مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
۱۱:۳۷ (۱٤۰۰) ۳۷-٤٥
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

سنتز سبز نانو ذرات آهن با استفاده از عصاره برگ گیاه دارویی نعناع فلفلی *(Peppermint)* وکاربرد اسپکتروسکوپی در مشخصه یابی و بررسی خواص انتی اکسیدانی آن

ابوالفضل موسوی، هاشم اخلاقی*، محمد مهرشاد

گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ ثبت اولیه:۱۴۰۰/۰۸/۲۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده:۱۴۰۰/۱۱/۱۹ ، تاریخ پذیرش قطعی:۱۴۰۰/۱۱/۲۳

چکیده

روش های معمول سنتز نانوذرات نقایصی مانند ساختار ضعیف، نرخ تولید کم، هزینه تولید بالا و نیاز به انرژی زیاد دارد. از این رو، امروزه گرایش به استفاده از منابع گیاهی به عنوان یکی از مناسبترین روشهای سنتز نانو ذرات مورد توجه محققین قرار گرفته است. نعناع فلفلی یکی از گیاهان دارویی بسیار مهم در ایران است که پتانسیل سنتز نانوذرات از عصاره های اندام هوایی آن وجود دارد. در این مطالعه امکان سنتز سبز نانو ذرات آهن صفر با استفاده از عصاره ی برگ نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره برگ و عصاره حاوی ذرات نانو آهن تعیین شد. بررسی ساختاری نانو ذرات آهن با استفاده ازمیکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد. افزودن نانوذرات آهن سبب افزایش خصوصیات آنتی اکسیدانی نعناع فلفلی شد. بررسی ساختاری نانو ذرات آهن با استفاده ازمیکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که شکل ذرات کروی و میانگین ابعاد آن۸۰-۷۰ نانومتر می باشد. نتایج این آزمایش نشان داد می توان از عصاره برگ های نعناع فلفلی برای سنتز نانوآهن صفر ظرفیتی استفاده کرد که سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود.

واژه های کلیدی: ***نعناع فلفلی، سنتز سبز، فعالیت آنتی آکسیدانی، نانوذرات آهن صفر ظرفیتی.***

۱. مقدمه

گیاهان و محصولات کشاورزی به عنوان منابع تجدید پذیر ارزان در جهت تهیه نانو مواد زیستی مورد توجه خاصی قرار گرفته‌اند[۱]. در پزشکی کهن داروها از گیاهان بدست می آمدند، در طب یونانی بقراط ارتباط میان شکل گیاهان و بیماری های

***عهده دار مکاتبات:** هاشم اخلاقی

نشانی: گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تلفن:۰۵۱۴۱۴۴۲۵۲۵ **پست الکترونیک:**E-mail:sh_akhlaghi@iaus.ac.ir

قابل درمان توسط آن ها به نام تئوری امضاها را مطرح کرد. بر اساس این نظریه می‌گوید این خود طبیعت است که به ما قدرت درمانی گیاهان را نشان می‌دهد. به همین علت بود که ساقه زرد رنگ ریوند علیه بیماری زردی و میوه و گل قرمز انار علیه خونریزی به کار می رفت[۲]. گیاهان به دلیل دارا بودن ترکیبات ثانویه‌ای چون ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و... کارخانه‌ای بالقوه جهت انجام واکنش‌های کاهش شیمیایی هستند و به اصطلاح دارای خاصیت احیاکنندگی یا آنتی‌اکسیدانی می‌باشند[۳]. یکی از این گیاهان که بومی ایران نیز می‌باشد و به صورت گسترده در طب سنتی از آن استفاده می‌شود گیاه نعناع فلفلی است که گیاهی است از رده دولپه‌ای های پیوسته گلبرگ که از سبزی‌های خوراکی و دارویی است. به این گیاه سیسنبر، نعناع فلفلی، خال‌وای و آس‌بویه هم می گویند.

