

Kinetic, isotherm and thermodynamic studies of saffron crocin extraction using modified 3D graphene oxide-chitosan nanocomposite

Hamid Rajabi¹ | Seyed Mahdi Jafari^{2*} | Mohammad Ghorbani³ | Javad Feizi⁴
Seyed Ahmad Mohajeri⁵

¹Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

²Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email :smjafari@gau.ac.ir

³Department of Food Chemistry, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Faculty of Food Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

⁴Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

⁵Pharmaceutical Research Center, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 12.11.2019
Revised: 31.01.2020
Accepted: 26.02.2020

Keywords:
Saffron
Crocin
Purification
Graphene oxide
Chitosan nanostructure
Isotherm

ABSTRACT

Background and objectives: saffron as the most expensive spice in the world contains compounds called crocins that grant it unique properties. Extraction and purification of this glycosidic compound is one of the major challenges in saffron processing. Graphene oxide (GO) is an excellent adsorbent due to its properties such as flat structure, high surface area, variety of oxygenated functional groups on the surface and the ease and cheapness of its production from graphite. Therefore, in this study, the extraction and purification of saffron crocins were evaluated using 3D nanostructure of GO modified with chitosan biopolymer.

Materials and methods: In order to remove picrocrocin and safranal, dried stigma of saffron was treated in two stages and then extraction was performed using distilled water. Graphene oxide synthesis was conducted through improved Hummers method followed by modification with chitosan. 10 ml of crocin solution with different concentration was mixed with 15mg of nanostructure and under controlled condition (temperature, pH and stirring rate). In certain intervals, the amount of crocin in solution was determined through reading its absorption at 440 nm. Kinetics, isotherms and thermodynamic study of process was investigated. The efficiency of nanostructure in crocin purification was assessed by HPLC.

Results: The best process conditions for crocin isolation were stirring speed = 300 rpm, temperature of 318 K, concentration of 100 mg/l and normal pH of saffron extract. Crocin adsorption followed the pseudo-second-order model and the Freundlich isotherm and the reaction was endothermic. HPLC results showed that the purity of the isolated crocin was high and very close to the standard sample.

Conclusion: Instrumental analysis confirmed the formation of nanostructures. The effect of process variables including pH, temperature, stirring speed and crocin solution concentration on the separation process efficiency was determined. The adsorption process of crocin on the nanostructures followed a pseudo-second-order model and the adsorption

was physical. Thermodynamic analysis showed that the adsorption of crocin on the nanostructure is an endothermic process. The results of this study showed that synthesized nanostructures can be well used in the purification process of valuable compounds.

Cite this article: Rajabi, H., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Feizi, J., Mohajeri, S.A. 2022. Kinetic, isotherm and thermodynamic studies of saffron crocin extraction using modified 3D graphene oxide-chitosan nanocomposite. *Food Processing and Preservation Journal*, 13 (3), 55-76.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.17359.1583

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مطالعات سینتیکی، ایزوترم و ترمودینامیک استخراج کروسین زعفران با استفاده از نانوکامپوزیت سه بعدی اکسیدگرافن اصلاح شده با کیتوزان

حمید رجبی^۱ | سید مهدی جعفری^{۲*} | محمد قربانی^۳ | جواد فیضی^۴ | سید احمد مهاجری^۵

۱. گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۲. گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: smjafari@gau.ac.ir
۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۴. گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.
۵. گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	سابقه و هدف: استخراج و خالص سازی کروسین که عامل ایجاد رنگ زعفران است، یکی از چالش های اصلی در زمینه فرآوری آن می باشد. ترکیبات گرافنی به واسطه خصوصیات بی نظیرشان در مرکز توجه محققان در رشته های مختلف قرار گرفته اند. اکسیدگرافن (GO) بواسطه ویژگی هایی همچون ساختار مسطح، مساحت سطحی بالا، تنوع گروه های عملکردی اکسیژن دار در سطح و سهولت و ارزان بودن تولید آن از گرافیت، یک جاذب عالی برای جداسازی ترکیبات از محیط می باشد لذا در این پژوهش، استخراج و خالص سازی کروسین زعفران با استفاده از نانوساختار سه بعدی GO اصلاح شده با بیوپلیمر کیتوزان مورد ارزیابی قرار گرفت.
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۱ تاریخ ویرایش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۷	مواد و روش ها: سنتز اکسیدگرافن با روش هامرز بهبود یافته انجام شده و سپس با کیتوزان اصلاح گردید. نانوساختار ۳ بعدی با روش خشک کردن انجمادی تولید گردید. آزمایشات برای تعیین شرایط بهینه فرآیند با کروسین خالص انجام شد. مقدار ۱۵ میلی لیتر از محلول کروسین با غلظت های مختلف (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) با ۱۵ میلی گرم از نانوساختار، مخلوط شده و در شرایط کنترل شده دما (۲۹۸، ۳۰۸ و ۳۱۸ کلوین)، سرعت همزدن (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ rpm) و pH (۵، ۷ و ۱۰) قرار داده شد. در بازه های زمانی مشخص، جذب محلول کروسین در طول موج ۴۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. مطالعات سینتیکی، ایزوترم و ترمودینامیک جذب کروسین انجام شد. به منظور بررسی توانایی نانوساختار در خالص سازی کروسین، از عصاره زعفران استفاده شد. برای حذف ترکیبات مزاحم، کلاله خشک زعفران طی دو مرحله تیمار شده و سپس عصاره گیری با استفاده از آب مقطر انجام شد. عصاره حاصل از واشویش نانوساختار به دستگاه HPLC تزریق شد.
واژه های کلیدی: زعفران کروسین خالص سازی نانوساختار اکسید گرافن کیتوزان ایزوترم	یافته ها: بهترین شرایط محیط برای جداسازی کروسین به صورت سرعت همزدن ۳۰۰ rpm، دمای ۳۰۸، ۳۱۸، غلظت ۱۰۰ mg/l و pH طبیعی محلول کروسین بود. جذب کروسین از مدل شبه مرتبه دوم و ایزوترم فروندلیچ پیروی کرده و واکنش از نوع جذب فیزیکی گرماگیر بود. نتایج HPLC نشان داد خلوص کروسین جداسازی شده بالا بوده و بسیار نزدیک به نمونه استاندارد می باشد.
	نتیجه گیری: آزمون های دستگاهی، شکل گیری نانوساختار را تأیید کردند. تاثیر متغیرهای فرآیند شامل

pH، دما، سرعت همزدن و غلظت عصاره کروسین بر راندمان فرآیند جداسازی ارزیابی شده و بهترین شرایط فرآیند مشخص گردید. فرآیند جذب کروسین روی نانوساختار از مدل شبه مرتبه دوم پیروی کرده و جذب از نوع فیزیکی بود. نتایج این تحقیق نشان داد نانوساختار سنتز شده می‌تواند به خوبی در فرآیند خالص سازی ترکیبات ارزشمند بکار برده شود.

استناد: رجیبی، ح.، جعفری، س.م.، قربانی، م.، فیضی، ج.، مهاجری، س.الف. (۱۴۰۰). مطالعات سینتیکی، ایزوترم و ترمودینامیک استخراج کروسین زعفران با استفاده از نانوکامپوزیت سه بعدی اکسیدگرافن اصلاح شده با کیتوزان. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۳ (۳)، ۵۵-۷۶.

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.17359.1583

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



© نویسندگان.

مقدمه

زعفران^۱ با نام علمی *Crocus sativus* L. گیاهی چندساله، متعلق به خانواده زنبقیان^۲ می‌باشد. ترکیبات موثره زعفران شامل پیکروکروسین (عامل طعم تلخ و پیش ساز سافرانال)، کروسین (عامل رنگ) و سافرانال (عامل عطر) می‌باشد (۲). در زمینه فرآوری زعفران تحقیقات زیادی در حوزه‌های غذایی و دارویی انجام شده است. عمده این تحقیقات در زمینه دارویی روی استخراج ترکیبات زیست‌فعال (مخصوصاً کروسین) و بررسی تاثیر آن بر بیماری‌های مختلف از جمله چاقی، آلزایمر و دیابت بوده است (۲، ۱۴). عامل اصلی ایجاد قدرت رنگی زعفران ترکیبی به نام کروسین و مشتق آن کروسیتین می‌باشد. کروسین یکی از چند کاروتنوئید محدود موجود در طبیعت است که به آسانی در آب حل می‌شود. این حلالیت یکی از دلایل کاربرد وسیع آن به‌عنوان رنگ دهنده در مواد غذایی و دارویی نسبت به سایر کاروتنوئیدها می‌باشد. تاکنون از روش‌های مختلفی برای استخراج و خالص سازی ترکیبات زعفران استفاده شده است. از این میان می‌توان به روش خیساندن (۱۹)، سوکسله (۳۲)، فراصوت (۵)، دی اکسید کربن فوق بحرانی (۲۱)، استخراج فاز جامد پلیمر نشاندار شده مولکولی (۱۴) و سیستم‌های آبی دو فازی (۱۵) و تبلور (۶) اشاره کرد.

