

استخراج و شناسایی گالیک اسید و برخی از مواد موثره موجود در گیاه اسطوخودوس و

سنتز نانو ذرات نقره به روش سبز از عصاره این گیاه

عبدالرضا ابری*، منیره نوروزی

دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۱۹ تاریخ تصحیح: ۰۰/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۰۰/۰۷/۱۴

چکیده

در این کار پژوهشی سرشاخه‌های گل‌دار گیاه اسطوخودوس شامی از کوه‌های استان ایلام و سرشاخه‌های گل‌دار گیاه اسطوخودوس لارستانی، از استان بوشهر جمع‌آوری، در سایه خشک و آسیاب شدند. عصاره ی متانولی و آبی-متانولی آنها توسط روشهای خیساندن، سوکسیله و التراسونیک استخراج و برخی از ترکیبات مهم توسط روش GC-MS مورد شناسایی قرار گرفتند. با توجه به تنوع زیاد ترکیبات استخراجی از عصاره گیاه اسطوخودوس، جهت جداسازی ترکیب مهم گالیک اسید از عصاره آبی - متانولی، از روشهای کروماتوگرافی ستونی، کروماتوگرافی صفحه ای، کروماتوگرافی لایه نازک و عمل تبلور استفاده گردید. ترکیب مذکور در نهایت به صورت پودر سفید رنگ خالص سازی و توسط روشهای طیف شناسایی و برای تعیین مقدار درصد گالیک اسید از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. در ادامه نانو ذرات نقره به روش سبز از عصاره اسطوخودوس تهیه و در محلول نیترات نقره با استفاده از طیف نگاری UV-vis در دامنه طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین با استفاده از میکروسکوپ روبشی نشر میدانی (FESEM) مورفولوژی ذرات، با استفاده از (XRD) الگوی پراش ذرات و با استفاده از FT-IR گروههای عاملی مسئول کاهش و پایداری سازی نانو ذرات نقره مورد ارزیابی قرار گرفت.

کلمات کلیدی: اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia*، استخراج، نانو ذرات نقره، التراسونیک.

۱- مقدمه

گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia M.*) از شاخه گیاهان گلدار، رده دو لپه ای ها، راسته نعناسانان، تیره نعناعیان می باشد. گونه‌های مختلف آن، گیاهانی خشبی (سخت چوب) چند ساله، همیشه سبز و با طول عمر ۱۰ تا ۲۰ سال هستند و تاکنون حدود ۳۰ گونه از آنها شناسایی شده است [۱-۲]. اسطوخودوس گیاهی به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر با برگ‌های طولی نوک تیز کرک‌دار خاکستری، ساقه‌های قهوه‌ای و ضخیم، قسمت تحتانی ساقه به صورت متراکم و انبوه، برگ‌ها به رنگ سبز تیره، نیزه‌ای شکل با طول ۳ تا ۵ و عرض ۰/۲ تا ۰/۵ سانتی‌متر و پوشیده از کرک‌های سفید پنبه‌ای و حفره‌های دارای اسانس هستند. گل‌ها در انتهای ساقه به صورت خوشه‌های مجتمع و به رنگ آبی متمایل به بنفش هستند [۳-۴].



شکل ۱- گیاه اسطوخودوس

میوه ها فندقه و به شکل تخم مرغ با طول ۲ میلی متر و به رنگ قهوه ای تیره و براق می باشند (شکل ۱). اسانس اسطوخودوس عمدتاً شامل مونوترپن‌هایی است که در برگ‌ها و غده‌های کرک‌دار گیاه تولید و ذخیره می‌شود. اسانس گل‌ها در مقایسه با برگ‌ها از کیفیت بهتری برخوردار است و مقدار آن با توجه به نوع گیاه و شرایط اقلیمی بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر است. میزان اسانس در واحد وزن خشک برگ در تابستان بیشتر از زمستان است و عملکرد اسانس در برگ‌های بالایی در مقایسه با برگ‌های میانی و پایینی گیاه، بیشتر می‌باشد. همچنین برگ‌های بالایی سرشار از ترکیبات کامفن و لیمونن هستند [۵].

این گیاه چند ساله و همیشه سبز، بومی مدیترانه غربی و کوه‌های شمال اسپانیا می‌باشد. در اکثر نقاط دنیا از جمله: آرژانتین، شمال آفریقا، فرانسه، انگلستان، بلغارستان، آمریکا و یوگوسلاوی، عربستان و ایران پیدا می‌شود. بیشترین میزان گیاه، از کشورهای فرانسه، یوگوسلاوی، بلغارستان به دیگر نقاط جهان صادر می‌گردد. در جنگل‌های غیر انبوه، تپه‌های خشک و دامنه‌های کم ارتفاع و سواحل دریاها می‌روید. این گیاه در بیشتر نواحی ایران از جمله منطقه هرمزگان، بوشهر، جنوب فارس، دامنه‌های زاگرس از قبیل کهکیلویه و بویراحمد و... به صورت پرورشی و گلخانه‌ای کشت می‌شود [۶].

قسمت مورد استفاده این گیاه، گل‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار آن است. اسطوخودوس بوی بسیار مطبوعی دارد و طعم آن تلخ است. اسانس اسطوخودوس که از تقطیر گل و سرشاخه‌های گل‌دار این گیاه بدست می‌آید مابقی زرد رنگ یا زرد مایل به سبز با بوی بسیار مطبوع می‌باشد که در عطر سازی نیز مصرف می‌شود [۷].

