کاربرد میکرواستخراج فاز جامد و کمومتریکس در آنالیز ترکیب‌های فرار موجود در عصاره دارچین

محمداسدالهی بابلی*+

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

علی آقاخانی

دانشکده نیمه رساناها، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

چکیده: در این پژوهش ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین با استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد جداسازی شدند. از نانوالیاف پلی آمید تهیه شده توسط روش الکتروریسی در فرایند جداسازی استفاده شد. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوالیاف پلی آمید نشان دهنده وجود حفره‌ها با تخلخل مناسب در حدود ۱۰۰-۵۰ نانومتر است. از روش‌های کمومتریکس مانند طراحی آزمایش و جداسازی منحنی چندگانه برای به دست آمدن نتیجه‌ها بهینه و جداسازی پیک‌های دارای همپوشانی استفاده شد. در طراحی آزمایش از طرح مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی شرایط میکرو استخراج فاز جامد استفاده شد. نمونه‌های استخراج شده توسط فناوری کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی جداسازی و آنالیز شدند. حتی در شرایط بهینه استخراج و جداسازی، در برخی قسمت‌های کروماتوگرام به دست آمده همپوشانی وجود دارد. برای حل این مشکل، از روش جداسازی منحنی چندگانه ـ حداقل مربع‌های متناوب برای جداسازی پروفایل‌های غلظتی و طیف‌های جرمی دسته پیک‌های دارای همپوشانی استفاده شد. با استفاده از روش‌های گفته شده در شرایط بهینه ۳۰ ترکیب فرار در عصاره گیاه دارچین شناسایی شد. مهمترین ترکیب‌های فرار موجود در عصاره trans-Cinnamaldehyde (۵۱٫۲۳ ٪)، Eugenol (۲۶٫۴۵ ٪)، Cinnamic acid (۴٫۷۲ ٪)، Gurjunene (۱٫۸۱ ٪) و Copaene (۱٫۴۴ ٪) هستند. در این پژوهش، ترکیب‌های شیمیایی موجود در عصاره دارچین در دمای پایین و بدون انجام واکنش شیمیایی جانبی تعیین می‌شود. همچنین این روند به‌عنوان روشی ارزان و سریع برای جداسازی و شناسایی ترکیب‌های فرار در نمونه‌های پیچیده مانند گیاهان دارویی در شرایط بهینه قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: میکرو استخراج فاز جامد؛ نانوالیاف پلی آمید؛ جداسازی منحنی چندگانه؛ طراحی آزمایش؛ دارچین.

KEYWORDS: *Solid phase microextraction; Polyamide nanofibers; Multivariate curve resolution; Experimental design; Cinnamon.*

*عهده دار مکاتبات

+E-mail: asadollahi@nit.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

استفاده از نانوجاذب‌های پلیمری به‌علت عملکرد و کارآیی مناسب و سادگی تهیه آن‌ها امروزه مورد توجه پژوهشگران در پژوهش‌های کاربردی در شاخه‌های گوناگون شیمی و مهندسی شیمی قرا گرفته است [۱]. نانوالیاف پلیمری به طور معمول با استفاده از روش‌های الکتروریسی تهیه می‌گردند و کاربردهای پژوهشی و صنعتی فراوانی در فرایندهای جداسازی دارند. این نانوالیاف دارای ویژگی‌های مکانیکی و شیمیایی یگانه‌ای هستند. مساحت سطح بالا، تخلخل مناسب و مقاومت مکانیکی و شیمیایی این ترکیب‌ها موجب کاربرد وسیع آن‌ها در پژوهش‌های کاربردی جداسازی شده است. در این پژوهش از این نانوالیاف به‌عنوان جاذب در میکرواستخراج فاز جامد برای جداسازی ترکیب‌های فرار موجود در گیاه دارچین استفاده شده است. روش میکرواستخراج فاز جامد به‌علت سادگی، هزینه کم، کوتاه بودن زمان استخراج، حساسیت بالا و امکان خودکار شدن در استخراج از گزینه‌های مناسب در پژوهش‌های مرتبط با روش‌های جداسازی می‌باشد [۲]. این روش استخراج عاری از حلال بوده و یا به مقدار کمی حلال نیاز دارد، بنابراین روشی سبز و سازگار با محیط‌زیست در فرآیندهای استخراج می‌باشد. به‌علاوه با استفاده از حجم کمی از نمونه (چند میلی‌لیتر یا کمتر) انجام میکرواستخراج فاز جامد امکان‌پذیر است.