اکسیدگرافن (GO)، از اکسیداسیون گرافیت خالص بدست آمده و طی این واکنش، در اثر عمل عوامل اکسند بر گرافیت، گروه‌های عملکردی اکسیژن‌دار در سطح صفحات شکل گرفته و به موازات فاصله بین صفحات افزایش پیدا می‌کند. GO صفحه پایه گرافیت با عوامل آمیخته از گروه‌های اپوکسی و هیدروکسیل در سطح و گروه‌های کربونیل

و کربوکسیل در لبه‌ها است. حضور این گروه‌های اکسیژن‌دار همراه با مساحت سطحی بسیار بالا، این ترکیب را به جاذبی عالی برای ترکیبات مختلف مبدل نموده است. تحقیقات بسیار زیادی در زمینه استفاده از این ترکیب کربنی در جداسازی و حذف فلزات سنگین و رنگ‌ها و به‌طور کلی به‌عنوان یک سامانه فیلتراسیون در جهت حذف ناخالصی‌ها گزارش شده است. شهزاد و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی حذف فلزات سنگین (سرب، مس و آرسنیک) از آب با استفاده از نانوکامپوزیت اکسیدگرافن/کیتوزان پرداختند (۲۲). یانگ و همکاران (۲۰۱۸) حذف اورانیوم با استفاده از نانوکامپوزیت اکسیدگرافن/اکسیدمنگنز را مورد ارزیابی قرار دادند (۲۸). هانگ و همکاران (۲۰۱۸) از نانوکامپوزیت اکسیدگرافن/فریت منگنز برای حذف رنگ متیلن بلو و یون‌های آرسنیک از محلول آبی استفاده کردند (۸). با توجه به اینکه صفحات اکسیدگرافن بدلیل حضور نیروهای بین صفحه‌ای همچون $\pi - \pi$ تمایل به قرار گرفتن روی یکدیگر را دارند، لذا به‌منظور افزایش پایداری آن، از بیوپلیمرهای مختلف مانند کیتوزان استفاده می‌شود. براساس بررسی‌های انجام شده، تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده از اکسیدگرافن در جهت استخراج و خالص سازی یک ترکیب ارزشمند ارائه نشده و همواره جنبه حذف ترکیبات مضر موضوع فرآیند بوده است. لذا در این تحقیق از نانوکامپوزیت^۳ بعدی اصلاح شده اکسیدگرافن/کیتوزان در جهت خالص سازی کروسین زعفران بهره گرفته شد. نانو ساختار تولیدی با استفاده از روش‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه و انکسار اشعه ایکس ارزیابی شده و خلوص کروسین تولیدی نیز با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بررسی گردید.

1. Saffron
2. Iridacea

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: گرافیت، متانول، اتانول، هگزان و اسید هیدروکلریک از شرکت مرک (آلمان) و کیتوزان، اسید فسفریک، اسید سولفوریک، پرمنگنات پتاسیم و آب اکسیژنه از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری شد. زعفران از شرکت آریورادمهر ترشیز (میرمهنای) تهیه گردید.

تولید گرافن اکساید (GO): از روش هامرز بهبود یافته با کمی تغییرات برای تولید GO استفاده شد (۱۳). بطور خلاصه، اسید سولفوریک و اسید فسفریک (۹ به ۱) با یکدیگر مخلوط شده و نیم گرم پودر گرافیت به آن افزوده شد. سپس ۶ گرم پرمنگنات پتاسیم تحت حمام یخ به آن افزوده شد. در ادامه، پس از افزودن ۶۷ میلی لیتر یخ و آب اکسیژنه (۳۰ درصد وزنی)، مخلوط سانتریفوژ شده (۳۰۰ rpm، ۴۰۰۰، ۳۰ دقیقه) و روماند دور ریز گردید. رسوب به صورت ۲ بار متوالی با یک لیتر HCl (۱:۱۰)، حجمی/حجمی) و سپس ۵ بار با یک لیتر آب شستشو داده شد. دیالیز در برابر آب به مدت یک هفته انجام گرفت. نهایتاً برای ۴ ساعت در دمای اتاق تحت امواج فراصوت (۸۰۰ وات) قرار گرفت. طی این فرآیند ورقه ورقه شدن گرافیت اکسید انجام شده و GO تولید گردید.

نانوساختار سه بعدی اکسید گرافن و کیتوزان: محلول کیتوزان (۳ mg/ml)، با افزودن پرک کیتوزان به محلول اسید استیک ۱ درصد (حجمی/حجمی) تهیه گردید. این محلول بصورت قطره‌ای و تحت همزدن به دیسپرسیون GO (۹ mg/ml) افزوده شد و سپس در معرض حمام فراصوت به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد. مخلوط هموژن بدست آمده به منظور تولید نانوساختار سه بعدی به خشک کن انجمادی انتقال داده شد.

آنالیز نانوساختارهای سه بعدی تولیدی: به منظور بررسی اتصال بیوپلیمرهای مورد استفاده در سطح اکسیدگرافن، از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR, Perkin-Elmer Spectrum Two, USA) استفاده شد. تاثیر افزودن بیوپلیمرها بر ریزساختار نانوساختارهای سنتز شده با استفاده از دستگاه انکسار اشعه ایکس (XRD, Unisantis, Germany, XMD-300) ارزیابی شد. نانوساختار اکسید گرافن و نانوساختار تولیدی بوسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM, MIRA3 TESCAN, Czech Republic) ارزیابی شد.

آزمون جذب کروستین توسط نانوساختار سه بعدی اکسیدگرافن اصلاح شده (GO-CS): مقدار ۱۵ میلی لیتر از محلول کروستین با غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) با ۱۵ میلی گرم از GO-CS مخلوط شده و در شرایط کنترل شده دمایی، در دماهای مختلف (۲۹۸-۳۱۸ K)، سرعت همزدن ۳۰۰-۱۰۰ rpm و pHهای ۵، ۷ و ۱۰ قرار داده شد. در بازه‌های زمانی مشخص (۰ تا ۲۰۰ دقیقه)، جذب محلول در طول موج ۴۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان کروستین جذب شده در جاذب در زمان t، با استفاده از رابطه ۱ اندازه گیری شد (۲۳) که در این رابطه q_t مقدار کروستین جذب شده در نانوساختار (میلی گرم به گرم) در زمان t، حجم عصاره زعفران بکار برده شده (لیتر)، C_0 و C_t به ترتیب غلظت اولیه و غلظت کروستین در زمان t (میلی گرم بر لیتر) و W وزن نانوساختار سه بعدی (گرم) می باشد.

$$q_t = \frac{V(C_0 - C_t)}{W} \quad \text{رابطه ۱}$$

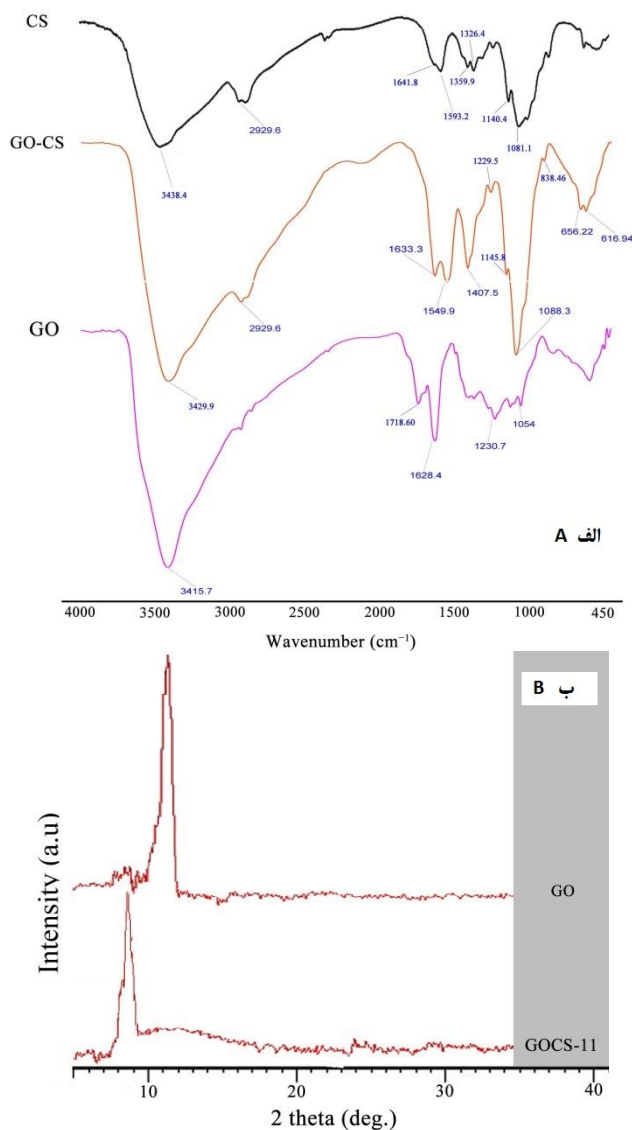
به منظور ارزیابی توانایی نانو ساختار در جداسازی و خالص سازی کروسین، از عصاره زعفران استفاده شد. ابتدا به منظور کاهش و حذف پیکروکروسین و سافرانال، دو مرحله پیش تیمار حرارتی و اسیدی انجام گرفت. برای تهیه عصاره زعفران، پودر آن با آب دوبار تقطیر مخلوط شده و به مدت یک ساعت و به دور از نور روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. پس از گذشت این زمان، عصاره ابتدا سانتریفوژ شده و سپس از کاغذ صافی واتمن عبور داده شده و در معرض نانو ساختار قرار داده شد. عصاره حاصل از شویش نانو ساختار پس از اتمام فرآیند جذب به دستگاه HPLC (Waters, Milford, MA, USA) تزریق شد. ارزیابی در ۳ طول موج ۲۵۰، ۳۱۰ و ۴۴۰ نانومتر به ترتیب مربوط به پیکروکروسین، سافرانال و کروسین صورت گرفت. از برنامه گرادیان خطی بصورت زیر استفاده شد. فرآیند ابتدا با مخلوط آب- اتانول (۸۰-۲۰ درصد، حجمی/حجمی) آغاز شده و طی ۶۰ دقیقه و با سرعت تغییر اتانول به میزان ۱ درصد در دقیقه ادامه پیدا کرده و به (۲۰-۸۰ درصد، حجمی/حجمی) رسید. دبی جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه، دمای ستون ۳۰ درجه سانتی گراد و حجم تزریق ۲۰ میکرو لیتر بود.