روغن اسطوخودوس با خاصیت ضد التهابی برای کاهش درد و گزش ناشی از نیش حشرات مناسب می‌باشد و با دارا بودن رایحه ملایم و دلپذیر می‌تواند یک نیروی قوی برای درمان استرس و اضطراب باشد. این روغن در درمان میگرن، سردرد، افسردگی، تنش عصبی و استرس‌های عاطفی نیز مفید می‌باشد. عطر و رایحه این روغن علاوه بر افزایش فعالیت‌های ذهنی، در درمان خستگی‌های روحی و جسمی عملکرد بسیار مثبتی دارد. اسانس اسطوخودوس شامی^۱ بدلیل غنی بودن از ترپن‌ها^۲ دارای خاصیت

1 *Lavandula angustifolia* Mill
2 terpens

ضدحشره، ضد التهاب، ضد درد، ضد قارچ و ضد باکتری می‌باشد. اسانس آن دارای خاصیت آرامبخشی، کنترل کننده سیستم عصبی مرکزی، بی‌هوشی موضعی و آنتی‌اکسیدان می‌باشد [۸].

۲- بخش تجربی

۲-۱- آماده سازی نمونه

سرشاخه‌های گل‌دار گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Miller.) در بهار سال ۱۳۹۶ از کوه‌های استان ایلام جمع آوری و مورد تایید دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد هرباریوم ۱۰۹۲ قرار گرفت. سرشاخه‌های گل‌دار گیاه اسطوخودوس لارستانی (*Lavandula stricta* Del.) از بوشهر جمع آوری و توسط اساتید گیاه شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه شهید مدنی آذربایجان شناسایی و تایید شد. هر یک از نمونه‌های گیاهی ابتدا با آب مقطر شستشو و سپس تحت شرایط آزمایشگاهی و به دور از نور آفتاب خشک و توسط آسیاب برقی در حد ملایم پودر گردید. نمونه‌های گیاهی در داخل کاغذ و به دور از رطوبت نگهداری گردید تا متعاقباً مطالعات فیتوشیمیایی مورد نظر بر روی آن صورت گیرد [۹].

۲-۲- روش عمومی استخراج عصاره متانولی و متانولی - آبی سرشاخه های گل دار اسطوخودوس شامی و

اسطوخودوس لارستانی

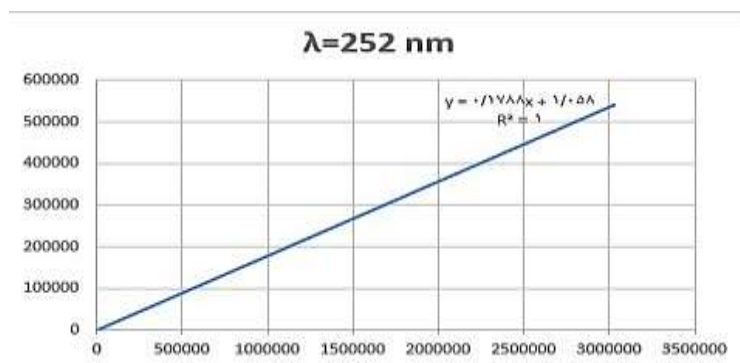
در روش عصاره گیری به روش خیساندن، سوکسله و التراسونیک، ۱۰ گرم از نمونه گیاهی با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (مرک) و یا ۱۰۰ میلی‌لیتر از مخلوط متانول و آب بمدت ۳ روز جهت عصاره گیری روی هم زن مغناطیسی، دستگاه سوکسله و بمدت ۴۵ دقیقه در داخل دستگاه التراسونیک قرار گرفت. در روش سوکسله دما ۶۰ درجه سانتی‌گراد و در روش التراسونیک عمل عصاره گیری در دمای اتاق با قدرت امواج 50 هرتز انجام گرفت. در ادامه بعداز صاف کردن محلول، حلال زیر صافی توسط دستگاه روتاری خارج و عصاره بدست آمده خشک و در یخچال نگه داری شد [۱۰].

۲-۳- شناسایی ترکیب طبیعی گالیک اسید بوسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا^۳ (HPLC)

محتوای عصاره با استفاده از دستگاه HPLC متصل به آشکارساز UV با مشخصات، پمپ ایزو کراتیک ۱۵۸۰ (Tokyo, Japan) Jasco - pu، دتکتور ۱۵۷۵ - Jasco uv و سرنگ تزریق دستی Phenodyne ۷۷۲۵ I در آزمایشگاه تجزیه دانشگاه شهید مدنی آذربایجان مورد آنالیز قرار گرفت و مقدار گالیک اسید موجود در گیاه اسطوخودوس تعیین گردید. در بین روش‌های گوناگون آنالیز مواد، روش HPLC با ردیاب ماوراءبنفش بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرد چون این روش گزینش پذیری مناسب و هم حساسیت خوبی دارد [۱۱].

۲-۴- رسم منحنی کالیبراسیون

به منظور رسم منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری کمی، غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر استاندارد گالیک اسید در متانول تهیه و هر کدام سه بار به دستگاه HPLC تزریق و سطح زیر منحنی در مقابل مقدار تزریق رسم و معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی R^2 استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید. قسمتی از عصاره بدست آمده جهت شناسایی ترکیب طبیعی گالیک اسید نیز مستقیماً توسط دستگاه HPLC مورد آنالیز قرار گرفت (شکل ۲) [۱۲].



شکل ۲- نمودار کالیبراسیون استاندارد گالیک اسید

۲-۵- تهیه محلول از عصاره های متانولی - آبی اسطوخودوس شامی و اسطوخودوس لارستانی

۰/۰۰۱ گرم از هریک از عصاره‌های استخراج شده به روش خیساندن، التراسونیک و سوکسله، با مخلوط یک به یک از حلال آب و متانول در یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده و محلول تهیه شده به مدت ۲۰ دقیقه در التراسونیک قرار گرفت تا دیسپرس شود سپس عصاره حاصل صاف و به دستگاه تزریق شد تا از روی مساحت سطح زیر پیک و زمان بازداری مقدار و وجود ترکیب گالیک اسید در نمونه مورد نظر بررسی شود [۱۳].

