بررسی فیتوشیمیایی مقایسهٔ توان آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی عصارهٔ حلال‌های گوناگون بذر کتان (Linum usitatissimum L.) و بیوسنتز نانوذرات نقره و طلا با استفاده از عصارهٔ آن

رؤیا میرزاجانی*[1]، مریم کلاهی[2]، فاطمه گرجیان[1]

۱) گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۱۰/۳

چکیده

مقدمه: کتان (Linum usitatissimum L.) گیاهی از خانوادهٔ Linaceae است که در محصولات بهداشتی، غذایی و صنعتی استفاده می‌شود. از ترکیبات دارای فعالیت زیستی که در بذر کتان یافت می‌شود، می‌توان به لینولنیک‌اسید، لینولئیک‌اسید، لیگنان، پپتیدهای حلقوی، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها و سیانوژنیک گلیکوزیدها اشاره کرد. تحقیقات اخیر بیانگر آن است که دانه‌های بذر کتان سبب کاهش کلسترول، تثبیت قند خون، جلوگیری از پوکی استخوان، کمک به کاهش وزن، تقویت سیستم ایمنی بدن و پیشگیری از سرطان می‌شوند. هدف از انجام این تحقیق بررسی فیتوشیمیایی، توان آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی عصارهٔ حلال‌های مختلف بذر کتان و بیوسنتز نانوذرات نقره و طلا با استفاده از این عصاره است.

مواد و روش‌ها: برای بررسی توان آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی بذر کتان، عصارهٔ بذر کتان با استفاده از سه حلال مختلف اتیل‌استات، دی‌کلرومتان و نرمال‌هگزان، با روش سوکسله استخراج شد. برای شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره، از آزمون‌های فیتوشیمیایی استفاده گردید. در ادامه، برای سنتز نانوذرات طلا و نقره، به ترتیب از نمک‌های $3H_2O$، $HAuCl_4$، $AgNO_3$ و عصارهٔ دی‌کلرومتان بهره گرفته شد. برای مشخصه‌یابی نانوذرات سنتزشده، از تکنیک‌های گوناگونی ازجمله اسپکتروفتومتری فرابنفش- مرئی (UV-Vis) استفاده گردید؛ همچنین از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و تکنیک آنالیز اندازهٔ نانوذرات، برای بررسی شکل، اندازه و تعیین میزان توزیع نانوذرات استفاده شد.

یافته‌های پژوهش: پس از استخراج عصاره‌های مختلف بذر کتان، برای شناسایی کیفی متابولیت‌های ثانویهٔ موجود در عصاره، از آزمون‌های فیتوشیمیایی مختلف و معرف‌های گوناگون استفاده گردید. نتایج بیانگر حضور فلاونوئیدها، آلکالوئید و استروئید و حضور نداشتن تانن و ساپونین بود. بیشترین و کمترین مقدار ترکیبات فنلی، به ترتیب مربوط به عصارهٔ دی‌کلرومتان و ان- هگزان بذر کتان بود. بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای عصارهٔ استخراج‌شده از بذر کتان با استفاده از حلال دی‌کلرومتان به دست آمد. پس از سنتز نانوذرات طلا و نقره، رنگ محلول‌های کلوئیدی نانوذرات تهیه‌شده، به ترتیب بنفش و زرد شد. طیف‌های جذبی حاصل از محلول‌های نانوذرات طلا و نقره، طول موج‌های ماکزیمم به ترتیب ۵۲۵ و ۴۲۰ نانومتر را نشان دادند که خود بیانگر طول موج مشخص برای این نانوذرات هستند. مطالعات میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داد که نانوذرات طلا و نقره سنتزشده، شکل کروی با توزیع یکنواخت و قطرهای میانگین، به ترتیب ۴۰ و ۹۰ نانومتر دارند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده به‌وضوح نشان داد که استفاده از حلال‌های گوناگون، بر میزان استخراج محتوی فنلی کل تأثیر داشته است؛ همچنین ارتباط مستقیمی میان میزان فنل کل و نتایج به‌دست‌آمده از سنجش توان آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ها دیده شد. نانوذرات طلا و نقره نیز با کمک عصارهٔ حاصل از بذر کتان، به‌سادگی تهیه شدند.

واژه‌های کلیدی: بذر کتان، نانوذرات طلا، نانوذرات نقره، نانوفناوری، عصاره، آنتی‌اکسیدان طبیعی، Linum usitatissimum L.

*نویسندهٔ مسئول: گروه شیمی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

Email: rmirzajani@scu.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

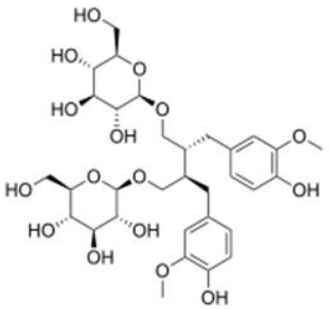
مقدمه

گیاه کتان (Linum usitatissimum L.) متعلق به ردهٔ Magnoliopsida، راستهٔ Malpighiales (مالپیگی‌سانان)، تیرهٔ کتانیان (Linaceae)، جنس کتان (Linum) است. بسیاری از گیاهان مربوط به این خانواده جزو گیاهان چندساله هستند و گل‌های زرد، سفید و یا قرمز دارند. گیاهان این خانواده معمولاً در حدود ۱/۲ متر رشد می‌کنند. آن‌ها برگ‌هایی به رنگ سبز مایل به زرد با طول تقریبی ۴۰-۲۰ میلی‌متر دارند. پهنای برگ آن‌ها حدود ۳ میلی‌متر است. میوهٔ این گیاه دایره‌ای شکل است و یک کپسول خشک با قطر ۹-۵ میلی‌متر دارد. این کپسول حاوی دانه‌های قهوه‌ای‌رنگ به شکل دانه‌های سیب، با قطر تقریبی ۷-۴ میلی‌متر است که همان بذر کتان است (۱). منطقهٔ مدیترانه و جنوب غربی آسیا به‌عنوان اصلی‌ترین مبدأ کتان شناخته می‌شود. در حال حاضر کانادا، چین، آرژانتین، اتیوپی، قزاقستان، اوکراین، آمریکا، انگلستان، هند و روسیه، به‌عنوان ده کشور برتر تولیدکنندهٔ بذر کتان در دنیا به شمار می‌آیند (۲).

از ترکیبات با فعالیت زیستی و عناصری که در بذر کتان یافت می‌شود، می‌توان به لینولنیک‌اسید، لینولئیک‌اسید، لیگنان، پپتیدهای حلقوی، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، سیانوژنیک گلیکوزیدها و کادمیوم اشاره کرد. بیشترین فعالیت زیستی و مطالعات کلینیکی بذر کتان، بر روی ترکیب آلفا لینولنیک‌اسید و لیگنان متمرکزشده و به ترکیباتی مانند روغن، موسیلاژ و پروتئین‌ها، کمتر پرداخته‌شده است (۳).

خوردن کتان به‌طور منظم می‌تواند در پیشگیری و درمان بیماری‌های مزمن که التهاب در آن‌ها نقش اساسی دارد، مانند سکته قلبی، دیابت، سرطان، چاقی و بیماری آلزایمر مؤثر باشد (۴). فیتواستروژن‌ها گروهی از مواد شیمیایی گیاهی هستند که به‌طور طبیعی در گیاهان تولید می‌شوند و نقش‌های زیست‌شناختی از قبیل تشکیل بخشی از سیستم دفاعی گیاه و حفاظت از گیاه در مقابل تنش‌ها را دارند. فیتواستروژن واژه‌ای عمومی است که به هر ترکیب یا متابولیت گیاهی اطلاق می‌شود که در مهره‌داران پاسخ‌های زیستی ایجاد کند و با اتصال به گیرنده‌های استروژن، عملکرد استروژن‌های درون‌زاد را تقلید یا تعدیل نماید (۳). آلفا لینولنیک‌اسید (ALA) موجود در تخم کتان، با فراهم کردن چربی‌های ضروری در کنار ویتامین های گروه B، سبب کاهش خشکی پوست و مو و پوسته‌پوسته شدن آن‌ها می‌شود؛ همچنین مصرف تخم کتان می‌تواند در کاهش علائم آکنه مفید باشد. کمک به سلامت و مراقبت از چشم و جلوگیری از خشکی چشم، از خواص دیگر تخم کتان است (۵).