نتایج و بحث

طیف FTIR: در طیف GO (شکل ۱-الف) پیک cm^{-1} 3415^1 مربوط به ارتعاش کششی گروه هیدروکسیل می باشد (۳۱). پیک در $1230 cm^{-1}$ مربوط به ارتعاش کششی C-O بوده که می تواند مربوط به گروه های کربوکسیلیک اسید (۲۴)، گروه های هیدروکسیل (۱۷) یا گروه های اپوکسی (۱۸) باشد. حضور این پیک ها نشان دهنده تشکیل GO می باشد (۱۰، ۱۲). در طیف GO-CS، پیک جذب پهن در $3429 cm^{-1}$ مربوط به ترکیبی از کشش گروه آمین کیتوزان و گروه

هیدروکسیل اکسید گرافن می باشد (۷). پیک موجود در طیف اکسید گرافن در $1718 cm^{-1}$ که مربوط به C=O (گروه کربونیل) در گروه کربوکسیلیک یا استر می باشد، در طیف مربوط به GO-CS حذف شده و متعاقباً پیک در $1633 cm^{-1}$ ایجاد شده است که مربوط به کشش NH_2 - در کیتوزان است (۴). در نتیجه واکنش بین گروه های کربونیل و هیدروکسیل اکسید گرافن و گروه های آمینو و هیدروکسیل کیتوزان، یک پیک جذب جدید در $1549 cm^{-1}$ ، مربوط به ترکیب (C-N) با $\delta(CHN)$ (آمید I I) و نشان دهنده استرهای کاربامات یا آمیدهاست که در طول فرآیند اتصال CS به GO شکل گرفته است (۴). اتصال بین گروه های آمینو و هیدروکسیل می تواند از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی باشد.

پراش اشعه ایکس (XRD) اکسید گرافن و نانو ساختارهای اکسید گرافن-کیتوزان: در طیف اکسید گرافن، پیکی در $2\theta = 11/1$ مشاهده شد که مربوط به فاصله بین لایه ای معادل 0.79 نانومتر می باشد (شکل ۱-ب). افزایش فاصله بین لایه ها در اکسید گرافن نسبت به گرافیت مربوط به حضور گروه های عاملی اکسیژن دار در فاصله بین لایه ها است که سبب ایجاد ناهموازی در مقیاس اتمی شده و از سوی دیگر، موید اکسیداسیون موفق گرافیت و تشکیل اکسید گرافن می باشد (۱۱، ۱۶، ۲۷). همانطور که مشخص است اتصال کیتوزان به اکسید گرافن، سبب تشکیل پیک در زاویه کمتر ($2\theta = 8/4$) شده که نشان دهنده فاصله بین صفحه ای $1/0.5$ نانومتر است. می توان گفت قرار گرفتن کیتوزان در سطح صفحات اکسید گرافن، منجر به افزایش فاصله بین صفحات آن شده است. نتایج مشابهی توسط کومار و کو (۲۰۱۴) و سبزواری و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است (۹، ۲۰).

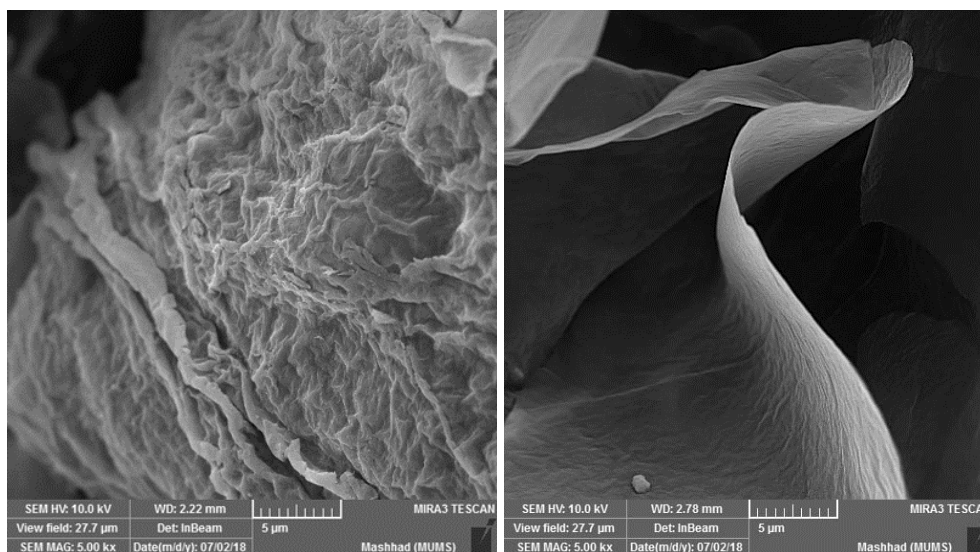


شکل ۱- الف: طیف FTIR اکسید گرافن (GO)، کیتوزان (CS) و نانوساختار اکسید گرافن-کیتوزان (GO-CS) و ب: XRD مربوط به GO و نانوساختار GO-CS

Figure 1- FTIR of GO, CS and GO-CS (A) and XRD of GO and GO-CS (B)

پیوند هیدروژنی و جذب الکترواستاتیکی شوند (۳۰). قرار گرفتن بیومولکولها در سطح صفحات اکسید گرافن علاوه بر ایجاد تغییرات ظاهری در سطح صفحات از جمله ایجاد زبری، سبب افزایش ضخامت صفحات نیز می‌شود. این امر نشان‌دهنده قرار گرفتن تعداد زیادی از زنجیره‌های پلیمری در سطح صفحات اکسید گرافن می‌باشد (۱۰).

مورفولوژی اکسید گرافن و نانوساختار اکسید گرافن-کیتوزان: همانطور که در شکل ۲ مشخص است ساختار پایه و سطح اکسید گرافن دارای مورفولوژی بسیار صاف و هموار، تقریباً شفاف و نازک بوده و صفحات دارای چروکیدگی و انحنا هستند که از مشخصه‌های اکسید گرافن به شمار می‌آید (۳، ۱۱). گروه‌های اکسیژن‌دار و بار منفی سطح GO می‌تواند بطور موثری سبب اتصال با کیتوزان از طریق



شکل ۲- تصویر FESEM. سمت راست اکسید گرافن و سمت چپ نانوساختار اکسید گرافن-کیتوزان

Figure 2- FESEM of GO (right) and GO-CS (left)

به‌طور معنی‌داری کمتر از نوع اصلاح شده بود (جدول ۱). دلیل این افزایش معنی‌دار جداسازی توسط نانوساختار اصلاح شده می‌تواند مربوط به جایگاه‌های فعالی باشد که کیتوزان در سطح نانوساختار ایجاد کرده و سبب شده است پیوندهای الکترواستاتیک بیشتری بین سطح صفحات و کروسین شکل گیرد. از این‌رو فرآیند جذب با استفاده از نانوساختار اصلاح شده انجام شد.

جداسازی کروسین با استفاده از نانوساختار: به‌منظور بررسی اثر اصلاح سطحی اکسید گرافن با کیتوزان بر میزان جداسازی کروسین، ابتدا ۱۵ میلی‌گرم از هر یک از نانوساختارهای اکسید گرافن معمولی و اصلاح شده به مدت ۵۰ دقیقه در معرض ۱۵ میلی‌لیتر محلول آبی کروسین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شد. میزان جداسازی کروسین توسط نانوساختار اکسید گرافن معمولی

جدول ۱- مقایسه کارایی نانوساختار معمولی و اصلاح شده اکسید گرافن در طول ۵۰ دقیقه در جداسازی کروسین (غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)
Table 1. Comparison of the performance of normal and modified graphene oxide nanostructures over 50 minutes in crocin separation (concentration of 50 mg/L)

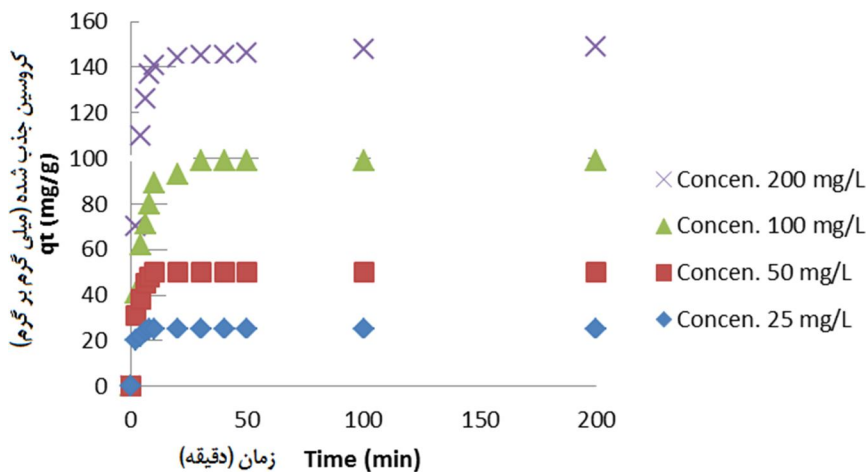
ظرفیت جذب (میلی‌گرم بر گرم) Adsorption capacity (mg g ⁻¹)	نانوساختار Nanostructure
28.9 ^b	اکسید گرافن GO
48.6 ^a	اکسید گرافن اصلاح شده Modified-GO

میلی‌گرم از نانوساختار ترکیب شده و فرآیند جذب در دمای محیط و سرعت همزدن ۳۰۰ rpm انجام شد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، در مورد ۳ غلظت اول، نانوساختار توانسته است در نقطه تعادل

در ادامه، به‌منظور بررسی ظرفیت جداسازی کروسین توسط نانوساختار اصلاح شده، ۴ غلظت مختلف از کروسین شامل ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه، ۱۵ میلی‌لیتر از آن با ۱۵

اشباع شدن نانوساختار و عدم توانایی آن در جداسازی باقیمانده کروسین از محیط است. بنابراین از غلظت ۱۰۰ mg/l برای انجام آزمایشات بعدی استفاده شد.