۲-۶- سنتز نانو ذرات نقره به روش سبز از عصاره آبی

برای سنتز نانو ذرات نقره از روش بلاژ و همکاران استفاده شد [۱۴]. ۲ گرم از گیاه پودر شده اسطوخودوس بعد از شستشو با آب مقطر توسط ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به حجم رسانده و برای مدت زمان ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بر روی هیتر قرار گرفت. در ادامه عصاره بدست آمده با کاغذ واتمن صاف و ۱ میلی لیتر محلول زیر صافی با ۵ سی سی از محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار روی همزن مغناطیسی قرار میگیرد. بعد از تهیه نانو ذرات نقره، محلول ذکر شده داخل فالکن‌های ۵۰ میلی‌لیتری در داخل سانتریفیوژ، مدل Z36 HK با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت زمان ۳۰ دقیقه قرار گرفت. نانو ذرات رسوب داده شده جداسازی و توسط روشهای FTIR، FESEM و XRD مورد ارزیابی قرار می‌گیرند.

۷-۲- استخراج اسانس از سرشاخه های گل دار اسطوخودوس

با توجه به درصد بالای مقدار گالیک اسید استخراجی از عصاره اسطوخودوس شامی، اسانس گیری از ۲۰۰ گرم پودر این گیاه در دستگاه کلونجر در مدت زمان ۲ ساعت انجام گرفت. اسانس حاصل بوسیله سدیم سولفات بدون آب خشک و در یک ظرف در بسته‌ای در یخچال نگهداری می‌گردد تا ترکیبات موجود با دستگاه GC-MS شناسایی گردد [۱۵].

۸-۲- تجزیه و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس

برای آنالیز اسانس از دستگاه GC-MS (با مدل Shimadzu GCMS QP 5050A و با ستون DB-1) دانشگاه شهید مدنی آذربایجان استفاده شد. دمای آغازین ستون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۴ درجه بر دقیقه به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید و بمدت ۱۰ دقیقه ثابت ماند. مقدار نمونه تزریقی ۱ میکرولیتر با نسبت یک به ۵۰، دمای بخش‌های تزریق و آشکار ساز به ترتیب ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت گاز هلیوم به عنوان گاز حامل نیز ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، انتخاب شد. شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس با استفاده از زمان بازداری و مقایسه طیف‌های جرمی با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه صورت گرفت [۱۶].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازده استخراج عصاره متانولی - آبی و آبی سرشاخه های گل دار گیاه اسطوخودوس

در ابتدا بازده استخراج روش‌های بکار گرفته شده برای عصاره‌گیری مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ و ۲ بطور کامل نشان داده شده است

جدول ۱. بازده استخراج عصاره متانولی-آبی گیاه اسطوخودوس

| نام گیاه | وزن خشک گیاه (گرم) | وزن عصاره (گرم) | بازده استخراج (%) | روش استخراج |
|-----------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------|
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۰/۵ | ۵ | خیساندن |
| شامی | ۱۰ | ۱/۷۰ | ۱۷ | سوکسله |
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۰/۵۷ | ۵/۷ | خیساندن |
| لارستانی | ۱۰ | ۱/۱۰۸ | ۱۱/۰۸ | سوکسله |
| | ۱۰ | ۰/۹۲۵ | ۹/۲۵ | التراسونیک |

با توجه به نتایج، در استخراج با حلال متانول - آب بیشترین بازده استخراج مربوط به روش عصاره‌گیری با التراسونیک با بازده استخراج ۳۰٪ برای گیاه اسطوخودوس شامی و در مورد اسطوخودوس لارستانی بیشترین بازده استخراج مربوط به عصاره‌گیری به روش سوکسله با راندمان ۱۱/۰۸ درصد می‌باشد. در مجموع، بازده استخراج گیاه اسطوخودوس شامی در مقایسه با

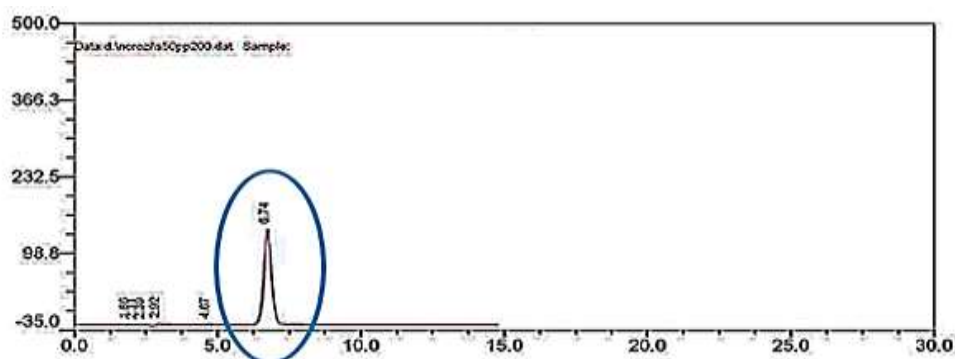
اسطوخودوس لارستانی خیلی بیشتر است (جدول ۱). بیشترین بازده استخراج در عصاره‌گیری با حلال متانول مربوط به عصاره-گیری با روش خیساندن به مقدار ۲۰ درصد و برای اسطوخودوس شامی می‌باشد. در ادامه با توجه به نتایج جداول از عصاره متانولی - آبی استفاده شد [۱۷].