استخراج، جداسازی و کاربرد ترکیب‌های فعال موجود در گیاهان دارویی و معطر توسط صنایع شیمیایی، داروسازی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. گیاه دارچین به‌دلیل ویژگی‌های فراوان خود در این صنایع و در زندگی روزمره به‌صورت گسترده استفاده می‌شود. این گیاه همچنین در بسیاری از نقطه‌های ایران با آب و هوای گوناگون رشد می‌کند و دارای ویژگی‌های فراوانی مانند بهبود گردش خون، درمان عفونت، ضد دیابت، بهبود عملکرد قلب و روده است [۴]. همچنین عصاره دارچین با جذب رادیکال‌های آزاد و کاهش فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌ها، از اکسایش و فاسد شدن مواد غذایی جلوگیری می‌کند [۵]. ترکیب‌های فرار عصاره دارچین نقش مهمی در عامل‌های اشاره‌شده دارد. در سالیان اخیر تمایل به استفاده از مواد نگهدارنده شیمیایی به‌دلیل عوارض جانبی آن‌ها کاهش یافته و تمایل به مصرف ترکیب‌هایی با پایه طبیعی افزایش یافته است. در این پژوهش برای استخراج بهینه ترکیب‌های فرار عصاره دارچین و افزایش کارآیی فرایند جداسازی از طراحی آزمایش استفاده شد. این روش‌ها امروزه به‌طور گسترده در بهینه‌سازی فرایندهای شیمیایی استفاده می‌شوند. یکی از روش‌های متداول طراحی آزمایش، روش سطح پاسخ است [۶]. با استفاده از این روش تعداد آزمایش‌های مورد نیاز برای دستیابی به شرایط بهینه به‌صورت چشمگیری کاهش می‌یابد. همچنین نتیجه‌های به دست آمده دقت بیشتری نسبت به روش‌های معمول بررسی یک عامل در زمان واحد دارد. برای بررسی میزان استخراج در روش سطح پاسخ از روش طرح مرکب مرکزی استفاده شد. این روش در پنج سطح برای هر عامل بررسی می‌شود و بررسی دقیق تغییرهای پاسخ برحسب عامل‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد.

با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی (GC-MS) امکان شناسایی کیفی و کمی ترکیب‌های استخراج شده با روش میکرواستخراج فاز جامد در شرایط بهینه امکان‌پذیر است. در نمونه‌های پیچیده مانند ترکیب‌های طبیعی همپوشانی پیک‌های به دست آمده از ترکیب‌های گوناگون اجتناب ناپذیر است [۷]. برای جدا کردن دسته پیک‌های دارای همپوشانی به پروفیل‌های غلظتی و طیف‌های جرمی خالص از روش جداسازی منحنی چندگانه استفاده می‌شود. از فناوری‌های گوناگون کمومتریکس برای جداسازی پیک‌های دارای همپوشانی در روش جداسازی منحنی چندگانه استفاده می‌شود. قابل بیان است به تازگی روش‌های جداسازی منحنی چندگانه در جداسازی پیک‌ها در داده‌های به دست آمده از دستگاه‌های گوناگونی مانند کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی یا کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا به‌صورت گسترده‌ای استفاده می‌شود [۸].

بخش تجربی

مواد و تجهیزات

ترکیب‌های نایلون ۶، پنتان، فرمیک اسید و اتانول که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند از شرکت مرک خریداری شدند. پیش از فرایند عصاره‌گیری، نمونه دارچین با استفاده از آسیاب به صورت یکدست پودر شد. این فرایند موجب یک‌دست شدن و در نتیجه افزایش سطح تماس حلال و بهبود فرایند استخراج می‌شود. در روش الکتروریسی برای تهیه نانوالیاف پلی آمیدی از پمپ مدل KDS100 ساخت شرکت KdScientific برای تزریق تدریجی نمونه و منبع ولتاژ بالا مدل Brandenburg ساخت شرکت West Midlands برای ایجاد اختلاف پتانسیل لازم استفاده شد. همچنین آنالیز سطح توسط روش میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل FE-SEMS-4800II ساخت شرکت Hitachi استفاده شد.

Archive of SID
www.SID.ir

دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل HP6890 و طیف سنجی جرمی مدل HP5973 برای آنالیز نمونه‌ها استفاده شد. ستون کروماتوگرافی مدل HP-5MS به طول ۳۰ متر، عرض ۰٫۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰٫۲۵ میکرومتر در جداسازی گونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. دمای محل تزریق نمونه، محفظه یونش و تجزیه‌گر جرمی در دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی به ترتیب ۲۳۰، ۲۲۰ و ۲۰۰ درجه سلسیوس تنظیم‌شد. همچنین از محفظه یونش برخورد الکترونی (EI) با انرژی ۷۰ الکترون‌ولت و تجزیه‌گر جرمی از نوع چهارقطبی استفاده شد. گاز هلیم با خلوط ۹۹٫۹۹۹٪ با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بردقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد.

تهیه نانوالیاف پلی آمید

روش الکتروریسی یک روش مناسب و مقرون به صرفه برای تولید نانوالیاف و فیبرهای پلیمری است. در این تکنیک اختلاف پتانسیل بالا بین قطره‌های محلول در نوک سرنگ دارای محلول پلیمری و صفحه جمع کننده رسانا ایجاد می‌شود. سپس این قطره‌ها کشیده شده و پس از خشک شدن در اندازه چند نانومتر برسطح صفحه جمع کننده ایجاد می‌شوند. در پژوهش حاضر، ابتدا ۱ گرم پلیمر نایلون ۶ در ۵ میلی‌لیتر حلال فرمیک اسید حل شد و برای ۳۰ دقیقه برای تهیه محلول همگن هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول به دست آمده وارد سرنگ شد و به پمپ دستگاه الکتروریسی متصل شد. نانوالیاف پلی آمیدی برروی سطح صفحه آلومینیومی نازکی (به‌عنوان صفحه جمع کننده) به ابعاد ۵×۵ سانتیمتر تهیه شد. در فرایند الکتروریسی از اختلاف پتانسیل ۱۵ کیلوولت بین نوک سوزن سرنگ و صفحه جمع کننده با فاصله ۱۰ سانتیمتر استفاده شد. تزریق محلول سرنگ برای تولید نانوالیاف برابر ۲ میکرولیتر بردقیقه در ۱۰ ساعت انجام پذیرفت. پس از اتمام فرایند تهیه نانوالیاف، صفحه آلومینیومی به صفحه‌های کوچک‌تر ۱×۱ سانتیمتری برای انجام فرایند میکرواستخراج فاز جامد برش داده شد.