نعناع فلفلی از گیاهان دارویی پر خاصیت و مشهور به شمار می‌رود. یکی از رایج‌ترین و پرکاربردترین اسانس‌ها در جهان نعناع فلفلی به همراه اسطوخودوس است. از نعنای فلفلی در شیرینی‌پزی، آدامس، خمیردندان، شامپوها، صابون های مختلف و محصولات مراقبت پوستی استفاده می شود. نعناع فلفلی گیرنده TRPM8که به سرما حساس است را فعال کرده و باعث ایجاد احساس خنکی در هنگام استفاده موضعی می شود. در سال ۲۰۱۱، مطالعه ای در ایران نشان داد که نعناع فلفلی می تواند دریافت پیام درد را کاهش دهد. در یک مطالعه بر روی حیوانات نشان داده شد که نعنای فلفلی می تواند از بیماران سرطانی در برابر اشعه های پرتودرمانی محافظت کند. برخی معتقدند رایحه نعناع فلفلی باعث افزایش سطح هوشیاری و حافظه می شود، البته برخی با این نظر مخالف اند. با وجود این، از نعناع فلفلی در رایحه درمانی استفاده زیادی می شود. ماده pulegone موجود در نعناع فلفلی حشره‌کش است.

در سال‌های اخیر، نانوذرات آهن صفر با توجه به دارا بودن خواص مغناطیسی عالی نسبت به نانو ذرات مشابه بر پایه اکسید آهن، کاربردهای برجسته‌ای را با موفقیت نشان داده است. در میان روش‌های مختلف سنتز نانوذرات آهن، سنتز آن‌ها با استفاده از ترکیبات پلی فنولیک حاصل از عصاره‌های گیاهی موردتوجه محققان قرار گرفته است. استفاده از نانو ذرات آهن صفر به دلیل خصلت کاهندگی بالایی که دارند در بازسازی محیط زیست، پایداری و تخریب بسیاری از آلاینده ها، پالایش آب، فاضلاب و خاک بسیار حائز اهمیت هستند[۴].

هدف از این تحقیق، سنتز سبز نانو ذرات آهن با استفاده از عصاره برگ گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Peppermint*) وکاربرد اسپکتروسکوپی در مشخصه یابی و بررسی خواص آنتی اکسیدانی آن می باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد شیمیایی

کلیه مواد استفاده شده در این پروژه با خلوص تجزیه‌ای بودند. ۱و ۱-دی فنیل۲-پیکریل هیدرازیل، هیدروکلریدریک اسید، سدیم هیدروکسید، کلرید آهن شش آبه، معرف فولین، سدیم کربنات همگی از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲. مواد گیاهی

سرشاخه های هوایی گیاه نعناع فلفلی جمع آوری شده و در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد و سپس آسیاب گردید. حدود ۱۰ گرم از پودر تهیه شده را به ۱۰۰ میلی لیتر اتانول اضافه کرده و به مدت ۴ ساعت و نیم توسط استایرر هم زده شد و بعد از گذشت این مدت مخلوط حاصله با کاغذ صافی صاف گردید و برای مصرف در آزمایش فوق در یخچال نگهداری شد.

۲-۳. تهیه نانوذرات آهن

ابتدا مقدار ۰/۱۳۵ گرم از نمک، $FeCl_3.6H_2O$ را وزن کرده و برای تهیه محلول ۰/۰۱ مولار آن در بالن ۵۰ میلی لیتری با حلال آب مقطر به حجم رسانده شد. واکنش نمک آهن و عصاره با نسبت حجمی۱:۵ در شرایط حمام آب با دمای ۴۶ درجه سانتیگراد، به مدت ۸۰ دقیقه و در دور همزن ثابت انجام شد. در ابتدای این واکنش، رنگ محلول نمک از زرد به قهوه ای تیره تغییر رنگ داد که اولین نشانه ی قابل مشاهده ی شکل گیری ذرات نانو است. پس از پایان زمان واکنش، محلول نهایی با دور ۶۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پس از صاف کردن محلول رویی و جداسازی رسوبات نهایی، ابتدا با آب یون زدایی شده و سپس با اتانول شست و شو داده شدند. سپس این رسوبات زیر هود و تحت دمای آزمایشگاه و به دور از هر گونه حرارت دهی، به مدت ۴۸ ساعت کاملا خشک شدند.

