



استخراج گزینش پذیر کروسین از زعفران با استفاده از نانوذرات مغناطیسی بسیار قالب مولکولی

علی غلامی^{۱*}، مهشید گلستانه^۲ و هدیه بیگدلی آذری^۱

۱- گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
۲- گروه آموزش شیمی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

چکیده: کروسین یکی از مواد مؤثره زعفران است که به طور مستقیم بر کیفیت و ارزش تجاری آن تأثیر می‌گذارد. در این پژوهش، یک روش ساده برای استخراج حساس و انتخابی کروسین از زعفران با استفاده از بسپارهای قالب مولکولی مغناطیسی (MMIPs) توسعه داده شد. MMIPs با استفاده از جنتیویوز به عنوان مولکول الگو، متاکریلیک اسید به عنوان مونومر عاملی، اتیلن گلیکول دی‌متاکریلات به عنوان عامل شبکه ساز و $Fe_3O_4@SiO_2$ به عنوان حامل مغناطیسی تهیه شد. مشخصه‌یابی نانوذرات با استفاده از طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FT-IR)، پراش پرتو ایکس (XRD)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، مغناطیس‌سنج ارتعاشی (VSM) و آنالیز گرماوزنی (TGA) انجام شد. پارامترهای مختلف مؤثر بر راندمان استخراج، همدماهای جذب، سینتیک جذب و گزینش‌پذیری MMIPs مورد مطالعه قرار گرفت. آنالیت‌ها با استفاده از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شدند. نتایج نشان داد که مدل شبه مرتبه دوم جذب کروسین را توصیف می‌کند و داده‌های تعادلی جذب با مدل فروندلیچ مطابقت دارد. همچنین، جذب ساختاری همگن داشت و جذب کروسین از طریق جذب برگشت‌پذیر چندلایه انجام شد. در شرایط بهینه، محدوده خطی $0.05-5.0 \text{ mgL}^{-1}$ بود. حد تشخیص و حد کمی‌سنجی به ترتیب 0.014 mgL^{-1} و 0.10 mgL^{-1} بود. روش پیشنهادی در استخراج کروسین از نمونه‌های حقیقی، نتایج رضایت‌بخشی را نشان داد.

واژگان کلیدی: کروسین، زعفران، بسیار قالب مولکولی، نانوذرات مغناطیسی، استخراج گزینشی.

* agholami@kashanu.ac.ir

۱- مقدمه

سرخ» معروف کرده است [۳،۴]. محققان پتانسیل درمانی زعفران را به فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد آن نسبت می‌دهند [۵]. تاکنون بیش از ۱۵۰ ترکیب از کلاله زعفران استخراج شده است. ارزش و قیمت زعفران به کروسین (Crocine)، پیکروکروسین (Picrocrocin) و سافرانال (Safranal) بستگی دارد که به ترتیب مسئول رنگ، طعم و عطر کلاله هستند [۶]. زعفران همچنین حاوی کاروتنوئیدهای دیگری مانند لیکوپن، زاگزانتین

زعفران که از کلاله‌های قرمز خشک شده گیاه کروکوس ساتیوس (*Crocus sativus*) به دست می‌آید، یکی از ادویه‌های بسیار گران‌بها و ارزشمند جهان است [۱،۲]. طعم و عطر متمایز، کشت محدود، ارزش غذایی بالا و خواص دارویی قابل توجه از جمله تقویت حافظه، تقویت قوای جنسی، اثرات ضد افسردگی و ضد اضطراب و محافظت‌کنندگی عصبی، زعفران را به «طلای

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹

(Zeaxanthin)، بتاکاروتن و ویتامین‌های ضروری مانند ریوفلاوین و تیامین است [۳].

کروسین‌ها، کاروتنوئیدهای محلول در آب هستند که حاوی اجزای شیمیایی از جمله کروستین (Crocetin) و جنتیوبیوز (Gentiobiose) هستند [۵]. ایزومر ترانس استر کروستین، به دلیل توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات دارویی مختلف از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد سرطانی و کاهش چربی خون، خواص دارویی بالاتری دارد و به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است [۸، ۵، ۷].

تاکنون از روش‌های مختلفی برای استخراج و تعیین کروسین موجود در زعفران استفاده شده است. این روش‌ها شامل کروماتوگرافی لایه‌نازک [۹]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [۱۰ و ۴]، طیف‌سنجی فروسرخ جفت شده با کمومتری [۱۱]، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه بازتابی کلی تضعیف‌شده (ATR-FTIR) [۱۲]، کروماتوگرافی گازی [۱۰]، کروماتوگرافی مایع جفت شده با طیف‌سنجی جرمی [۱۳]، طیف‌سنجی تشدید مغناطیسی هسته [۱۴]، کروماتوگرافی گازی جفت شده با طیف‌سنجی جرمی [۱۵]، کروماتوگرافی لایه‌نازک با کارایی بالا [۱۶] و استخراج فاز جامد قالب مولکولی [۱۷] است.

قالب مولکولی یک روش مقرون‌به‌صرفه است که از کوبسپارش مونومرهای عاملی با مولکول‌های قالب موردنظر برای استخراج گزینش‌پذیر مولکول‌های هدف بکار می‌رود [۱۸، ۱۹]. این مواد از بسپارش مونومر عاملی و اتصال‌دهنده عرضی و مولکول هدف در اطراف آن به دست می‌آید. این گروه‌های عاملی با گروه‌های عاملی مولکول هدف دارای برهمکنش غیر کووالانسی، کووالانسی برگشت‌پذیر، یا مخلوطی از هر دو است. هنگامی که بسپارش اتفاق بیافتد بسیاری با شبکه سه‌بعدی دارای سایت‌های پیوندی با سطح، سایز و ویژگی‌های مکمل مولکول هدف در توده بسپار تشکیل می‌شود [۲۰ و ۲۱].

بسپارهای قالب مولکولی (MIPs) به دلیل توانایی تشخیص و پایداری خود، قابل توجه هستند و کاربرد گسترده‌ای در جداسازی انتخابی آنالیت از ماتریس پیچیده پیدا کرده‌اند [۲۱]. آن‌ها به دلیل مزایای منحصربه‌فردی مانند آماده‌سازی آسان، طراحی قوی، انتخاب‌پذیری بالا، مقرون‌به‌صرفه بودن، در زمینه‌های

مختلفی مانند تحویل دارو [۲۲]، حسگرهای زیستی [۲۳] و روش‌های جداسازی [۲۴] مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

امروزه ادغام نانوذرات مغناطیسی با فناوری قالب مولکولی (MMIPs) توجه زیادی را به خود جلب کرده است. MIP از طریق اتصال به بستر مغناطیسی به بسپار قالب مولکولی مغناطیسی تبدیل می‌شوند [۲۶]. مزیت اصلی MMIPها جداسازی سریع، راحت، مقرون‌به‌صرفه و مستقیم آن‌ها از ماتریس‌های پیچیده با کمک یک میدان مغناطیسی خارجی است [۲۵]. علاوه بر این، MMIPها ویژگی‌های اولیه MIP، از جمله پایداری، انتخاب‌پذیری و گزینش‌پذیری بالا را حفظ می‌کنند [۲۷]. MMIPها برای استخراج ترکیبات مختلفی مانند رنگ سودان از پودر فلفل قرمز [۲۸]، سیتترین از نمونه‌های چاودار [۲۹]، تتراسایکلین در شیر [۳۰]، مورفین از مایعات بیولوژیکی [۲۷] و وانیلین در نمونه‌های غذایی [۳۱] استفاده شده است.

در این پژوهش، کامپوزیتی مبتنی بر بسپار قالب مولکولی (MIP) و نانوذرات سوپراپارامغناطیسی برای جداسازی گزینشی و با دقت بالای کروسین از گونه‌های دیگر تشکیل‌دهنده زعفران توسعه داده شد. در ابتدا نانوذرات Fe_3O_4 از روش هم‌رسوبی سنتز شد. در مرحله دوم، از تترائیل اورتو سیلیکات به‌منظور سیلان دار کردن سطح نانو ذرات آهن اکسید استفاده شد. بعد از پوشش‌دار کردن سطح نانوذرات مغناطیسی با SiO_2 ، سطح ماده مغناطیسی به دست آمده با «متاکریلوکسی پروپیل تری متوکسی سیلان» (γ -MPS) اصلاح و عامل‌دار شد. در مرحله سوم، عملیات بسپارش حول نانوذرات مغناطیسی در حضور «جنتیوبیوز» به‌عنوان مولکول الگو، «متا آکریلیک اسید» (MAA) به‌عنوان مونومر عاملی، «آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل» (AIBN) به‌عنوان آغازگر و «اتیلن گلیکول دی متاکریلات» (EGDMA) به‌عنوان عامل شبکه‌ساز انجام شد. در مرحله آخر، مولکول الگو از قالب بسپاری تهیه شده جدا و به این ترتیب جاذب بسپار قالب مولکولی مغناطیسی برای کاربرد در هدف مورد نظر آماده شد. علاوه بر این MNIP بدون الگو تهیه و با نمونه الگودار مقایسه شد. ریخت‌شناسی، ترکیب و خواص مغناطیسی MMIPs با استفاده از روش‌های مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. هم‌دمای جذب و سینتیک جذب بررسی شد و کاربرد MMIPs توسعه

یافته همراه با HPLC-UV برای استخراج گزینش پذیر کروسین از نمونه‌های حقیقی زعفران بررسی شد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- معرف‌ها و مواد مورد استفاده

مواد شیمیایی که برای سنتز نانوذرات بسیار قالب مولکولی مغناطیسی مورد استفاده قرار گرفتند شامل تترا اتیل اورتوسیلیکات (TEOS)، متا آکرلیک اسید (MAA)، اتیلن گلیکول دی متا اکریلات (EGDMA)، ۲،۲' -آزو بیس ایزوبوتیرونیتریل (AIBN)، ۳-متاکریلوکسی پروپیل تری متوکسی سیلان (MPS) بود که درجه خلوص آن‌ها تجزیه‌ای و از شرکت مرک بودند. استونیتریل و متانول با درجه خلوص مخصوص HPLC از شرکت مرک تهیه شد. کروسین از پویش سینا دارو و جنتیویوز از شرکت افرا کیمیا خریداری شد. تارترازین و سانست یلو با درجه تجزیه‌ای از شرکت Proquimac (اسپانیا) تهیه شد. جهت حذف عامل بازدارنده بسپارش، MAA تحت اتمسفر نیتروژن خالص‌سازی شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بوده و از شرکت مرک خریداری شد. محلول مادر از تارترازین و سانست یلو (۲۰/۰ میلی‌گرم در لیتر) به صورت روزانه با حل کردن مقدار مناسبی از آن‌ها در آب دیونیزه تهیه شد. نمونه زعفران از فروشگاه‌های محلی خریداری شد. در تمام مراحل آزمایشی از آب دیونیزه استفاده شد. تمام محلول‌های مورد استفاده برای HPLC قبل از استفاده از طریق فیلتر نایلونی ۰/۴۵ میکرومتر صاف شدند.