جدول ۲. بازده استخراج عصاره متانولی گیاه اسطوخودوس

| نام گیاه | وزن خشک گیاه (گرم) | وزن عصاره (گرم) | بازده استخراج (%) | روش استخراج |
|-----------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------|
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۲ | ۲۰ | خیساندن |
| شامی | ۱۰ | ۱/۳۰ | ۱۳ | سوکسله |
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۱/۷۰ | ۱۷ | التراسونیک |
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۱ | ۱۰ | خیساندن |
| اسطوخودوس | ۱۰ | ۰/۹۵ | ۹/۵ | سوکسله |
| لارستانی | ۱۰ | ۱/۱۰ | ۱۱ | التراسونیک |

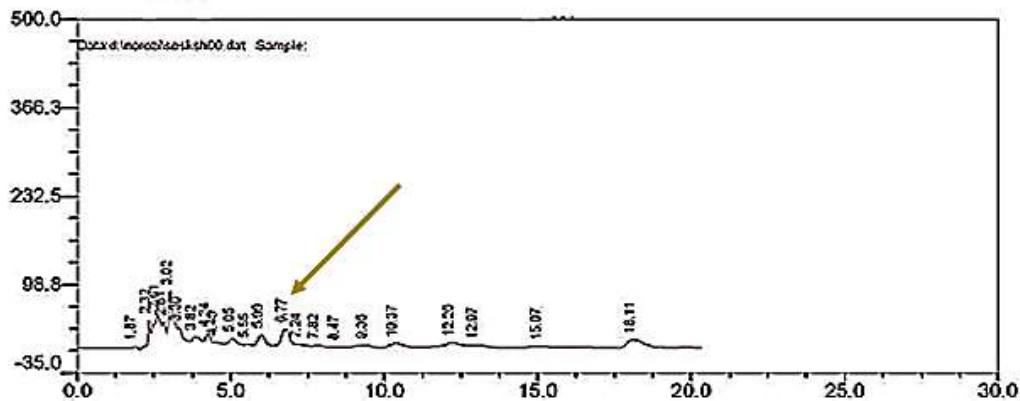
۳-۲- کروماتوگرام محلول استاندارد گالیک اسید و عصاره های گیاه اسطوخودوس با دستگاه HPLC

کروماتوگرام محلول استاندارد ۱۰ پی پی ام و ۵۰ پی پی ام از گالیک اسید نشان می‌دهند که زمان بازداری ترکیب گالیک اسید در هر دو غلظت تقریباً برابر ۶/۷۰ دقیقه می‌باشد (شکل ۳).

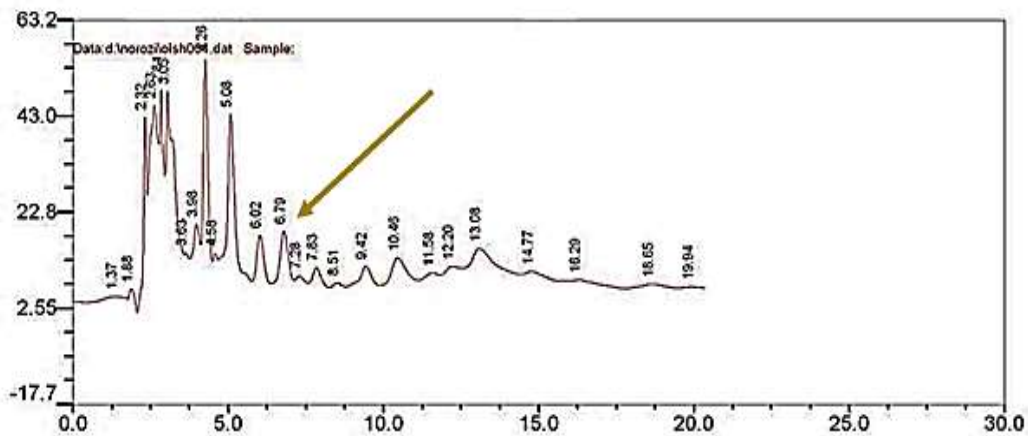


شکل ۳- کروماتوگرام گالیک اسید در غلظت ۵۰ پی پی ام

برای تعیین کروماتوگرام گالیک اسید در هر یک از نمونه‌های گیاهی ۲۰ میکرو لیتر از محلول‌های تهیه شده از عصاره‌های متانولی - آبی را به دستگاه تزریق و پیک مورد نظر در نزدیکی بازه زمانی ۶/۷۰ دقیقه مشاهده گردید و درصد مقدار موثره آن در هر کدام از عصاره‌ها تعیین شد. دو نمونه از کروماتوگرام در شکل های ۴ و ۵ آمده است. کروماتوگرام عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس لارستانی استخراج شده به روش سوکسله و به روش التراسونیک نیز انجام و نتایج در جدول ۳ آمده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهند که بیشترین مقدار گالیک اسید در عصاره اسطوخودوس شامی مربوط به استخراج سوکسله، سپس در عصاره التراسونیک از همین گونه و کمترین مقدار گالیک اسید در عصاره اسطوخودوس لارستانی به روش استخراج التراسونیک تعلق دارد و از طرفی در عصاره هیچ یک از گونه‌ها ماده گالیک اسید به روش خیساندن استخراج نگردید [۱۸].



شکل ۴- کروماتوگرام عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس شامی استخراج شده به روش سوکسله



شکل ۵- کروماتوگرام عصاره هیدروالکلی اسطوخودوس شامی استخراج شده به روش التراسونیک

جدول ۳. کروماتوگرام عصاره متانولی- آبی اسطوخودوس شامی و لارستانی به روش سوکسله و التراسونیک

| اسید | بازدادری | زمان | درصد گالیک | کروماتوگرام عصاره متانولی- آبی اسطوخودوس |
|------|----------|------|------------|--|
| | | ۶/۷۷ | ۸/۹۳ | اسطوخودوس شامی به روش سوکسیلیه |
| | | ۶/۷۹ | ۴/۱۶ | اسطوخودوس شامی به روش التراسونیک |
| | | ۶/۹۶ | ۳/۷۵ | اسطوخودوس لارستانی به روش سوکسیله |
| | | ۶/۸۸ | ۳/۲۵ | اسطوخودوس لارستانی به روش التراسونیک |

۳-۳- طیف سنجی جرمی (GC-MS) اسانس سرشاخه های گل دار اسطوخودوس شامی

اساس شناسایی ترکیبات موجود در اسانس برپایه ثابت کواتس (Kovats Index) و طیف جرمی (MS) ترکیبات می باشد. در

این بررسی ۱۳ ترکیب در اسانس اسطوخودوس شامی شناسایی شد. همه ترکیبات از طریق کواتس ایندکس و هم از طریق

طیف سنجی جرمی مورد شناسایی قرار گرفتند اما ترکیب های زیرانون، گاما هیماکالین و اوسیدول استات تنها از طریق کواتس

ایندکس مورد تائید قرار گرفتند (جدول ۴) [۱۹].