۲-٤. بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه به روش به دام انداختن رادیکال (DPPH)

استفاده از روش DPPH برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاهی روشی آسان و سریع می باشد[۵]. در ابتدا محلول ۰/۱۳۵ میلی مولار (۰/۰۰۵۳ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر متانول) DPPH تهیه شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره گیاه نعناع فلفلی (۱۰۰۰/۰۰، ۵۰۰/۰۰، ۲۵۰/۰۰، ۱۲۵/۰۰، ۶۲/۵۰، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱ میکرو گرم در میلی لیتر متانول به ۱/۵ میلی لیتر محلول DPPH اضافه شد. محلول کنترل ۱/۵میلی لیتر متانول بود و محلول استاندارد غلظت های متفاوت از آسکوربیک اسید یا همان ویتامین C (۱۰/۰۰، ۵/۰۰، ۲/۵۰، ۱/۲۵، ۰/۶۲ میلی گرم در میلی لیتر آب) بود که به روش گفته شده با DPPH مخلوط گردید. برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد. برای حذف رنگ عصاره ها از عصاره ی شاهد نیزاستفاده شد. در انتها جذب محلول ها پس از قرارگرفتن ۳۵ دقیقه در محیط تاریک، توسط اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. بررسی قدرت آنتی اکسیدانی گیاه به روش(DPPH)

جدول IC_{50} عصاره آبی و عصاره حاوی نانو ذرات آهن را نشان می دهد همان طور که در جدول ۱ دیده می شود غلظت بازداری ۵۰ درصد (IC_{50}) برای عصاره آبی محلول ۷۸/۱ و برای عصاره حاوی نانو ذرات ۶۶/۳ به دست آمد که بیانگر این مطلب

است که اگر چه در عصاره نعناع فلفلی خواص آنتی اکسیدانی وجود دارد اما افزودن نانو ذرات آهن در محلول سبب افزایش خواص آنتی اکسیدانی آن می شود.

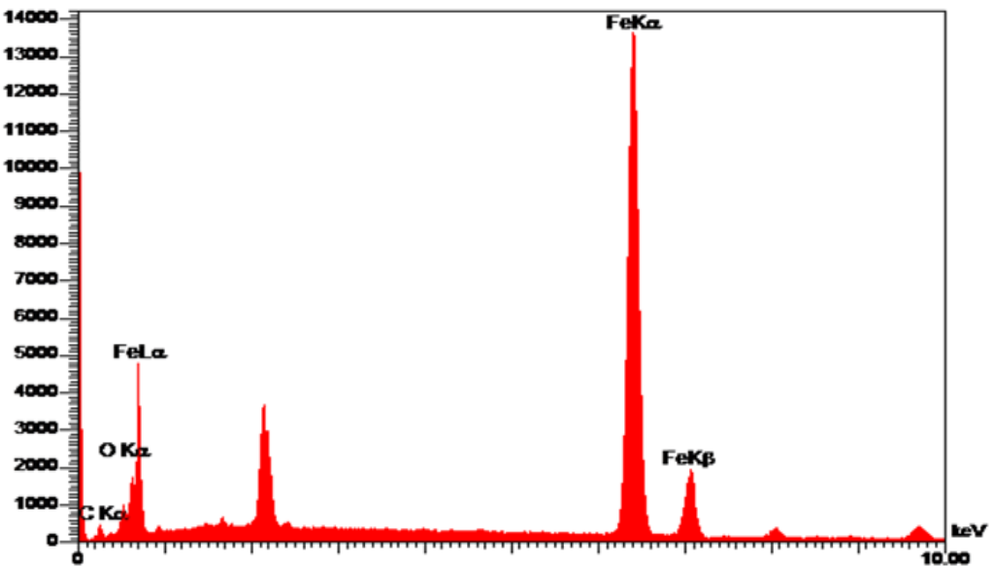
جدول ۱. مقادیر IC50 عصاره آبی و عصاره حاوی نانوآهن

	IC_{50} (ppm)
عصاره آبی	۷۸/۱ ± ۱/۱
عصاره حاوی نانو آهن	۶۶/۳ ± ۰/۳

۳-۲. مطالعه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

۳-۲-۱. شناسایی مواد با استفاده از آنالیز EDAX (Energy Dispersive X-Ray Analysis)