۲-۲- دستگاه‌ها و تجهیزات

الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) توسط پراش‌سنج پرتو ایکس مدل Advance-D8- AXF Bruker با منبع تابش $\lambda = \text{CuK}\alpha$ (1.5418 Å) به دست آمد. ریخت‌شناسی نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل VP LEO 1455 (آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز گرماوزنی (TGA) توسط دستگاه Bahr مدل STA503 تحت سرعت جریان ۲۰/۰ میلی‌لیتر در دقیقه و سرعت گرمایش ۱۰ درجه

سانتی‌گراد در دقیقه در حضور اتمسفر نیتروژن انجام شد. طیف‌سنجی مری- فرابنفش مدل Varian - CARY 100 UV-Visible، همراه با سل کوآرتز ۱ cm برای اندازه‌گیری جذب کروسین در ۴۴۰ نانومتر استفاده شد. یک سیستم HPLC KNAUER همراه با یک پمپ مدل EA4300، یک آشکارساز UV-Visib مدل E4310 و ستون C₁₈ برای اندازه‌گیری کروسین بکار رفت. برای مطالعه سطح لایه‌ها و تهیه تصاویر AFM از میکروسکوپ نیروی اتمی مدل ۷۴۱۰ ساخت شرکت مغناطیس کویر کاشان استفاده شد. دستگاه طیف‌سنج فرسرخ تبدیل فوریه (FT-IR) مدل WQF-510 برای ثبت طیف‌های فرسرخ بکار رفت. یک PH متر مدل ۶۹۱ ساخت شرکت مترهم برای تنظیم pH محلول‌ها استفاده شد.

۲-۳- تهیه نانوذرات مغناطیسی Fe₃O₄

نانوذرات مغناطیسی Fe₃O₄ با روش هم رسوبی طبق پژوهش قبلی [۳۲] با برخی اصلاحات تهیه شد. در ابتدا ۰/۰۲ میلی مول FeCl₃•6H₂O و ۰/۰۱ میلی مول FeCl₂•4H₂O توزین و به یک اردن منتقل شد. سپس ۸۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه و مخلوط در اتمسفر نیتروژن روی یک همزن مغناطیسی هم زده شد و تا دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر آمونیوم هیدروکسید (۲۸٪ درصد وزنی) به صورت قطره‌قطره طی مدت ۲۰ دقیقه در حضور گاز نیتروژن به محلول اضافه شد و رنگ محلول از نارنجی به سیاه تبدیل شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به شدت هم زده شد و سپس در دمای اتاق خنک شد. محصول سیاه‌رنگ (نانوذرات Fe₃O₄) توسط یک آهنربای قوی از محیط واکنش جمع‌آوری و چندین بار با آب مقطر و سپس با اتانول شسته شد. با کمک کاغذ pH از خنثی بودن pH محلول اطمینان حاصل شد. در نهایت، محصول تحت خلاء در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد.

۲-۴- تهیه بسیار قالب مولکولی مغناطیسی (MMIP) و MNIP

نانوذرات Fe₃O₄@SiO₂ با افزودن ۱ گرم Fe₃O₄، ۳ میلی‌لیتر آمونیاک و ۴ میلی‌لیتر TEOS در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۵۰ درصد سنتز شد [۲۸]. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق هم زده

طیف‌های FT-IR برای (a) Fe_3O_4 ، (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ ، (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ -MPS و (d) MMIPs در محدوده $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس شکل (a) ۱، نوار پهن در 3432 cm^{-1} به ارتعاش کششی O-H در گروه‌های هیدروکسیل تعلق دارد. نوارهای جذبی در 1629 cm^{-1} و 1504 cm^{-1} ناشی از ارتعاش خمشی متقارن و نامتقارن C=O است. نوار 875 cm^{-1} به ارتعاش کششی C-H مربوط است و نوار قوی زیر 700 cm^{-1} به حالت کششی Fe-O نسبت داده شد. نوار قوی در 941 cm^{-1} به ارتعاش کششی نامتقارن پیوندهای Si-O-Si برمی‌شود. پیک‌های جذب دیگری از جمله نوار ارتعاشی خمشی Si-O در 796 cm^{-1} و نوار ارتعاشی Si-O-H در حدود 941 cm^{-1} در نمونه $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ مشاهده شد (شکل ۱(b)). این نتایج تأیید کرد که SiO_2 بر روی سطح نانوذرات Fe_3O_4 پوشش داده شده است. پیک 1716 cm^{-1} در شکل (c) به ارتعاش کششی گروه‌های کربونیلی MPS نسبت داده می‌شود. از مقایسه MMIP ها با $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ -MPS، نتیجه می‌شود که نوار جذبی در محدوده $2956-2987 \text{ cm}^{-1}$ به ارتعاش کششی C-H آروماتیک MMIPs اختصاص دارد. همچنین، نوار C-H $1390/1 \text{ cm}^{-1}$ متعلق به ارتعاش خمشی متقارن گروه‌های متیل و نوار 1732 cm^{-1} متعلق به ارتعاش کششی C=O به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافته است (شکل ۱(d)) که نشان‌دهنده موفقیت‌آمیز بودن اسپاراش است.

ریخت‌شناسی نانوذرات از طریق SEM مورد بررسی قرار گرفت. شکل (a) ۲، ریخت‌شناسی سطح نانوذرات Fe_3O_4 را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نانوذرات Fe_3O_4 سنتز شده دارای ریخت‌شناسی بسیار یکنواخت با شکل تقریباً کروی و قطر متوسط ۱۴-۱۸ نانومتر هستند. SEM نانوذرات Fe_3O_4 پوشش داده شده با سیلیس (شکل ۲(b)) نشان داد که SiO_2 با موفقیت بر نانوذرات Fe_3O_4 به‌صورت یک سطح صاف با قطر متوسط ۱۴-۱۸ نانومتر پوشش داده شده است. شکل (c) ۲ و شکل (d) ۲ ریخت‌شناسی سطح $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ -MPS (قطر میانگین ۳۲-۳۸ نانومتر) و MMIP (قطر میانگین ۴۰-۵۰ نانومتر) را نشان می‌دهد. از شکل (a) ۲ به شکل (d) ۲ با کاهش نسبت Fe_3O_4 ، اندازه ذرات افزایش می‌یابد. نتایج مشابه در مورد

شد تا $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ تشکیل شد، سپس $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ سنتز شده با استفاده از یک آهنربای قوی از حلال جدا و چندین بار با آب شسته شد. پس از آن، این نانوذرات در ۱۰۰٪ میلی‌لیتر استیک اسید ۱۰ درصد و سپس ۱/۰ میلی‌لیتر MPS پراکنده شد. مخلوط به مدت ۵ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد هم زده شد و محصول به دست آمده با استفاده از آهنربای قوی از حلال جدا و چندین بار با آب شسته شد و در آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد.

بسیار قالب مولکولی اصلاح‌شده (MMIPs) بر اساس روشی که قبلاً منتشر شده بود [۱۷] با برخی اصلاحات تهیه شد. برای سنتز MMIPs، ۰/۵ میلی مول جنتیوبیوز به‌عنوان مولکول الگو و ۴/۰ میلی مول متا اکریل آمید به‌عنوان مونومر عاملی استفاده شد. مخلوط در ۲۰ میلی‌لیتر متانول حل و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق به هم زده شد. سپس، ۲۰/۰ میلی مول EGDMA و ۰/۱ میلی مول AIBN به‌عنوان آغازگر به مخلوط اضافه شد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با گاز نیتروژن، اکسیژن زدایی شد و سپس به مدت ۱ ساعت هم زده شد تا نانو ذرات و AIBN به‌خوبی پخش شوند. پس از آن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت حرارت داده شد تا اسپاراش رادیکالی کامل شود. MMIP های به دست آمده چندین بار با مخلوط متانول-استیک اسید (۷/۷ v/v) و سپس متانول شسته شدند و ذرات اسپار در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

برای حذف الگوی جنتیوبیوز از MMIPs، یک گرم از اسپار در دمای اتاق در ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول- استیک اسید (۷/۷ v/v) به مدت ۱ ساعت تکان داده شد. این فرآیند شستشو شش بار و هر بار با ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط تازه متانول- استیک اسید تکرار شد. کارایی حذف قالب با آنالیز محلول‌های شستشو با استفاده از طیف‌سنجی مرسی-فرابنفش در هر ساعت تأیید شد. برای مقایسه، یک اسپار کنترل (اسپارهای مغناطیسی بدون الگو (MIPs))، با استفاده از همان روش اما بدون افزودن مولکول الگو تهیه شد.