جدول ۴. ترکیبات موجود در اسانس سرشاخه های گل دار اسطوخودوس شامی

| ردیف | KI | نام ترکیب | فرمول مولکولی | روش شناسایی |
|------|------|---------------------------|--|-------------|
| ۱ | 1095 | Linalool | C ₁₀ H ₁₈ O | MS, KI |
| ۲ | 1775 | Terpinen-4-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | MS, KI |
| ۳ | 1186 | α -Terpineol | C ₁₀ H ₁₈ O | MS, KI |
| ۴ | 1026 | 1,8-Cineol | C ₁₀ H ₁₈ O | MS, KI |
| ۵ | 1506 | (Z)- α -Bisabolene | C ₁₅ H ₂₄ | MS, KI |
| ۶ | 1228 | Limonene- 10- ol | C ₁₀ H ₁₆ O | MS, KI |
| ۷ | 1354 | Neryl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | MS, KI |
| ۸ | 1668 | Epi-Zizanone | C ₁₅ H ₂₂ O | KI |
| ۹ | 1481 | γ -himachalene | C ₁₅ H ₂₄ | KI |
| ۱۰ | 1975 | Occidol acetate | C ₁₇ H ₂₄ O ₂ | KI |
| ۱۱ | 1195 | Methyl chavicol | C ₁₀ H ₁₂ O | MS, KI |
| ۱۲ | 1289 | Thymol | C ₁₀ H ₁₄ O | MS, KI |

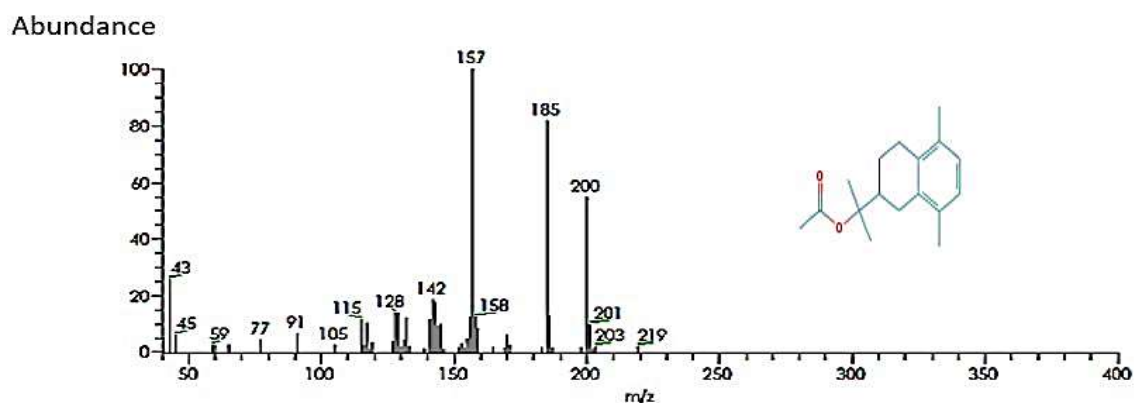
۴-۳- طیف سنجی جرمی (GC-MS) اسانس سرشاخه های گل دار اسطوخودوس لارستانی

در اسانس اسطوخودوس لارستانی چهار ترکیب شناسایی شد که از بین آن‌ها ترکیب بتا آتلانتول از طریق کوآتس ایندکس تأیید ولی از طرق طیف GC-MS مورد تأیید قرار نگرفت ولی بقیه ترکیبات توسط هر دو روش شناسایی شدند (جدول ۵) [۲۰].

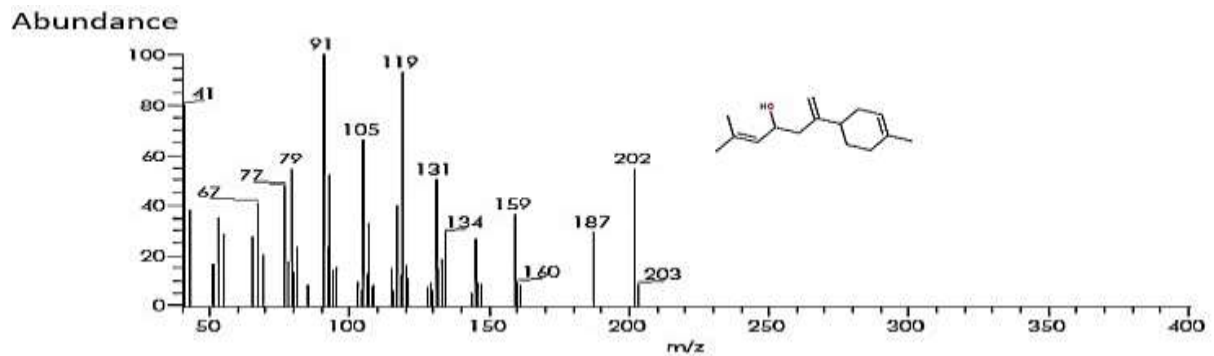
جدول ۵. ترکیبات شناسایی شده در اسانس سرشاخه های گل دار اسطوخودوس لارستانی

| شماره | KI | نام ترکیب | فرمول مولکولی | روش شناسایی |
|-------|------|---------------------|--|-------------|
| 1 | 1608 | β -Atlantol | C ₁₅ H ₂₄ O | KI |
| 2 | 1681 | Occidol acetate | C ₁₇ H ₂₄ O ₂ | MS, KI |
| 3 | 1130 | α -Terpineol | C ₁₀ H ₁₈ O | MS, KI |
| 4 | 1026 | 1,8-Cineol | C ₁₀ H ₁₈ O | KI, MS |

در ادامه به عنوان نمونه دو طیف در شکل های ۶ و ۷ آمده است.