میکرو استخراج فاز جامد و طراحی آزمایش

میکرو استخراج فاز جامد برای جداسازی ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین در شرایط بهینه با کارآرایی مناسب استفاده شد. در این استخراج یک گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر حلال ریخته شد و نانوالیاف تهیه شده (یک سانتیمتر مربع) در درون محلول قرار گرفت. سپس این محلول در حمام التراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط مشخص شده در طراحی آزمایش قرار گرفت. سپس نانوالیاف از محلول خارج شد و در یک میلی‌لیتر حلال هگزان به مدت ۱۰ دقیقه برای واجذب گونه‌ها قرار گرفت. حجم محلول به دست آمده با استفاده از جریان آرام نیتروژن تا ۲۰۰ میکرولیتر کم شد. این عمل موجب تغلیظ محلول و افزایش حساسیت تجزیه‌ای برای شناسایی ترکیب‌های موجود در عصاره می‌شود. سپس یک میکرولیتر از این نمونه وارد دستگاه کروماتوگرافی گازی ـ طیف‌سنجی جرمی شد و کروماتوگرام به دست آمده ثبت شد. برای تعیین شرایط بهینه آزمایش از روش طراحی آزمایش استفاده شد. در این طراحی تاثیر دو فاکتور درصد اتانول در حلال استخراجی (S) و دما (T) در محلول مورد بررسی قرار گرفت. در طراحی سطح پاسخ از روش طرح مرکب مرکزی استفاده شد. سطوح استفاده شده این فاکتورها به‌همراه نماد اختصاری این پارامترها در جدول ۱ نشان داده شده‌است.

حجم حلال استخراج کننده، زمان استخراج و زمان واجذب با مقدارهای گفته شده در بالا بهترین انتخاب می‌باشند و تأثیر معنی داری برمیزان استخراج ندارند، بنابراین برای ساده‌سازی طراحی آزمایش درنظر گرفته نشده‌اند. مساحت زیر منحنی کروماتوگرام به دست آمده در هر مرحله از طراحی آزمایش به‌عنوان پاسخ درنظر گرفته شد. از نرم افزارMinitab 17.1 در محاسبه‌های مربوط به طراحی آزمایش و رسم نمودارهای به دست آمده استفاده شده‌است.

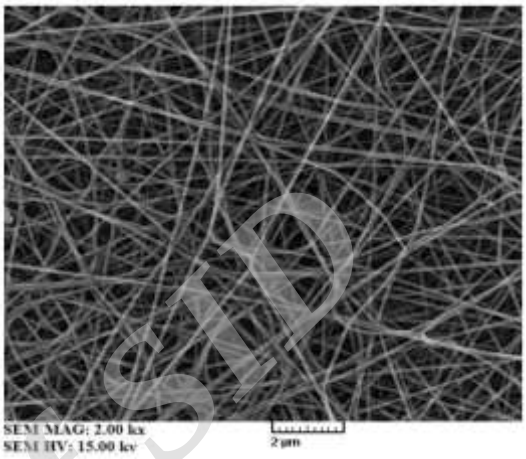
تفکیک منحنی چندگانه

استفاده از روش‌های کمومتریکس به‌خصوص تفکیک منحنی چندگانه برای استخراج بیش‌ترین اطلاعات شیمیایی از سامانه مورد مطالعه روزبروز گسترش بیش‌تری می‌یابد. در این پژوهش برای جداسازی پیک‌های دارای همپوشانی به دست آمده از کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی به پروفیل‌های غلظتی و طیف‌های جرمی خالص از روش جداسازی منحنی چندگانه بهره گرفته شده است. این روش به‌صورت خلاصه در ادامه شرح داده شده‌است. دراین روش، ابتدا دسته پیک‌های دارای همپوشانی پیش پردازش می‌شوند. این پیش پردازش شامل کاهش نویز، تصحیح خط زمینه و هموارسازی است. در مرحله دوم با استفاده از روش‌های تعیین مرتبه شیمیایی مانند امتیاز مورفولوژیکی و آنالیز مرتبه محلی مانند آنالیز عامل تحولی تعداد اجزای موجود

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱ـ متغییرها و سطح‌های آن‌ها در روش سطح پاسخ.

متغییر	$-\alpha$	-1	۰	$+1$	$+\alpha$
درصد حجمی اتانول (S)	۱۵٫۸۵	۲۰	۳۰	۴۰	۴۴٫۱۵
دما (T)	۲۳٫۸	۳۰	۴۵	۶۰	۶۶٫۲



شکل ۱ـ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوالیاف پلی آمید.