در سال ۲۰۱۰، توره و همکاران در تحقیق جامعی، به بررسی خواص گوناگون بذر کتان پرداختند. مؤلفان نشان دادند که SDG مهم‌ترین ترکیب موجود در بذر کتان است که به خانوادهٔ لیگنان‌ها (ازجمله پلی‌فنل‌ها) تعلق دارد. بذر کتان با توجه به توانایی‌های بالقوهٔ آنتی‌اکسیدانی خود، به‌عنوان یک فیتواستروژن طبیعی می‌تواند جایگزین درمان‌های هورمونی شود و در پیشگیری از سرطان کاربرد مناسبی داشته باشد (شکل شمارهٔ ۱).



شکل شمارهٔ ۱. ساختار لیگنان موجود در بذر کتان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

در سال‌های اخیر، استفاده از فناوری نانو در صنایع مختلف مانند پزشکی، دارویی و بهداشتی، به میزان فراوانی گسترش پیدا کرده است. یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نانوفناوری، کاربرد روش‌های سازگار با محیط زیست و بدون استفاده از هرگونه ماده شیمیایی در سنتز نانوذرات است. امروزه، تولید نانوذرات طلا و نقره به روش‌های شیمیایی مختلفی انجام می‌گیرد که معایبی چون ناپایداری محلول‌ها، نیاز به استفاده از مواد شیمیایی کاهنده و پایدارکننده و نیز تجهیزات پیشرفته برای تولید دارد؛ همچنین سنتز نانوذرات به روش شیمیایی ممکن است به حضور بعضی از گونه‌های سمی جذب‌شده در سطح نانوذرات منجر شود که عوارض جانبی در برنامه‌های کاربردی و پزشکی خواهد داشت (۶)؛ به همین علت، به استفاده از سیستم‌های سبز تولید نانوذرات توجه می‌شود که کمترین مخاطرات زیست‌محیطی و نیز روش‌های تولید ساده‌ای داشته باشند. از میان نانوذرات مختلف، نانوذرات فلزی مانند طلا و نقره به علت خواص منحصربه‌فرد الکتریکی، مغناطیسی و نوری بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ همچنین نانوذرات فلزی علاوه بر استفاده در صنایع مهندسی (مانند کاتالیزگرها، وسایل نوری و کاربردهای اپتیکی، الکترونیکی)، در از میان بردن سلول‌های سرطانی، فعالیت ضدباکتریایی، در زمینه‌هایی مانند مواد ضدعفونی‌کننده، پارچه‌ها و وسایل پزشکی نیز کاربرد وسیعی دارند و موردمطالعه قرار می‌گیرند (۷، ۶). استفاده از روش‌های شیمیایی در تهیه این نانوذرات منجر به باقی ماندن مقداری از واکنشگرهای سمی و شیمیایی در درون و سطح آن‌ها می‌شود که نهایتاً باعث محدودیت در استفاده از نانوذرات حاصل در کاربردهای پزشکی و زیستی می‌گردد. با در نظر گرفتن موارد ذکرشده، استفاده از روش‌های سبز تولید این نانوذرات مانند به‌کارگیری عصاره گیاهان (با توجه به طبیعی بودن مواد احیاکننده حاصل از گیاهان که در عین حال می‌تواند نقش پایدارکننده هم داشته باشد) روش‌هایی پاکیزه، غیر سمی و سازگار با محیط زیست و کم‌هزینه هستند و بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. همچنین در بسیاری از موارد استفاده از این روش‌ها می‌تواند به نانوذرات حاصل خواص منحصر به فردی نیز ببخشد و باعث بهبود و افزایش عملکرد آن‌ها شود (۷). هدف از این مطالعه بررسی بازده عصاره‌گیری، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنلی بذر کتان با استفاده از حلال‌های مختلف و تعیین حلال مناسب و مطلوب برای استخراج ترکیبات فعال زیستی بذر کتان جهت استفاده در صنایع غذایی، داروئی و بهداشتی است. همچنین توانایی عصاره برای تهیه نانوذرات طلا و نقره نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی استفاده‌شده: همهٔ مواد شیمیایی استفاده‌شده در این کار با درجه خلوص بالا تهیه شدند. حلال‌های به‌کاررفته در استخراج ازجمله اتیل‌استات، دی‌کلرومتان، نرمال‌هگزان و متانول، همچنین نمک کلرید طلا سه آبه ($HAuCl_4.3H_2O$) و نیترات نقره ($AgNO_3$) و نیز سایر مواد استفاده‌شده در این پژوهش از شرکت‌های مرک آلمان (MERCK, Germany) و سامچون کره جنوبی (Samchun Chemicals Co.) تهیه و بدون هیچ‌گونه عملیات خالص‌سازی به‌کار گرفته‌شده‌اند.

تهیه نمونهٔ بذر کتان: پس از تهیهٔ بذر کتان از عطاری‌های شهر اهواز (کشت شهر رامهرمز)، شناسایی آن توسط بخش گیاه‌شناسی گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد.

عصاره گیری به روش سوکسوله: پس از پودر کردن بذرها به کمک آسیاب برقی، برای عصاره‌گیری گیاه بذر کتان از سه حلال مختلف اتیل‌استات، دی‌کلرومتان و نرمال‌هگزان و روش سوکسله استفاده گردید. برای عصاره‌گیری به روش سوکسوله، مقدار ۱۲ گرم از پودر بذر کتان آسیاب‌شده درون انگشتانهٔ دستگاه سوکسله قرار داده شد. پس از آن، ۱۵۰ میلی‌لیتر از حلال استخراج‌کننده را درون بالن ریخته و سپس بالن درون حمام روغن و تحت شرایط رفلاکس گذاشته شد و عمل عصاره‌گیری به مدت ۵ ساعت ادامه یافت. پس از پایان این فرایند، برای تبخیر حلال، عصارهٔ به‌دست‌آمده در دستگاه روتاری قرار گرفت و درنهایت، برای خشک شدن، در آون با دمای ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت گذاشته و عصاره‌های حاصل تا زمان استفاده، در یخچال نگهداری شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

آزمون‌های فیتوشیمیایی (Phytochemical tests): تقریباً بیشتر خواص درمانی یک گیاه، ناشی از حضور متابولیت‌های ثانویه در آن است. برای شناسایی کیفی این ترکیبات، از آزمون‌های فیتوشیمیایی مختلف و معرف‌های گوناگون استفاده گردید که به تغییر رنگ، ایجاد رسوب و یا تغییرات دیگر منجر می‌شود. بررسی‌های فیتوشیمیایی انجام‌شده بر روی گیاه بذر کتان، نشان‌دهندهٔ حضور ترکیباتی از قبیل آلکالوئیدها، استروئیدها و فلاونوئیدها است. برای شناسایی کیفی متابولیت‌های ثانویه، از آزمون‌های فیتوشیمیایی مختلف و معرف‌های مربوطه استفاده شد (۱۰-۸).