شکل ۶- اوسیدول استات



شکل ۷- بتا آتلانتول

۵-۳- بررسی نتایج نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره آبی سرشاخه های گل دار اسطوخودوس شامی

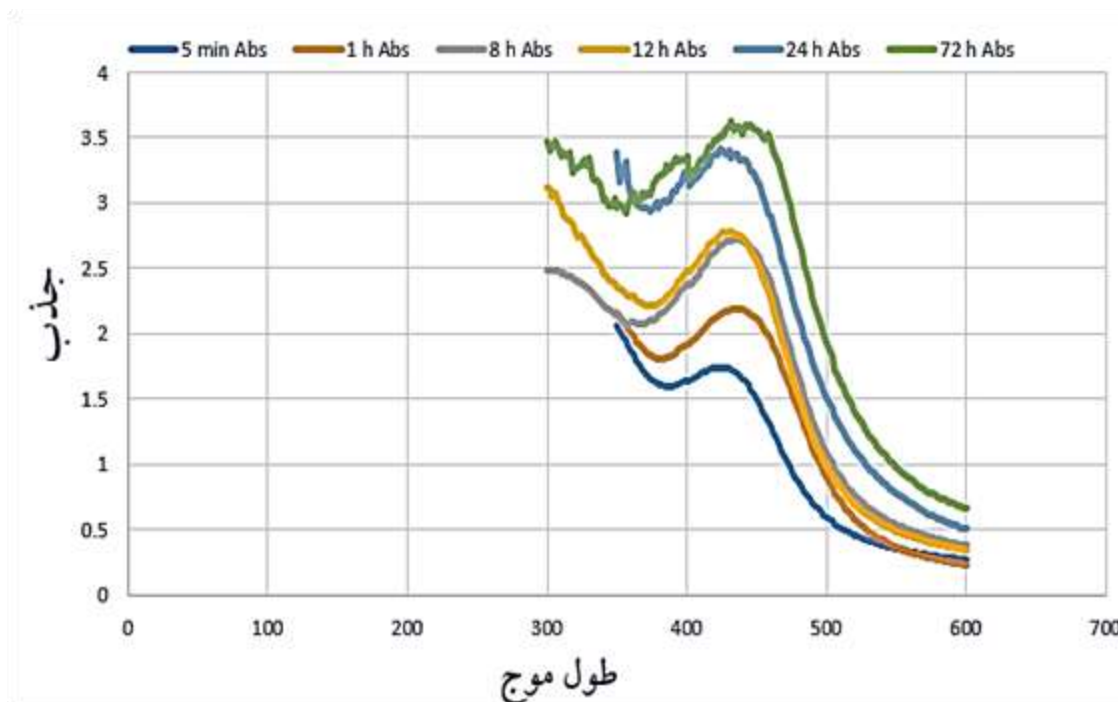
با توجه به درصد بالای اسید گالیک در اسطوخودوس شامی، تهیه نانو ذرات نقره با این گونه انجام گرفت. کاهش یون های نقره به ذرات نقره در حضور عصاره اسطوخودوس با تغییر رنگ همراه می باشد. رنگ محلول از سفید به زرد و سپس به قهوه ای پر رنگ در عرض ۵ دقیقه تغییر یافت. در این فرآیند عصاره بعنوان کاهنده و پایدارکننده عمل کرد. (شکل ۸) [۲۱].

۱-۵-۳- آنالیز طیف UV-vis نانو ذرات نقره سنتز شده

طیف UV-vis ناشی از رزونانس پلاسمای سطحی^۴ نانو ذرات سنتز شده در شکل ۹ آمده است. در اثر اتصال گروه های هیدروکسی گالیک اسید و سایر ترکیبات اسیدی موجود در عصاره اسطوخودوس به یون های نقره و انتقال الکترون، کاهش یون ها به ذرات نقره بدون بار صورت می گیرد. پهن شدگی طیف های جذبی در محدوده ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر به علت پراکندگی طبیعی نانو ذرات می باشد. با گذشت زمان از ۵ دقیقه تا ۷۲ ساعت، و با تولید نانو ذرات، شدت طیف های جذبی نیز افزایش می یابد. طیف جذبی نانو ذرات نقره سنتز شده در طول موج ثابت (۴۴۸ نانومتر) ظاهر می گردد [۲۲].



شکل ۸- شکل a, b, c به ترتیب، محلول نیترات نقره ۱ میلی مولار، مخلوط عصاره با محلول نیترات نقره و محلول نانو ذرات تهیه شده



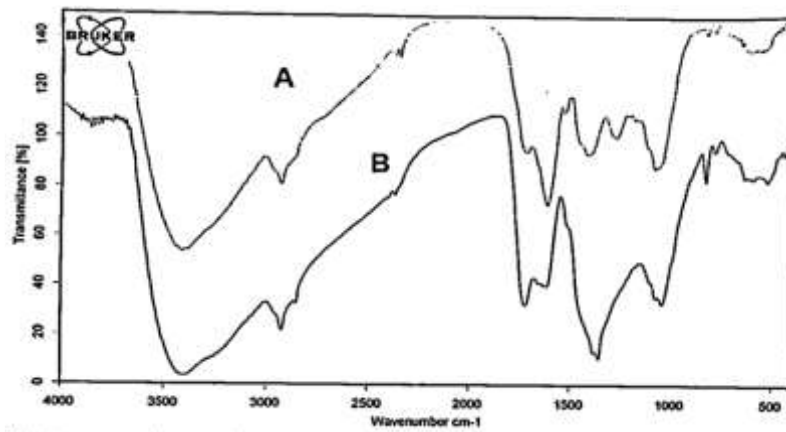
شکل ۹- طیف UV-vis نانو ذرات تشکیل شده در مدت زمان ۷۲ ساعت بعد از تهیه

