

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

محمداسداللهی 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 - 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 - 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.

مقدمه

استفاده از نانوجاذب‌های پلیمری به علت عملکرد و کارایی مناسب و سادگی تهیه آن‌ها امروزه مورد توجه پژوهشگران در پژوهش‌های کاربردی در شاخه‌های گوناگون شیمی و مهندسی شیمی قرار 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 به عنوان جاذب در میکرواستخراج فاز جامد برای جداسازی ترکیب‌های فرار موجود در گیاه دارچین استفاده شده است. روش میکرواستخراج فاز جامد به علت 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. به علاوه 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 به دلیل ویژگی‌های فراوان خود در این صنایع و در زندگی روزمره به صورت 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 اشاره شده دارد. در سالیان اخیر تمایل به استفاده از مواد نگهدارنده شیمیایی به دلیل 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 کارایی فرایند جداسازی از طراحی آزمایش استفاده شد. این روش‌ها امروزه به طور 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 به صورت 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 - 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 کموتریکس 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 - طیف سنجی جرمی یا کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا به صورت 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.

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 - 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 به همراه 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 تاثیر معنی داری بر میزان استخراج ندارند، بنابراین برای ساده‌سازی طراحی آزمایش در نظر گرفته نشده‌اند. مساحت زیر منحنی کروماتوگرام به دست آمده در هر مرحله از طراحی آزمایش به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. از نرم افزار Minitab 17.1 در محاسبه‌های مربوط به طراحی آزمایش و رسم نمودارهای به دست آمده استفاده شده‌است.

تفکیک منحنی چندگانه

استفاده از روش‌های کموتریکس به خصوص تفکیک منحنی چندگانه برای استخراج بیش‌ترین اطلاعات شیمیایی از سامانه مورد مطالعه روز بروز گسترش بیش‌تری می‌یابد. در این پژوهش برای جداسازی پیک‌های دارای همپوشانی به دست آمده از کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی به پروفیل‌های غلظتی و طیف‌های جرمی خالص از روش جداسازی منحنی چندگانه بهره گرفته شده‌است. این روش به صورت خلاصه در ادامه شرح داده شده‌است. در این 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

دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل HP6890 و طیف‌سنجی 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-طیف‌سنجی جرمی به ترتیب ۲۳۰، ۲۲۰ و ۲۰۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. 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 بر دقیقه به عنوان 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 بر سطح 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 بر روی سطح صفحه آلومینیومی نازکی (به عنوان 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 بر دقیقه 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

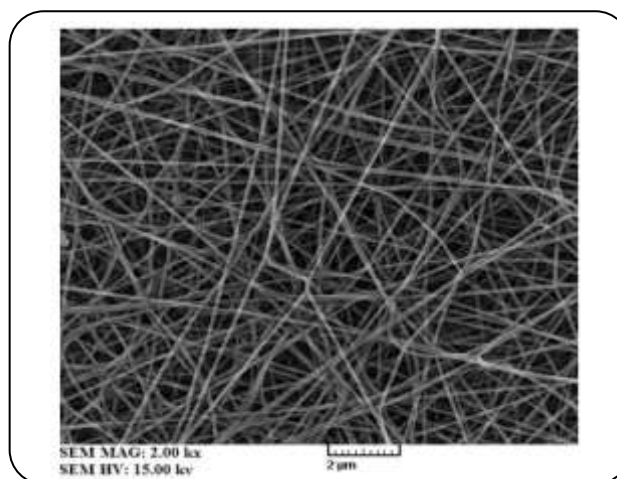
میکرو استخراج فاز جامد برای جداسازی ترکیب‌های فرار موجود در عصاره گیاه دارچین در شرایط بهینه با کارآرایی مناسب استفاده شد. در این استخراج یک گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر حلال ریخته شد و نانوالیاف تهیه شده (یک سانتیمتر مربع)

جدول ۱- متغیرها و سطح‌های آن‌ها در روش سطح پاسخ.

متغیر	- α	-۱	۰	+۱	+ α
درصد حجمی اتانول (S)	۱۵/۸۵	۲۰	۳۰	۴۰	۴۴/۱۵
دما (T)	۲۳/۸	۳۰	۴۵	۶۰	۶۶/۲

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 - 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 ($2^2 + 2 \times 2 + 4$) بوده است. چهار آزمایش در نقاط فاکتوربال، 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 بر مقدار مساحت پیک‌های کروماتوگرام می‌گذارند. منحنی سطح پاسخ به دست آمده از تاثیر درصد حجمی اتانول و دمای استخراج بر مجموع مساحت پیک‌های کروماتوگرام در شکل ۲ به صورت کنتور و سه‌بعدی نشان داده شده است.