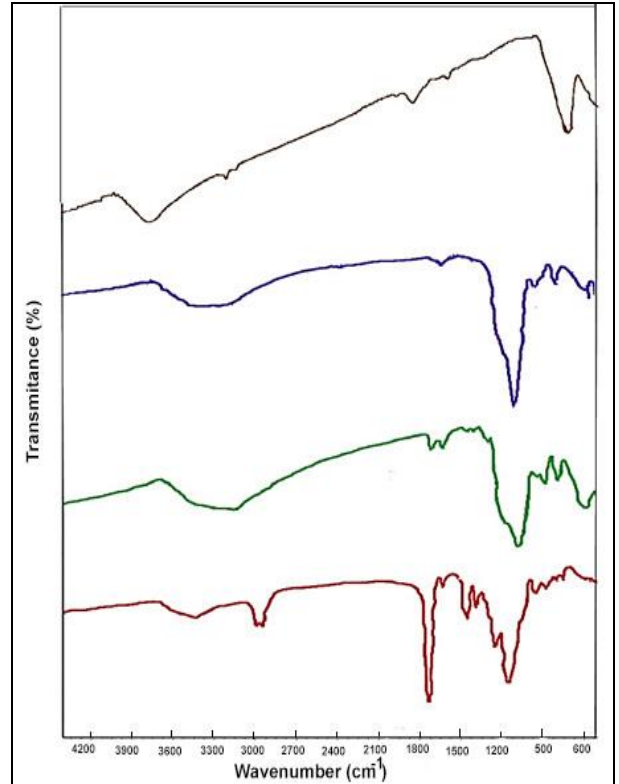
۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه‌یابی

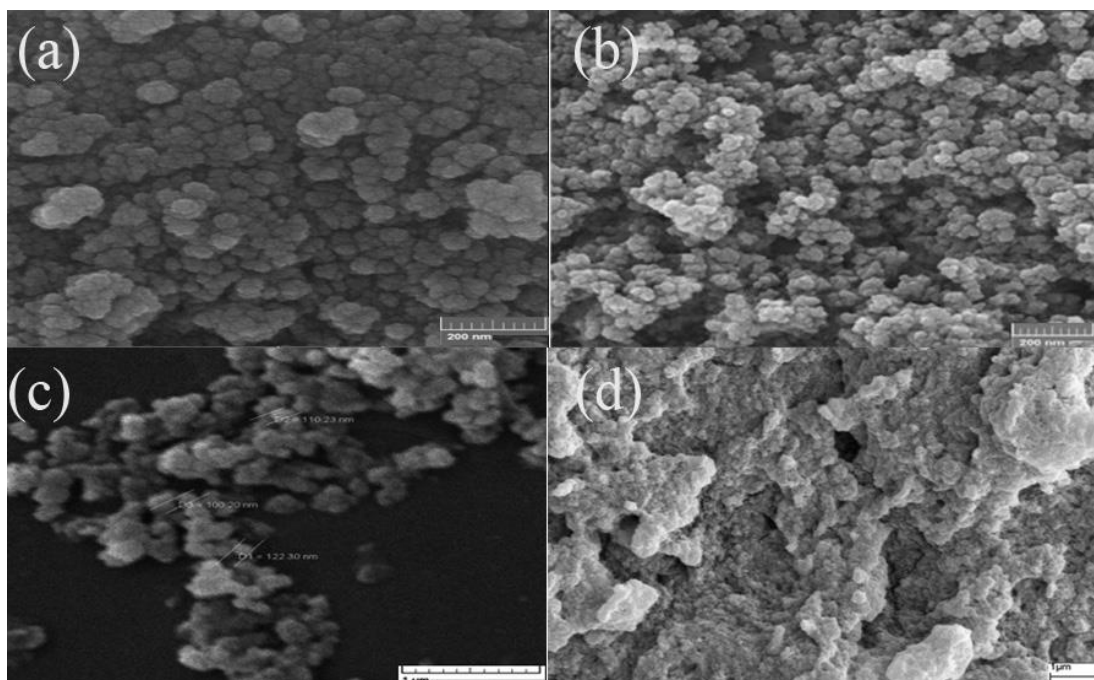
افزایش اندازه ذرات با کاهش غلظت نانوذرات Fe_3O_4 گزارش شده است [۳۳، ۳۴].

شکل ۳، الگوهای پراش پرتو ایکس (XRD) نانوذرات Fe_3O_4 را نشان می‌دهد. این چهار گونه، شش پیک مشخصه برای Fe_3O_4 در مقادیر 2θ برابر با $30/38$ ، $30/58$ ، $43/14$ ، $53/48$ ، $58/08$ و $62/66$ درجه به نمایش گذاشتند. انطباق این الگو با الگوی مرجع، ساختار مکعبی نانوذرات را نشان داد. این مقادیر به خوبی با داده‌های پراش JCPDS (کارت JCPDS: 19-629) برای مگنتیت [۳۵] مطابقت دارد. موقعیت پیک‌ها در طول فرآیند سنتز یکسان باقی مانده است که نشان می‌دهد ساختار کریستالی مگنتیت حفظ شده است [۳۶].

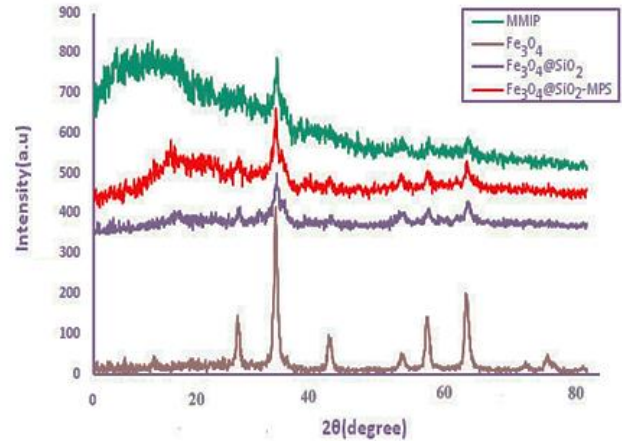
افزون بر پیک‌های فوق، سه نمونه پوشش‌دار با سیلیس، یک پیک پهن در $2\theta = 15-25$ نشان دادند که به سیلیس آمورف نسبت داده می‌شود. همچنین، شدت پیک‌های منعکس‌کننده فاز مگنتیت در نمونه‌های پوشش داده شده با سیلیس کاهش یافت. مشاهدات مشابهی گزارش شده است [۳۷]. با استفاده از معادله شرر [۳۸]، اندازه ذرات کاتالیست در محدوده $16/17$ نانومتر تخمین زده شد.



شکل ۱: طیف FT-IR نمونه‌های (a) $Fe_3O_4@SiO_2$ (b) Fe_3O_4 (c) $Fe_3O_4@SiO_2-MPS$ و (d) MMIPs

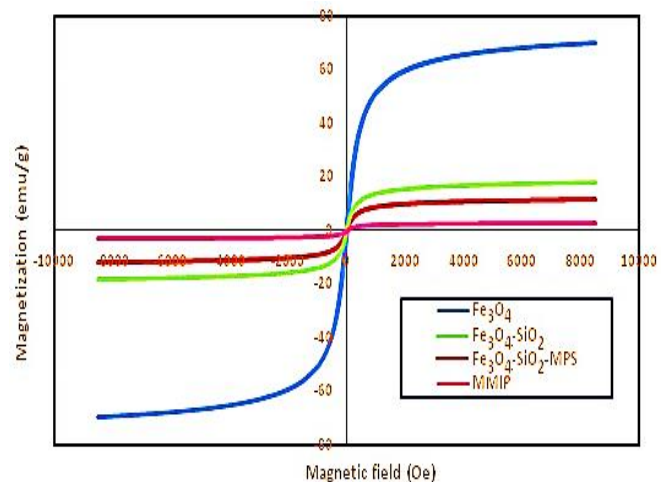


شکل ۲: تصاویر SEM نمونه‌های (a) Fe_3O_4 (b) $Fe_3O_4@SiO_2$ (c) $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS (d) و MMIPs



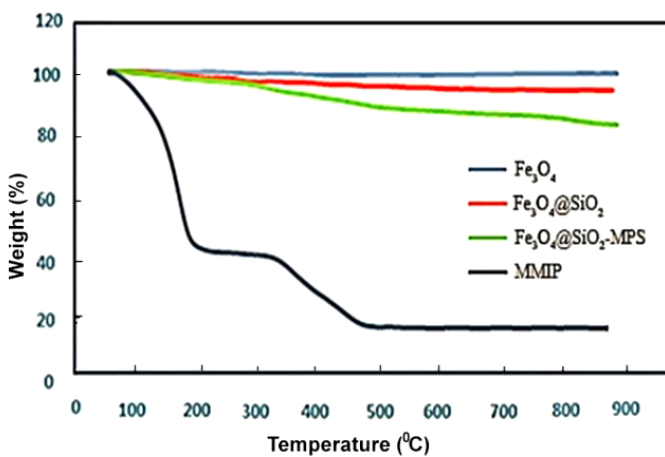
شکل ۳: الگوی XRD نمونه‌های نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4@SiO_2$ ، Fe_3O_4 و MMIPs

شکل ۴، منحنی‌های مغناطیسی ثبت شده توسط یک مغناطیس‌سنج نمونه ارتعاشی (VSM) مربوط به Fe_3O_4 ، $Fe_3O_4@SiO_2$ ، $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS و MMIP را نشان می‌دهد. همه نمونه‌ها حلقه‌های پسماند را بدون مغناطیسیتته باقی‌مانده نشان دادند که به رفتار سوپرپارامغناطیسی اشاره دارند [۳۹]. مقادیر اشباع مغناطیسی برای Fe_3O_4 ، $Fe_3O_4@SiO_2$ ، $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS و MMIP به ترتیب $۷/۹$ ، $۵/۱۵$ ، $۳/۷۰$ و $۲/۰$ emu/g بود. کاهش مقدار اشباع مغناطیسی به دلیل بسپارش و پوشش نانوذرات است؛ بنابراین، نانوذرات می‌توانند با استفاده از یک میدان مغناطیسی با یک آهن‌ربا به راحتی از محلول‌ها جدا شوند.