۲-۵-۳- نتایج آنالیز طیف FT-IR عصاره و نانو ذرات نقره سنتز شده

طیف FT-IR یک ابزار قدرتمند برای مطالعه گروه‌های عاملی مانند الکل‌ها، کتون‌ها، لاکتون‌ها، آلدهیدها، ترپنوئیدها، فنول‌ها و پلی فنول‌ها که نقش کاهنده و پایدارکننده در سنتز نانو ذرات را دارند، می‌باشد. این ترکیبات از طریق جفت الکترون‌های آزاد و الکترون‌های π جذب قوی با Ag^+ می‌دهند و Ag^0 بوسیله اکسید شدن ترکیبات موجود در عصاره تولید می‌شود. عبارتی دیگر در مسیر سنتز نانو ذرات، فرآیند اکسایش- کاهش اتفاق می‌افتد و متابولیت‌های ثانویه نقش کاهنده را ایفا می‌کنند. نانو ذرات بیوسنتز شده به کمک سانتریفیوژ از محلول جدا و خشک می‌گردند (شکل ۱۰) [۲۳].



شکل ۱۰- سمت چپ نانو ذرات نقره تهیه شده بعد از سانتریفیوژ و سمت راست نانو ذرات خشک شده

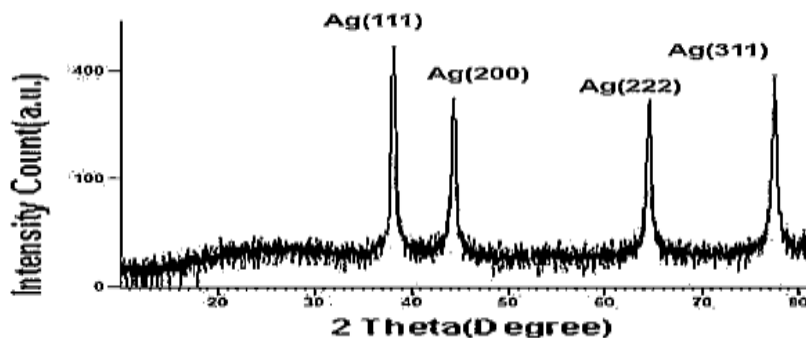


شکل ۱۱- طیف FT-IR: طیف A عصاره اسطوخودوس و طیف B نانو ذرات نقره بیوسنتز شده

پیک مشاهده شده در ناحیه ۳۴۳۶ بر سانتی متر به علت وجود گروه‌های هیدروکسیل و پیک های ۱۴۰۲ و ۱۵۲۱ بر سانتی متر در عصاره بدلیل برهمکنش الکترون‌های π و یون کربوکسیلات با بار مثبت یون‌های نقره می‌باشند که با تشکیل کمپلکس، موجب کاهش و پایداری نانو ذرات تشکیل شده می‌گردند که در طیف نانو ذرات نقره دیده نمی‌شوند. نوار جذب قوی در ناحیه ۱۳۵۲ بر سانتی متر و پیک های ۷۷۷ و ۶۴۵ بر سانتی متر مربوط به ارتعاشات یون نیترات از نیترات نقره می‌باشند (شکل ۱۱). [۲۴].

۳-۵-۳- الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) نانو ذرات نقره

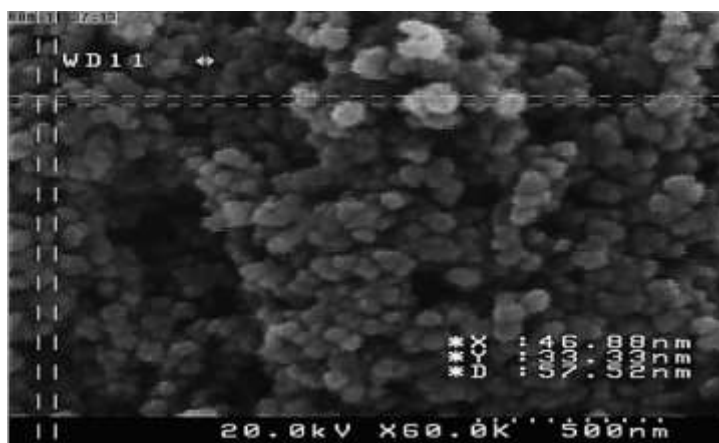
نتایج به دست آمده از بررسی کریستالوگرافی XRD نشان داد که ماکزیمم پیک‌های نانو ذرات نقره مربوط به فازهای (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۳۱۱) و (۲۲۲) در سطوح کریستالوگرافی بوده و وجه غالب کریستال‌های نقره، مکعبی می‌باشد که دقیقاً منطبق بر طیف استاندارد بالک نقره هستند (شکل ۱۲) [۲۵].



شکل ۱۲- الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه اسطوخودوس

۴-۵-۳- نتایج تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM)

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی از نانو ذرات سنتز شده با بزرگ نمایی ۵۰۰ نانومتر در فواصل زمانی ۱۲ و ۷۲ ساعت نشان می دهد که اندازه نانو ذرات سنتز شده در ۱۲ ساعت بین ۴۶-۵۷ نانومتر و در ۷۲ ساعت بین ۶۲-۸۲ نانومتر می باشد. از این نتایج می توان چنین استنباط کرد که نانو ذرات سنتز شده با گذشت زمان پایدار بوده و پدیده کلوخه شدن رخ نداده است، لازم به یادآوری است عدم ناپایداری نانو ذرات سنتز شده یکی از دغدغه های پژوهش گران در زمینه نانو می باشد که در این پژوهش بطور موفقیت آمیزی توسط عصاره اسطوخودوس انجام گرفت (شکل ۱۳ و ۱۴).