در دسته پیک مشخص می‌شود. در مرحله سوم با استفاده از جداسازی منحنی چندگانه- حداقل مربع‌های متناوب (MCR-ALS) و استفاده از تخمین اولیه، دسته پیک دارای همپوشانی به پروفیل خالص غلظتی و طیف جرمی جدا می‌شود. شناسایی کیفی ترکیب مربوطه با استفاده از طیف جرمی هریک از اجزا و مقایسه آن‌ها با داده‌های کتابخانه‌ای انجام می‌شود. همچنین درصد نسبی اجزا در دسته پیک مورد نظر یا کل نمونه با استفاده از مساحت‌های هر ترکیب در پروفایل غلظتی محاسبه شد.

نتیجه‌ها و بحث

برای استخراج ترکیب‌های فرار گیاه دارچین از روش میکرو استخراج فاز جامد استفاده شد. در این روش از نانوالیاف پلی آمید به‌دلیل دارا بودن مساحت سطح بالا و تخلخل مناسب به‌عنوان جاذب استفاده شد. تصویر به دست آمده از سطح جاذب تهیه شده توسط روش میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که این شکل نشان می‌دهد نانوالیاف پلی آمیدی به‌دست آمده یک‌دست بوده و دارای تخلخل مناسب با روزنه‌هایی تا ابعاد حدود ۱۰۰ نانومتر است که به انتقال جرم از محلول به سطح جاذب و جذب نمونه کمک شایانی می‌کند.

همچنین وجود گروه‌های حلقه‌ای در ساختار پلی آمید امکان برهمکنش $\pi-\pi$ را با آنالیت‌ها امکان پذیر می‌کند. همچنین وجود گروه‌های قطبی در ساختار نانوجاذب امکان برهمکنش قطبی ـ قطبی را با آنالیت‌های قطبی مانند ترپن‌های اکسیژن‌دار یا سکوزی ترپن‌های اکسیژن‌دار شامل گروه‌های الکلی را امکان‌پذیر می‌کند.

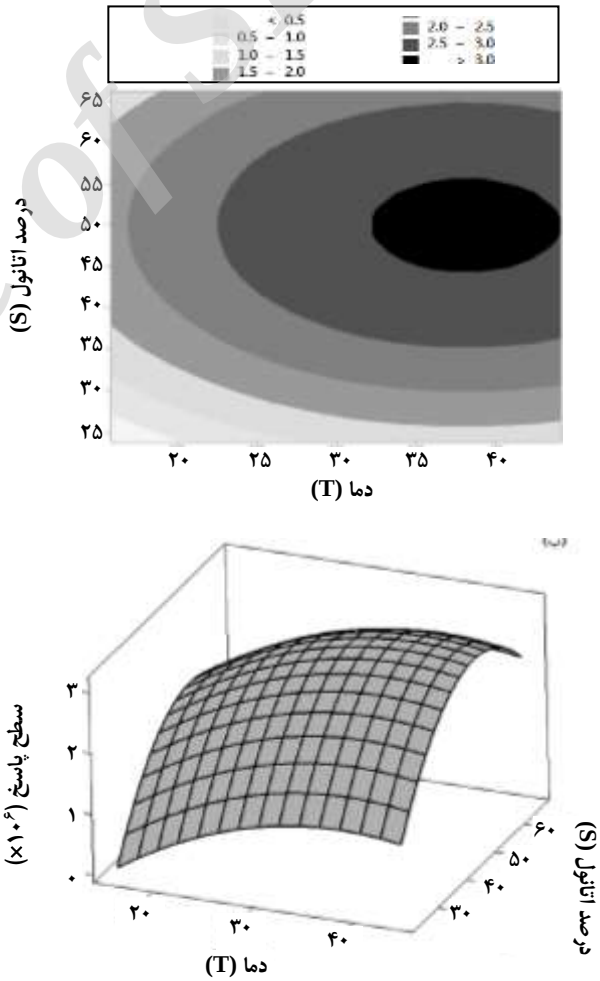
پس از تهیه نانوجاذب در قسمت اول، عصاره دارچین توسط مخلوطی از حلال‌های آب و اتانول در شرایط گفته شده در حضور نانو جاذب استخراج شد. برای انجام استخراج ترکیب‌های فرار گیاه دارچین در شرایط بهینه با استفاده از روش میکرو استخراج فاز جامد، دو فاکتور تاثیرگذار شامل درصد ترکیب حلال استخراج‌کننده و دما مورد بررسی قرار گرفت. از حلال استخراج‌کننده شامل آب و اتانول با درصدهای حجمی گوناگونی استفاده شد. همان‌گونه که اشاره شد از روش طرح مرکب مرکزی در طراحی سطح پاسخ استفاده شد. طراحی آزمایش انجام شده منجر به رسم منحنی سطح پاسخ و رسیدن به بهترین نقطه بهینه برای انجام میکرو استخراج فاز جامد می‌شود. در روش طرح مرکب مرکزی تعداد عامل‌های مورد بررسی ۲ و تعداد آزمایش‌های مورد نیاز برابر با ۱۲ ($2^2+2\times2+4$) بوده‌است. چهار آزمایش در نقاط فاکتوریال، چهار آزمایش در نقاط استار و چهار تکرار در مرکز انجام پذیرفت. مساحت پیک‌های کروماتوگرام به‌همراه درصد حجمی اتانول مورد استفاده و دمای استخراج در هر آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌گونه که این جدول نشان می‌دهد پارامترهای مورد بررسی تاثیر چشمگیری برمقدار مساحت پیک‌های کروماتوگرام می‌گذارند. منحنی سطح پاسخ به دست آمده از تأثیر درصد حجمی اتانول و دمای استخراج بر مجموع مساحت پیک‌های کروماتوگرام در شکل ۲ به‌صورت کنتور و سه‌بعدی نشان داده شده‌است.