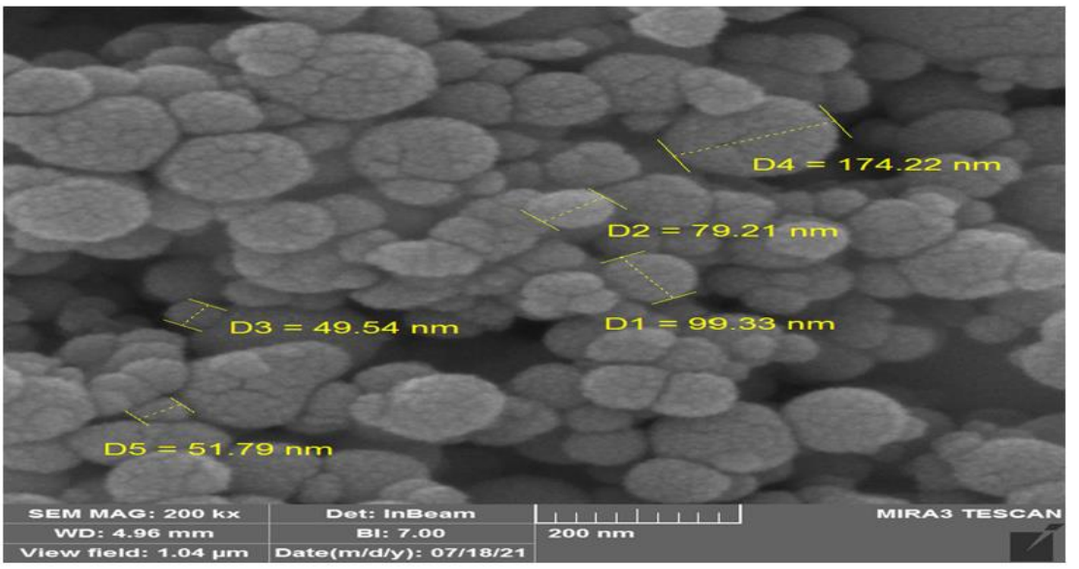
در شکل ۱، عناصر C, O و Fe مربوط به نمونه سنتز شده هستند که وجود عناصر غیرفلزی اکسیژن، کربن نشان دهنده ی ترکیبات آلی عصاره نعناع است که در تبدیل یون های آهن به نانوذرات مغناطیسی نقش داشته اند. طیف EDAX سیگنال قوی آهن فلزی را نشان می دهد که حضور آهن عنصری را در نمونه اثبات می کند.



شکل ۱. طیف EDAX از نانوذرات تولید شده

۳-۲-۲. بررسی ساختاری نانو ذرات نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

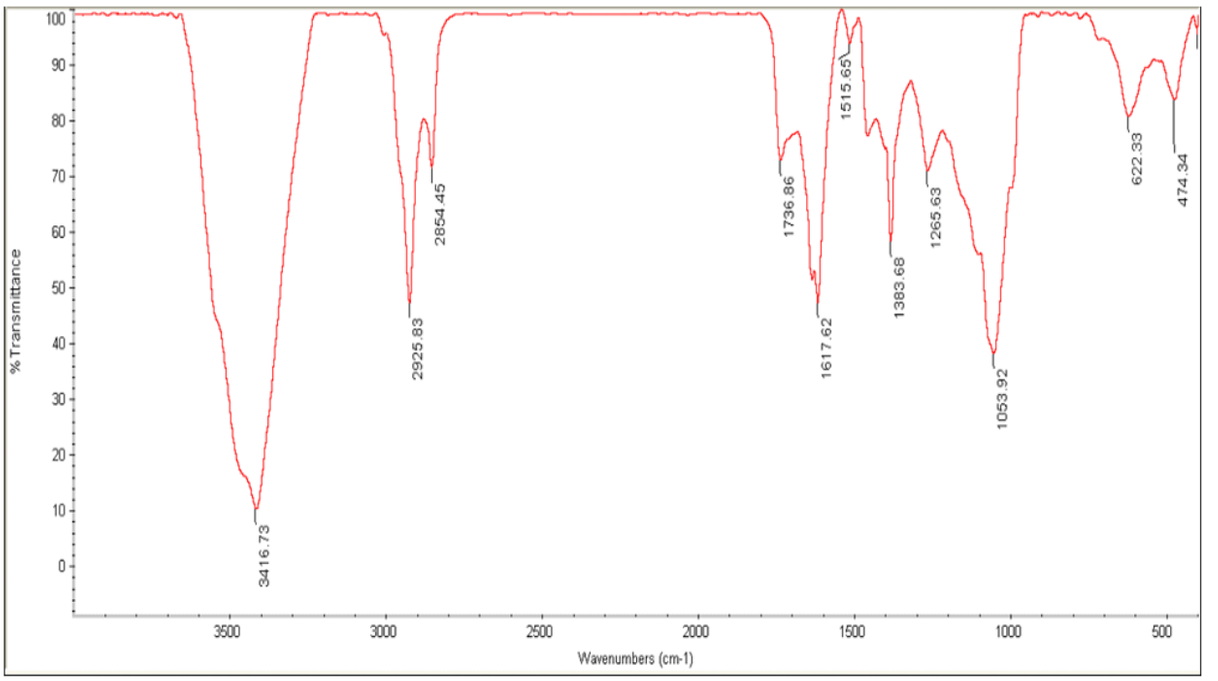
شکل ۲ تصویر SEM نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی سنتز شده از عصاره گیاهی می باشد که در آن به صورت تصادفی نانو ذرات اندازه گیری شده و میانگین اندازه ذرات آن ها ۸۰-۷۰ نانومتر محاسبه شد. در میکروسکوپ الکترونی روبشی الکترون به سطح نمونه تابیده شده، منعکس و توسط آشکارساز جمع آوری می‌شود[۶].



