextraction method of chia seed mucilage (*Salvia hispanica* L.): Effect on yield and rheological behavior. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 457–466. doi:10.1007/s13197-017-2954-4.
- [25] Singhal, S., Rasane, P., Kaur, S., Singh, J., & Gupta, N. (2020). Thermal degradation kinetics of bioactive compounds in button mushroom (*Agaricus bisporus*) during tray drying process. *Journal of Food Process Engineering*, 43, Article e13555.
- [26] Kang, S., Kong, F., Shi, X., Han, H., Li, M., Guan, B., et al. (2020). Antibacterial activity and mechanism of lactobionic acid against *Pseudomonas fluorescens* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its application on whole milk. *Food Control*, 108, Article 106876. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106876>
- [27] Wani, I. A., Sogi, D. S., & Gill, B. S. (2015a). Physico-chemical and functional properties of native and hydrolysed protein isolates from Indian black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. *LWT Food Science & Technology*, 60, 848–854.

- [28] Ahmad, N. A., Leo, C. P., Ahmad, A. L., & Ramli, W. K. W. (2015). Membranes with great hydrophobicity: A review on preparation and characterization. *Separation and Purification Reviews*, 44, 109–134. <https://doi.org/10.1080/15422119.2013.848816>.
- [29] Fonseca, L. M., Oliveira, J. P., Crizel, R. L., Silva, F. T., Zavareze, E. R., & Borges, C. D. (2020a). Electrospun starch fibers loaded with pinhão (Araucaria angustifolia) coat extract rich in phenolic compounds. *Food Biophysics*, 15, 355–367. <https://doi.org/10.1007/s11483-020-09629-9>
- [30] Ebrahimi Behzad, Reza Mohammadi, Milad Rouhi, Amir Mohammad Mortazavian, Saeedeh Shojaee-Aliabadi, Mohammad Reza Koushki (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. *J. LWT Volume 87*, January 2018, Pages 54-60 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.066>
- [31] Kiani, A., Fathi, M., & Ghasemi, S. M. (2017). Production of novel vitamin D3 loaded lipid nanocapsules for milk fortification. *International Journal of Food Properties*, 20(11), 2466- 2476. DOI: 10.1080/10942912.2016.1240690
- [32] Batista, J. D. F., Dantas, A. M., dos Santos Fonseca, J. V., Madruga, M. S., Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S., & da Silva Campelo Borges, G. (2021). Effects of cold plasma on avocado pulp (Persea americana Mill.): Chemical characteristics and bioactive compounds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, 15179. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15179>
- [33] Ali R, Khan S, Khan M, Adnan M, Ali I, Khan TA, et al. A systematic review of medicinal plants used against Echinococcus granulosus. *Plos One* 2020;15: e0240456.
- [34] Jing, Y., Huang, J., & Yu, X. (2019). Maintenance of the antioxidant capacity of fresh-cut pineapple by procyanidin-grafted chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.04.022>
- [35] Rodrigues, M. A. V., Bertolo, M. R. V., Marangon, C. A., Martins, V. C. A., & Plepis, A. M. G. (2020). Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jaboticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 769–779. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.240>
- [36] Oliveira, J.G. de A.R.C. Braga, B.R. 2021. De Oliveira, F.P. Gomes, V.L. Moreira, V.A. C. Pereira, M.B. Egea, The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films; A review, *Food Res. Int.* 142, 110202.
- [37] Abo-Samaha, M. I., Alghamdi, Y. S., El-Shobokshy, S. A., Albogami, S., ElMaksoud, E. M. A., Farrag, F., & El-Hack, M. E. A. (2022). Licorice extract supplementation affects antioxidant activity, growth-related genes, lipid metabolism, and immune markers in broiler chickens. *Life (Chicago, Ill. : 1978)*, 12 (6), 914
- [38] Thakur, A. K., & Raj, P. (2017). Pharmacological perspective of Glycyrrhiza glabra Linn: A mini-review. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 5(5), 00156.
- [39] Petriccione, M., De Sanctis, F., Pasquariello, M. S., Mastrobuoni, F., Rega, P., Scortichini, M., & Mencarelli, F. (2015). The Effect of Chitosan Coating on the Quality and Nutraceutical Traits of Sweet Cherry During Postharvest Life. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 394–408. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1411-x>
- [40] Sakthiguru, N., & Sithique, M. A. (2020). Fabrication of bioinspired chitosan/gelatin/ allantoin biocomposite film for wound dressing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 873–883. and diverse applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 70–82.
- [42] Shakeri MS, Shahidi F, Beiraghi-Toosi S, Bahrami A. Antimicrobial activity of Zataria multiflora Boiss. essential oil incorporated with whey protein based films on pathogenic and probiotic bacteria. *Int J Food Sci Tech* 2011;46 (3):549-54. [in persian]