شکل ۴: منحنی‌های VSM نمونه‌های نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4@SiO_2$ ، Fe_3O_4 و MMIPs

پایداری حرارتی یکی از ویژگی‌های مهم بسپارها در مواجهه با دماهای مختلف عملیاتی است. شکل ۵ منحنی‌های TGA را برای Fe_3O_4 ، $Fe_3O_4@SiO_2$ ، $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS و MMIP در محدوده ۰ تا ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود Fe_3O_4 ، $Fe_3O_4@SiO_2$ و $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS پایداری حرارتی عالی با کاهش جزئی حدود ۶ درصد را در محدوده دمای اتاق تا ۸۰۰ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. کاهش وزن Fe_3O_4 ، $Fe_3O_4@SiO_2$ و $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS در دمای زیر ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر به از دست دادن آب جذب سطحی شده و تبخیر باقیمانده اتانول در لایه نمونه نسبت داده می‌شود [۳۶]. کاهش وزن $Fe_3O_4@SiO_2$ و $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS در دمای ۴۰۰-۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، ممکن است به دلیل تجزیه مواد آلی باشد. قابل ذکر است که میزان کاهش وزن $Fe_3O_4@SiO_2$ -MPS در دمای حدود ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از $Fe_3O_4@SiO_2$ است که وجود MPS را اثبات می‌کند. این شکل تأیید می‌کند که MMIPها از ۳۰۰-۵۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش وزن سریع دارند و تقریباً ۸۵/۱٪ کاهش وزن تجربه کردند که این کاهش وزن را می‌توان به تجزیه MMIPها نسبت داد.



شکل ۵: منحنی‌های TGA نمونه‌های نانوذرات مغناطیسی $Fe_3O_4@SiO_2$ ، Fe_3O_4 و MMIPs

۳-۲- بهینه‌سازی شرایط جذب و واجذب

برای دستیابی به بالاترین راندمان استخراج، چندین پارامتر از جمله pH نمونه، مقدار جاذب، زمان استخراج، حلال استخراج و شرایط واجذب (حلال واجذب و زمان واجذب) بررسی شد. هنگام تغییر یک پارامتر، سایر پارامترها در مقدار بهینه خود ثابت نگه داشته شد. برای مرحله استخراج، پس از افزودن جاذب، هر محلول به مدت ۱ ساعت روی همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس ذرات جاذب با آهنربا جدا شد. سپس محلول فوقانی (۵ دقیقه با سرعت ثابت ۵۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد و باقیمانده جاذب حذف شد. در نهایت، جذب محلول فوقانی با استفاده از طیف‌سنج مرئی-فرابنفش در طول موج مخصوص کروسیین (۴۴۰ نانومتر) اندازه‌گیری و با جذب اولیه مقایسه شد. برای واجذب از اسید استیک و متانول به نسبت ۲۰:۸۰ استفاده شد. حجم ثابتی از این مخلوط حلال به هر یک از محلول‌های فوق اضافه شد و روی همزن مغناطیسی به مدت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه هم زده شد و پس از جداسازی جاذب با آهنربای قوی، از محلول بالایی برای خواندن مقدار واجذب در طول موج ۴۴۰ نانومتر استفاده شد.

مقدار جاذب

برای دستیابی به راندمان استخراج بالا، مقادیر مختلف MIPs برای استخراج کروسیین بکار رفت. ۵۰ میلی‌لیتر محلول کروسیین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و مقادیر مختلف MIP (۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم) استفاده شد. درصد جذب کروسیین با افزایش مقدار MMIP از ۰ تا ۳۰ میلی‌گرم به شدت افزایش یافت. با افزایش مقدار MIP از ۳۰ به ۱۰۰ میلی‌گرم، مساحت پیک تنها اندکی افزایش یافت (شکل ۶(a)). به‌منظور افزایش حساسیت و کاهش میزان مصرف MIPs، در مطالعات بعدی از ۵۰ میلی‌گرم MIP برای محلول 20 mgL^{-1} کروسیین استفاده شد. در حضور MNIP هیچ تغییرات قابل توجهی مشاهده نشد.

تأثیر غلظت کروسیین

برای بررسی رابطه بین جذب و غلظت کروسیین، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کروسیین تهیه شد. به هر محلول ۵۰ میلی‌گرم جاذب

اضافه شد. همان‌طور که در شکل ۶(b) نشان داده شده است، با افزایش غلظت کروسیین، جذب کروسیین کاهش می‌یابد. ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان غلظت بهینه برای کروسیین انتخاب شد.

تأثیر نوع حلال استخراج

برای تعیین اثربخشی نوع حلال استخراج بر روی میزان استخراج محلول ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر کروسیین، حلال‌های استخراج مختلف از جمله آب مقطر، متانول و اتانول ۹۶ درصد بررسی شد. نتایج آزمایش نشان داد که کروسیین به‌راحتی در آب حل شده و با راندمان تقریباً ۹۸٪ استخراج می‌شود. در حضور گرما، راندمان استخراج متوسط کروسیین در متانول و اتانول تقریباً ۱۰٪ است؛ بنابراین آب مقطر به‌عنوان حلال استخراج بهینه برای کروسیین انتخاب شد.

زمان جذب و واجذب

نمودار زمان جذب و واجذب در فواصل زمانی مختلف (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه) بررسی شد. در مراحل اولیه، به دلیل تداخل زیاد جاذب و در دسترس بودن مکان‌هایی برای جذب در ساختار بسیاری، جذب سریع بود (شکل ۷)؛ اما با گذشت ۲۰ دقیقه، حفره‌های سطحی بسیار قالب مولکولی پر شد و افزایش بیشتر زمان منجر به بهبود جذب نشد؛ بنابراین، زمان استخراج در ۲۰ دقیقه تنظیم شد.

برای زمان واجذب، از اسید استیک و متانول (نسبت ۷/۷ v/v) (۲۰:۸۰) به‌عنوان حلال واجذب استفاده شد. حجم مشخصی از این حلال به مخلوط اضافه شد و روی یک همزن مغناطیسی با سرعت ثابت در زمان ۵-۶۰ دقیقه قرار گرفت. پس از جداسازی جاذب با آهنربای قوی، از محلول فوقانی برای تعیین راندمان واجذب در طول موج ۴۴۰ نانومتر استفاده شد. در نهایت، زمان دفع ۱۵ دقیقه به‌عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

بررسی تأثیر pH واجذب

شیمی کروسیین و خواص گروه‌های عاملی pH محلول تحت تأثیر قرار می‌گیرد. برهمکنش الکترواستاتیکی و پیوند هیدروژنی بین کروسیین و قالب MMIP از طریق pH محلول تعیین می‌شود. برای تعیین حداکثر جداسازی کروسیین، pH بهینه محلول آب-استیک اسید مورد استفاده بررسی شد. pH با استفاده از NaOH

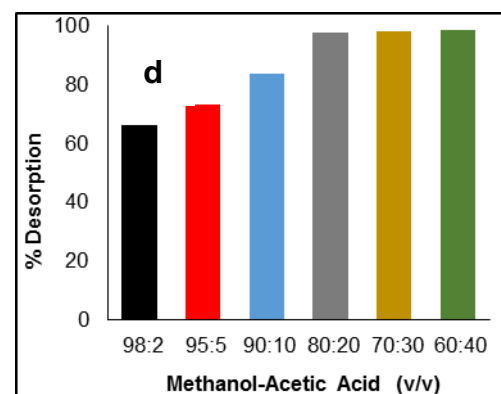
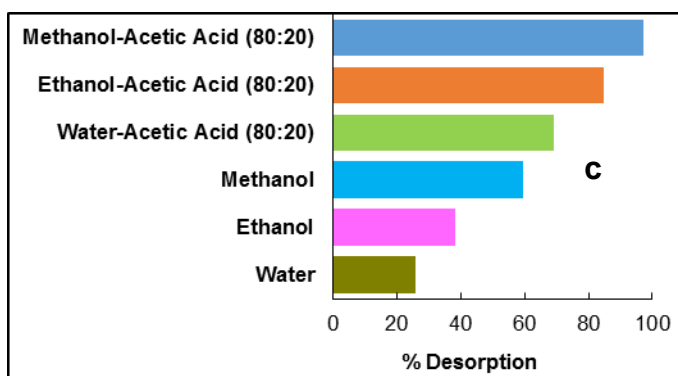
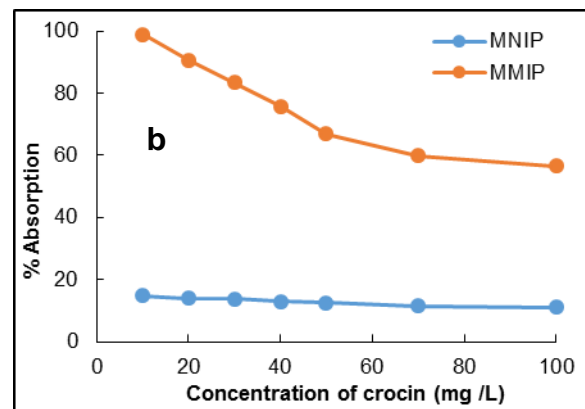
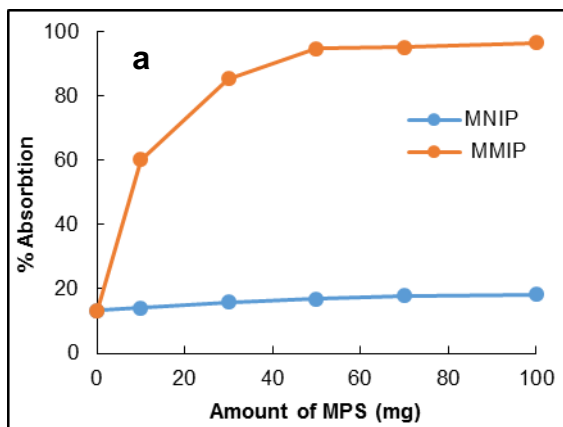
متانول-استیک اسید به عنوان حلال بهینه واجذب برای کروسیین انتخاب شد.

