

## استفاده از طیف سنجی پراکندگی ارتقاء یافته سطحی رامان برای شناسایی اجزای با تراکم کم عصاره گیاه رازیانه

بهاره مروتی<sup>۱</sup>، رسول ملک فر<sup>۱</sup>، علی ایزدی دربندی<sup>۲</sup>، کیوان بهمنی<sup>۲</sup>، ناصر جعفرزاده<sup>۱</sup>، محمد الله آبدادی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، بخش فیزیک، گروه اتمی و مولکولی

<sup>۲</sup>دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات

چکیده - در این تحقیق به جهت آشکارسازی طیف اسانس رازیانه از روش طیف سنجی پراکندگی ارتقاء یافته سطحی رامان (SERS) استفاده گردید. لذا، زیرلايه ای از کامپوزیت نانو لوله های کربنی چند دیواره / نانو ذرات طلا (MWCNTs/Au NPs) سنتز و برای ارتقاء پراکندگی رامان اسانس تهیه شده از دانه رازیانه به کار گرفته شد. طیف رامان نمونه رازیانه ثبت و قله های آن با توجه به ساختار مولکولی رازیانه تحلیل گردید. مقایسه طیف رامان ارتقاء یافته با طیف ثبت شده به صورت طیف خود به خودی رامان اولیه، افزایش شدت قله های رامان و موقیت آمیز بودن زیرلايه انتخاب شده را تائید می نماید.

کلید واژه- اسانس، رازیانه، زیرلايه، طیف سنجی رامان ارتقاء یافته سطحی.

## Applications of Surface Enhanced Raman Scattering Spectroscopy in Detecting Low Concentrations Species of *Foeniculum vulgare* Essential Oil Extract

Bahareh Morovvati<sup>1</sup>, Rasoul Malekfar<sup>1</sup>, Ali Izadi darbandi<sup>2</sup>, Keivan Bahmani<sup>2</sup>, Naser Jafarzadeh<sup>1</sup>, Mohammad Allahabadi<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculty of Basic Sciences, University of Tarbiat Modares, Tehran, P.O. Box.14115-175, I.R. Iran.

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, I.R. Iran.

**Abstract-** In this study, for detection of *Foeniculum vulgare* essential oil spectrum, surface enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy has been used. Therefore, multiwalled carbon nanotubes/gold nanoparticles (MWCNTs/Au NPs) has been used as substrate for enhanced Raman scattering of essential oil extracted from *Foeniculum vulgare* seeds. Raman spectra of *Foeniculum vulgare* sample recorded and its peaks were assigned with respect to the molecular structure. Comparison of SERS and Raman spectra recorded with the spontaneous Raman scattering method, show the increase in the intensity of SERS spectra and confirms successful selection of SERS substrate.

**Keywords:** Essential Oil, *Foeniculum vulgare*, Substrate, Surface Enhanced Raman Scattering, Spectroscopy.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت [www.opsi.ir](http://www.opsi.ir) قابل دسترسی باشد.

## ۱- مقدمه

نیاز بازار به رازیانه و فرآورده‌های حاصل از آن به شدت به کیفیت محصول بسته است. آمده بستگی دارد، که این خود تابع عوامل متعددی همچون نوع بذر، زمان برداشت می‌باشد. در این راستا کنترلی سریع و آسان با نتایج قابل استناد مورد نیاز است که طیف سنجی رامان این مهم را فراهم می‌سازد.

با وجود مزایای متعدد این تکنیک طیف سنجی، محدودیت‌هایی همچون حساسیت کم که به موجب آن کم تعداد بودن فوتون‌هایی که شرط لازم برای طیف سنجی رامان را برآورده می‌سازند و در نتیجه پیک‌های باشد پائین که در مواردی هم ظاهر نمی‌گردد، موافق را ایجاد می‌کنند. برای رفع این مشکل از تکنیکی برای افزایش پراکندگی غیرکشسان استفاده می‌گردد که اصطلاحاً طیف سنجی ارتقاء یافته سطحی رامان (SERS) نامیده می‌شود [۷].