برای تعیین مدل تجربی برای پیش بینی سطح پاسخ، معادله‌های چند جمله‌ای شامل خطی، خطی به‌همراه برهمکنش‌ها و درجه دوم بررسی شدند. نتیجه‌های مدل‌های به‌دست آمده در جدول ۳ آورده شده است. طبق این جدول، چند جمله‌ای درجه دوم R^2

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲ـ مقدارهای مساحت پیک کروماتوگرام در روش سطح پاسخ.

آزمایش	درصد حجمی اتانول	دما	مساحت پیک‌های کروماتوگرام
۱	۲۰	۳۰	۱٫۲۸×۱۰^{۶}
۲	۴۰	۳۰	۱٫۸۳×۱۰^{۶}
۳	۲۰	۶۰	۲٫۲۱×۱۰^{۶}
۴	۴۰	۶۰	۲٫۵۰×۱۰^{۶}
۵	۱۵٫۸۵	۴۵	۱٫۶۴×۱۰^{۶}
۶	۴۴٫۱۵	۴۵	۳٫۱۵×۱۰^{۶}
۷	۳۰	۲۳/۸	۱٫۱۴×۱۰^{۶}
۸	۳۰	۶۶/۲	۲٫۲۹×۱۰^{۶}
۹	۳۰	۴۵	۲٫۸۵×۱۰^{۶}
۱۰	۳۰	۴۵	۲٫۹۱×۱۰^{۶}
۱۱	۳۰	۴۵	۲٫۷۴×۱۰^{۶}
۱۲	۳۰	۴۵	۲٫۹۵×۱۰^{۶}



شکل ۲ـ نمودار سطح پاسخ برحسب فاکتورهای درصد اتانول و دما (الف) کنتور (ب) سه بعدی.

بالاتر و دارای p کمتر از ۰٫۰۵ است که نشان دهنده دقیق و معتبر بودن مدل نسبت به معادله‌های چند جمله‌ای دیگر دارد. قابل بیان است مدل خطی به تنهایی یا به‌همراه برهمکنش‌ها نتیجه‌های آماری مناسبی را نشان نمی‌دهد. ضریب‌های مربوط به چند جمله‌ای درجه دوم به‌همراه میزان اهمیت هرکدام از متغییرهای درصد حجمی اتانول و دمای استخراج در جدول ۴ آورده شده است.

با توجه به ضریب‌های چند جمله‌ای این جدول و سطح پاسخ شکل ۲، شرایط بهینه برای میکرواستخراج فاز جامد در ۳۸٪ حجمی اتانول و دمای ۵۰ درجه سلسیوس می‌باشد. کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی پس از انجام میکرواستخراج فاز جامد در این شرایط بهینه مورد آنالیز قرار گرفت. در این شرایط مساحت پیک‌های کروماتوگرام در میکرو استخراج فاز جامد برابر ۳٫۷۴×۱۰^{۶} است. در شرایط غیر بهینه مساحت پیک‌های کروماتوگرام می‌تواند به‌طور متوسط تا حدود ۲٫۵×۱۰^{۶} کاهش پیدا کند. بنابراین استفاده از روش پیشنهادی تا حدود ۵۰٪ بازده استخراج را افزایش می‌دهد. با استفاده از طراحی آزمایش تعداد آزمایش‌ها به‌صورت چشمگیری کاهش می‌یابد. همچنین در روش طرح مرکب مرکزی، سطح پاسخ هر عامل در ۵ سطح گوناگون با دقت مناسب بررسی می‌شود. با استفاده از کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی ـ طیف سنجی جرمی در شرایط بهینه ساختار ترکیب‌های فرار موجود در عصاره دارچین قابل شناسایی و اندازه‌گیری است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳ـ آنالیز آماری مدل‌های بررسی شده در روش سطح پاسخ.

نوع مدل	ضریب R^2	انحراف معیار	مقدار p
خطی	۰٫۳۷	۰٫۷۲×۱۰^۶	۰٫۱۴
خطی+ برهمکنش	۰٫۴۵	۰٫۵۸×۱۰^۶	۰٫۰۹
مرتبه دوم	۰٫۹۴	۰٫۱۶×۱۰^۶	<۰٫۰۰۱

جدول ۴ـ ضریب‌های چند جمله‌ای درجه دوم در روش سطح پاسخ.