همچنین اسیدیته حلال واجذب مورد بررسی شد و حلال بهینه متانول-استیک اسید در نسبت‌های ۹۸:۲، ۹۵:۵، ۹۰:۱۰، ۸۰:۲۰، ۷۰:۳۰ و ۶۰:۴۰ مورد آزمایش قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۶(d) مشاهده می‌شود، افزایش اسیدیته حلال باعث بهبود واجذب کروسیین می‌شود، زیرا استیک اسید، اتصال مولکول الگو به قالب را کاهش می‌دهد. با توجه به شباهت در درصد واجذب بین نسبت‌های ۸۰:۲۰، ۷۰:۳۰ و ۶۰:۴۰ V/V، نسبت ۸۰:۲۰ متانول-استیک اسید به عنوان حلال بهینه انتخاب شد.

در محدوده pH=2-10 تنظیم شد. با افزایش pH، راندمان واجذب کاهش یافت، بنابراین pH = 2 به عنوان pH بهینه برای واجذب انتخاب شد.

حلال واجذب

انتخاب حلال واجذب و حجم بهینه آن برای دستیابی به راندمان واجذب بالا بسیار مهم است. در این مطالعه، شش حلال، از جمله آب، اتانول، متانول، آب-استیک اسید، اتانول-استیک اسید و متانول-استیک اسید برای واجذب کروسیین از MMIP آزمایش شد (شکل ۶(c)). نتایج نشان داد که حلال متانول-استیک اسید نسبت به پنج حلال دیگر عملکرد بهتری داشت؛ بنابراین،



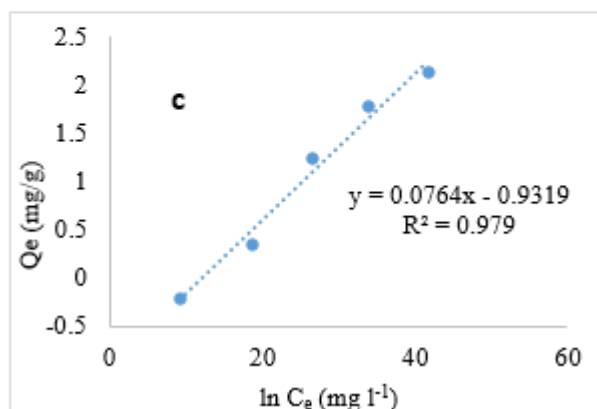
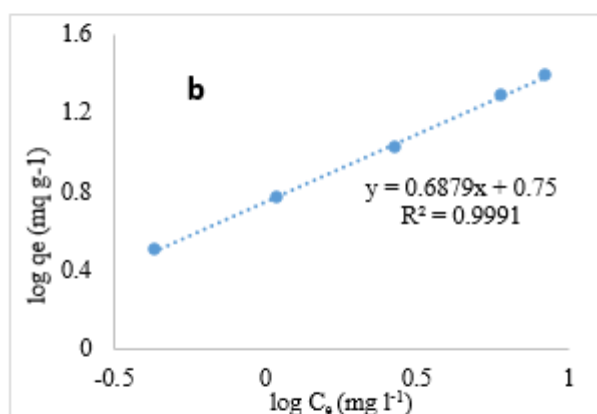
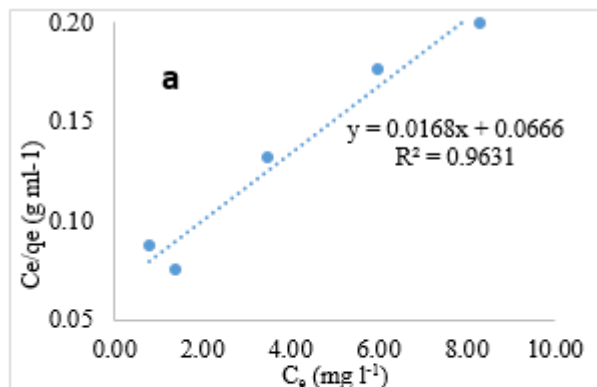
شکل ۶: اثر مقدار جاذب بر استخراج (a)؛ اثر غلظت کروسیین بر جذب کروسیین در حضور ۵۰/۰ میلی گرم MNIP و MMIP (b)؛ اثر نوع حلال واجذب بر واجذب (c)؛ اثر نسبت حلال واجذب بر واجذب (d).

در آن همه سایت‌ها برای تشکیل یک سطح همگن معادل هستند. پس از اینکه یک مولکول یک سایت را اشغال کرد، جذب اشباع ایجاد می‌شود و دیگر جذب اضافی در آن سایت امکان‌پذیر نیست [۴۱]. مدل فروندلیچ (معادله (۲)) فرض می‌کند که ساختار همگنی با جذب چندلایه‌ای قابل برگشت آنالیت به جاذب وجود

۳-۳- ایزوترم جذب

در این پژوهش از مدل‌های لانگمویر، فروندلیچ و تمکین برای تعیین مدلی با بهترین برازش داده‌های تعادلی استفاده شد [۴۰]. مدل لانگمویر (معادله (۱)) جذب تک لایه را در نظر می‌گیرد که

جدول ۱، پارامترهای ثابت به دست آمده از معادلات لانگمویر، فروندلیچ و تمکین را برای ۲۰٪ میلی گرم بر لیتر کروسیل در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و $\text{pH} = 2$ نشان می‌دهد.



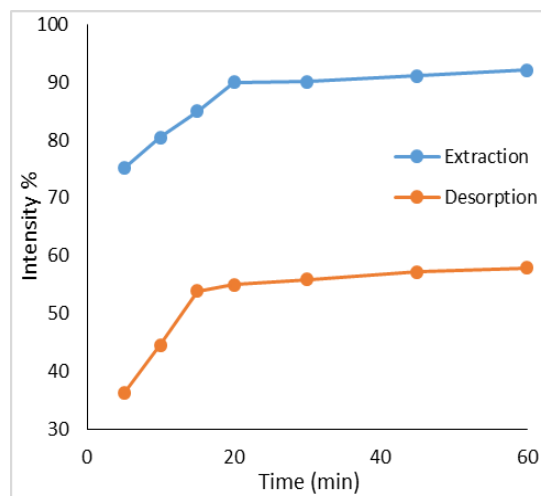
دارد [۴۱،۴۲]. مدل تمکین (معادله (۳)) فرض می‌کند که گرمای جذب که تابعی از دما است، برای تمام مولکول‌های لایه به‌جای لگاریتمی، به‌صورت خطی کاهش می‌یابد. این مدل غلظت‌های بسیار کم و بسیار زیاد را نادیده می‌گیرد [۴۲].

$$C_e/Q_e = C_e/Q_{\max} + 1/(K_b (Q_{\max})) \quad (1)$$

$$\text{Log } Q_e = \text{log } K_c + 1/n \text{ log } C_e \quad (2)$$

$$Q_e = A \text{ log } K_T + A \text{ log } C_e \quad (3)$$

در این معادلات، Q_{\max} (mg g^{-1})، Q_e (mg g^{-1})، C_e (mg L^{-1})، K_b و K_c (mg g^{-1})، $1/n$ و A به ترتیب نشان‌دهنده غلظت تعادلی، مقدار کروسیل جذب شده در شرایط تعادل، حداکثر ظرفیت جذب، ثابت تعادل لانگمویر، ثابت تعادل جذب و معیاری از میزان تبادل (ناهمگنی سطحی) [۴۳]، ثابت اتصال تمکین در تعادل و ثابت تمکین به ترتیب مربوط به گرمای جذب [۴۴] است. ثابت‌های فروندلیچ، K_C و n به ترتیب ظرفیت و شدت جذب را نشان می‌دهند.



شکل ۲: تأثیر زمان بر درصد جذب کروسیل در حضور ۰/۰۵ گرم MMIP

شکل ۱: منحنی‌های ایزوترم لانگمویر (a)؛ فروندلیچ (b) و تمکین (c) برای جذب کروسیل بر روی MMIP (دما 25°C و زمان 15 min)

نمودار لانگمویر (C_e/Q_e در مقابل C_e)، فروندلیچ ($\text{log } Q_e$ در مقابل $\text{log } C_e$) و تمکین (Q_e در مقابل $\text{log } C_e$) (شکل ۱) خطی بوده و معادلات آن‌ها به ترتیب به صورت زیر است:

$$y = 0.0168x + 0.0666 \quad R^2 = 0.963$$

$$y = 0.6879x + 0.75 \quad R^2 = 0.999$$

$$y = 0.0764x - 0.9319 \quad R^2 = 0.979$$

ضریب همبستگی لانگمویر در دمای اتاق ۰/۹۶۳ به دست آمد و بهترین مدل برای توصیف جذب کروسیل نیست. مدل فروندلیچ، با مقدار R^2 برابر با ۰/۹۹۹ بهترین توصیف برای داده‌های تعادلی جذب کروسیل است و نشان می‌دهد که MMIP به‌عنوان یک

$$Q_t = K_{id} t^{1/2} + I \quad (6)$$

در اینجا، I (mg g^{-1}) و K_{id} ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1/2}$) به ترتیب ضخامت لایه مرزی و ثابت سرعت انتشار درون ذره‌ای را نشان می‌دهند.