افزایش پراکندگی غیرکشسان در SERS را می‌توان در نتیجه دو مکانیسم دانست: ارتقاء الکترومغناطیسی و ارتقاء شیمیایی. ارتقاء الکترومغناطیسی پدیده غالب بوده و به دلیل تشدید پلاسمون سطحی جایگزینه (LSPR) در سطح نانو ساختار اتفاق می‌افتد و باعث افزایش پراکندگی غیرکشسان (رامان) از نمونه می‌شود [۸].

تهیه زیرلایه مناسبی برای SERS نیز از موارد درخور توجه است. در دهه‌های اخیر، از نانو لوله‌های کربنی به دلیل خواص ذاتی منحصر به فرد و توانایی ترکیب با مواد دیگر استفاده شده است؛ از جمله این مواد می‌توان به نانوذرات فلزی، علی الخصوص نانوذرات طلا (Au) و نانوذرات نقره (Ag) اشاره کرد. این دو فلز به دلیل خواص فیزیکی بی نظیر که به اندازه و شکل آنها وابسته است، به طور گسترده‌ای در SERS کاربرد دارند. وجود مزایایی چون سهولت در کنترل اندازه ذرات، پایداری بالا و زیست سازگاری از جمله دلایلی است که موجب انتخاب نانوذرات طلا در این پژوهش شده است.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- تهیه انسانس رازیانه

مقدار متوسط انسانس برگ‌ها، ۱ تا ۱/۵ درصد و در ریشه ۰/۶ تا ۰/۷ درصد است، در حالی که مقدار آن در میوه ۲ تا ۶٪ است. انسانس به طور عمده در بذور رازیانه وجود دارد. بیشترین مقدار انسانس در فصل تابستان و پاییز

درباره اهمیت گیاهان دارویی از دیرباز صحبت‌های زیادی به میان آورده شده است و در این زمینه اکتشافات فراوان و با اهمیتی نیز وجود دارد، چنانکه بقایای گیاهان دارویی در گورهای کشف شده در غار شانیدر رواندوز-کردستان مربوط به ۶۵ هزار سال پیش یافت شده است [۱]. در حال حاضر حداقل ۲۵ درصد داروهای تجاری، از گیاهان دارویی ساخته شده اند. گرایش مثبت فرهنگ عمومی در سطح جهان به مواد با منشاء گیاهی و پرهیز از فرآوردهای سنتزی و پی بردن به اثرات پر منفعت و بدون ضرر گیاهان دارویی، موجب گسترش کشت و بهره برداری از گیاهان دارویی شده است [۲].

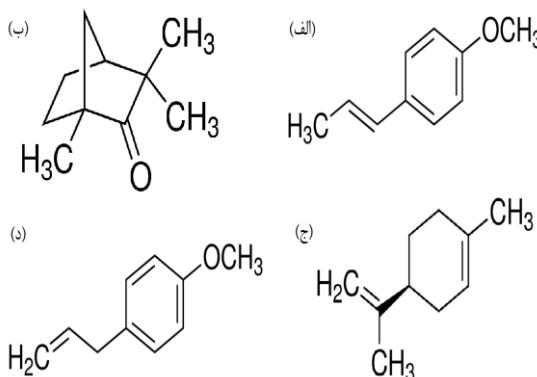
رازیانه از قدیمی ترین گیاهان ادویه‌ای، سبزی و دارویی است که برگ‌های خوش خوراک و در صورت وجود ته ساقه متورم، به عنوان سبزی مصرف می‌شود. این گیاه بسیار خوش رایحه و آروماتیک با مصارف آشپزخانه‌ای، ادویه‌ای و دارویی دارای قدمتی طولانی می‌باشد. ریشه رازیانه، اثر مدر قوی دارد. برگ رازیانه و تمامی قسمت‌های گیاه اگر به مقدار زیاد مصرف شود اثر قاعده آور ظاهر می‌کند. میوه رازیانه، نیرو دهنده، مقوی معده، اشتها آور، آرام کننده، قاعده آور، زیاد کننده ترشحات شیر و بادشکن است. انسانس رازیانه خواص آنتی اکسیدانی، ضد قارچی و ضد باکتریایی دارد [۳-۴].