به ترتیب ۹۷/۶، ۹۷/۱ و ۹۶ درصد از کروسین را جذب نماید اما در مورد غلظت ۲۰۰ mg/l، حدود ۷۸ درصد از کروسین جذب شده و نشان دهنده



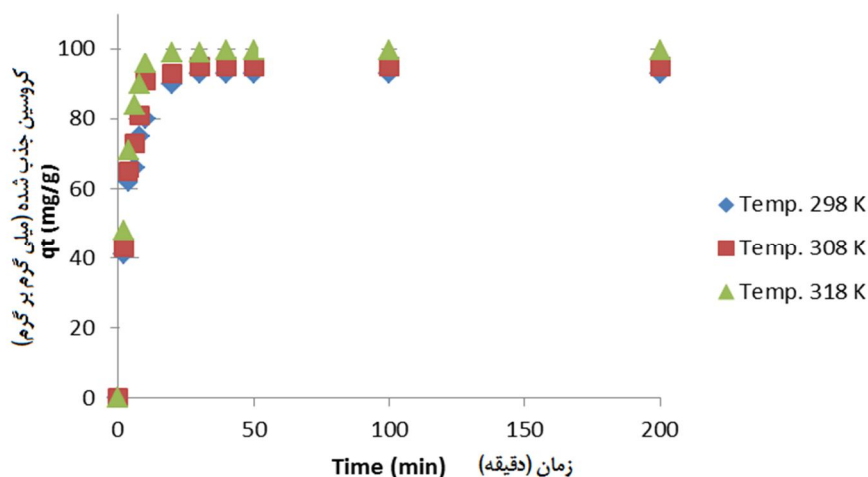
شکل ۳- تاثیر غلظت های مختلف محلول کروسین بر راندمان جداسازی آن توسط نانوساختار GO-CS

Figure 3- Effect of crocin concentrations on its separation efficiency by GO-CS

به تعادل کاهش یافته و از سوی دیگر، میزان کروسین جذب شده در نقطه تعادل به میزان معنی داری افزایش پیدا کرده است (شکل ۵). بطوریکه در سرعت ۳۰۰ rpm پس از ۳۰ دقیقه، ۹۶ درصد از کروسین، در سرعت ۲۰۰ rpm پس از ۵۰ دقیقه، ۹۳ درصد از کروسین و در سرعت ۱۰۰ rpm پس از ۱۰۰ دقیقه، ۸۹ درصد از کروسین جذب شد. به نظر می رسد با توجه به اینکه کروسین، مولکولی بزرگ است، با افزایش سرعت همزدن و افزایش تلاطم، احتمال دسترسی جایگاه های فعال نانوساختار به آن و در نتیجه جذب شدنش از محیط افزایش پیدا می کند. بنابراین سرعت ۳۰۰ rpm برای آزمایشات بعدی انتخاب شد.

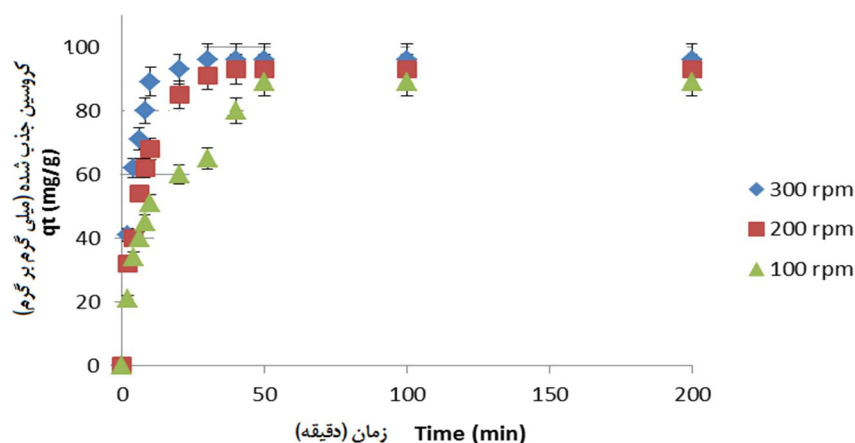
دما تاثیر مثبتی بر جداسازی کروسین از لحاظ میزان جذب در نقطه تعادل و همچنین زمان رسیدن به تعادل داشت (شکل ۴) بطوریکه با افزایش دما از ۲۵ تا ۴۵ درجه سانتی گراد میزان کروسین جذب شده در نقطه تعادل حدود ۲/۱ درصد افزایش پیدا کرده ($P > 0.05$) و زمان تعادل نیز ۱۰ دقیقه کاهش پیدا کرد ($P < 0.05$). افزایش میزان جذب با افزایش دما نشان دهنده گرماگیر بودن واکنش می باشد. دما به عنوان یک منبع انرژی به کروسین اجازه می دهد تا از لایه مرزی نانوساختار عبور کرده و به قسمت داخلی و منافذ آن نفوذ کند و در نتیجه مقدار بیشتری از آن در زمان کمتری جذب می شود.

بررسی تاثیر سرعت همزدن بر جداسازی کروسین نشان داد با افزایش سرعت، از یک سو زمان رسیدن



شکل ۴- تاثیر دمای محیط بر میزان جداسازی کروسین توسط نانوساختار GO-CS

Figure 4- Effect of temperature on crocin separation efficiency by GO-CS

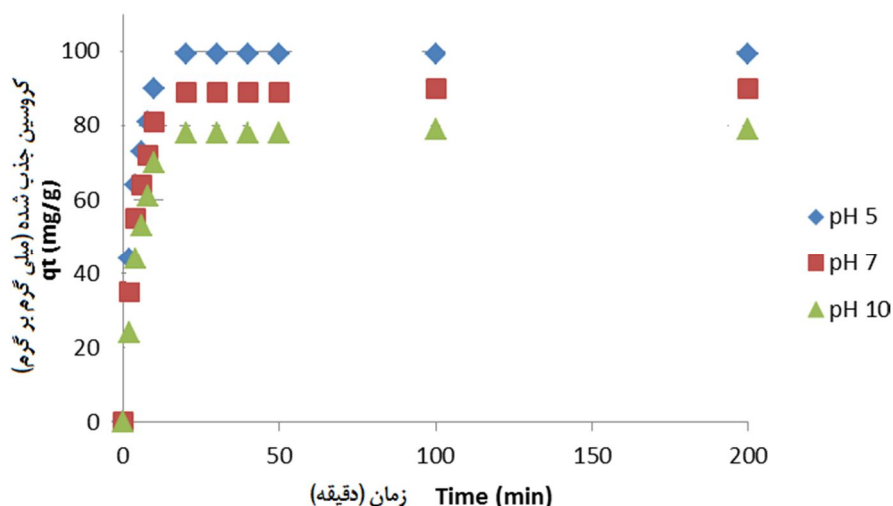


شکل ۵- تاثیر سرعت همزدن بر میزان جداسازی کروسین توسط نانوساختار GO-CS

Figure 5- Effect of mixing rate on crocin separation efficiency by GO-CS

و با افزایش pH محیط به سمت قلیایی، زنجیره‌های کیتوزان دپروتونه شده و در نتیجه ساختار کامپوزیت حالت توده‌ای به خود گرفته و از دسترس کروسین خارج می‌گردند. این امر به واسطه کاهش تعداد جایگاه‌های فعال قابل واکنش با کروسین، سبب کاهش معنی‌دار میزان جذب می‌شود. با توجه به اینکه در pH پایین میزان جداسازی بیشتر بود و از طرف دیگر pH عصاره زعفران حدود ۵/۵ است، لذا بدون تغییر در pH، آزمایشات بعدی انجام شد.

تغییرات pH محلول کروسین تاثیر محسوسی بر فرآیند جذب کروسین داشت (شکل ۶). با افزایش pH از ۵ تا ۱۰، میزان جذب کروسین در نقطه تعادل به طور معنی‌داری کاهش یافت بطوریکه در pH های ۵، ۷ و ۱۰ به ترتیب ۹۶/۱، ۸۹ و ۷۸ درصد از کروسین جداسازی شد. در pH اسیدی گروه‌های آمینو در زنجیره‌های کیتوزان متصل به اکسیدگرافن پروتونه بوده و در نتیجه ساختار نانوکامپوزیت بطور کامل باز شده و می‌تواند به راحتی با کروسین پیوند برقرار نموده و آنرا از محیط جداسازی نماید. متقابلاً



شکل ۶- تاثیر pH محیط بر میزان جداسازی کروسین توسط نانوساختار GO-CS
Figure 6- Effect of pH on crocin separation efficiency by GO-CS

کلوین در مدل شبه مرتبه اول به ترتیب ۰/۹۱۹۹، ۰/۹۰۷۴ و ۰/۵۱۱۸ و در مورد شبه مرتبه دوم ۰/۹۹۹۶، ۰/۹۹۹۸ و ۰/۹۹۹۹ بوده است که نشان می‌دهد جذب کروسین بوسیله نانوساختار از مدل شبه مرتبه دوم تبعیت می‌نماید (شکل‌های ۷ و ۸).