نمودارهای حاصل از مدل‌های سینتیکی مختلف (شکل ۹) و برازش داده‌های جذب کروسین درون $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ نشان داد که جذب کروسین به دلیل داشتن ضریب همبستگی بالاتر (R^2) بهترین تطابق را با مدل شبه مرتبه دوم دارد. افزون بر این، مقدار Q_e محاسبه شده برای مدل شبه مرتبه دوم نزدیک به مقدار تجربی بود. این نتیجه به دلیل ضریب همبستگی بالاتر (R^2) و نزدیک بودن مقدار Q محاسبه شده به مقدار تجربی بود که نشان می‌دهد مرحله محدودکننده سرعت ممکن است به دلیل جذب شیمیایی باشد [۴۰]. نتایج مشابهی در مقالات گزارش شده است [۴۶، ۴۹]. داده‌های حاصل در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲: پارامترهای مدل سینتیکی شبه مرتبه اول، دوم و نفوذ بین ذره‌ای برای

جذب کروسین در MMIP در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و $\text{pH} = 2$			
kinetic models	C_i (mg L^{-1})	Parameters	Value
Pseudo-first-order kinetic	10	Q_e (mg g^{-1})	1.33
		K_1 (min^{-1})	2.25
		R^2	0.984
	20	Q_e (mg g^{-1})	1.16
		K_1 (min^{-1})	0.57
		R^2	0.991
	50	Q_e (mg g^{-1})	1.04
		K_1 (min^{-1})	0.26
		R^2	0.998
Pseudo-second-order kinetic	10	Q_e (mg g^{-1})	8.33
		K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	0.013
		R^2	0.996
	20	Q_e (mg g^{-1})	15.62
		K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	0.012
		R^2	0.999
	50	Q_e (mg g^{-1})	47.61
		K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	0.003
		R^2	0.999
Intraparticle diffusion	10	I (mg g^{-1})	18.95
		K_{id} ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1/2}$)	3.52
		R^2	0.879
	20	I (mg g^{-1})	7.70
		K_{id} ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1/2}$)	0.97
		R^2	0.857
	50	I (mg g^{-1})	2.17
		K_{id} ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1/2}$)	0.70
		R^2	0.932

جاذب ناهمگن چندلایه با مقدار K_F برابر 0.75 با میلی‌گرم در گرم است. مقدار n برابر با $1/45$ برای MMIP نشان‌دهنده توزیع همگن سایت‌های فعال است. MMIPها جذب قابل توجهی برای کروسین در مقایسه با MNIPS نشان می‌دهند که مطابق با مطالعات پیشین است [۴۵، ۴۶].

جدول ۱: پارامترها و ضرایب همبستگی مدل‌های ایزوترم جذب کروسین در MMIP

در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و $\text{pH} = 2$		
Isotherm and kinetic models	Parameters	Value
Langmuir	Q_{\max} (mg g^{-1})	4.125
	K_b (L mg^{-1})	0.066
	R^2	0.963
Freundlich	K_c (mg g^{-1})	0.75
	n	1.45
	R^2	0.999
Temkin	K_T (l g^{-1})	0.001
	b_T (kJ mol^{-1})	32.5
	R^2	0.979

۳-۴- سینتیک جذب

مدل‌های سینتیکی به‌طور معمول برای تعیین ماهیت سیستم جذب و شناسایی مرحله کنترل سرعت، مانند واکنش شیمیایی یا انتقال جرم بکار می‌روند [۴۰]. در پژوهش حاضر، سینتیک جذب کروسین روی $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-MPS}$ با استفاده از سه مدل سینتیکی: شبه مرتبه اول، شبه مرتبه دوم و انتشار درون ذره‌ای بررسی شد. مدل سینتیکی شبه مرتبه اول (معادله ۴) نشان می‌دهد که اتصال جذب‌کننده به سایت‌های جذب، با تعداد سایت‌های آزاد و مقدار جذب‌کننده متناسب است؛ اما مدل سینتیکی شبه مرتبه دوم (معادله ۵) نشان می‌دهد که جذب شیمیایی بین مولکول‌های جذب‌کننده و جاذب رخ می‌دهد [۴۷].

$$\ln(Q_e - Q_t) / Q_e = -k_1 t \quad (4)$$

$$t/Q_t = 1/K_2 Q_e^2 + t/Q_e \quad (5)$$

که در آن Q و Q_t (mg g^{-1}) به ترتیب نشان‌دهنده مقدار جذب شده در حالت تعادل و در زمان معین t است. ثابت‌های سرعت شبه مرتبه اول و شبه مرتبه دوم به ترتیب برابر با k_1 (min^{-1}) و k_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) به دست آمد.

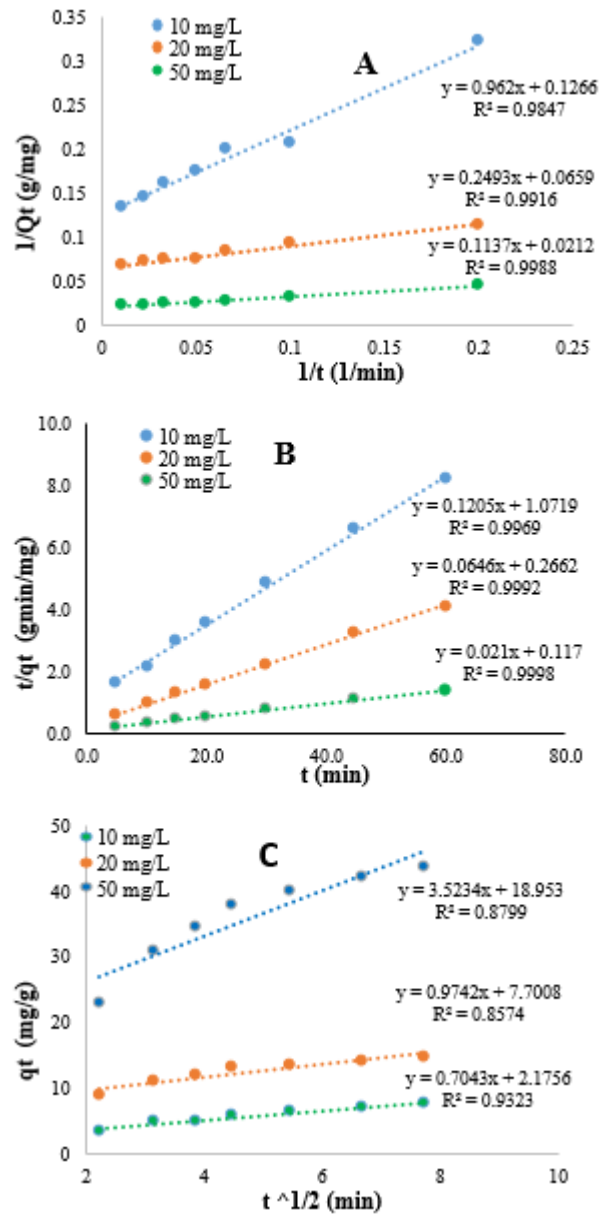
مدل انتشار درون ذره‌ای (معادله ۶) نشان می‌دهد که فرآیند جذب توسط سرعت انتقال جرم به منافذ و سطوح داخلی جاذب محدود می‌شود. این مدل به صورت زیر بیان می‌شود [۴۸]:

کروسین با معادله $A = 0.032C + 0.011$ خطی بود که در آن نشان‌دهنده جذب کروسین و C نشان‌دهنده غلظت کروسین بر حسب میلی‌گرم در لیتر است. ضریب همبستگی R^2 برابر با 0.999 به دست آمد. حد تشخیص (LOD) و حد کمی سنجی (LOQ) به ترتیب 0.014 و 0.10 میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. انحراف استاندارد نسبی ($\%RSD$) در غلظت $20/0$ میلی‌گرم در لیتر کروسین ($n=6$) برابر با 26% بود.

۳-۶- کاربرد روش توسعه یافته برای استخراج کروسین

گزینش پذیری جاذب‌های سنتز شده (MMIPs و MNIPs) با استفاده از روش توسعه یافته برای استخراج و تعیین کروسین ($20/0$ میلی‌گرم در لیتر) و رنگ‌های مشابه زعفران با روش اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش ارزیابی شد. شکل ۱۰ توانایی جذب MMIPs و MNIPs برای کروسین در یک نمونه حقیقی حاوی تارتازین و سانست یلو که طیف رنگی آن‌ها شبیه زعفران است را نشان می‌دهد. آزمایش‌ها با استفاده از $50/0$ میلی‌گرم جاذب در شرایط بهینه برای اندازه‌گیری درصد جذب مورد بررسی قرار گرفت. جذب بالای کروسین در زعفران نسبت به دو رنگ دیگر نشان‌دهنده گزینش پذیری MMIP نسبت به سایر مولکول‌های رنگی است. در مقابل، MNIP هیچ تغییر قابل توجهی در جذب این سه ترکیب نشان نداد؛ بنابراین، این روش برای تعیین کروسین در نمونه‌های حقیقی مناسب است.

علاوه بر روش اسپکتروفتومتری UV-Vis، اندازه‌گیری HPLC برای ارزیابی عملکرد انتخابی جاذب در نمونه‌های حقیقی، در شرایط بهینه (فاز متحرک: آب-متانول-اسید استیک v/v) $1:50:49$ ، طول موج ماکزیمم: 440 نانومتر؛ حجم تزریق: 20 میکرو لیتر؛ سرعت جریان فاز متحرک $1/0$ میلی‌لیتر در دقیقه) انجام شد. پس از تزریق 20 میکرو لیتر از محلول استاندارد با غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر نمونه زعفران و همان حجم از محلول 100 میلی‌گرم بر لیتر محلول زعفران تیمار شده با MMIP و سپس شستشو با فاز متحرک، راندمان جذب MMIPs حدود 75% بود (شکل ۱۱). همان‌طور که در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود، سیگنال سایر ترکیبات در نمونه زعفران بدون تغییر باقی ماند، درحالی‌که سیگنال کروسین کاهش یافت که



شکل ۹: مدل‌های سینتیک مرتبه اول (a)؛ سینتیک شبه مرتبه دوم (b) و سینتیک انتشار درون ذره‌ای (c) جذب کروسین در MMIP. شرایط: $pH = 2$ ، غلظت اولیه کروسین $20/0$ میلی‌گرم در لیتر، مقدار جاذب $50/0$ میلی‌گرم در لیتر

۵-۳- ارقام شایستگی

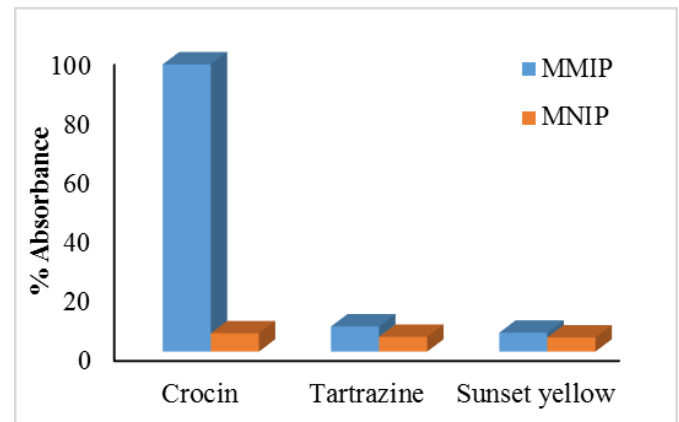
پس از بهینه‌سازی، روش توسعه یافته برای محدوده خطی، ضریب همبستگی (R^2)، دقت، حد تشخیص (LOD) و حد کمی سنجی (LOQ) با استفاده از $50/0$ میلی‌لیتر از نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت. نمودار کالیبراسیون در محدوده $50/0 - 0/5$ $mg L^{-1}$

قرار گرفت. MMIP توسعه یافته با موفقیت برای استخراج کروسین در زعفران بکار رفت؛ بنابراین، این روش، پتانسیل عالی برای استخراج و تعیین کروسین در نمونه‌های حقیقی با ماتریس پیچیده دارد.