تمام خواص دارویی و معطره رازیانه مربوط به وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای است که در انسانس رازیانه وجود دارد. اجزای اصلی انسانس رازیانه ترانس آنتول، متیل چاویکول یا استراغول، فنچون و لیمونن است. ترانس آنتول در تولید داروهای ضد نفخ، به عنوان عامل جذب کننده مواد در مشاهدات میکروسکوپی و در سنتز آمین آلدهید کاربرد دارد. استراغول با نام دیگر متیل چاویکول در معطر سازی اغذیه و صنایع عطر سازی کاربرد دارد. فنچون مایعی بی رنگ است که در صنعت عطر سازی و نیز معطر کردن اغذیه استفاده می‌شود. لیمونن موجود در انسانس رازیانه دارای خاصیت باز دارندگی در سرعت تومورهای پستانی است. همچنین لیمونن در سنتز شیمیایی کاروون (که در صنایع عطر سازی، تصفیه هوای داروسازی کاربرد دارد) به عنوان پیش‌ماده و در صنایع تولید مواد شوینده کاربرد دارد [۴-۶].

MWCNTs/Au NPs ریخته شده و اجازه داده می شود خشک گردد؛ در نهایت بهترین طیفی که اثرات فلورسانس کمتری را داراست، ثبت می شود.

#### ۴-۲- تحلیل طیف های رامان

همانطور که در شکل ۱ مشخص است، وجود پیوندهای کربنی در ساختار اجزای سازنده اسانس رازیانه موید آن است که با استفاده از طیف سنجی رامان می توان ساختار مولکولی رازیانه را مشخصه یابی کرد. هر نواری در طیف رامان به فرکانس ارتعاشی یک پیوند درون مولکول مرتبط است.



شکل ۱: ساختار مولکولی مهم ترین اجزای سازنده میوه رازیانه؛ (الف) ترانس-آنول، (ب) فنچون، (ج) لیمونن، (د) استراگول.

طیف های رامان عصاره رازیانه و ارتقاء یافته سطحی رامان بدست آمده به ترتیب در شکل های ۲ و ۳ نشان داده شده است. مدهای مشخصه ی اجزاء اصلی رازیانه در این طیف ها مشهود بوده و به قرار زیر است:

قله واقع در  $1672\text{ cm}^{-1}$  را می توان به مذکشی  $\nu_{C=C}$  ترانس آنول نسبت داد، در حالیکه قله واقع در  $1625\text{ cm}^{-1}$  به دلیل ارتعاش کششی آروماتیک می باشد. قله  $777\text{ cm}^{-1}$  مربوط به  $\gamma_{CH}$  و مشخصه لیمونن می باشد. ارتعاش در حوالی  $597\text{ cm}^{-1}$  نوار مشخصه فنچون است [۱۲]، اما غیر از  $597\text{ cm}^{-1}$ ، قله های  $660\text{ cm}^{-1}$  و  $1735\text{ cm}^{-1}$  هم مدهای مشخصه فنچون می باشند که در محدوده طیفی رامان بهوضوح دیده نمی شوند. پس از استفاده از نانوکامپوزیت تهیه شده به عنوان بستر SERS و ثبت طیف رامان ارتقاء یافته، افزایش در شدت قله ها بهوضوح دیده می شود که با محاسبه فاکتور ارتقاء (EF) از طریق رابطه زیر می توان به مقدار آن دست یافت.

زمانی که دانه های گل آذین در مرحله خمیری هستند، قابل استحصال می باشد [۹]. در این بررسی اسانس از دانه های تهیه شده از مرحله ۷۰٪ خمیری بوته ها گرفته شد. بعد از نمونه گیری مزرعه ای و خشک کردن نمونه ها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، اسانس آن ها به کمک تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت گرفته شد که مایعی زرد رنگ می باشد. در هر بار استفاده از این دستگاه ۱۰۰ گرم دانه خشک پودر شده و ۱۰۰۰ سی سی آب مقطر استفاده می شود [۱۰].