اندازه‌گیری محتوای کل ترکیبات فنلی: برای اندازه‌گیری محتوای فنلی عصارهٔ بذر کتان، ابتدا لازم است تا مراحل آماده‌سازی عصارهٔ روغنی و جداسازی فاز هیدروالکلی مربوطه صورت گیرد تا تعیین محتوای فنلی کل با استفاده از فاز هیدروالکلی انجام گردد. به این منظور، ابتدا به ۱ گرم از عصارهٔ روغنی دی‌کلرومتانی، ۱ میلی‌لیتر هگزان نرمال و ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد افزوده می‌شود؛ سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه ورتکس می‌شود و پس از آن، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ می‌گردد تا فاز هیدروالکلی جدا شود. پس از جدا کردن فاز هیدروالکلی، این فاز به کمک فیلتر نایلونی ۰/۴۵ میکرونی فیلتر می‌گردد و برای استفاده بعدی و سنتز نانوذرات در یخچال نگهداری می‌شود.

برای تعیین محتوای فنلی عصاره، از معرف فولین- سیوکالچو و سدیم کربنات استفاده شد و برای رسم منحنی استاندارد غلظت‌های گوناگون گالیک‌اسید تهیه گردید. بدین منظور، به‌طور خلاصه، غلظت‌های گوناگونی از محلول استاندارد گالیک‌اسید، عصارهٔ گیاه و آب مقطر به‌عنوان شاهد تهیه شد و به آن‌ها، به ترتیب آب مقطر، معرف فولین- سیوکالچو و سدیم کربنات اضافه گردید؛ سپس محلول به‌دست‌آمده به مدت ۹۰ دقیقه، در دستگاه انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، به‌صورت ملایم هم‌زده شد و سپس جذب نمونه‌ها در برابر شاهد، توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. درنهایت، محتوای تام فنلی گیاه برحسب مقدار میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر گرم عصاره محاسبه شد (۱۱).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH): برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی بذر کتان، آزمون DPPH بر روی نمونهٔ استاندارد و عصاره‌های گوناگون بذر کتان انجام شد و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با نمونهٔ استاندارد مقایسه گردید. برای اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر عصاره به کمک رادیکال آزاد DPPH، ابتدا یک محلول ۱ میلی‌مولار از این رادیکال، با استفاده از متانول به‌عنوان حلال تهیه شد؛ سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول، به مقدار 3 میلی‌لیتر از محلول عصاره با غلظت‌های متفاوت (۱۰-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) افزوده گردید و این روش برای غلظت‌های متفاوت از محلول استاندارد آسکوربیک‌اسید نیز انجام شد. پس از آن، هر محلول به‌دست‌آمده به مدت ۱ دقیقه، به‌شدت ورتکس گردید و سپس به مدت ۳ دقیقه، در تاریکی و در دمای اتاق در حالت سکون قرار گرفت. پس از گذشت این زمان، جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر و در سه تکرار خوانده شد.

برای اندازه‌گیری میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی یک عصاره، باید متغیر IC_{50} محاسبه گردد. IC_{50} غلظتی از عصاره است که می‌تواند مقدار ۵۰ درصد از رادیکال آزاد را مهار کند. هرچقدر مقدار آن کمتر باشد، بیانگر قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصارهٔ مدنظر است (۱۲). برای محاسبهٔ این متغیر از رابطهٔ شمارهٔ ۱ استفاده می‌شود:

$$Inhibition\% = \left(\frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}}\right) \times 100$$

رابطهٔ شمارهٔ ۱. محاسبهٔ میزان مهار رادیکال آزاد DPPH

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

در این رابطه، IC_{50}: درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، $A_{Control}$: میزان جذب محلول کنترل، A_{Sample}: میزان جذب نمونه است.

سنتز نانوذرات طلا و نقره با استفاده از عصارهٔ دی‌کلرومتان بذر کتان: برای سنتز نانوذرات طلا و نقره با استفاده از عصارهٔ بذر کتان، از فاز هیدروالکلی عصارهٔ دی‌کلرومتانی استفاده می‌گردد. برای سنتز نانوذرات طلا، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از یک محلول $۵/۳ \times ۱۰^{-۴}$ مولار نمک طلا ($HAuCl_4.3H_2O$) به یک بشر منتقل و در حین هم‌زده شدن، حرارت داده می‌شود. پس از به جوش آمدن محلول، مقدار 2 میلی‌لیتر از ۰/۰۰۱ درصد وزنی- حجمی عصارهٔ هیدروالکلی به آن افزوده می‌گردد؛ سپس حرارت دادن محلول مدنظر به مدت ۵ دقیقه ادامه می‌یابد و پس از آن، این محلول به مدت ۵ دقیقه، بدون حرارت دادن نیز هم‌زده می‌شود. تغییر رنگ محلول به بنفش، نشان‌دهندهٔ صحت سنتز نانوذرات طلا است.

در ادامه همچنین پس از طی مراحل آماده‌سازی محلول و جداسازی فاز هیدروالکلی، برای سنتز نانوذرات نقره، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۱ میلی‌مولار $AgNO_3$ به یک بشرمنتقل می‌شود که بر روی همزن مغناطیسی قرار دارد و مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۰۱ درصد وزنی- حجمی عصارهٔ هیدرو الکلی به آن افزوده می‌گردد. هم زدن محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد ادامه می‌یابد. تغییر رنگ محلول به زرد، بیانگر سنتز نانوذرات نقره است.

مشخصه‌یابی نانوذرات طلا و نقرهٔ سنتزشده: برای انجام مشخصه‌یابی نانوذرات طلا و نقرهٔ سنتزشده توسط عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان، طیف جذبی فرابنفش-مرئی محلول‌های نانوذرات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis Spectrophotometer, Jenway 6715)، در محدودهٔ ۳۰۰-۷۰۰ نانومتر ثبت شد. شکل و اندازهٔ نمونه‌های نانوذرات طلا و نقرهٔ تهیه‌شده، با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترون عبوری (Model 906E, LEO) آنالیز گردید؛ همچنین محلول‌های تهیه‌شده برای تعیین اندازهٔ نانوذرات سنتزی، به کمک دستگاه Nanoparticle size analyzer بررسی شدند.

آنالیز آماری داده‌ها: آزمون نرمال داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SPSS انجام گردید و مقایسهٔ میانگین داده‌ها با آزمون‌های دانکن و شفه صورت گرفت. نمودارهای مقایسهٔ میانگین با نرم‌افزار Excel (۲۰۱۰) رسم شدند.

یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از بررسی‌های فیتوشیمیایی انجام‌شده بر روی بذر کتان: آزمون‌های گوناگونی بر مبنای روش‌های استاندارد، بر روی نمونه‌های پودرشدهٔ بذر کتان صورت گرفت. در این آزمون‌ها، حضور پنج دستهٔ مهم از متابولیت‌های ثانویه شامل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها و استروئیدها بررسی شد. بررسی‌های فیتوشیمیایی انجام‌شده بر روی بذر کتان مطابق جدول شمارهٔ ۱، نشان‌دهندهٔ حضور ترکیباتی از دستهٔ فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و استروئیدها است؛ همچنین نتایج آزمایش‌ها بیانگر حضور نداشتن تانن‌ها و ساپونین‌ها در بذر گیاه کتان است.