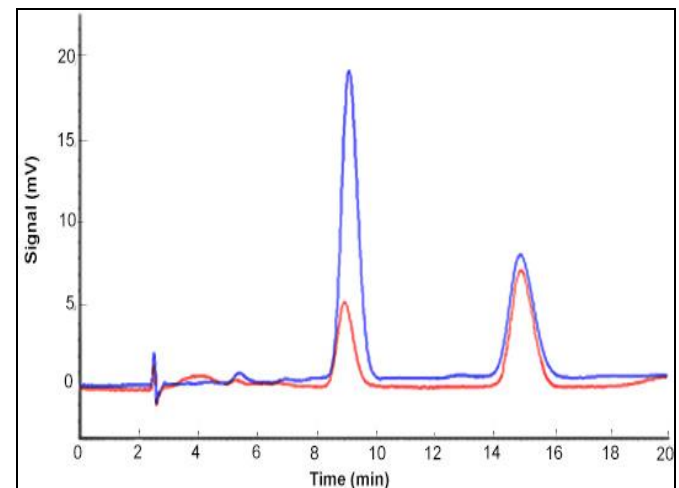
مراجع

- [1] Esmaeelian M, Jahani M, Einafshar S, Feizy J. Optimization of experimental parameters in subcritical water extraction of bioactive constituents from the saffron (*Crocus sativus* L.) corm based on response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2020, 14(4):1822-32. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00429-w>
- [2] Dabbagh Moghaddam A, Garavand F, Razavi SH, Dini Talatappe H. Production of saffron-based probiotic beverage by lactic acid bacteria. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018, 12:2708-17. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9888-z>
- [3] Salehi A, Shariatifar N, Pirhadi M, Zeinali T. An overview on different detection methods of saffron (*Crocus sativus* L.) adulterants. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022, 16(6):4996-5006. [doi:10.1007/s11694-022-01586-w](https://doi.org/10.1007/s11694-022-01586-w)
- [4] Rajabi H, Jafari SM, Feizi J, Ghorbani M, Mohajeri SA. Surface-decorated graphene oxide sheets with nanoparticles of chitosan-Arabic gum for the separation of bioactive compounds: A case study for adsorption of crocin from saffron extract. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021, 186:1-2. [doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.07.037](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.037)
- [5] Zhang A, Shen Y, Cen M, Hong X, Shao Q, Chen Y, Zheng B. Polysaccharide and crocin contents, and antioxidant activity of saffron from different origins. *Industrial Crops and Products*. 2019, 133:111-7. [doi:10.1016/j.indcrop.2019.03.009](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.009)
- [6] Moradi S, Kafi M, Aliniaiefard S, Moosavi-Nezhad M, Pedersen C, Gruda NS, Salami SA. Monochromatic blue light enhances crocin and picrocrocin content by upregulating the expression of underlying biosynthetic pathway genes in saffron

تأیید می‌کند که جاذب به‌طور انتخابی کروسین را جذب کرده است.



شکل ۱۰: بررسی گزینش‌پذیری MMIP و MNIP نسبت به کروسین در حضور تارترازین و سانست یلو



شکل ۱۱: کروماتوگرام نمونه حقیقی زعفران، قبل از جذب (آبی) بعد از جذب (قرمز) در حضور ۰/۰۵ گرم جاذب MMIP در شرایط بهینه

۴- نتیجه‌گیری

در اینجا روشی ساده و حساس برای استخراج انتخابی و اندازه‌گیری کروسین در زعفران ابداع شد. این تکنیک بر اساس اصلاح سطح نانوذرات $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ با استفاده از روش بسپاری قالب مولکولی بود. تعیین کروسین با استفاده از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شد. نانو جاذب سنتز شده توسط آنالیزهای FT-IR، SEM، VSM و XRD مورد شناسایی کامل قرار گرفت. ایزوترم‌های جذب، سینتیک جذب و ترمودینامیک آن با استفاده از مدل‌های مناسب برای به دست آوردن درک جامعی از فرآیند مورد بررسی

- HPLC analysis in the characterization of saffron (*Crocus sativus* L.) from Italy and Iran. *Food chemistry*. 2016, 192:75-81. doi:10.1016/j.foodchem.2015.06.090
- [14] Petrakis EA, Cagliani LR, Polissiou MG, Consonni R. Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant adulterants by ¹H NMR metabolite fingerprinting. *Food Chemistry*. 2015, 173:890-6. doi:10.1016/j.foodchem.2014.10.107
- [15] Sereshti H, Heidari R, Samadi S. Determination of volatile components of saffron by optimised ultrasound-assisted extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Food chemistry*. 2014, 143:499-505. doi:10.1016/j.foodchem.2013.08.024
- [16] Jarukas L, Vitkevicius K, Mykhailenko O, Bezruk I, Georgiyants V, Ivanauskas L. Effective isolation of picrocrocin and crocins from saffron: from HPTLC to working standard obtaining. *Molecules*. 2022, 27(13):4286. <https://doi.org/10.3390/molecules27134286>
- [17] Mohajeri SA, Hosseinzadeh H, Keyhanfar F, Aghamohammadian J. Extraction of crocin from saffron (*Crocus sativus*) using molecularly imprinted polymer solidphase extraction. *J Sep Sci*. 2010, 33(15):2302-9. doi:10.1002/jssc.201000183
- [18] Xie X, Wei F, Chen L, Wang S. Preparation of molecularly imprinted polymers based on magnetic nanoparticles for the selective extraction of protocatechuic acid from plant extracts. *Journal of separation science*. 2015, 38(6):1046-52. doi:10.1002/jssc.201401142
- [19] Gao L, Piao C, Chen L. Determination of acephate in vegetables by magnetic molecularly imprinted polymer isolation coupled with high-performance liquid chromatography. *Analytical Letters*. 2015 Mar 24;48(5):752-65. <http://doi:10.1080/00032719.2014.963594>
- [20] Zahara S, Minhas MA, Shaikh H, Ali MS, Bhangar MI, Malik MI. Molecular imprinting-based extraction of rosmarinic acid from *Salvia hypoleuca* extract. *Reactive and Functional Polymers*. 2021, 166:104984.. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104984
- (*Crocus sativus* L.). *Frontiers in Horticulture*. 2022, 1:960423. doi:10.3389/fhort.2022.960423
- [7] García-Rodríguez MV, Moratalla-López N, Carrión C, López-Córcoles H, Alonso GL. The Combined Effects of Vegetative Stage Corms, Ultra Low Oxygen Cooling Storage and Incubation Time on *Crocus sativus* L. *Agronomy*. 2020, 10(11):1775. doi:10.1016/J.SCIENTA.2020.109811
- [8] Karasu S, Bayram Y, Ozkan K, Sagdic O. Extraction optimization crocin pigments of saffron (*Crocus sativus*) using response surface methodology and determination stability of crocin microcapsules. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019, 13:1515-23. doi:10.1007/s11694-019-00067-x
- [9] Maggi L, Carmona M, Del Campo CP, Zalacain A, de Mendoza JH, Mocholí FA, Alonso GL. Multi-residue contaminants and pollutants analysis in saffron spice by stir bar sorptive extraction and gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2008, 1209(1-2):55-60. doi:10.1016/j.chroma.2008.09.026
- [10] Sujata V, Ravishankar GA, Venkataraman LV. Methods for the analysis of the saffron metabolites crocin, crocetins, picrocrocin and safranal for the determination of the quality of the spice using thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1992, 624(1-2):497-502. doi:10.1016/0021-9673(92)85699-T
- [11] Petrakis EA, Polissiou MG. Assessing saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant-derived adulterants by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy coupled with chemometrics. *Talanta*. 2017, 162:558-66. doi:10.1016/j.talanta.2016.10.072
- [12] F Lee FY, Htar TT, Akowuah GA. ATR-FTIR and spectrometric methods for the assay of crocin in commercial saffron spices (*Crocus sativus* L.). *International Journal of Food Properties*. 2015, 18(8):1773-83. doi:10.1080/10942912.2014.923911
- [13] Masi E, Taiti C, Heimler D, Vignolini P, Romani A, Mancuso S. PTR-TOF-MS and