#### ۲-۲- ساخت زیرلایه SERS

به منظور تهیه نانوکامپوزیت کلریدی از نانوذرات طلا از طریق کاهش نمک  $\text{NaBH}_4$  با  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  مورفی و همکاران [۱۱] سنتز شد و از طریق طیف سنجی مرئی-فرابنفش قله پلاسمونی آن تعیین گردید که ۵۲۵ نانومتر می باشد.

نانولوله های کربنی چند دیواره برای دستیابی به ترکیب ۱۰٪ وزنی از طلا به کلرید اضافه و بعد از هم زدن شدید، سانتریفیوژ شده و در نهایت در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  خشک گردید. مشخصه یابی ساختاری نانوکامپوزیت از طریق تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و طیف پراش اشعه X و طیف سنجی رامان صورت گرفت؛ مشخص گردید که اندازه نانوذرات طلا در حدود ۱۰ نانومتر بوده و از توزیع نسبتاً یکنواختی بر سطح نانولوله های کربنی برخوردارند.

#### ۳-۲- طیف سنجی رامان

به منظور تهیه طیف های رامان از دستگاه طیف سنج Raman دانشگاه تربیت مدرس ساخت شرکت Thermo Nicolet مدل Almega Dispersive Spectrometer با وضوح  $4000\text{ cm}^{-1}$  و با استفاده از طول موج ۵۳۲ نانومتر هماهنگ دوم لیزر Nd:YLF با توان ۵۰ میلی وات ثبت گردید. شعاع لیزر در فاصله کانونی  $100\text{ }\mu\text{m}$  می باشد.

عصاره رازیانه مستقیماً بر روی یک شیشه قرار گرفته و بهترین طیف رامان از میان چندین طیف ثبت شده انتخاب گردید. برای اندازه گیری طیف رامان ارتقاء یافته عصاره، مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن بر بستر نانوکامپوزیت

ها می توان از تکنیک SERS بهره برد. در این صورت از تمام اجزای گیاه که عصاره رازیانه قابل استخراج است، می توان استفاده نمود و با بهره گیری از بسترهای مناسب جهت ارتقاء طیف رامان به مشخصه یابی نمونه، با وجود حجم کم و غلظت پائین پرداخت.

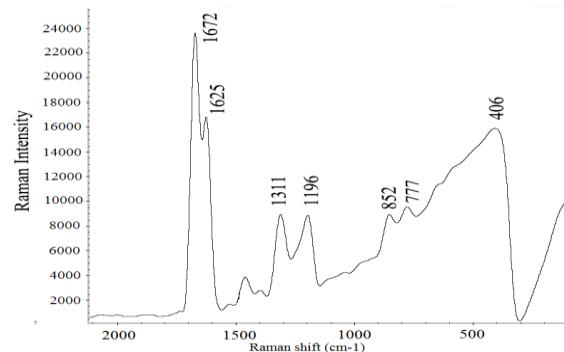
در این پژوهش، ساخت و بررسی زیرلایه ای مناسب و چند منظوره مدنظر بوده، به گونه ای که علاوه بر زیست سازگاری، کارآمد نیز باشد. بدین منظور، کامپوزیت نانولوله های کربنی چند دیواره/ نانوذرات طلا (MWCNTs/Au NPs) ساخته و با استفاده از آن طیف ارتقاء یافته رامان اسانس ثبت شد. افزایش شدت قله های بدست آمده و فاکتور ارتقاء حکایت از کارآمد بودن زیرلایه تهیه شده دارد و آن را به عنوان زیرلایه ای مناسب برای SERS تایید می کند.