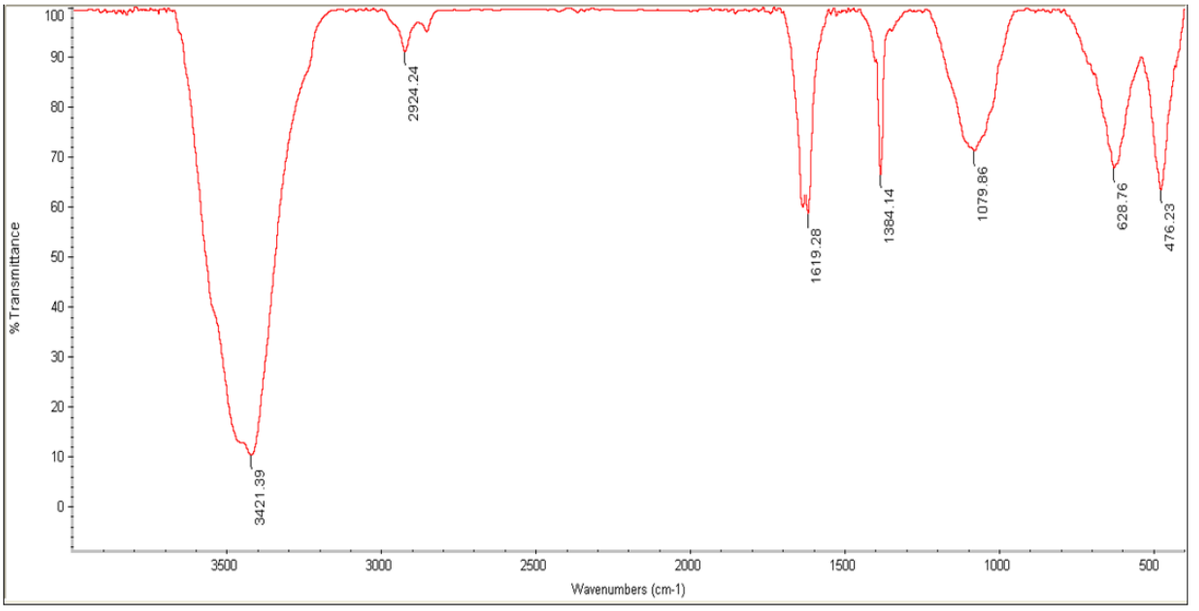
شکل۲. تصویر SEM نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی سنتز شده از عصاره گیاهی

۳-۳. طیف بینی IR

طیف سنجی مادون قرمز بر اساس جذب تابش و بررسی جهش های ارتعاشی مولکول ها و یون های چند اتمی صورت می گیرد. در شکل زیر طیف مادون قرمز عصاره گیاهی نعناع فلفلی تهیه شده است که با توجه به پیک های موجود در طول موج های ۳۴۱۶ و ۲۹۲۵ و ۱۷۳۶و ۱۰۵۳ به ترتیب وجود پیوند های C-H و N-H، ترکیبات فنولی و پلی فنولی، ترکیبات دارای کتون و پیوند های C-N می باشد.



در شکل زیرنیز طیف بینی مادون قرمز برای عصاره گیاه بعد از سنتز نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی انجام شد که با مقایسه این شکل با شکل قبلی می توان سنتز این نانو ذرات را به وضوح مشاهده کرد.