جدول شمارهٔ ۱. نتایج به‌دست‌آمده از آزمون‌های فیتوشیمیایی انجام‌شده بر روی بذر کتان

متابولیت ثانویه	آزمون فیتوشیمیایی	نتیجه
فلاونوئید	آزمون پیو (Pew)	مثبت
	آزمون سدیم هیدروکسید	مثبت
آلکالوئید	معرف مایر	مثبت
	معرف واگنر	مثبت
تانن	محلول استات سرب	منفی
	محلول آهن (III) کلرید	منفی
استروئید	استفاده از سولفوریک‌اسید	مثبت
ساپونین	آزمون کف‌کنندگی	منفی

Pew : نام واکنشی برای تشخیص فلاونوئید

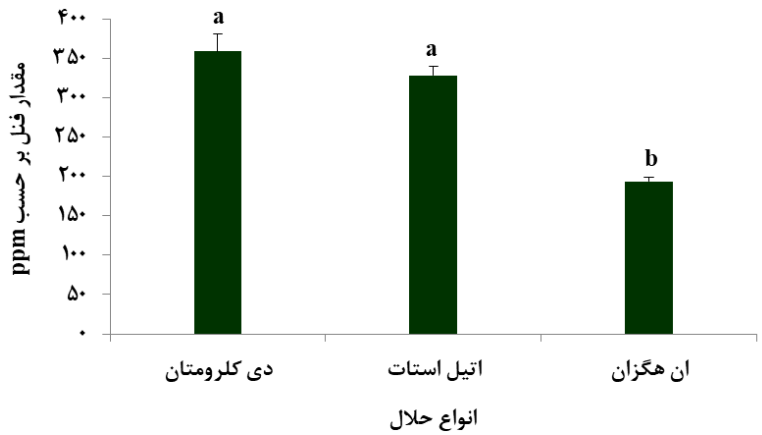
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

محاسبهٔ بازده عصاره‌گیری از بذر کتان: برای استخراج متابولیت‌های ثانویهٔ موجود در گیاه بذر کتان، عصارهٔ این گیاه به روش سوکسله و با استفاده از سه حلال مختلف دی‌کلرومتان، اتیل استات و هگزا نرمال (ان– هگزان) تهیه شد. بررسی نتایج بالا نشان می‌دهد که در روش استخراجی سوکسله، عصارهٔ هگزان نرمال (ان- هگزان) بذر کتان بیشترین میزان بازده وزنی را دارد. بازده عصاره‌گیری از بذر کتان با استفاده از حلال‌های گوناگون، در جدول شمارهٔ ۲ نشان داده‌شده است.

جدول شمارهٔ ۲. بازده وزنی- وزنی عصاره‌گیری از بذر کتان

عصاره‌های گوناگون بذر کتان	وزن خشک عصاره (گرم)	بازده (درصد)
عصارهٔ دی‌کلرومتانی	۱/۰۲	۸/۵
عصارهٔ اتیل‌استاتی	۱/۱۳	۹/۴
عصارهٔ ان-هگزانی	۱/۲۱	۱۰/۱

نتایج محتوای فنلی کل عصارهٔ سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های گوناگون: یافته‌های حاصل از بررسی محتوای فنلی کل با استفاده از روش استاندارد گالیک‌اسید نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی، مربوط به عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان بود. مطابق شکل شمارهٔ ۲، محتوای فنلی به‌دست‌آمده از عصارهٔ ان- هگزان، نسبت به عصارهٔ دی‌کلرومتان و اتیل استات، با اختلاف معناداری کمتر بود. این در حالی است که محتوای فنلی به‌دست‌آمده از عصارهٔ دی‌کلرومتانی و اتیل استاتی استخراج‌شده به روش سوکسله، از لحاظ آماری، اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند (شکل شمارهٔ ۲) ($P<0.05$). تفاوت‌های موجود در مقادیر محتوای فنلی کل در عصاره‌های گوناگون، علاوه بر روش آماده‌سازی نمونه‌ها و روش‌های استخراج، به میزان فراوانی به نوع حلال استخراج‌کننده نیز وابسته است، به‌طوری‌که در ان- هگزان که کمترین قطبیت را دارد، میزان فنل استخراج‌شده نیز به‌طور معناداری کمتر از دو حلال دیگر است و بنابراین، میزان قطبیت و ویسکوزیتهٔ حلال در جداسازی ترکیبات فنلی بسیار مؤثرند.

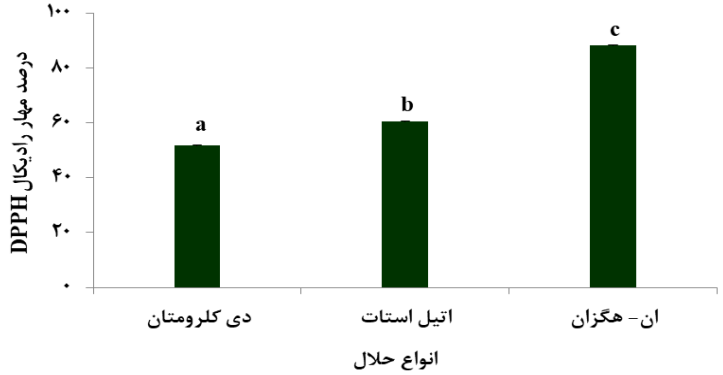


شکل شمارهٔ ۲. محتوای فنل کل در غلظت ppm ۳۰۰ عصارهٔ سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های گوناگون (حروف مشابه در بالای ستون‌ها بیانگر نبودِ تفاوت معنادار میان میانگین‌های مقادیر محتوای فنلی به‌دست‌آمده برای هر نمونه از عصارهٔ حاصل از سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های گوناگون است).

نتایج توان آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های مختلف به روش DPPH: با توجه به محتوای فنولی عصارهٔ بذر کتان انتظار می‌رود که این گیاه خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی را از خود نشان دهد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

مطالعات گوناگون بر روی این گیاه نیز گواه این موضوع است. نوع ترکیبات فیتوشیمیایی ویژهٔ هر گیاه می‌تواند نقش مهمی در انتخاب نوع حلال و ویژگی‌های آن داشته باشد و استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی، به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد. علاوه بر این، قطبیت حلال‌های استفاده‌شده نقش مؤثری را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده از بذر کتان به‌وسیلهٔ حلال‌های مختلف ثبت گردید (شکل شمارهٔ ۳). بررسی IC_{50} به‌دست‌آمده از نمونهٔ استاندارد و عصاره‌ها نشان داد که عصارهٔ استخراج‌شده از بذر کتان با استفاده از حلال دی‌کلرومتان، با اختلاف معناداری نسبت به عصاره‌های دیگر، کمترین IC_{50} را به خود اختصاص داد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که هرچند عصارهٔ ان- هگزانی بذر کتان بازده استخراج بالاتری نسبت به عصاره‌های اتیل استات و دی کلرومتانی داشت؛ اما ترکیبات فنلی کمتر و درنتیجه، قدرت مهارکنندگی رادیکال کمتری نسبت به عصارهٔ به‌دست‌آمده از این حلال‌ها داشت که با توجه به قطبیت کمتر حلال ان- هگزان، این نتایج قابل‌انتظار است و حلال ان- هگزان، با اختلاف معناداری نسبت به عصاره‌های دیگر، بیشترین IC_{50} را دارد (شکل شمارهٔ ۳) ($P<0.05$).



شکل شمارهٔ ۳. نمودار درصد مهار رادیکال DPPH در برابر عصارهٔ سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های مختلف (حروف ناهمسان در بالای ستون‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار در سطح 5 درصد است)

بررسی ضریب همبستگی پیرسون میان محتوای فنل کل و توان آنتی‌اکسیدانی: بررسی ضریب همبستگی میان محتوای فنلی کل و توان آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ سوکسلهٔ بذر کتان با حلال‌های مختلف بیانگر این بود که دو متغیر باهم در ارتباط هستند و ضریب همبستگی پیرسون $r=0.977$ است ($P<0.05$).