### مراجع

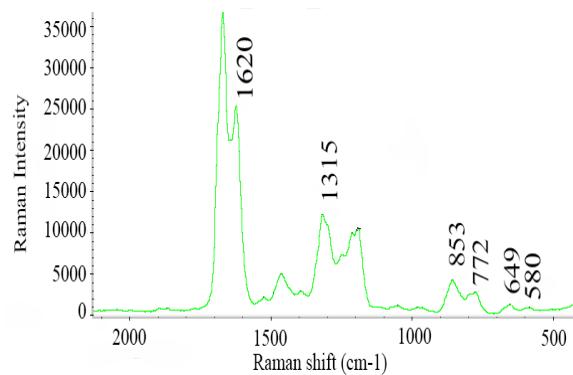
- [۱] ضیایی، سید علی، تاریخچه طب گیاهی، فصلنامه گیاهان دارویی، شماره ۲، ۱۳۸۱، ۵۱-۴۳.
- [۲] یزدانی، د. و شهنازی، س. ۱۳۸۴. تولید و تجارت گیاهان دارویی در ایران و جهان، همایش ملی توسعه پایدار.
- [۳] میرحیدر، ح، معارف گیاهی: کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری ها، چاپخانه ای دفتر نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۸۰.
- [۴] زرگری، علی، چاپ دوم گیاهان دارویی، انتشارات امیرکبیر، ۱۳۴۵.
- [۵] A. Abdelaaty, Y. Abeer, S. Saber, A. Elsayed, M. Faiza, H. Fawzia, A. Mahmoud, "Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel Cultivars", Molecules., Vol. 16, pp. 1366-1377, 2011.
- [۶] J. Sun, "D-Limonene: Safety and Clinical Applications", Alternative Medicine Review, Vol. 12, No. 3, 2007.
- [۷] K. Kneipp, Y. Wang, H., "Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS)", Physical Review Letters, Vol. 78, No. 9, pp. 1667-1670, 1997.
- [۸] P. Alonso-Gonz'alez, P. Albella, "Resolving the electromagnetic mechanism of surface-enhanced light scattering at single hot spots", Nature Communications, Vol. 3, article 684, 2012.
- [۹] M. Stefanini, L. Ming, M. Marques, R. Facanali, M. Meireles, L. Moura, J. Marchese, L. Sousa, "Essential Oil Constituents of Different Organs of Fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*)", Rev. Bras. Pl. Med, Botucatu, Vol. 8 (esp), pp. 193-198.
- [۱۰] S. Boyadzhieva, G. Angelov, "Optimization of Water Extraction of Fennel Seeds", J. Chem. Technol. Metal., Vol. 49, No. 5, 447-450, 2014.
- [۱۱] N. Jana, L. Gearheart, C. Murphy, "Seeding growth for size control of 5-40 nm diameter gold nanoparticles", Langmuir, Vol. 17, No. 22, pp. 6782-6786, 2001.
- [۱۲] G. Gudi, A. Krahmer, H. Kruger, L. Henning, H. Schulz, "Discrimination of Fennel Chemotypes Applying IR and Raman Spectroscopy: Discovery of a New  $\gamma$ -Asarone Chemotype", J. Agric. Food Chem., Vol. 62, 3537-3547, 2014.

$$EF = \frac{N_{vol} \times I_{surf}}{N_{surf} \times I_{vol}}$$

در این رابطه  $N_{vol}$  و  $N_{surf}$  به ترتیب تعداد مولکول های عصاره رازیانه در نمونه اولیه و بر روی بستر SERS می باشد،  $I_{surf}$  و  $I_{vol}$  نیز شدت طیف رامان اولیه و طیف ارتقاء یافته رامان (SERS) می باشد. با جایگذاری داده های مربوط در این رابطه، مقدار  $2 \times 10^{-3}$  بدست می آید. در طیف SERS قله های  $580\text{ cm}^{-1}$  و  $649\text{ cm}^{-1}$  می شوند که مشخصه فنچون می باشند؛ این در حالی است که در طیف رامان این قله ها ظاهر نشده اند. از آنجا که این نوارها تنها در طیف عصاره رازیانه تلخ دیده می شود، عدم مشاهده آنها خطا در تعیین نوع و طبقه بندی گیاه را در بی خواهد داشت.



شکل ۲: طیف رامان اسانس رازیانه



شکل ۳: طیف پراکندگی ارتقاء یافته سطحی رامان (SERS) اسانس رازیانه

### ۳- نتیجه گیری

عصاره گیاه رازیانه از اجزای متعددی تشکیل شده است که هر کدام کارایی خاص در صنایع و درمان دارد؛ به منظور سرعت در شناسایی ترکیبات و استفاده بهینه از آن