تبعیت از این مدل به معنای جذب کروسین به صورت شیمیایی است اما آزمون‌های ترمودینامیکی و ایزوترم‌ها نشان داد جذب بصورت فیزیکی است. بطور کلی جذب یک فرآیند پیچیده چندمرحله‌ای است. مطالعات سینتیکی اطلاعات ارزشمندی را در خصوص مکانیسم‌های جذب شامل انتقال جرم و پدیده‌های انتشار و واکنش سطحی ارائه می‌نماید اما این مدل‌ها به‌تنهایی برای توصیف این فرآیند پیچیده کافی نیست. می‌توان از مدل‌های مختلف ایزوترم و ترمودینامیک برای کمک به درک فرآیند جذب استفاده کرد.

آنالیز سینتیکی جذب: آنالیز سینتیک جذب کروسین با استفاده از مدل‌های شبه مرتبه اول (رابطه ۲) و شبه مرتبه دوم (رابطه ۳) انجام شد.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad \text{رابطه ۲}$$

که q_t مقدار رنگ جذب شده در نانوساختار (mg of dye/g of nanostructure) در زمان t ، q_e مقدار رنگ جذب شده در تعادل (mg of 3D-FGON (dye/g of (min⁻¹)) و k_1 ثابت سرعت مدل شبه مرتبه اول می‌باشد.

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad \text{رابطه ۳}$$

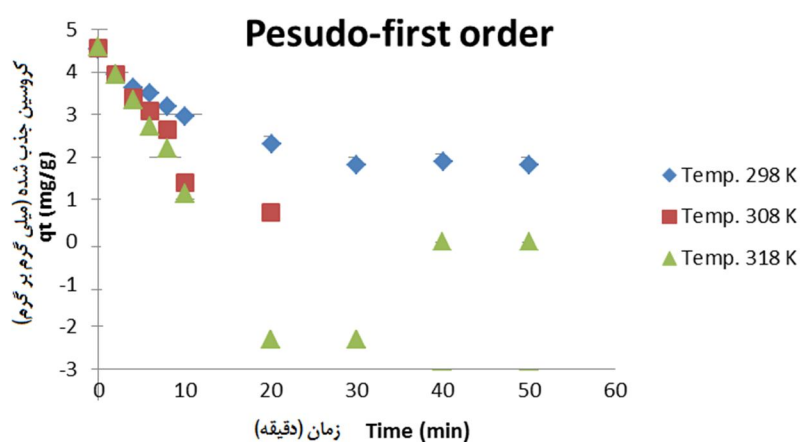
در این رابطه k_2 ثابت سرعت مدل شبه مرتبه دوم (g mg⁻¹ min⁻¹) می‌باشد.

آزمایش‌ها در دماهای ۲۹۵، ۳۰۸ و ۳۱۸ کلوین، pH=۵/۵ و سرعت همزدن ۳۰۰ rpm انجام شد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، ضرایب همبستگی برای دماهای ۲۹۵، ۳۰۸ و ۳۱۸

جدول ۲- ضرایب مدل های شبه مرتبه اول و دوم برای جذب کروسین توسط نانوساختار ۳ بعدی اکسید گرافن-کیتوزان

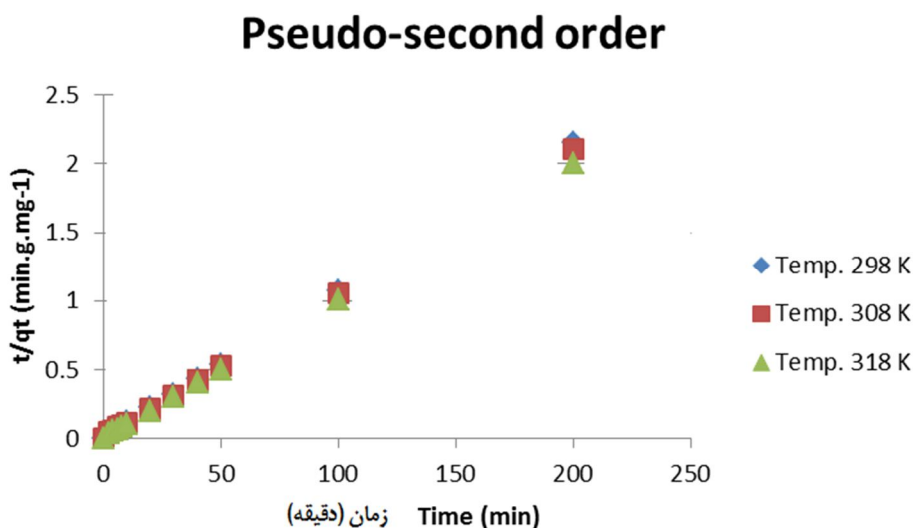
Table 2- Coefficients of pseudo second-order and pseudo first-order diffusion models for crocin adsorption on the GO-CS

R ²	K ₁ (min ⁻¹)	q _{e,cal} (mg g ⁻¹)	q _{e,exp} (mg g ⁻¹)	دما (کلوین) Temperature (K)	مدل
0.9199	-0.051	76.75	93.0	298	مدل شبه مرتبه اول pseudo first-order models
0.9074	-0.197	68.56	95.0	308	
0.5118	-0.100	20.98	99.6	318	
R ²	K ₂ (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	q _{e,cal} (mg g ⁻¹)	q _{e,exp} (mg g ⁻¹)	دما (کلوین) Temperature (K)	مدل شبه مرتبه دوم pseudo second-order models
0.9996	0.019	93.3	93.0	298	مدل شبه مرتبه دوم pseudo second-order models
0.9998	0.026	94.7	95.0	308	
0.9999	0.034	98.7	99.6	318	



شکل ۷- مدل شبه مرتبه اول برای جذب کروسین با نانوساختار GO-CS

Figure 7- Pseudo first-order diffusion model for crocin adsorption on the GO-CS



شکل ۸- مدل شبه مرتبه دوم برای جذب کروسین با نانوساختار GO-CS

Figure 8- Pseudo second-order diffusion model for crocin adsorption on the GO-CS

ایزوترم D-R یک مدل بسیار متداول برای توصیف پدیده جذب در سطوح یکنواخت و غیریکنواخت است (رابطه ۷).

$$\ln q_e = \ln q_{DR} - K_{DR} \times \varepsilon^2 \quad \text{رابطه ۷}$$

$$\varepsilon = R \times T \times \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad \text{رابطه ۸}$$

$$E = \frac{1}{\sqrt{2K_{DR}}} \quad \text{رابطه ۹}$$

که در این رابطه q_{DR} ظرفیت جذب حداکثر تک‌لایه (mg/g) ، K_{DR} ثابت مدل $(\text{mol}^2/\text{KJ}^2)$ ، ε پتانسیل پلانی $(\text{J}^2/\text{mol}^2)$ ، E تغییر انرژی آزاد (KJ/mol) و R و T به ترتیب ثابت گازها و دمای کلین می‌باشند (۴).

ضرایب مربوط به سه ایزوترم مورد بررسی در جدول ۲ آمده است. همانطور که مشخص است و در شکل ۹ نیز به وضوح قابل مشاهده است، میزان ضریب همبستگی در همه دماها برای ایزوترم فروندلیچ بالاتر از ایزوترم لانگمویر می‌باشد که نشان می‌دهد فرآیند جذب از این ایزوترم پیروی می‌کند. پیروی از ایزوترم فروندلیچ موید جذب چندلایه‌ای روی سطوح نامتجانس بوده و نشان‌دهنده مکانیسم جذب فیزیکی است (۲۵). از ایزوترم دوینین-رادوشکویچ نیز به منظور بررسی مکانیسم جذب استفاده می‌شود. در صورتیکه فاکتور E بین ۸ تا ۸ کیلوژول برمول باشد جذب فیزیکی، بین ۸ تا ۱۶ کیلوژول بر مول، تبادل یونی و بالاتر از این محدوده موید جذب شیمیایی است (۴). همانطور که در جدول ۲ آمده است، میزان این ضریب در همه دماها نشان‌دهنده جذب فیزیکی کروسین روی نانوساختار می‌باشد. از طرف دیگر، میزان R_L (جدول ۳) در همه دماها بین صفر و یک بوده که نشان می‌دهد جذب مطلوب بوده است.

ایزوترم‌های جذب: در این مطالعه، از مدل‌های ایزوترم جذب فروندلیچ، لانگمویر و دوینین-رادوشکویچ^۱ (D-R) برای مدل‌سازی ریاضی فرآیند جذب کروسین استفاده شد. ایزوترم لانگمویر بر مبنای جذب تک‌لایه‌ای و یکنواخت ماده جذب شونده با انرژی یکسان بر تمام سطوح روی جاذب است (رابطه ۴).