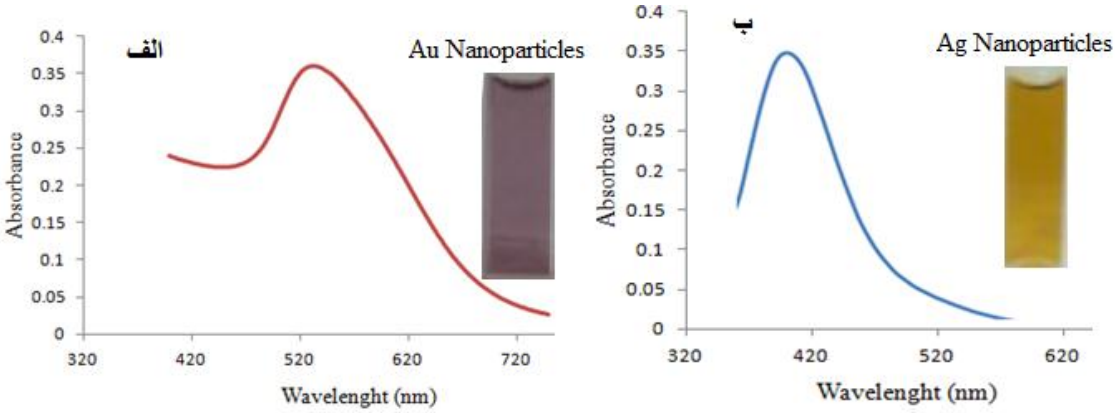
نتایج بررسی سنتز نانوذرات طلا و نقره با استفاده از عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان: بررسی نتایج سنجش محتوای کل فنلی و همچنین آزمون DPPH برای عصاره‌های استخراج‌شده با استفاده از حلال‌های گوناگون نشان داد که در هر دو مورد، عصارهٔ استخراج‌شده با حلال دی‌کلرومتان موفق‌تر عمل کرده است؛ بنابراین، با توجه به بالاتر بودن میزان محتوای فنلی این عصاره، برای بررسی سنتز نانوذرات طلا و نقره نیز از فاز هیدروالکلی این عصاره استفاده شد. بر اساس مطالعات صورت گرفته، هر اندازه عصارهٔ گیاه حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات پلی فنلی مانند فلاونوئیدها باشد که ترکیبات قدرتمندی برای احیای کاتیون‌های فلزی و تولید نانوذراتی از قبیل طلا و نقره هستند، عملکرد آن در تولید این نانوذرات بهتر خواهد بود. ترکیبات پلی‌فنلی علاوه بر خاصیت کاهندگی، توانایی پایدار کردن نانوذرات فلزی را نیز دارند. درواقع، با افزودن ترکیب‌های پلی‌فنلی به محلول نمک‌های طلا و نقره تحت شرایط آزمایش، این عناصر به نانوذرات فلزی مربوطه کاهش می‌یابند و همین

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

ترکیب‌های فنلی نیز خود می‌توانند به‌عنوان پایدارکننده عمل کنند و مانع از تجمع و بزرگ‌تر شدن سایز نانوذرات سنتز شده شوند (۵).

در آزمایش‌های انجام‌شده، تغییر رنگ محلول‌های واکنش به بنفش و زرد به ترتیب دلیل واضحی بر تشکیل نانوذرات فلزی طلا و نقره است که با چشم غیرمسلح هم به‌وضوح قابل‌مشاهده بود. (شکل شمارهٔ ۴ الف و ب).

طیف‌سنجی فرابنفش– مرئی، روش آسانی برای تأیید تشکیل نانوذرات فلزی در محلول آبی است که در این کار نیز استفاده گردید. از محلول‌های نانوذرات سنتزشده، در گسترهٔ ۳۰۰–۷۰۰ نانومتر طیف گرفته شد و مشاهدهٔ طیف‌هایی که طول موج ماکزیمم آن‌ها در ۵۲۵ و ۴۲۰ نانومتر ظاهر گردید، به ترتیب دلیلی بر اثبات سنتز نانوذرات طلا و نقره است (شکل شمارهٔ ۴ الف و ب). طیف جـــذبی و رنگ محلول کلوئیدی نانوذرات سنتزشده، به علت رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات فلزی ناشی از نوسانات جمعی الکترون‌های آزاد آن‌ها و برهم‌کنش آن‌ها با میدان الکترومغناطیسی است که برای هر نوع از ذرات در هر اندازه، مختص خود آن نانوذرات هستند (۶). در شکل شمارهٔ ۴، طیف‌های مربوط به نانوذرات طلا و نقرهٔ سنتزشده با فاز هیدروالکلی عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان مشاهده می‌شود.



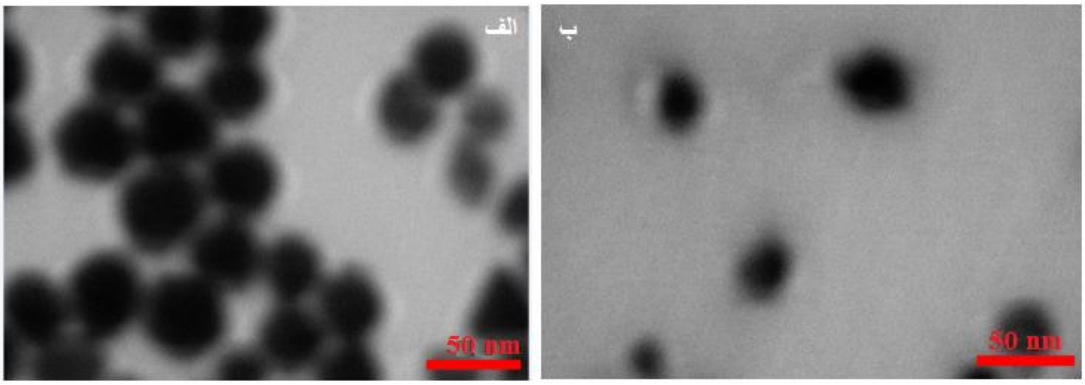
شکل شمارهٔ ۴. طیف‌های مربوط به الف. نانوذرات طلا و ب. نانوذرات نقرهٔ سنتزشده با عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان

جدول شمارهٔ ۳. مقادیر جذب نانوذرات نقره و طلای سنتزشده با استفاده از حجم‌های مختلف عصارهٔ دی‌کلرومتان بذر کتان

حجم عصاره (ml)	جذب نانوذرات طلای سنتزشدهٔ عصارهٔ دی‌کلرومتان بذر کتان	جذب نانوذرات نقرهٔ سنتزشدهٔ عصارهٔ دی‌کلرومتان بذر کتان
۰/۵	۰/۷۵۶	۰/۷۹۱
۱	۰/۹۶۷	۱/۰۲۱
۲	۱/۲۳۷	۱/۳۴۷

برای بررسی شکل و انـدازهٔ نانوذرات طلا و نقرهٔ سنتزشده با عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان، از تصـاویر میکروسکوپ الکترونی (TEM) استفاده گردید که در شکل شمارهٔ ۵ نشان داده شده‌اند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]



شکل شمارهٔ ۵. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری الف. نانوذرات طلا و ب. نانوذرات نقرهٔ سنتزشده با کمک فاز هیدروالکلی عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان

همان‌طور که در تصاویر مشخص است، نانوذرات سنتزشده همگی تقریباً کروی‌شکل هستند و توزیع نسبتاً یکنواختی دارند؛ همچنین از نظر اندازه، در محدودهٔ کمتر از ۱۰۰ نانومتر هستند. نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز اندازهٔ ذرات نیز، میانگین‌های نانوذرات طلا و نقرهٔ سنتزشده را به ترتیب ۴۰ و ۹۰ نانومتر نشان می‌دهد که به‌خوبی، سنتز موفقیت‌آمیز این نانوذرات را به کمک عصارهٔ بذر کتان تأیید می‌کند.

بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون تحقیقات گسترده‌ای بر روی بذر کتان صورت گرفته که همگی آن‌ها نشان‌دهندهٔ پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی این گونهٔ گیاهی بوده است (۱۸-۱۵، ۱۰-۱۲، ۸، ۵). پژوهش‌های گوناگون نشان می‌دهد که نوع حلال و روش استخراج عصاره، بر کمیت و کیفیت مواد استخراجی از گیاهان تأثیرگذار است (۲۰، ۱۹). به این سبب، پژوهش حاضر برای شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی بذر کتان و بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل با استفاده از حلال‌های مختلف انجام شده است. بررسی‌های مقدماتی فیتوشیمیایی صورت گرفته نشان داد که عصارهٔ بذر کتان حاوی ترکیباتی از خانواده فلاوونوئیدها، آلکالوئید و استروئید و فاقد تانن و ساپونین بود؛ همچنین امکان سنتز نانوذرات طلا و نقره با استفاده از این عصاره‌ها بررسی شد. بررسی میزان بازده عصاره‌گیری نشان داد که در روش استخراجی سوکسله، عصارهٔ ان- هگزانی بذر کتان بیشترین بازده را دارد. یافته‌های به‌دست‌آمده از بررسی محتوای کل فنلی نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی مربوط به عصارهٔ دی‌کلرومتانی بذر کتان و کمترین محتوای فنلی مربوط به عصارهٔ ان-هگزان بود، درحالی‌که محتوای فنلی عصارهٔ دی‌کلرومتانی و اتیل استاتی استخراج‌شده به روش سوکسله، اختلاف معناداری نداشتند.

بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصارهٔ استخراج‌شده از بذر کتان با استفاده از حلال دی‌کلرومتان و کمترین ویژگی آنتی‌اکسیدانی مربوط به حلال ان- هگزان بود.

بررسی محققین نشان داده که بذر کتان منبعی غنی از ترکیبات فنلی مانند لیگنان، اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها، تانن‌ها و فیتواستروژن‌ها است (۵) که این نتایج، با همهٔ یافته‌های ما همخوانی ندارد. مطالعات شیم و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان می‌دهد که ترکیبات دانهٔ کتان شامل ۴۱ درصد چربی، ۲۰ درصد پروتئین، ۲۸ درصد فیبر، ۷/۷ دهم درصد رطوبت و ۳/۴ درصد خاکستر است. بیشترین ترکیبات شامل سیانوژنیک، گلیکوزیدها، فیتیک‌اسید، ترکیبات فنلی، ممانعت‌کنندهٔ تریپسین، لیناتین، لیگنان، فیتواستروژن، ویتامین‌ها، کادمیوم، سلنیوم و سیکلولینوپپتیدها است (۳). تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که عصارهٔ الکلی بذر کتان شامل لیگنان‌ها، سیانوژنیک‌ها، گلیکوزیدها و پپتیدهای حلقوی است که این مواد در فعالیت‌های زیستی مشارکت دارند (۲۱).

آنوار و همکاران در سال ۲۰۱۲، در پژوهشی بر روی روش‌های عصاره‌گیری با حلال‌های گوناگون و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

تأثیر آن بر روی میزان آنتی‌اکسیدان و میزان فنل کل، به این نتیجه رسیدند که از میان حلال‌های با میزان قطبیت متفاوت، عصارهٔ حاصل از متانول ۸۰ درصد بیشترین بازدهی عصاره را داشت، درحالی‌که عصارهٔ حاصل از اتانول ۸۰ درصد دارای بیشترین میزان فنل، فلاونوئید و بیشترین توانایی اکسیدان آنتی‌اکسیدانی بود. آنان به این نتیجه رسیدند که استفاده از حلال‌هایی که قطبیت بیشتری دارند، به طرز معناداری میزان فنل و فلاونوئیدهای استخراج‌شده را افزایش می‌دهد که تأییدی بر این مسئله است که این ترکیبات مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هستند. این نتایج همبستگی میان میزان فنول و فلاونوئید استخراج‌شده و توان آنتی‌اکسیدانی عصاره را در میان حلال‌های مختلف نشان می‌دهد (۱۱). بررسی های انجام شده توسط محققین در سال ۲۰۱۶، بر روی بذرهای گیاه کتان نشان داد که فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های بوتانول، متیل‌کلراید و هگزان به‌طور چشمگیری اختلاف معناداری را نشان می‌دهد؛ همچنین در قسمت دیگری از این تحقیق، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف، با استفاده از روش (2,2-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) ABTs انجام شد و نشان داد که به ترتیب عصاره‌های بوتانول، متیلن کلراید و هگزان، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارند (۲۲).

بکال و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که عصارهٔ بذر کتان شامل گلیسیریدها، ساپونین‌ها، الکالوئیدها و فلاونوئیدها است؛ همچنین در این پژوهش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش DPPH مشخص شد. این بررسی نشان داد که عصارهٔ بذر کتان بیش از ۵۰ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی الاژیک‌اسید را نشان می‌دهد. پژوهشگران وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد پیشنهاد کردند (۲۳). مطالعهٔ دیگری نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی لیگنان‌های مختلف موجود در بذر کتان، در بعضی موارد تقریبا معادل و یا بیشتر از توان آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی مثل ویتامین E و Butylated hydroxytoluene (BHT) است (۱۷). لیگنان‌های موجود در بذر کتان، انتخاب مناسبی برای به‌کارگیری آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در پایداری روغن‌ها در صنایع غذایی و بهداشتی (به‌عنوان مواد نگهداری‌کنندهٔ مواد غذایی) هستند. فعالیت و عملکرد مناسب لیگنان‌ها به‌واسطهٔ پایداری ساختار آن‌ها است (۳). بررسی زانوار و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که با سنجش عصارهٔ الکلی بذر کتان با استفاده از روش‌های مختلف از جمله DPPH، میزان خنثی‌سازی سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسیدهیدروژن و فلزهای سنگین وابسته به دوز کاهش می‌یابد (۲۴). سنجش میزان ترکیبات فنلی در غلظت‌های مختلف نشان داد که بیشترین غلظت فنلی مربوط به ترکیبی با بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. مهم‌ترین ترکیب فنلی موجود در بذر کتان، ترکیبی از لیگنان‌ها تحت عنوان SDG (Secoisolariciresinol diglucoside) است. این ترکیب مانع پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۲۵)؛ همچنین فعالیت‌های شیم در سال ۲۰۰۸ و کاجلا و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی مانند P–کوماریک‌اسید، فرولیک‌اسید و گلیکوزیدها با غلظت بالایی در بذر کتان یافت می‌شود (۲۶، ۱۷).

کووی و همکاران در سال ۱۹۹۹ توانستند فلاونوئید جدید herbacetin 3,8- O – diglucopynanoside را از عصارهٔ ان‌بوتانول بذر کتان جدا کنند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را بررسی نمایند. نتایج این مطالعه نشان داد که فلاونوئیدهای بررسی‌شده، توان خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد بالایی دارند (۲۷). مطالعهٔ انجام شده توسط لی و همکاران در سال ۲۰۰۸ بیان کرد که استفاده از مکمل‌های بذر کتان سبب افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی با استفاد از راه کاهش میزان تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (Reactive species oxygen, ROS) و افزایش سمیت‌زدایی ROS می‌شود (۲۸). بررسی دیگری نشان داد که استفاده از مکمل بذر کتان در الگوی حیوانی، آنزیم‌های شاخص کبدی مانند سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز و پراکسید دسموتاز را در سطحی نرمال نگه می‌دارد (۱۸).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

بذر کتان حاوی ۱۰-۸ میلی‌گرم در هر کیلوگرم اسیدهای‌فنلی است؛ همچنین حاوی حدود ۷۰-۳۵ میلی‌گرم فلاونوئید در صد گرم گیاه کتان است. کتان منبع غنی از لیگنان SDG است که در دامنهٔ ۲۶-۱ میلی‌گرم در هر یک گرم از بذر کتان وجود دارد.