شکل ۱۳- تصویر میکروسکوپ روبشی نشر میدانی از نانو ذرات نقره، ۱۲ ساعت بعد از سنتز



شکل ۱۴- تصویر میکروسکوپ روبشی نشر میدانی از نانو ذرات نقره، ۷۲ ساعت بعد از سنتز

۴- نتیجه گیری

در این کار پژوهشی عصاره ی متانولی و آبی- متانولی گیاه اسطوخودوس شامی و لارستانی توسط روشهای خیساندن، سوکسیله و التراسونیک استخراج و برخی از ترکیبات مهم توسط روش GC-MS مورد شناسائی قرار گرفتند. ترکیب مهم گالیک اسید از عصاره آبی - متانولی، با استفاده از روشهای کروماتوگرافی به صورت پودر سفید رنگ خالص سازی و توسط روشهای طیف سنجی شناسائی و برای تعیین مقدار درصد گالیک اسید از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. در ادامه نانو

ذرات نقره به روش سبز از عصاره اسطوخودوس تهیه و در محلول نیترات نقره با استفاده از طیف نگاری UV-vis در دامنه طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از FESEM مورفولوژی ذرات، با استفاده از XRD الگوی پراش ذرات و با استفاده از FT-IR گروه‌های عاملی مسئول کاهش و پایدارسازی نانو ذرات نقره مورد ارزیابی قرار گرفت.

۵- تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان بابت حمایت‌های مالی از این پروژه تحقیقاتی صمیمانه قدردانی و تشکر می‌شود.

۶- مراجع

- [1] T. Aburjai, M. Hudiab and V. Cavrini, *J. Essent. Oil Res.* **17** (2005) 49.
- [2] J. D. Phillipson, *Phytochemistry* **56** (2001) 237.
- [3] J. D. Phillipson, *Phytother. Res.* **13** (1999) 2.
- [4] A. Chrysargyris, C. Panayiotou and N. Tzortzakis, *Ind. Crops Prod.* **83** (2016) 577.
- [5] V. D. Zheljaskov, C. L. Cantrell, T. Astatkie and E. Jeliaskova, *J. Oleo Sci.* **62** (2013) 195.
- [6] C. Da Porto, D. Decorti and I. Kikic, *Food Chem.* **112** (2009) 1072.
- [7] L. T. Danh, N. D. A. Triet, J. Zhao, R. Mammucari and N. Foster, *Food Chem.* **6** (2013) 3481.
- [8] Y. Cong, P. Abulizi, L. Zhi and X. Wang, *Chem. Nat. Compd.* **44** (2008) 810.
- [9] V. Hajhashemi, A. Ghannadi and B. Sharif, *J. Ethnopharmacol* **89** (2003) 67.
- [10] A. R. Fakhari, P. Salehi, R. Heydari, S. N. Ebrahimi and P. R. Haddad, *J. Chromatogr. A* **1098** (2005) 14.
- [11] A. L. Mantovani, G. P. Vieira, W. R. Cunha, M. Groppo, R. A. Santos, V. Rodrigues, L. G. Magalhães and A. E. Crotti, *Rev. Bras. Farmacogn* **23** (2013) 877.
- [12] R. S. Verma, L. U. Rahman, C. S. Chanotiya, R. K. Verma, A. Chauhan A. Yadav, A. Singh and A. K. Yadav, *J. Serb. Chem. Soc.* **75** (2010) 343.
- [13] M. Evandri, L. Battinelli C. Daniele, S. Mastrangelo, P. Bolle and G. Mazzanti, *Food. Chem. Toxicol.* **43** (2005) 1381.
- [14] R. P. Metuku, S. Pabba, S. Burra, K. Gudikandula and M. S. Charya, *Biotech.* **4** (2014) 227.
- [15] R. Nurzyńska-Wierdak and G. Zawiślak, *Acta Sci Pol Hortorum Cultus* **15** (2016) 225.
- [16] M. Farzaneh, H. Kiani, R. Sharifi, M. Reisi and J. Hadian, *Postharvest Biol. Technol.* **109** (2015) 145.
- [17] M. Mohamadi, T. Shamspur and A. Mostafavi, *J. Essent. Oil Res.* **25** (2013) 55.
- [18] N. Yadikar, K. Bobakulov, G. Li and h. A. Aisa, *Phytochem. Lett.* **23** (2018) 149.
- [19] M. Zhou, H. H. Xing, H. Y. Ma, L. Zhou, Y. Yang, G. P. Li, W. Y. Hu, Q. Liu, X. M. Li, and Q. F. Hu, *Phytochem. Lett.* **19** (2017) 156.

- [20] S. Tang, J. Shi, C. Liu, F. Zhang, N. Xiang, X. Liu, Y. Chen, J. You, Q. Shen and M. Miao, *Phytochem. Lett.* **19** (2017) 60.
- [21] C. Tschiggerl and F. Bucar, *Nat. Prod. Commun.* **5** (2010) 1431.
- [22] L. Lesage-Meessen, M. Bou, J-C. Sigoillot, CB. Faulds, and A. Lomascolo, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **99** (2015) 3375.
- [23] KK. Panda, VMM. Achary, R. Krishnaveni, BK. Padhi, SN. Sarangi, SN. Sahu and BB. Panda, *Toxicol In Vitro* **25** (2011) 1097.
- [24] M. Saravanan, AK. Vemu and SK. Barik, *Colloids Surf. B* **88** (2011) 325.
- [25] P. Kouvaris, A. Delimitis, V. Zaspalis, D. Papadopoulos, SA. Tsipas and N. Michailidis, *Mater. Lett.* **76** (2012) 18.