- [28] Piao C, Chen L. Separation of Sudan dyes from chilli powder by magnetic molecularly imprinted polymer. *Journal of chromatography A*. 2012, 1268:185-90. doi:10.1016/j.chroma.2012.10.045
- [29] Meydan İ, Bilici M, Turan E, Zengin A. Selective extraction and determination of citrinin in rye samples by a molecularly imprinted polymer (MIP) using reversible addition fragmentation chain transfer precipitation polymerization (RAFTPP) with high-performance liquid chromatography (HPLC) detection. *Analytical Letters*. 2021, 54(10):1697-708. doi:10.1080/00032719.2021.1892125
- [30] Gao W, Li J, Li P, Huang Z, Cao Y, Liu X. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer (MMIP) nanoparticles (NPs) for the selective extraction of tetracycline from milk. *Analytical Letters*. 2020, 53(7):1097-112. <http://doi:10.1080/00032719.2019.1698049>
- [31] Ning F, Peng H, Dong L, Zhang Z, Li J, Chen L, Xiong H. Preparation and characterization of superparamagnetic molecularly imprinted polymers for selective adsorption and separation of vanillin in food samples. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014, 62(46):11138-45. doi:10.1021/jf504144g
- [32] Li W, Yang L, Wang F, Zhou H, Yang X, Huang Y, Liu H. Magnetic molecularly imprinted polymers for improved extraction of tanshinones from herbs via integrated extraction and cleanup system. *Biochemical engineering journal*. 2013, 79:206-13. doi:10.1016/j.bej.2013.08.008
- [33] Su X, Li X, Li J, Liu M, Lei F, Tan X, Li P, Luo W. Synthesis and characterization of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and determination of Rhodamine B in food. *Food chemistry*. 2015, 171:292-7. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.024
- [34] Păcurariu C, Tăculescu EA, Ianoș R, Marinică O, Mihali CV, Socoliuc V. Synthesis and characterization of γ -Fe₂O₃/SiO₂ composites as possible candidates for magnetic paper manufacture. *Ceramics International*. 2015,
- [21] Ahmad R, Griffete Nbw, Lamouri A, Felidj N, Chehimi MM, Mangeney C. Nanocomposites of gold nanoparticles@ molecularly imprinted polymers: chemistry, processing, and applications in sensors. *Chem Mater*. 2015, 27:5464-78. <http://doi:10.1021/acs.chemmater.5b00138>
- [22] Li N, Qi L, Shen Y, Qiao J, Chen Y. Novel oligo (ethylene glycol)-based molecularly imprinted magnetic nanoparticles for thermally modulated capture and release of lysozyme. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2014, 6(19):17289-95. doi:10.1021/am505427j
- [23] Altintas Z, Gittens M, Guerreiro A, Thompson KA, Walker J, Piletsky S, Tothill IE. Detection of waterborne viruses using high affinity molecularly imprinted polymers. *Analytical chemistry*. 2015, 87(13):6801-7. <http://doi:10.1021/acs.analchem.5b00989>
- [24] Kubo T, Arimura S, Tominaga Y, Naito T, Hosoya K, Otsuka K. Molecularly imprinted polymers for selective adsorption of lysozyme and cytochrome c using a PEG-based hydrogel: selective recognition for different conformations due to pH conditions. *Macromolecules*. 2015, 48(12):4081-7. doi:10.1021/acs.macromol.5b00834
- [25] Chen FF, Xie XY, Shi YP. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for selective recognition of resveratrol in wine. *Journal of Chromatography A*. 2013, 1300:112-8. doi:10.1080/15320383.2019.1633272
- [26] Zuo H, Lin Y, Ma X, Feng Y, Luo Q. Preparation of a novel restricted access material combined to core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for determination of dimethyl phthalate in soils. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 2019, 28(6):529-46. <http://doi:10.1016/j.chroma.2013.02.018>
- [27] Ebrahimi Rahmani M, Ansari M, Kazemipour M, Nateghi M. Selective extraction of morphine from biological fluids by magnetic molecularly imprinted polymers and determination using UHPLC with diode array detection. *Journal of separation science*. 2018, 41(4):958-65. <http://doi:10.1002/jssc.201701018>

- Talanta. 2021, 232:122430. doi:10.1016/j.talanta.2021.122430
- [42] Toudeshki RM, Dadfarnia S, Shabani AM. Surface molecularly imprinted polymer on magnetic multi-walled carbon nanotubes for selective recognition and preconcentration of metformin in biological fluids prior to its sensitive chemiluminescence determination: Central composite design optimization. *Analytica Chimica Acta*. 2019, 1089:78-89. doi:10.1016/j.aca.2019.08.070
- [43] Pan J, Li L, Hang H, Wu R, Dai X, Shi W, Yan Y. Fabrication and evaluation of magnetic/hollow double-shelled imprinted sorbents formed by Pickering emulsion polymerization. *Langmuir*. 2013, 29(25):8170-8. doi:10.1021/la4015288
- [44] Lakshmipathy R, Reddy NA, Sarada NC. Optimization of brilliant green biosorption by native and acid-activated watermelon rind as low-cost adsorbent. *Desalination and water treatment*. 2015, 54(1):235-44. doi:10.1080/19443994.2013.879082
- [45] Chen H, Wu F, Xu Y, Liu Y, Song L, Chen X, He Q, Liu W, Han Q, Zhang Z, Zou Y. Synthesis, characterization, and evaluation of selective molecularly imprinted polymers for the fast determination of synthetic cathinones. *RSC advances*. 2021, 11(47):29752-61. <http://doi:10.1039/D1RA01330K>
- [46] Azizian S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. *Journal of colloid and Interface Science*. 2004, 276(1):47-52. <http://doi:10.1016/j.jcis.2004.03.048>
- [47] Liu X, Wu F, Au C, Tao Q, Pi M, Zhang W. Synthesis of molecularly imprinted polymer by suspension polymerization for selective extraction of p-hydroxybenzoic acid from water. *Journal of Applied Polymer Science*. 2019, 136(3):46984. doi:10.1002/app.46984
- [48] Plazinski W, Rudzinski W. Kinetics of adsorption at solid/solution interfaces controlled by intraparticle diffusion: a theoretical analysis. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009, 113(28):12495-501. doi:10.1021/jp902914z
- [49] Kong X, Gao R, He X, Chen L, Zhang Y. Synthesis and characterization of the core-shell magnetic molecularly imprinted 41(1):1079-85. doi:10.1016/j.ceramint.2014.09.031
- [35] Gao R, Kong X, Wang X, He X, Chen L, Zhang Y. Preparation and characterization of uniformly sized molecularly imprinted polymers functionalized with core-shell magnetic nanoparticles for the recognition and enrichment of protein. *Journal of Materials Chemistry*. 2011, 21(44):17863-71. <http://doi:10.1039/C1JM12414E>
- [36] Qi Y, Li G, Wei C, Zhao L, Gong B. Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer for Melamine and its application in milk sample analysis by HPLC. *J. Biomed. Sci*. 2016, 5:1-0. doi:10.4172/2254-609X.100030
- [37] Abbas M, Rao BP, Islam MN, Naga SM, Takahashi M, Kim C. Highly stable-silica encapsulating magnetite nanoparticles (Fe₃O₄/SiO₂) synthesized using single surfactantless-polyol process. *Ceramics International*. 2014, 40(1):1379-85. <http://doi:10.1016/j.ceramint.2013.07.019>
- [38] Daorattanachai P, Laosiripojana W, Laobuthee A, Laosiripojana N. Type of contribution: Research article catalytic activity of sewage sludge char supported Re-Ni bimetallic catalyst toward cracking/reforming of biomass tar. *Renewable energy*. 2018, 121:644-51. doi:10.1016/S0167-2991(01)80339-6
- [39] Rutnakornpituk B, Wichai U, Vilaivan T, Rutnakornpituk M. Surface-initiated atom transfer radical polymerization of poly (4-vinylpyridine) from magnetite nanoparticle. *Journal of Nanoparticle Research*. 2011, 13:6847-57. doi:10.1007/s11051-011-0592-8
- [40] Mamman S, Suah FB, Raaov M, Mehamod FS, Asman S, Zain NN. Removal of bisphenol A from aqueous media using a highly selective adsorbent of hybridization cyclodextrin with magnetic molecularly imprinted polymer. *Royal Society open science*. 2021, 8(3):201604. doi:10.1098/rsos.201604
- [41] Lamaoui A, Palacios-Santander JM, Amine A, Cubillana-Aguilera L. Fast microwave-assisted synthesis of magnetic molecularly imprinted polymer for sulfamethoxazole.

polymers (Fe₃O₄@ MIPs) adsorbents for effective extraction and determination of sulfonamides in the poultry feed. Journal of Chromatography A. 2012, 1245:8-16. doi:10.1016/j.chroma.2012.04.061



Selective extraction of Crocin from Saffron using modified magnetic nanoparticles coated with molecularly imprinted polymer

A. Gholami^{1*}, M. Golestaneh², H. Bigdeli Azari¹

¹ Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

² Department of Chemistry Education, Farhangian University, Tehran, Iran

Abstract: Crocin is one of effective ingredients of saffron, which directly affects saffron's quality and commercial value. Herein, a simple method has been developed based on magnetic molecularly imprinted polymers (MMIPs) for sensitive and selective extraction of crocin from saffron. MMIPs were prepared using gentiobiose as the template molecule, methacrylic acid as the functional monomer, ethylene glycol dimethacrylate as the cross-linking agent, and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ as the magnetic support. Nanoparticle characterizations were performed using various techniques, including Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), vibrating sample magnetometry (VSM), and thermogravimetric analysis (TGA). Different parameters affecting extraction efficiency, isothermal absorption experiments, kinetics absorption experiments, and the selectivity of MMIPs was studied. The analytes were determined by UV-Vis spectrometry and high-performance liquid chromatography (HPLC). The result showed that the pseudo-second-order model describes the sorption of crocin, and the adsorption equilibrium data fit with the Freundlich model. Also, the sorbent had a homogeneous structure, and the crocin sorption occurred through multilayer reversible sorption. Under the optimized conditions, the linear range was between 0.05-50 mgL^{-1} . The limit of detection and limit of quantification were 0.014 and 0.10 mgL^{-1} , respectively. The proposed method in extracting crocin from real samples showed satisfactory results.

Keywords: Crocin, Saffron, Molecularly imprinted polymers, Magnetic nanoparticles, Selective extraction