در روش سنتز سبز نانوذرات فلزی، یون‌های فلزات با استفاده از مواد مستخرج از گیاهان بدون نیاز به احیاکننده، سورفکتانت و عوامل پایدارکننده، در شرایط دما و فشار معمولی با یک واکنش ساده به نانوذره تبدیل می‌شوند. مواد و ترکیبات فعال زیستی در عصاره‌های گیاهان ازجمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها و سایر متابولیت‌های مؤثر فعال محلول در آب می‌توانند برای احیای یون‌های فلزی به نانوذرات در دمای اتاق استفاده گردند. از مهـــم‌ترین خواص نانوذرات فلزی می‌توان به خصوصیات نوری آن‌ها اشاره کرد که بسیار به شکل و اندازهٔ نانوذرات وابسته است. فرایند بیوسنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان یا عصاره‌های آن‌ها در خارج سلول درصورتی‌که اندازه، شـــکل و پراکندگی نانوذرات را مدیـــــریت کند، می‌تـــــواند از لحاظ زیست‌محیطی بسیار کاربردی باشد. استفاده از گیاهان برای سنتز نانوذرات در مقیاس بزرگ، کاربردهای فراوانی در زندگی بشر دارد (۶). بیکر و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که نانوذرات طلای سنتزشده با استفاده از عصارهٔ بذر کتان، خاصیت ضدسرطانی بالایی بر رده سلول‌های سرطانی سینه نشان دادند (۱۶). در پژوهش دیگری، کرمیان و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که ترکیبات ثانویهٔ موجود در گیاه زیره سبز توانایی احیا و پایدار کردن نانوذرات نقره را دارند. عصارهٔ بذر و نانوذرات تولیدشده توسط عصارهٔ این گیاه، دارای فعالیت زیستی چشمگیری هستند و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان منابعی طبیعی برای تولید مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی غذایی یا دارویی استفاده کرد (۲۸). در پژوهش دیگری در سال ۲۰۱۷، مهرزاده و همکاران نانوذرات طلا را به کمک عصارهٔ آبی چای ترش سنتز کردند. نانوذرات طلای تهیه‌شده، فعالیت آنتی‌باکتریایی نسبتاً مناسبی نسبت به باکتری‌های گرم منفی از خود نشان دادند (۲۹). مطالعهٔ عزیزیان و همکاران در سال ۲۰۱۶، پتانسیل بالای عصارهٔ آبی برگ گیاه آقطی در احیای یون‌های فلزی و تبدیل آن‌ها به اتم‌های فلزی در ابعاد نانومتریک را نشان می‌دهد. وجود فعالیت ضدمیکروبی بالای عصاره و نانوذرات نقرهٔ سنتزشدهٔ آن، استفاده از آن‌ها را در زمینـــه‌های گوناگون برای پیشگیـــری از آلودگی و انتـــشار عوامل بیماری‌زایی پیشنهاد می‌کند (۳۰). در پژوهش حاضر نیز، نانوذرات طلا و نقره با روشی بسیار ساده و با استفاده از عصارهٔ بذر کتان تهیه شدند. با توجه به مطالعات و آزمون‌های فیتوشیمیایی انجام‌شده مشخص گردید که عصارهٔ استخراج‌شده دربردارندهٔ مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی و فلاونوئید است که به علت حضور آن‌ها و خواص احیاکنندگی این ترکیبات، عصارهٔ مستخرج از بذر کتان بدون نیاز به مواد کاهنده و پایدارکننده، به‌راحتی قابلیت احیای کاتیون‌های فلزی و سنتز نانوذرات فلزی طلا و نقره را دارد؛ همچنین نانوذرات تهیه‌شده، ویژگی‌های بسیار مطلوبی ازجمله شکل کروی با ابعاد نانو و توزیع یکنواخت داشتند.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نوع حلال استخراج‌کننده، بر بازده عصارهٔ به‌دست‌آمده، محتوی فنلی کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی بذر کتان به طرز معناداری مؤثر است. مطالعهٔ حاضر بیانگر آن است که دی‌کلرومتان می‌تواند به‌عنوان یک حلال مطلوب و مناسب برای استخراج عصارهٔ روغنی بذر کتان استفاده شود. پس از آن، جدا کردن فاز هیدروالکلی از عصارهٔ خشک‌شده برای بررسی محتوای فنل کل استفاده گردید و نتایج نشان داد که این عصاره، بیشترین محتوای فنلی و همچنین بالاترین عملکرد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را دارد؛ همچنین ارتباط مستقیمی میان میزان فنل کل و نتایج حاصل از سنجش توان آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ها دیده شد. نانوذرات طلا و نقره‌ای که با استفاده از عصارهٔ بذر کتان و با روشی بسیار ساده، بدون نیاز به مواد کاهنده و پایدارکننده تهیه شدند، ویژگی‌های مطلوبی ازجمله شکل کروی با ابعاد نانو و توزیع یکنواخت داشتند. علاوه بر این، روش ارائه‌شده، روشی سبز و دوستدار محیط زیست، سریع و بدون نیاز به‌صرف انرژی و مواد اولیهٔ گران‌قیمت است. این نانوذرات به میزان فراوانی می‌توانند در زمینه‌های گوناگون ازجمله صنعت غذایی،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

نانوداروها و یا سیستم‌های تحویل مواد دارویی به‌کار گرفته شوند.

سپاس‌گزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، به لحاظ تأمین هزینه‌های این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد، تشکر و قدردانی می‌کنند.

کد اخلاق: EE/1400.3.02.4678 /scu.ac.ir

References

1. Schewe LC, Sawhney VK, Davis AR. Ontogeny of floral organs in flax Linum usitatissimum Linaceae. Am J Bot 2011; 98: 1077-85. doi.10.3732/ajb.1000431.

2. Allaby RG, Peterson GW, Merriwether DA, Fu YB. Evidence of the domestication history of flax Linum usitatissimum L. from genetic diversity of the sad2 locus. Theor Appl Gen2005; 112: 58-65. doi.10.1007/s00122-005-0112-2.

3. Shim YY, Gui B, Arnison PG, Wang Y, Reaney MJT. Flaxseed Linum usitatissimum L. bioactive compounds and peptide nomenclature a review. Trends Food Sci Tech 2014; 38: 5-20. doi.10.1016/j.tifs.2014.03.011.

4.Cunnane SC, Ganguli S, Menard C, Liede AC, Hamadeh M J, Chen ZY, et al. High α-linolenic acid flaxseed Linum usitatissimum some nutritional properties in humans. Br J Nutr 2007; 69: 443-53. doi.10.1079/bjn19930046.

5. Toure A, Xu X. Flaxseed Lignans source biosynthesis metabolism, antioxidant activity bio-active components and health benefits. Comp Rev Food Sci F 2010; 9: 261-9. doi.10.1111/j.1541-4337.2009.00105.x.

6. Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using aloevera plant extract. Biotechnol Prog 2006; 22: 577-83. doi.10.1021/bp0501423.

7. Kumar V, Yadav SK. Plant mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. J Chem Technol Biotechnol 2009; 84: 151-7.doi.10.1002/jctb.2023.

8. Brewer MS. Natural antioxidants sources, compounds mechanisms of action and potential applications. Comp Rev 2011; 10: 221-7. doi.10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x.

9. Gajjar P, Pettee B, Britt DW, Huang W, Johnson WP, Anderson A J. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe pseudomonas putida KT 2440. J Biol Eng 2009; 3: 1-13. doi.10.1186/1754-1611-3-9.

10. Abdelhameed E-SS, Bazaid SA, Salman MS. Characterization of the phytochemical constituents of taif rose and its antioxidant and anticancer activities. Biomed Res Int 2013; 1-13. doi.10.1155/2013/345465.

11. Anwar F, Przybylski R. Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed Linum usitatissimum. Acta Sci Pol Technol Ali 2012; 11: 293-01.

12. Yaqoob N, Bhatti I, Bhatti H, Jamil A. Antioxidant potential of extracts from selected flaxseed cultivars Linum usitatissimum. Res J Appl Sci Eng Technol 2015; 10: 968-79. doi.10.19026/rjaset.10.1863.

13. Smitha SL, Philip D, Gopchandran KG. Green synthesis of gold nanoparticles using cinnamomum zeylanicum leaf broth. Spec Acta Mol Biomol Spec 2009; 74: 735-9. doi.10.1016/j.saa.2009.08.007.