[41] Safari, R., Adel, M., Monji, H., Riyahi Cholicheh, H., Nematollahi, A. 2015. Evaluation of antibacterial effect of some of the endemic herbal essential oils on *Streptococcus iniae* in vitro. *Journal of Aquatic Ecology*. 4(4): 40 -33 . (in Persian)

[43] Li, J., Pan, K., Tian, H., & Yin, L. (2020). The potential of electrospinning/electrospraying technology in the rational design of hydrogel structures. *Macromolecular Materials and Engineering*, 305(8), 1438. <https://doi.org/10.1002/mame.202000285>

[44] Chen, Z.G., Wang, P.W., Wei, B., Mo, X.M., Cui, F.Z. (2010). Electrospun collagen-chitosan nanofibr A biomimetic extracellular matrix for endothelial cell and smooth muscell cell. *Acta Biomaterialia*, 6, 372-382.

[45] Wengasulak, S.W., Pathumban, S. (2014). Effect of entrapped alfa-tocopherol on mucoadhesivity and evaluation of the release degradation and swelling characteristics of zein-

chitosan composite electrospun fibers. *J. Food Eng.*, 120, 110-117.

[46] Siimon, K., Reemann, P., Poder, A., Pook, M., Kangur, T., Kingo, K., ... Jaervekuelg, M. (2014). Effect of glucose content on thermally cross-linked fibrous gelatin scaffolds for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 42(sep), 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.075>

[47] Gadhave, R. V., Mahanwar, P. A., & Gadekar, P. T. (2019). Effect of glutaraldehyde on thermal and mechanical properties of starch and polyvinyl alcohol blends. *Designed Monomers and Polymers*, 22(1), 164–170.

[48] Wang, Yi, S., Chu, C., Liu, H., & Jiang, S. (2015). Preparation, antimicrobial and release behaviors of nisin-poly (vinyl alcohol)/wheat gluten/ZrO₂ nanofibrous membranes. *Journal of Materials Science*, 50(14), 5068–5078. <https://doi.org/10.1007/s10853-015-9059-0>



Scientific Research

Studying the production of composite nanofibers from the hydrocolloid compounds of *Salvia macrosiphon L.* seeds by electrospinning method in order to cover vitamin D3

Sedigheh Yazdanpanah^{1*}, Mona Ghorbaninezhad²

1- Associate Professor, Department of Food Science and Industry, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2- Ph.D. student, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/6/9

Accepted: 2024/9/11

Keywords:

Electrospinning method,
Nanofiber,
Salvia macrosiphon L.

DOI: 10.22034/FSCT.22.158.155.

*Corresponding Author E-
yazdanpanah2004@gmail.com

Advancement in the production processes of nanostructures with appropriate formula characteristics provides the production of stable nanoparticles with the ability to be used in the food industry. Microencapsulated bioactive compounds can be integrated into electrospun fibers to achieve greater stability of nanoparticles against heat and light, which leads to increased storage time. In the present study, composite nanofiber layers were made from mucilage extracted from *Salvia macrosiphon L.* seeds using electrospinning. The nanocomposite of nanofibers was prepared from polyvinyl alcohol/rice bran protein isolate/ *Salvia macrosiphon L.* seed mucilage in different ratios. Then the morphology and FTIR spectroscopy were investigated. The average diameter of the produced nanofibers is about 40 nm and the coefficient of variance is 13%, which showed that the diameter of the fibers is relatively uniform. Increasing the concentration of the mucilage solution and the constant percentage of polyvinyl alcohol significantly increased the diameter of the nanofibers. In the next step, vitamin D3 was encapsulated in polyvinyl alcohol nanofibers and rice bran protein concentrate. FTIR results confirmed the presence of vitamin D3 in the prepared nanofibers. At higher concentrations of phenolic compounds, with the increase in the number of hydroxyl groups of aromatic rings in the reaction medium, the inhibitory power of mucilage free radicals increased. The composition of nanofibers in the spectroscopic graphs showed that there are two strong peaks in the range of 1454 and 1743 CM-1 from vitamin D3 in the nanocomposite and microcoated samples which show the stretching vibrations related to the C=C group in the aromatic rings of phenolic compounds. Based on the findings, bioactive compounds to increase access to vitamin D3 can be enclosed in electrospun nanofibers of *Salvia macrosiphon L.* mucilage/polyvinyl alcohol/rice bran protein concentrate.