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_{max}} + \frac{1}{b \cdot q_{max}} \quad \text{رابطه ۴}$$

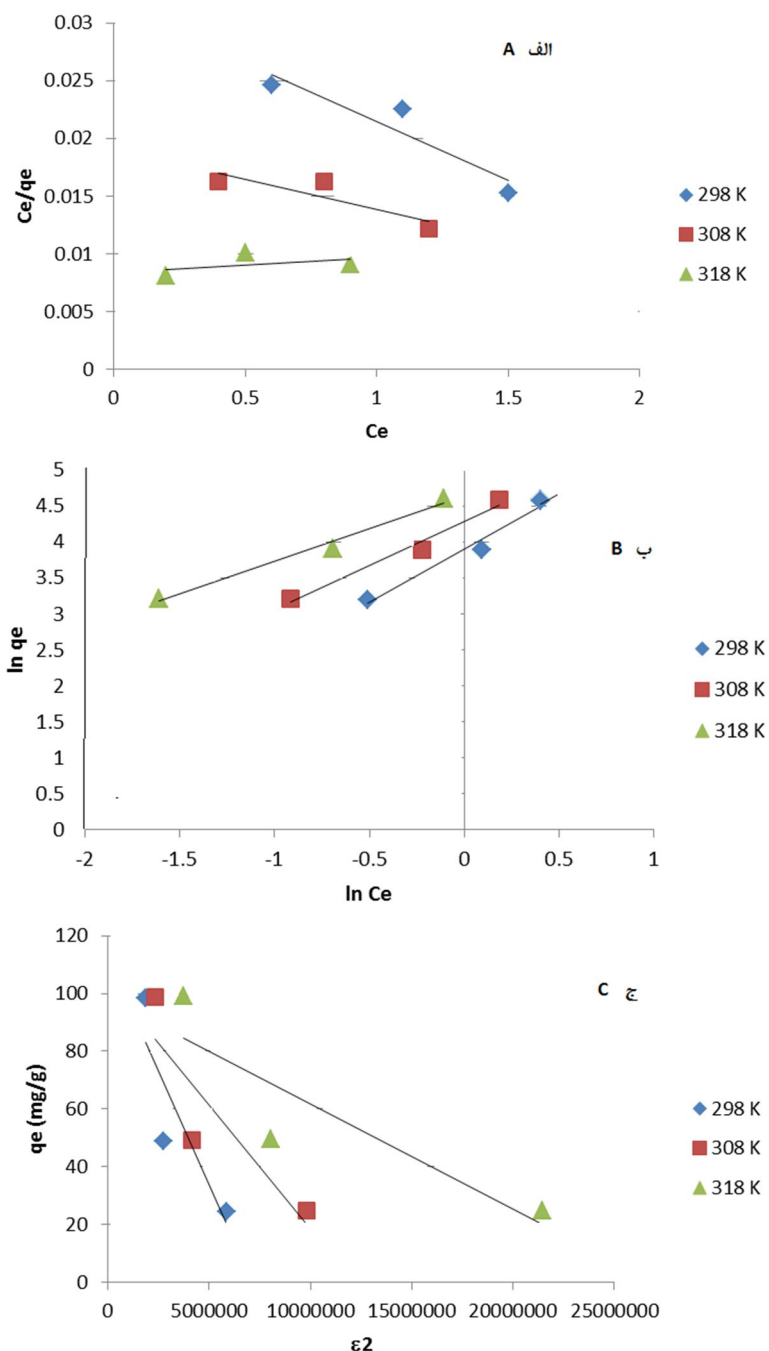
که در این معادله b ثابت لانگمویر (L/mg) ، q_{max} ظرفیت جذب، C_e غلظت نهایی ماده جذب‌شونده در محلول پس از برقراری تعادل (mg/L) و q_e مقدار ماده جذب‌شده در شرایط تعادل (mg/g) می‌باشد (سان و همکاران، ۲۰۱۵). می‌توان کارایی فرآیند جذب را با استفاده از عدد بدون بعد RL پیش‌بینی نمود:

$$R_L = \frac{1}{1 + b \cdot C_0} \quad \text{رابطه ۵}$$

که در این رابطه C_0 غلظت اولیه (mg/L) می‌باشد. اگر $RL > 1$ نامناسب، $RL = 1$ جذب خطی، $0 < RL < 1$ مناسب و مطلوب است و اگر $RL = 0$ باشد، فرآیند جذب برگشت‌ناپذیر است. ایزوترم فروندلیچ بر مبنای جذب چندلایه‌ای و ناهمگن ماده جذب‌شونده روی جاذب می‌باشد (رابطه ۶).

$$\ln q_e = \ln k_f - \frac{1}{n} \ln C_e \quad \text{رابطه ۶}$$

که در این رابطه، k_f ثابت فروندلیچ نشان‌دهنده ظرفیت جاذب (mg/g) $(\text{L/g})^{1/n}$ ، C_e غلظت نهایی ماده جذب‌شونده در محلول پس از برقراری تعادل (mg/L) ، q_e مقدار ماده جذب‌شده در شرایط تعادل (mg/g) ، n ثابت فروندلیچ، نشان‌دهنده شدت جذب است.



شکل ۹- ایزوترم لانگمویر (الف)، فروندلیچ (ب) و ایزوترم دوبینین-رادوشکوویچ (ج) برای جداسازی کروسین توسط نانوساختار GO-CS
Figure 9-Langmuir (A), freundlich (B) and Dubinin-Radushkevich (C) isotherms for crocin adsorption on the GO-CS

جدول ۳- ضرایب ایزوترم های لانگمویر، فروندلیچ و دوبینین-رادوشکوویچ برای جذب کروسین توسط نانوساختار GO-CS

Table 3- Coefficients Langmuir and Freundlich isotherms for crocin adsorption on the GO-CS

ایزوترم دوبینین-رادوشکوویچ			ایزوترم فروندلیچ			ایزوترم لانگمویر			دما (K)
Dubinin-Radushkevich isotherm			Freundlich isotherm			Langmuir isotherm			Temperature (K)
R^2	E	K_{DR}	R^2	n	k_f	R^2	b	q_m	
0.7695	1.58	2.e-7	0.9656	1.679	49.22	0.8674	0.319	99	298
0.785	2.35	9.e-8	0.9772	1.808	73.10	0.75	0.268	196	308
0.7885	3.53	4.e-8	0.984	1.903	102.57	0.182	0.142	833	318

جدول ۴- مقادیر عدد بدون بعد RL در غلظت های مختلف

Table 4- Values of RL at different concentrations

RL		
C ₀ =100 mg/L	C ₀ =50 mg/L	C ₀ =25 mg/L
0.030	0.058	0.111
0.039	0.069	0.129
0.065	0.123	0.219

که در این رابطه K_b ثابت بولتزمن ($10^{-23} \text{ J K}^{-1}$)، h ثابت پلانک ($6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$)، K_2 ثابت سرعت واکنش شبه مرتبه دوم ($\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$)، R ثابت گازها ($\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) و T دما (K) می باشد. با استفاده از نمودار و معادله ۱۱، آنتالپی فعال سازی معادل 18.73 kJ/mol بدست آمد. مثبت بودن مقدار آنتالپی فعال سازی نشان دهنده گرماگیر بودن فرآیند می باشد (۲۶). برای بدست آوردن میزان تغییر آنتروپی و انرژی آزاد گیبس از معادله های ۱۲ و ۱۳ استفاده شد.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_d \quad \text{رابطه ۱۳}$$

$$\ln k_d = \frac{\Delta S^{++}}{R} - \frac{\Delta H^{++}}{RT} \quad \text{رابطه ۱۲}$$

که در این رابطه ΔG° انرژی آزاد گیبس، K_d ضریب تقسیم ($K_d = qe/Ce$) و ΔS^{++} تغییر آنتروپی است. همانطور که در جدول ۵ آمده است، فرآیند جذب از نوع خودبخودی است زیرا مقدار انرژی آزاد گیبس منفی است (۲۶). واکنش الکترواستاتیک بین مولکول های کروسین و نانوکامپوزیت بعنوان یک نیروی محرک عمل نموده و سبب ارتقاء فرآیند جذب می شود (۲۹). علاوه بر این، مثبت بودن مقدار ΔS^{++} نشان می دهد فرآیند جذب در سطح مشترک جامد/مایع یک فرآیند کاملاً تصادفی است (۱).

آنالیزهای ترمودینامیک: به منظور بررسی گرماده یا گرماگیر بودن و همچنین تعیین مکانیسم غالب جذب (شیمیایی یا فیزیکی) آنالیز ترمودینامیکی انجام شد. با استفاده از نتایج آنالیز سینتیکی و پس از مشخص شدن مدل غالب جذب، با استفاده رابطه آرنیوس (رابطه ۱۰)، انرژی فعال سازی و ثابت آرنیوس برای جذب کروسین مشخص شد.

$$\ln k_2 = \ln k_0 - E_a/RT \quad \text{رابطه ۱۰}$$

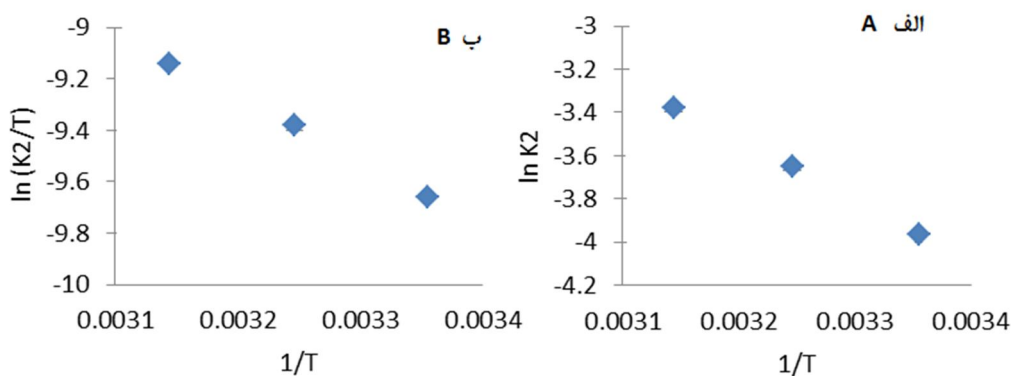
در این رابطه E_a انرژی فعال سازی (J mol^{-1})، k_2 ثابت سرعت جذب واکنش شبه مرتبه دوم ($\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$)، R ثابت گازها ($\text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) و T دمای محلول (K) می باشد. همانطور که در شکل نشان داده شده است، میزان انرژی فعال سازی برابر 22.89 kJ/mol بود که نشان می دهد فرآیند جذب کروسین روی نانوساختار سنتز شده از نوع فیزیکی می باشد. فرآیندهای جذب فیزیکی دارای انرژی فعال سازی $40-50 \text{ kJ/mol}$ و فرآیندهای جذب شیمیایی دارای انرژی فعال سازی بالاتر و در محدوده $40-800 \text{ kJ/mol}$ می باشند (۲۴). آنتالپی فعال سازی (ΔH^{++}) با استفاده از معادله ایرینگ بدست آمد:

$$\ln \frac{K_2}{T} = \ln \frac{K_b}{h} + \frac{\Delta S^{++}}{R} - \frac{\Delta H^{++}}{RT} \quad \text{رابطه ۱۱}$$