14. Aragao AP, Oliveira TM, Quelemes PV, Perfeito MLG, Araujo MC, Santiago JDAS, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using the seaweed gracilaria birdiae and their antibacterial activity. Arab J Chem 2019; 12: 4182-88. doi.10.1016/j.arabjc.2016.04.014.

15. Archana AS, Deepak MK. Synthesis of silver nanoparticles using flaxseed hydroalcoholic extract and its antimicrobial activity. Curr Biotechnol 2013; 2: 62-6. doi. 10.2174/2211550111302999007.

16. Bakar F, G. Caglayan M, Onur F, Nebioglu S, M. Palabiyik I. Gold nanoparticle-lignan complexes inhibited MCF7 cell proliferation in vitro a novel conjugation for cancer therapy. Ant Age Med Chem 2015; 15: 336-44. doi.10. 2174/1871520614666141202144152.

17. Kajla P, Sharma A, Sood DR. Flaxseed a potential functional food source. J Food

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

Sci Tech 2015; 52: 1857-71. doi.10.1007/s13197-014-1293-y.
18. Rajesha J, Murthy KN, Kumar MK, Madhusudhan B, Ravishankar GA. Antioxidant potentials of flaxseed by in vivo model. J Agri Food Chem 2006 31; 54: 3794-99. doi.10.1021/jf053048a.
19. Ilokiassanga SB, Lewis LM, Espinoza CL, Salido AA, Angulo D, Pino J. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of bucida buceras L. and phoradendron californicum. BMC Res Not2015; 8:1-14. doi.10.1186/s13104-015-1388-1.
20. Ngo TV, Scarlett CJ, Bowyer MC, Ngo PD, Vuong QV. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of salacia chinensis L. J Food Qual 2017; 2:123-8. doi.10.1155/2017/9305047.
21. Kaneda T, Yoshida H, Nakajima Y, Toishi M, Nugroho AE, Morita H. Cyclolinopeptides cyclic peptides from flaxseed with osteoclast differentiation inhibitory activity. Bioorg Med Chem Let 2016; 26: 1760-61. doi.10.1016/j.bmcl.2016.02.040.
22. Mohamedfeky F, Sherbiny I, Gmal Fedawy M, Abdelmogib M. Phytochemical studies on linum usitatissimum seeds and the nanoformulation of the bioactive butanol extract. In J Sci Eng Appl 2016; 5: 76-91. doi.10.7753/IJSE.1006.
23. Bekal M, Kumari S, Sharmila KP. Preliminary phytochemical screening of flax seed and assesment of its in vitro antioxidant activity. World J Pharm Pharm Sci 2015; 4: 952-58. doi.10.1186/1472-6882-10-21.
24. Zanwar AA, Hegde MV, Bodhankar SL. Cardioprotective activity of flax lignan concentrate extracted from seeds of Linum usitatissimum in isoprenalin induced myocardial necrosis in Rats. IntToxicol 2011; 4: 90-7. doi.10.2478/v10102-011-0016-8.
25. Wang H, Wang J, Qiu C, Ye Y, Guo X, Chen G, et al. Comparison of phytochemical profiles and health benefits in fiber and oil flaxseeds Linum usitatissimum. Food Chem 2017; 214: 227-33. doi.10.1016/j.foodchem.2016.07.075.
26. Shim YY, Gui B, Wang Y, JT. Reaney M. Flaxseed Linum usitatissimumL. oil processing and selected products a review. Tends Food Sci Tech J 2015; 43: 162-77. doi. 10.1016/j.tifs.2015.03.001.
27. Qiu SX, Lu ZZ, Luyengi L, Lee SK, Pezzuto JM, Farnsworth NR, et al. Isolation and characterization of flaxseed Linum usitatissimum. Cons Pharm Biol 1999; 37: 1-7. doi.10.1076/phbi.37.1.1.632010.
28. Karamian R, Kamalnejad J. [Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous seed extract of cuminum cyminum L. and evaluation of their biological activities]. J Ilam Uni Med Sci. 2019; 26: 128-41. (Persian) doi.10.29252/sjimu.26.5.128.
29. Mehrzadeh M, Valizadeh J, Ghasemi A. Characterization of effective parameters on the synthesized gold nanoparticles and investigating their antimicrobial activities using aqueous extract of hibiscus sabdariffa L. J Med Plant 2018; 16:107-22.
30. Aziziansheremeh O, Valizadeh J, Noroozifar M, Qasemi A. [Investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles biosynthesized by aqueous extract of sambucus ebulus L.]. J Ilam Uni Med Sci 2016; 24: 92-107. (Persian) doi.10.18869/acadpub.sjimu.24.5.92.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]

Phytochemical Study and Comparison of Antioxidant Potential and Phenolic Content of Different Solvent Extract of Flaxseed (Linum usitatissimum L.) and Biosynthesis of Gold and Silver Nanoparticles using its Extract

Mirzajani R[1], Kolahi M[2], Gorgian F[1]*

(Received: August 4, 2020 Accepted: December 23, 2020)

Abstract

Introduction: Flaxseed (Linum usitatissimum L.) is a member of the Lamiaceae family used in nutrition, health, and industrial products. Flaxseed accumulates many biologically active compounds, including linolenic acid, linoleic acid, lignans, cyclic peptides, polysaccharides, alkaloids, and cyanogenic glycosides. Recent research suggests that flaxseed lowers cholesterol, stabilizes blood sugar, prevents osteoporosis, helps with weight loss, strengthens the immune system, and prevents cancer. This study aimed to investigate the phytochemical, antioxidant, and phenolic content of extracts of various flaxseed solvents and the biosynthesis of silver and gold nanoparticles using these extracts.

Materials & Methods: In order to evaluate the antioxidant power and phenolic content of flaxseeds, flaxseeds extract was extracted using three different solvents, namely ethyl acetate, dichloromethane, and normal hexane by the soxhlet method. Phytochemical tests were used to identify chemical compounds. Following that, for the synthesis of gold and silver nanoparticles, $HAuCl_4$, $3H_2O$, and $AgNO_3$ salts, as well as dichloromethane extract were used in descending order. Moreover, the characterization of synthesized nanoparticles was performed by various techniques, including UltraViolet-Vis spectrophotometry. Furthermore, transmission electron microscopy and nanoparticle size analysis techniques were used to examine the size and distribution extent of nanoparticles.

Ethics code: EE/1400.3.02.4678 /scu.ac.ir

Findings: After extracting different extracts of flaxseed, various phytochemical tests and different reagents were used to qualitatively identify the secondary metabolites in the extract. The results showed the presence of flavonoids, alkaloids, and steroids, as well as a lack of tannins and saponins. The highest and lowest phenolic compounds were related to the extract of dichloromethane and n-hexane of flaxseeds, respectively. The highest antioxidant properties for the extract were obtained from flaxseeds using dichloromethane solvent. After the synthesis of gold and silver nanoparticles, the colloidal solutions of the prepared nanoparticles became purple and yellow, respectively. The absorption spectra of the gold and silver nanoparticles showed maximum wavelengths of 525 and 420 nm, respectively, which indicated the characteristic wavelengths for these nanoparticles. Transmission electron microscopy studies showed that the synthesized gold and silver nanoparticles had a spherical shape with uniform distribution and mean diameters of 40 and 90 nm, respectively.

Discussion & Conclusions: The results revealed that the use of different solvents was effective for the extraction of total phenolic content. There was also a direct relationship between the amount of total phenol and the results of measuring the antioxidant capacity of the extracts. Moreover, gold and silver nanoparticles were easily prepared using flaxseeds extract.

Keywords: Extract, Flaxseed, Gold nanoparticles, Linum usitatissimum L, Nanotechnology, Natural antioxidant, Silver nanoparticles

1. Dept of Chemistry, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
**Corresponding author Email: rmirzajani@scu.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-24]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.7.9]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.7]