مقایسه دو شکل ذکر شده نشان می دهدکه گروه های آلدهیدی باعث کاهش یون های آهن و تبدیل آن ها به نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی شده اند در نتیجه پیک مربوط به ترکیبات پلی فنولی تغییر یافته است. سنتز سبز باعث پیشرفت در روش های فیزیکی و شیمیایی می شود زیرا مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست بوده و در این روش در اکثر اوقات به مواد شیمیایی سمی و فشار یا دمای بالا نیاز نیست در نتیجه این روش بسیار عالی برای سنتز نانو ذرات می باشد. هم چنین که آهن و آلیاژ های آن از رایج ترین فلزات و مواد فرومغناطیس در کاربرد های روزمره هستند.

نانوذرات تولید شده توسط گیاهان دارویی به عنوان انتقال دارو در بدن خطر کمتری دارند. از طرفی به دلیل ارزان بودن روش های زیستی نسبت به سایر روش ها، از نظر اقتصادی نیز دارای اهمیت زیادی هستند. با توجه به اینکه رها شدن نانو ذرات در طبیعت با توجه به غلظت نانو ذره می‌تواند بر سلامت انسان و دیگر میکرو ارگانیسم ها اثر بگذارد، تولید گیاهی آن ها تا حد زیادی از این آثار سو جلوگیری می‌کند. در مورد مشابه سنتز سبز نانو ذرات آهن از عصاره گیاهی اقاقیا که توسط فیرحی و همکاران صورت پذیرفت پس از تغییر رنگ محلول و اطمینان از سنتز نانو ذرات اندازه و شکل آن ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مطالعه گردید و اندازه نهایی نانو ذرات ۲۰-۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.گزارش شده است اساس سنتز نانو ذرات احیای یون‌های نمک آن‌ها و در واقع خنثی شدن بار الکتریکی است. چنانچه تغییر رنگ محلول در مدت زمان کوتاه کمتر از ۲ ساعت و در دمای اتاق انجام شود بیانگر این مطلب است که سنتز نانو ذرات نیازی به حرارت دادن ندارد[۷].

درتحقیقی دیگر سنتز سبز نانو ذرات آهن از عصاره گیاه دارویی پونه که توسط طاووسی و همکاران صورت گرفت پس از عصاره گیری و سنتز نانو ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM اندازه ذرات مشخص و میانگین اندازه این نانو ذرات ۴۰ – ۳۰ نانو متر ثبت شد [۸] و همچنین در مطالعه سنتز سبز نانو ذرات آهن با استفاده از عصاره چای سبز که توسط دهمرده و همکاران انجام پذیرفت نیز نانو ذرات سنتز شده کروی بوده واندازه ذرات حدود ۳۰ – ۲۰ نانومتر بوده است. اعتقاد بر این است که دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بالا بودن ترکیبات فنلی بعضی ازعصاره ها از جمله عصاره‌های قطبی باشد. از طرف دیگر گزارش شده است که ترکیبات فنلی بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی آن‌ها قابل استخراج باشد لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به صورت مؤثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کنند. گزارش شده است نانوذرات آهن، فعالیت ضدباکتری علیه باکتری‌های پاتوژن انسانی مانند اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد[۹] در نانو ذرات آهن سنتز شده از عصاره موز اندازه ذرات نانو آهن سنتز شده بیشتر از ۱۰۰ نانومتر گزارش شده است[۱۰].

بنابراین نانو ذرات آهن صفر ظرفیتی در این مطالعه توسط روش سنتز سبز و با عصاره گیاه دارویی نعناع فلفلی بدست آمد که طبق تصویر ۲ کروی بوده و همچنین اندازه این نانو ذرات ثبت گردید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نیز اندازه گیری شد و نتایج مطلوبی در ارتباط با سنتز نانو ذرات و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی حاصل گردید.

٤. نتیجه گیری

در مجموع نتایج این آزمایش قابلیت سنتز نانوآهن صفر ظرفیتی با استفاده از عصاره بذر رازیانه با داشتن شکل کروی و اندازه ذرات ۸۰ – ۷۰ نانومترا ثابت کرد. همچنین نشان داد که در نعناع فلفلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد و افزایش نانو ذرات آهن صفر سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. بر این اساس علاوه بر مصارف دارویی این گیاه از آن برای سنتز نانو ذرات آهن می توان استفاده کرد.

۵. مراجع

[1] Neme, K., Nafady, A., Uddin, S., & Tola, Y. B. (2021). Application of nanotechnology in agriculture, postharvest loss reduction and food processing: food security implication and challenges. *Heliyon*, *7*(12), e08539.