جمله	میزان تاثیر	ضریب در مدل	مقدار p
عرض از مبدا	–	۲٫۸۶۰	<۰٫۰۰۱
S	۰٫۷۷۹	۰٫۳۸۹	۰٫۰۰۱
T	۰٫۸۰۷	۰٫۴۰۳	۰٫۰۰۱
C^2	−۰٫۴۷۸	−۰٫۲۳۸	۰٫۰۱۵
T^2	−۱٫۲۰۸	−۰٫۶۰۴	<۰٫۰۰۱

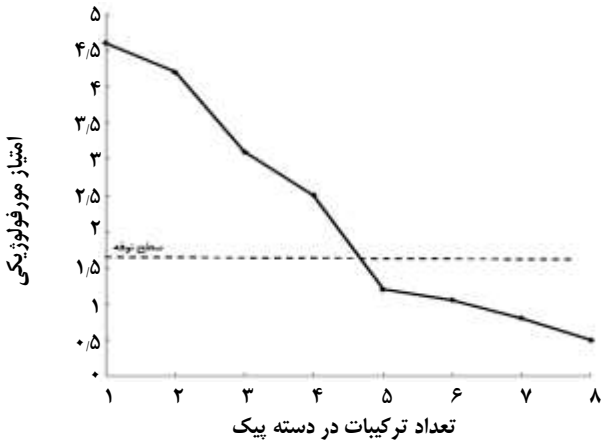
اگر پیک موجود در کروماتوگرام به دست آمده از یک ترکیب باشد، از مقایسه طیف جرمی هریک از پیک‌ها با داده‌های کتابخانه‌ای و اندیس بازداری کواتس شناسایی ترکیب مورد نظر امکان‌پذیر است. ولی اگر دو یا چند پیک با یکدیگر همپوشانی داشته باشند، باید با استفاده از روش جداسازی منحنی چندگانه به پروفیل‌های خالص غلظتی و طیفی جدا شوند. قابل بیان است حتی در شرایط بهینه امکان همپوشانی پیک‌ها وجود دارد. ابتدا تعداد گونه‌ها در هر دسته پیک با استفاده از امتیاز مورفولوژیکی و آنالیز عامل تحولی تشخیص داده شد. در کروماتوگرام به دست آمده از دو دسته پیک دوتایی و یک دسته پیک چهارتایی دارای همپوشانی دیده شد. دسته پیک چهارتایی در شکل ۳ نشان داده شده‌اند.

نتیجه‌های به دست آمده از امتیاز مورفولوژیکی در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که این شکل نشان می‌دهد در این دسته پیک ۴ ترکیب دیده شد. قابل بیان است نتیجه‌های به دست آمده از آنالیز فاکتور محلی نیز با نتیجه‌های به دست آمده از روش امتیاز مورفولوژیکی مطابقت دارد. سپس با استفاده از روش جداسازی منحنی چندگانه– حداقل مربع‌های متناوب دسته

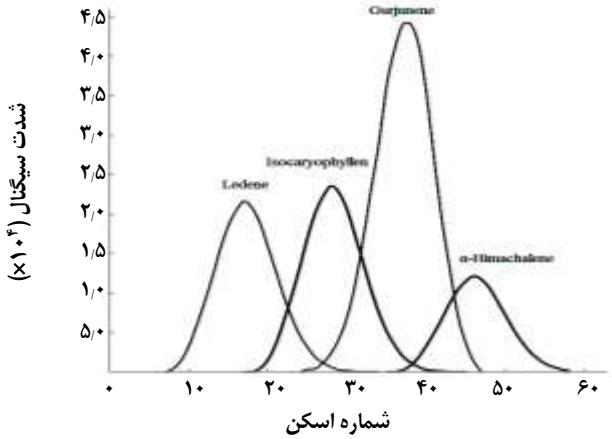
شکل ۳ـ دسته پیک چهارتایی در کروماتوگرام به دست آمده.

پیک‌های به دست آمده به پیک‌های مجزا جدا شدند. پیک‌های جدا شده در شکل ۵ نشان داده شده است. ترکیب مربوط به هر پیک از مقایسه پروفایل طیف جرمی هریک از اجزا با داده‌های کتابخانه‌ای و اندیس بازداری شناسایی شد.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۴ـ امتیاز مورفولوژیکی برحسب تعداد اجزا.



شکل ۵ ـ پروفایل غلظتی به دست آمده از تفکیک منحنی چندگانه مربوط به دسته پیک چهارتایی.