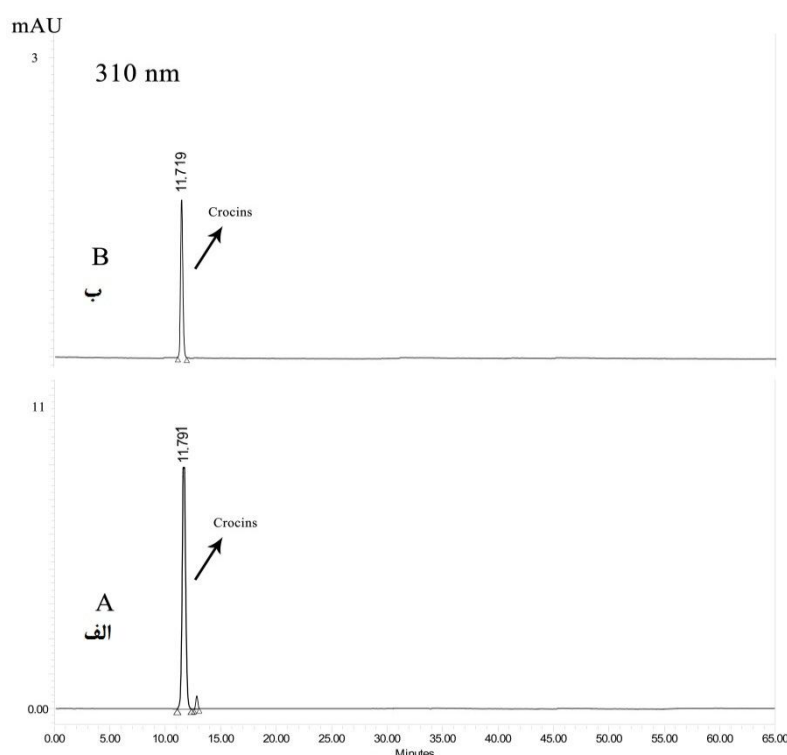
جدول ۵- پارامترهای ترمودینامیکی برای جذب کروسین روی GO-CS

Table 5-Thermodynamic Parameters for for crocin adsorption on the GO-CS

ΔS^{++} ($\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)	ΔH^{++} (kJ mol^{-1})	ΔG° (kJ mol^{-1})	دما (K) Temperature (K)
93.64		-9.176	298
92.34	18.730	-9.711	308
93.67		-11.058	318



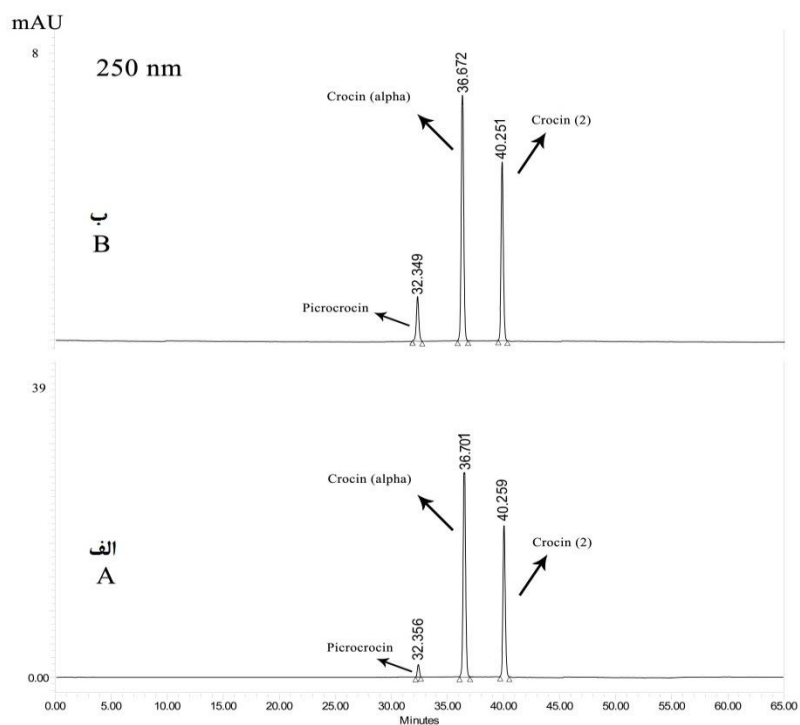
شکل ۱۰- نمودار آرنیوس (الف) و ایرینگ (ب) برای جذب کروسین روی نانوساختار GO-CS
Figure 10- Arrhenius plot (A) and Eyring plot (B) for crocin adsorption on the GO-CS



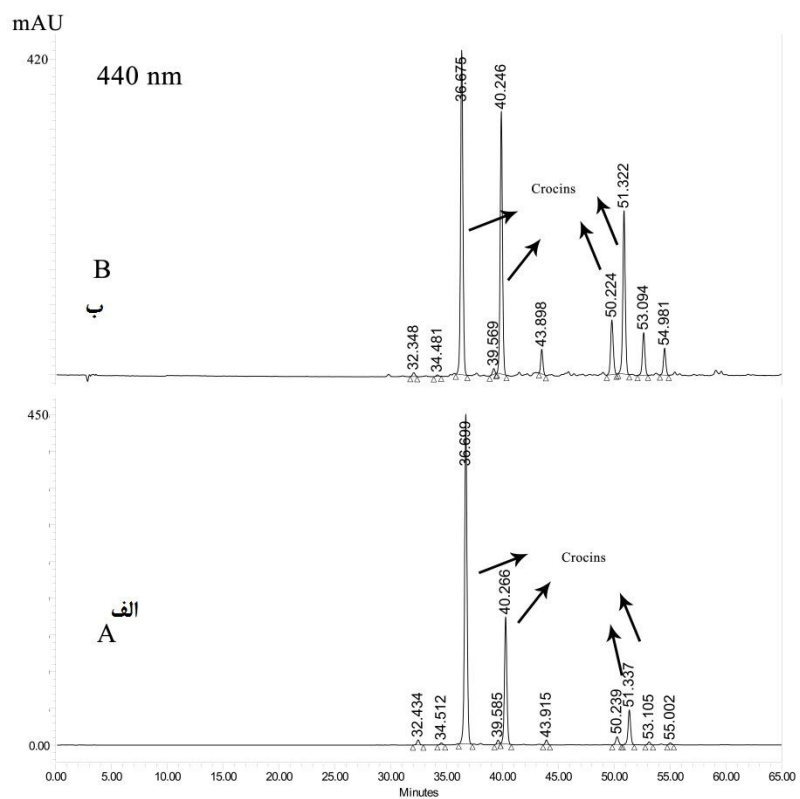
شکل ۱۱- کروماتوگرام مربوط به استاندارد کروسین (الف) و عصاره حاصل از شویش نانوساختار (ب) در طول موج ۲۵۰ نانومتر
Figure 11- Chromatogram of (A) pure crocin and (B) adsorbed crocin by GO-CS at 250 nm

متقابلاً جهت بررسی خلوص کروسین استخراج شده با استفاده از نانوساختار، با توجه به اینکه ۱۰ درصد از زعفران را کروسین تشکیل می‌دهد، برای تهیه عصاره‌ای با غلظت ۲۰۰ mg/l، عصاره‌گیری از پودر زعفران پس از اعمال تیمار حرارتی و اسیدی انجام شد.

بررسی خلوص کروسین جداسازی شده: با توجه به پیش‌تیمارهای انجام شده در جهت حذف پیکروکروسین و سافرانال، انتظار می‌رود تنها کروسین در سطح بستر جامد جذب شود. از این رو عصاره حاصل از واشویش نانوساختار به دستگاه HPLC تزریق گردید. ابتدا کروسین خالص با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به دستگاه HPLC تزریق گردید.



شکل ۱۲- کروماتوگرام مربوط به استاندارد کروسین (A) و عصاره حاصل از شویش نانوساختار (B) در طول موج ۳۱۰ نانومتر
Figure 12- Chromatogram of (A) pure crocin and (B) adsorbed crocin by GO-CS at 310 nm



شکل ۱۳- کروماتوگرام مربوط به استاندارد کروسین (الف) و عصاره حاصل از شویش نانوساختار (ب) در طول موج ۴۴۰ نانومتر
Figure 13- Chromatogram of (A) pure crocin and (B) adsorbed crocin by GO-CS at 440 nm

زعفران بکار برده شد. آزمون‌های FTIR، XRD و FESEM شکل‌گیری نانوساختار را تأیید کردند. تاثیر متغیرهای فرآیند شامل pH، دما، سرعت همزدن و غلظت عصاره کروسین بر راندمان فرآیند جداسازی ارزیابی شده و مشخص گردید دمای ۴۵، سرعت همزدن ۳۰۰ rpm، غلظت ۱۰۰ mg/l و pH طبیعی عصاره زعفران بهترین شرایط می‌باشد. فرآیند جذب کروسین روی نانوساختار از مدل شبه مرتبه دوم پیروی کرده و جذب از نوع فیزیکی و چندلایه بود. آنالیزهای ترمودینامیک نشان دادند جذب کروسین روی نانوساختار فرآیندی گرماگیر با انرژی فعال‌سازی ۲۲/۸۹ kJ/mol می‌باشد. کروماتوگرام‌های عصاره حاصل از شویش نانوساختار نشان داد فرآیند جداسازی و تخلیص به خوبی انجام شده و کروسین استخراج شده از لحاظ خلوص قابل مقایسه با نمونه استاندارد می‌باشد.