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



شکل ۱- 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

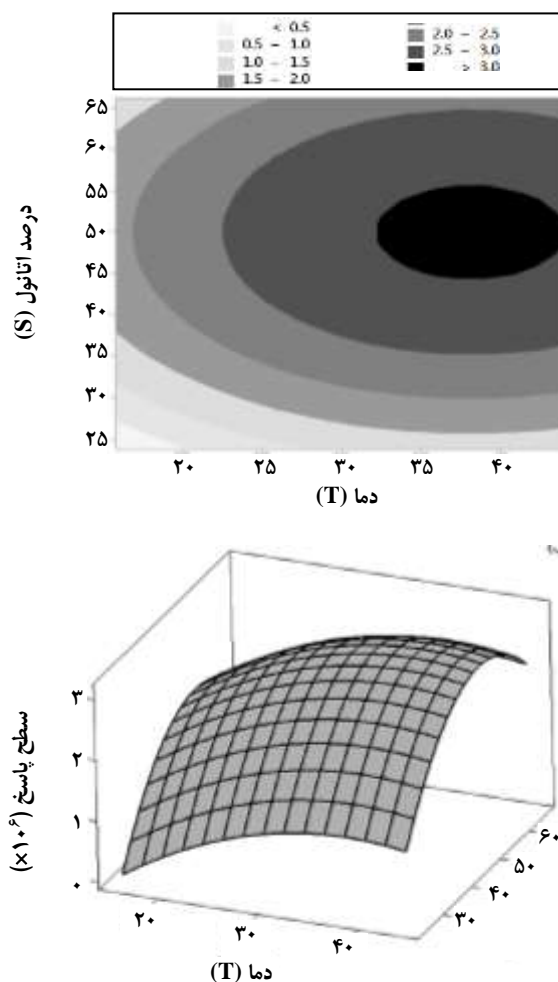
برای استخراج ترکیب‌های فرار گیاه دارچین از روش میکرو استخراج فاز جامد استفاده شد. در این روش از نانوالیاف پلی آمید به‌دلیل دارا بودن مساحت سطح بالا و تخلخل مناسب به‌عنوان جاذب استفاده شد. تصویر به دست آمده از سطح جاذب تهیه شده توسط روش میکروسکوپ الکترونی روبشی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که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

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

مساحت پیک‌های کروماتوگرام	دما	درصد حجمی اتانول	آزمایش
$1,28 \times 10^6$	۳۰	۲۰	۱
$1,83 \times 10^6$	۳۰	۴۰	۲
$2,21 \times 10^6$	۶۰	۲۰	۳
$2,50 \times 10^6$	۶۰	۴۰	۴
$1,64 \times 10^6$	۴۵	۱۵,۸۵	۵
$3,15 \times 10^6$	۴۵	۴۴,۱۵	۶
$1,14 \times 10^6$	۲۳/۸	۳۰	۷
$2,29 \times 10^6$	۶۶/۲	۳۰	۸
$2,85 \times 10^6$	۴۵	۳۰	۹
$2,91 \times 10^6$	۴۵	۳۰	۱۰
$2,74 \times 10^6$	۴۵	۳۰	۱۱
$2,95 \times 10^6$	۴۵	۳۰	۱۲

بالتر 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 به همراه برهمکنش‌ها نتیجه‌های آماری مناسبی را نشان نمی‌دهد. ضریب‌های مربوط به چند جمله‌ای درجه دوم به همراه میزان اهمیت هر کدام از متغیرهای 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 - 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 $3,74 \times 10^6$ است. در شرایط غیر بهینه مساحت پیک‌های کروماتوگرام می‌تواند به‌طور متوسط تا حدود $2,5 \times 10^6$ 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 - طیف سنجی جرمی در شرایط بهینه ساختار ترکیب‌های فرار موجود در عصاره دارچین قابل شناسایی و اندازه‌گیری است.



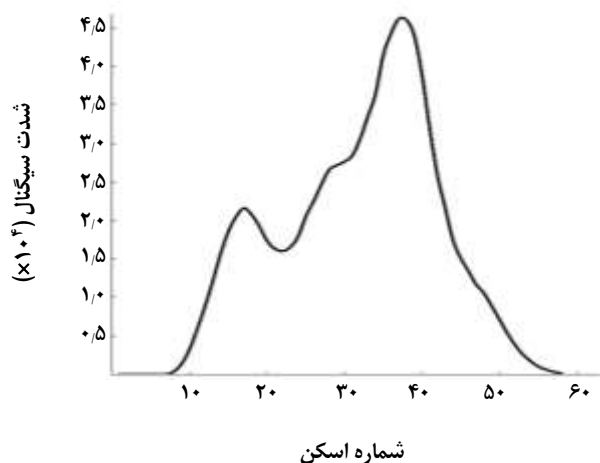
شکل ۲- نمودار سطح پاسخ برحسب فاکتورهای درصد اتانول و دما (الف) کنتور (ب) سه بعدی.

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

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

جدول ۴- 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	$< ۰٫۰۰۱$

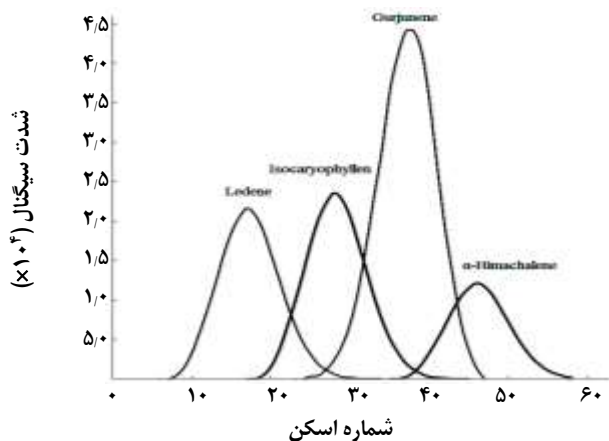


شکل ۳- دسته پیک چهارتایی در کروماتوگرام به دست آمده.