مرحله‌های گفته شده برای دو دسته پیک دارای همپوشانی نیز به دقت تکرار شد. نتیجه‌های به دست آمده از بررسی پیک‌ها و دسته پیک‌ها طبق روش گفته شده در جدول ۵ آورده شده‌است. همان‌گونه که این جدول نشان می‌دهد تعداد ۳۰ ترکیب در عصاره گیاه دارچین بهمراه درصد نسبی هریک از اجزا شناسایی شدند. این ترکیب‌ها ۹۶٫۶۴ ٪ کل اجزای فرار موجود در عصاره این گیاه را شامل می‌شود. همان‌گونه که در جدول ۵ مشخص است ترکیب‌های *trans*-Cinnamaldehyde (۵۱٫۲۳ ٪)، Eugenol (۲۶٫۴۵ ٪)، Cinnamic acid (۴٫۷۲ ٪)، Gurjunene (۱٫۸۱ ٪) و Copaene (۱٫۴۴٪) مهمترین ترکیب‌های موجود در عصاره گیاه دارچین هستند. این ۵ ترکیب در مجموع بیش از ۸۰ درصد کل ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین را تشکیل می‌دهند. ترکیب‌های فرار موجود در عصاره به دست آمده از گیاه دارچین تاکنون گزارش نشده است، هرچند ترکیب‌های موجود در اسانس این گیاه در چند پژوهش در شرایط گوناگون بررسی شده است [۱۰-۹]. این نکته دارای اهمیت است که ترکیب‌های فرار موجود در اسانس و عصاره گیاهان با یکدیگر متفاوت بوده و دارای ویژگی‌های گوناگونی هستند. مصرف عصاره گیاهان معطر و دارویی مانند دم کرده یا مصرف‌های غذایی آن‌ها نسبت به مصرف اسانس آن‌ها متداول‌تر می‌باشد. از میان ترکیب‌های موجود در عصاره گیاه دارچین ترکیب *trans*-Cinnamaldehyde بیش‌ترین درصد را دارا می‌باشد. این ترکیب به‌همراه ترکیب اسیدی خود Cinnamic acid که در عصاره دارچین نیز به‌مقدار متوسط وجود دارد، دارای ویژگی‌های ضدباکتریایی و ضد قارچی مناسبی است. همچنین این ترکیب به‌دلیل بوی مطبوع به‌عنوان طعم دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها به صورت گسترده استفاده می‌شود. قابل بیان است به‌علت ویژگی‌های یگانه این ترکیب، یک عامل مؤثر در به تاخیر انداختن بیماری آلزایمر و افزایش سطح انسولین در بدن می‌باشد [۱۱]. همچنین این ترکیب به‌صورت عصاره در صنایع کشاورزی به‌عنوان دفع کننده طبیعی حشره‌ها قابل استفاده می‌باشد. از کاربردهای دیگر این ترکیب و مشتق‌های به دست آمده از آن می‌توان به ویژگی‌های ضد خوردگی آن در فلزها نیز اشاره نمود. ویژگی‌های مشتق اسیدی آن (Cinnamic acid) نیز تاحدود زیادی شبیه به ترکیب آلدهیدی آن است. دومین ترکیب مهم (Eugenol) از دسته ترکیب‌های فنیل پروپانوئیدها است که دارای کاربرد فراوانی در صنایع دارویی و غذایی می‌باشد. این ترکیب دارای ویژگی‌های ضد عفونی کننده، آرام‌بخشی و بی‌حس کنندگی است و از ترکیب آن با اکسید روی در دندانپزشکی استفاده می‌شود. از این ترکیب به‌عنوان یک عامل نگه‌دارنده طبیعی مواد غذایی به‌دلیل دارا بودن خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی و افزایش میزان ماندگاری آن‌ها استفاده می‌شود [۱۲]. ترکیب‌های Gurjunene و Copaene از دسته ترکیب‌های سکوزی ترپن‌ها هستند و دارای ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی هستند.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر از روش میکرواستخراج فاز جامد به‌همراه روش‌های طراحی آزمایش و تفکیک منحنی چندگانه برای بررسی

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۵ـ ترکیب‌های فرار عصاره گیاه دارچین توسط روش میکرو استخراج فاز جامد، طراحی آزمایش و تفکیک منحنی چندگانه.

شماره	نام ترکیب	اندیس‌بازداری	درصد	شماره	نام ترکیب	اندیس‌بازداری	درصد
۱	Camphene	۹۸۵	۰/۳۹	۱۶	Cinnamyl acetate	۱۳۹۱	۰/۴۳
۲	*α*-Terpinene	۱۰۰۷	۰/۱۳	۱۷	*trans*-Caryophyllene	۱۴۱۷	۰/۹۳
۳	*o*-Cymene	۱۰۱۲	۰/۲۶	۱۸	Cinnamic acid	۱۴۲۴	۴/۷۲
۴	*p*-Cymene	۱۰۱۷	۰/۸۳	۱۹	*α*-Humulene	۱۴۴۷	۰/۱۲
۵	Phellandrene	۱۰۳۲	۰/۴۳	۲۰	Ledene	۱۴۸۶	۱/۰۳
۶	Linalool	۱۰۷۸	۰/۱۸	۲۱	Isocaryophyllen	۱۴۸۸	۱/۰۷
۷	*δ*-Terpinene	۱۰۸۶	۰/۵۸	۲۲	Gurjunene	۱۴۹۰	۱/۸۱
۸	Borneol	۱۱۸۸	۰/۲۷	۲۳	*α*-Himachalene	۱۴۹۴	۰/۶۰
۹	*α*-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۱۷	۲۴	*α*-Cadinene	۱۵۳۳	۰/۳۲
۱۰	*Cis*-cinnamaldehyde	۱۲۱۵	۰/۴۸	۲۵	*δ*-Cadinene	۱۵۳۹	۰/۶۹
۱۱	*trans*-Cinnamaldehyde	۱۲۳۵	۵۱/۲۳	۲۶	Spathulenol	۱۵۵۳	۰/۱۳
۱۲	Eugenol	۱۳۵۱	۲۶/۴۵	۲۷	Nerolidol	۱۵۶۴	۰/۱۷
۱۳	Thymylacetate	۱۳۶۲	۰/۱۳	۲۸	Viridiflorol	۱۵۹۱	۰/۲۳
۱۴	Copaene	۱۳۷۹	۱/۴۴	۲۹	Bisabolol	۱۶۱۵	۰/۲۸
۱۵	*β*-Elemene	۱۳۸۹	۰/۹۳	۳۰	Vulgarol	۱۶۹۲	۰/۱۱
۱۶	Cinnamyl acetate	۱۳۹۱	۰/۴۳	مجموع درصدها			۹۶/۶۴

ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین استفاده شد. بدین منظور از نانوالیاف پلی آمید با مساحت ویژه و تخلخل مناسب استفاده شد. عملکرد استخراج ترکیب‌های فرار با استفاده از طراحی آزمایش و بررسی سطح پاسخ بررسی شد. درصد حجمی اتانول و دمای استخراج با این روش با بررسی مساحت زیر پیک‌های کروماتوگرام کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی بهینه شد. در پایان پیک‌های دارای همپوشانی با استفاده از روش تفکیک منحنی چندگانه به پروفایل‌های خالص غلظتی برای شناسایی و اندازه‌گیری کمی جدا شدند. از بررسی کروماتوگرام به‌دست آمده در شرایط بهینه ۳۰ ترکیب‌ها شناسایی شدند. ترکیب‌های *trans*-Cinnamaldehyde، Eugenol، Cinnamic acid، Gurjunene و Copaene مهمترین ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین هستند و در مجموع بیش از ۸۰ درصد کل ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین را تشکیل می‌دهند. استخراج، جداسازی و شناسایی کیفی و کمی ترکیب‌های موجود در نمونه‌های طبیعی مانند دارچین با توجه به تمایل استفاده از این ترکیب‌ها در صنایع شیمیایی، غذایی و آرایش بهداشتی دارای اهمیت زیادی می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۱۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۵

مراجع

[1] Long Y.Z., Li M.M., Gu C., Wan M., Duvail J. L., Liu Z., Fan Z., Recent Advances in Synthesis, Physical Poperties and Applications of Conducting Polymer Nanotubes and Nanofibers, *Progress in Polymer Science*, **36**: 1415-1442 (2011).

[2] Chigome S., Torto N., A Review of Opportunities for Electrospun Nanofibers in Analytical Chemistry, *Analytica Chimica acta*, **706**: 25-36 (2011).

Archive of SID
www.SID.ir

[3] García A., Rodríguez-Juan E., Rodríguez-Gutiérrez G., Rios J.J., Fernández-Bolaños J., Extraction of Phenolic Compounds from Virgin Olive Oil by Deep Eutectic Solvents (DESs), *Food Chemistry*, **197**: 554-561 (2016).

[4] Yüce A., Türk G., Ceribasi S., Sonmez M., Ciftci M., Guvenc M., Effects of Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) Bark Oil on Testicular Antioxidant Values, Apoptotic Germ Cell and Sperm Quality, *Andrologia*, **45**: 248-255 (2013).

[5] Choi O., Cho S.K., Kim J., Park C.G., Kim J., "In Vitro Antibacterial Activity and Major Bioactive Components of Cinnamomum Verum Essential Oils Against Cariogenic Bacteria, Streptococcus Mutans and Streptococcus Sobrinus, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **6**: 308-314 (2016).

[۶] ذوقی، محمدجواد؛ گنجی دوست، حسین؛ مختارانی، نادر؛ آیتی، بیتا، بهینه سازی فرایند تثبیت و جامدسازی سیمانی لجن صنایع آبکاری توسط شبکه عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۲)۳۴: ۹۷ تا ۱۰۹ (۱۳۹۴).

[7] Asadollahi-Baboli M., Aghakhani A., Headspace Adsorptive Microextraction Analysis of Oregano Fragrance Using Polyaniline-Nylon-6 Nanocomposite, GC-MS, and Multivariate Curve Resolution", *International Journal of Food Properties*, **18**: 1613-1623 (2015).

[8] Asadollahi-Baboli M., Aghakhani A., Rapid Analysis of Origanum Majorana L. Fragrance Using a Nanofiber Sheet, Gas Chromatography with Mass Spectrometry, and Chemometrics, *Journal of Separation Science*, **37**: 990-996 (2014).

[9] Li Y., Kong D., Wu H., Analysis and Evaluation of Essential Oil Components of Cinnamon Barks Using GC–MS and FTIR Spectroscopy, *Industrial Crops and Products*, **41**: 269-278 (2013).

[10] Li Y., Kong D., Huang R., Liang H., Xu C., Wu H., Variations in Essential Oil Yields and Compositions of Cinnamomum Cassia Leaves at Different Developmental Stages, *Industrial Crops and Products*, **47**: 92-101 (2013).

[11] Boonen B., Alpizar Y.A., Benoy V., Voets T., Talavera K., The Trpa1 Agonist Cinnamaldehyde Acts as a Local Anesthetic Inhibiting Voltage-Gated Sodium Channels in Sensory Neurons, *Biophysical Journal*, **106**: 326-327 (2014).

[12] Sanla-Ead N., Jangchud A., Chonhenchob V., Suppakul P., Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde and Eugenol and Their Activity after Incorporation into Cellulose-based Packaging Films, *Packaging Technology and Science*, **25**: 7-17 (2012).

Archive of SID

www.SID.ir