مقدار ۱۵ ml از عصاره زعفران با ۱۵ mg میلی‌گرم از نانوساختار ترکیب شده و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰ rpm همزده شد. سپس عصاره فیلتر شده و نانوساختار با استفاده از متانول شسته شده و عصاره بدست آمده به دستگاه HPLC تزریق شد. همانطور که در کروماتوگرام‌های بدست‌آمده (شکل ۱۱، ۱۲ و ۱۳) در ۳ طول موج مشخص است، خلوص کروسین استخراج‌شده توسط نانوساختار بسیار نزدیک به نمونه استاندارد بوده است و می‌توان ادعا کرد نانوساختار ۳ بعدی اکسیدگرافن-کیتوزان توانسته است بطور موفقیت‌آمیزی کروسین زعفران را از محیط جداسازی و تخلیص نماید.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش نانوکامپوزیت اکسیدگرافن-کیتوزان جهت استخراج و خالص‌سازی کروسین

References

1. Ai, L., Li, M., and Li, L. 2011. Adsorption of methylene blue from aqueous solution with activated carbon/cobalt ferrite/alginate composite beads: kinetics, isotherms, and thermodynamics. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 56:8.3475-3483.
2. Amin, B., and Hosseinzadeh, H. 2012. Evaluation of aqueous and ethanolic extracts of saffron, *Crocus sativus* L., and its constituents, safranal and crocin in allodynia and hyperalgesia induced by chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats. *Fitoterapia*. 83:5.888-895.
3. Chen, Z., Liu, Y., Fang, L., Jiang, P., and Huang, X. 2019. Role of reduced graphene oxide in dielectric enhancement of ferroelectric polymers composites. *Applied Surface Science*. 470:3.48-359.
4. Emadi, F., Amini, A., Gholami, A., and Ghasemi, Y. 2017. Functionalized graphene oxide with chitosan for protein nanocarriers to protect against enzymatic cleavage and retain collagenase activity. *Scientific reports*. 7: 1.1-13,
5. Ferrara, L., Naviglio, D., and Gallo, M. 2014. Extraction of bioactive compounds of saffron (*Crocus sativus* L.) by ultrasound assisted extraction (UAE) and by rapid solid-liquid dynamic extraction (RSLDE). *European Scientific Journal*. 10:3.
6. Hadizadeh, F., Mohajeri, S.A., and Seifi, M. 2010. Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 13:14.691.
7. Han, D., Yan, L., Chen, W., and Li, W. 2011. Preparation of chitosan/graphene oxide composite film with enhanced mechanical strength in the wet state. *Carbohydrate Polymers* 83:2.653-658.
8. Huang, P.T.L., Tu, N., Lan, H., Van Quy, N., Tuan, P.A., Dinh, N.X., Phan, V.N., and Le, A.T. 2018. Functional manganese ferrite/graphene oxide nanocomposites: effects of graphene oxide on the adsorption mechanisms of

- organic MB dye and inorganic As (v) ions from aqueous solution. RSC advances. 8:22.12376-12389.
9. Kumar, S., and Koh, J. 2014. Physicochemical and optical properties of chitosan based graphene oxide bionanocomposite. International journal of biological macromolecules. 70.559-564.
 10. Li, P., Gao, Y., Sun, Z., Chang, D., Gao, G., and Dong, A. 2017. Synthesis, characterization, and bactericidal evaluation of chitosan/guanidine functionalized graphene oxide composites. Molecules. 22:1.12.
 11. Majidi, H.J., Babaei, A., Bafrani, Z.A., Shahrampour, D., Zabihi, E., and Jafari, S.M. 2019. Investigating the best strategy to diminish the toxicity and enhance the antibacterial activity of graphene oxide by chitosan addition. Carbohydrate polymers. 225.115220.
 12. Majidi, H.J., Mirzaee, A., Jafari, S.M., Amiri, M., Shahrousvand, M., and Babaei, A. 2019. Fabrication and characterization of graphene oxide-chitosan-zinc oxide ternary nano-hybrids for the corrosion inhibition of mild steel. International journal of biological macromolecules. 148.1190-1200
 13. Marcano, D.C., Kosynkin, D.V., Berlin, J.M., Sinitiskii, A., Sun, Z., Slesarev, A., Alemany, L.B., Lu, W., and Tour, J.M. 2010. Improved synthesis of graphene oxide. ACS nano. 4:8.4806-4814.
 14. Mohajeri, S.A., Hosseinzadeh, H., Keyhanfar, F., and Aghamohammadian, J. 2010. Extraction of crocin from saffron (*Crocus sativus*) using molecularly imprinted polymer solid-phase extraction. Journal of separation science. 33:15:2302-2309.
 15. Montalvo-Hernández, B., Rito-Palomares, M., and Benavides, J. 2012. Recovery of crocins from saffron stigmas (*Crocus sativus*) in aqueous two-phase systems. Journal of Chromatography A. 1236.7-15.
 16. Oribayo, O., Feng, X., Rempel, G.L., and Pan, Q. 2017. Synthesis of lignin-based polyurethane/graphene oxide foam and its application as an absorbent for oil spill clean-ups and recovery. Chemical Engineering Journal. 323.191-202.
 17. Pham, V.H., Dang, T.T., Hur, S.H., Kim, E.J., and Chung, J.S. 2012. Highly conductive poly (methyl methacrylate) (PMMA) -reduced graphene oxide composite prepared by self-assembly of PMMA latex and graphene oxide through electrostatic interaction. ACS applied materials & interfaces. 4:5.2630-2636.
 18. Posudievsky, O.Y., Khazieieva, O.A., Koshechko, V.G., and Pokhodenko, V.D. 2012. Preparation of graphene oxide by solvent-free mechanochemical oxidation of graphite. Journal of Materials Chemistry. 22:25.12465-12467.
 19. Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., and Rajabzadeh, G. 2015. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. Food hydrocolloids. 51.327-337.
 20. Sabzevari, M., Cree, D.E., and Wilson, L.D. 2018. Graphene oxide-chitosan composite material for treatment of a model dye effluent. ACS omega. 3:10.13045-13054.
 21. Sarfarazi, M., Jafari, S.M., Rajabzadeh, G., and Feizi, J. 2019. Development of an environmentally-friendly solvent-free extraction of saffron bioactives using subcritical water. LWT. 114.108428.
 22. Shahzad, A., Miran, W., Rasool, K., Nawaz, M., Jang, J., Lim, S.R., and Lee, D.S. 2017. Heavy metals removal by EDTA-functionalized chitosan graphene oxide nanocomposites. RSC advances. 7:16.9764-9771.
 23. Sui, Z.Y., Cui, Y., Zhu, J.H. and Han, B.H., 2013. Preparation of three-dimensional graphene oxide-polyethylenimine porous materials as dye and gas adsorbents. ACS applied materials & interfaces. 5:18.9172-9179.
 24. Wang, C., Feng, L., Yang, H., Xin, G., Li, W., Zheng, J., Tian, W., and Li, X. 2012. Graphene oxide stabilized polyethylene glycol for heat storage. Physical Chemistry Chemical Physics. 14:38.13233-13238.
 25. Wang, Q., Yang, L., Jia, F., Li, Y., and Song, S. 2018. Removal of Cd (II) from

- water by using nano-scale molybdenum disulphide sheets as adsorbents. *Journal of Molecular Liquids*. 263.526-533.
26. Xu, J., Li, S., Wang, F., Yang, Z., and Liu, H. 2019. Efficient and enhanced adsorption of methylene blue on triethanolamine-modified graphene oxide. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 64:4.1816-1825.
 27. Yadav, M., and Ahmad, S. 2015. Montmorillonite/graphene oxide/chitosan composite: Synthesis, characterization and properties. *International journal of biological macromolecules*. 79.923-933.
 28. Yang, A., Zhu, Y., and Huang, C.P. 2018. Facile preparation and adsorption performance of graphene oxide-manganese oxide composite for uranium. *Scientific reports*. 8:1.1-10.
 29. Yang, S.T., Chen, S., Chang, Y., Cao, A., Liu, Y., and Wang, H. 2011. Removal of methylene blue from aqueous solution by graphene oxide. *Journal of colloid and interface science*. 359:1.24-29.
 30. Yang, X., Tu, Y., Li, L., Shang, S., and Tao, X.M. 2010. Well-dispersed chitosan/graphene oxide nanocomposites. *ACS applied materials & interfaces*. 2:6.1707-1713.
 31. Zabihi, E., Babaei, A., Shahrampour, D., Arab-Bafrani, Z., Mirshahidi, K.S., and Majidi, H.J. 2019. Facile and rapid in-situ synthesis of chitosan-ZnO nano-hybrids applicable in medical purposes; a novel combination of biomineralization, ultrasound, and bio-safe morphology-conducting agent. *International journal of biological macromolecules*. 131.107-116.
 32. Zhang, H., Zeng, Y., Yan, F., Chen, F., Zhang, X., Liu, M., and Liu, W. 2004. Semi-preparative isolation of crocins from saffron (*Crocus sativus* L.). *Chromatographia*. 59:11-12.691-696.