[2] Hajar, R. The Air of History (Part II) Medicine in the Middle Ages. Heart Views. 2012 Oct;13(4):158-62.

[3] Ahvazi, M., Khalighi-Sigaroodi, F., Charkhchiyan, M. M., Mojab, F., Mozaffarian, V. A., & Zakeri, H. (2012). Introduction of medicinal plants species with the most traditional usage in Alamut region. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, *11*(1), 185.

[4] Anang, E., Hong, L., Fan, X., & Asamoah, E. N. (2022). Attapulgite supported nanoscale zero-valent iron in wastewater treatment and groundwater remediation: synthesis, application, performance and limitation. *Environmental Technology Reviews*, *11*(1), 1-17.

[5] Torre, M P, 1 , Cavero, R Y, , Calvo, M I, Vizmanos, J L. (2019). A Simple and a Reliable Method to Quantify Antioxidant Activity In Vivo, *Antioxidants*, 8, 142-153.

[6] Frank, L., Hovorka, M., Mikmeková, Š., Mikmeková, E., Müllerová, I., & Pokorná, Z. (2012). Scanning electron microscopy with samples in an electric field. *Materials*, *5*(12), 2731-2756.

[۷] فیرحی، فرزانه و ترابی، سپیده و منیری، الهام و زرین نیا، وحید،**۱۳۹۴**، سنتز سبز نانوذره آهن اکسید Fe_3O_4 با استفاده از عصاره گیاه اقاقیا *Acacia nilotica*، همایش بین المللی پژوهش های کاربردی در کشاورزی، تهران،https://civilica.com/doc/415254

[۸] طاووسی فائزه، غفارزادگان رضا، میرشکرایی احمد، حاجی‌آقایی رضا. سنتز سبز نانو ذرات آهن با استفاده از عصاره *Mentha longifolia* L. . فصلنامه گیاهان دارویی،۱۴۴-۱۳۵(**۱۳۹۷**)۱۷.

[۹] دهمرده مهدی، تاجی رمضان، خمری عیسی، حداد طیبه، سنتز سبز نانوذره آهن و نقره با استفاده از عصاره چای سبز (*Camellia sinesis* L.)و بررسی اثر آن بر ویژگی‌های کمّی و کیفی گل گاوزبان اروپایی(*Borago officinalis* L.) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۴۵-۳۳۰(**۱۳۹۷**)۳۴.

[10] Sunardi, Ashadi, Sentot Budi Rahardjo and Inayati, (2017). Ecofriendly Synthesis of nano Zero Valent Iron from Banana Peel Extract, *Journal of Physics: Conference Series*, 12 (5), 795-799.

Green Synthesis of iron nanoparticles using *Mentha piperita* L. leaf extract and spectroscopic application in characterization and evaluation of its antioxidant properties

Abolfazl Mousavi, Hashem Akhlaghi*[1], Mohammad Mehrshad

Department of Chemistry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Submited: 16 November 2021, Revised: 08 February 2022, Accepted: 12 February 2022

Abstract

Conventional nanoparticle synthesis methods have defects such as poor structure, low production rate, high production cost and high energy requirement. Therefore, today, the tendency to use plant resources as one of the most appropriate methods of nanoparticle synthesis has been considered by researchers. Peppermint is one of the most important medicinal plants in Iran that has the potential to synthesize nanoparticles from the extracts of its aerial parts. In this study, the possibility of green synthesis of zero iron nanoparticles was investigated using peppermint leaf extract. Antioxidant properties of leaf extracts and extracts containing nano-iron particles were determined. Structural study of iron nanoparticles was performed using scanning electron microscopy. The formation of iron nanoparticles was confirmed by changing the color of the solution from yellow to brown. Addition of iron nanoparticles increased the antioxidant properties of peppermint. Structural examination of iron nanoparticles using scanning electron microscopy showed that the shape of the spherical particles and its average dimensions are 70-80 nm. The results of this experiment showed that peppermint leaf extract can be used to synthesize zero-capacity nano-iron, which increases its antioxidant properties.

Keywords: *Peppermint, Green synthesis, Antioxidant activity, Zero-valent iron nanoparticles.*

***Corresponding author :** Hashem Akhlaghi

Address: Department of Chemistry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Tel: 05141442525 **E-mail:** sh_akhlaghi@iaus.ac.ir