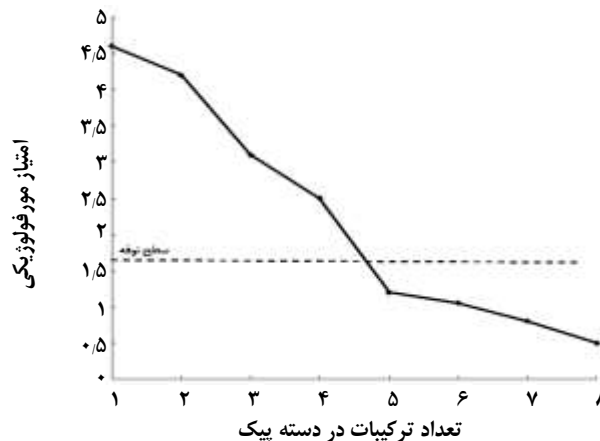
پیک‌های به دست آمده به پیک‌های مجزا جدا شدند. پیک‌های جدا شده در شکل ۵ نشان داده شده است. ترکیب مربوط به هر پیک از مقایسه پروفایل طیف جرمی هر یک از اجزا با داده‌های کتابخانه‌ای و اندیس بازداری شناسایی شد.

اگر پیک موجود در کروماتوگرام به دست آمده از یک ترکیب باشد، از مقایسه طیف جرمی هر یک از پیک‌ها با داده‌های کتابخانه‌ای و اندیس بازداری کوانتاس 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 ۵ - پروفایل غلظتی به دست آمده از تفکیک منحنی چندگانه مربوط به دسته پیک چهارتایی.



شکل ۴ - امتیاز مورفولوژیکی برحسب تعداد اجزا.

به دلیل بوی مطبوع به عنوان طعم دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها به صورت گسترده استفاده می‌شود. قابل بیان است به علت ویژگی‌های یگانه این ترکیب، یک عامل مؤثر در به تاخیر انداختن بیماری آلزایمر و افزایش سطح انسولین در بدن می‌باشد [۱۱]. همچنین این ترکیب به صورت عصاره در صنایع کشاورزی به عنوان 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 تا حدود زیادی شبیه به ترکیب آلدهیدی آن است. دومین ترکیب مهم (Eugenol) از دسته ترکیب‌های فنیل پروپانویدها است که دارای کاربرد فراوانی در صنایع دارویی و غذایی می‌باشد. این ترکیب دارای ویژگی‌های ضد عفونی کننده، آرام بخشی و بی‌حس کننده است و از ترکیب آن با اکسید روی در دندان پزشکی استفاده می‌شود. از این ترکیب به عنوان یک عامل نگه‌دارنده طبیعی مواد غذایی به دلیل دارا بودن خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی و افزایش میزان ماندگاری آن‌ها استفاده می‌شود [۱۲]. ترکیب‌های Gurjunene و Copaene از دسته ترکیب‌های سکوزی ترین‌ها هستند و دارای ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی هستند.

نتیجه‌گیری

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

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 شده است. همان گونه که این جدول نشان می‌دهد تعداد ۳۰ ترکیب در عصاره گیاه دارچین به همراه درصد نسبی هر یک از اجزا شناسایی شدند. این ترکیب‌ها ۹۶٫۶۴٪ کل اجزای فرار موجود در عصاره این گیاه را شامل می‌شود. همان گونه 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 [۹-۱۰]. 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 متداول تر می‌باشد. از میان ترکیب‌های موجود در عصاره گیاه دارچین ترکیب *trans*-Cinnamaldehyde بیش‌ترین درصد را دارا می‌باشد. این ترکیب به همراه ترکیب اسیدی خود Cinnamic acid که در عصاره دارچین نیز به مقدار متوسط وجود دارد، دارای ویژگی‌های ضدباکتریایی و ضد قارچی مناسبی است. همچنین این ترکیب

جدول ۵- 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	<i>trans</i> -Caryophyllene	۱۴۱۷	۰/۹۳
۳	<i>o</i> -Cymene	۱۰۱۲	۰/۲۶	۱۸	Cinnamic acid	۱۴۲۴	۴/۷۲
۴	<i>p</i> -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	<i>Cis</i> -cinnamaldehyde	۱۲۱۵	۰/۴۸	۲۵	δ -Cadinene	۱۵۳۹	۰/۶۹
۱۱	<i>trans</i> -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 به دست آمده در شرایط بهینه ۳۰ ترکیب‌ها شناسایی شدند. ترکیب‌های

Cinnamic acid, Eugenol, *trans*-Cinnamaldehyde, 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 آرایشی 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 Properties 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).

- [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).