



روناس

مؤلفان:

دکتر احمد اکبري
عضو هیئت علمي دانشگاه کاشان
و

ربابه تقی زاده بروجنی
عبدالسلیم قره بایی

زمستان ۱۳۹۲

صفحه شناسه

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
پیش‌گفتار	۱۱
فصل اول	۱۵
انواع گونه‌های روناس	۱۵
۱.۱. تاریخچه روناس	۱۵
۲.۱. روناس	۱۶
۳.۱. روبیا تینکتروم	۱۷
۴.۱. آماده‌سازی روبیا تینکتروم	۱۹
۵.۱. مصارف صنعتی روبیا تینکتروم	۲۰
۶.۱. روبیا پرگرینا (روناس وحشی)	۲۰
۷.۱. آماده‌سازی روبیا پرگرینا	۲۳
۸.۱. روبیا کوردیفولیا	۲۳
۹.۱. روبیا سیکیمنسیس کورز	۲۴
۱۰.۱. روبیا آکان	۲۵
۱۱.۱. ترکیبات رنگی در انواع روناس	۲۶
۱۲.۱. بررسی تنوع ژنتیکی روناس در ایران	۲۹
منابع	۳۱
فصل دوم	۳۳
خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس	۳۳
۱.۲. آلزارین	۳۳
۲.۲. پورپورین	۳۴
۳.۲. اسید روبریتریک	۳۷
۴.۲. روبیادین	۳۸

۶ ◀ روناس

۳۹.....	۵.۲. مانجستين.....
۴۰.....	۶.۲. لوسيدين.....
۴۲.....	۷.۲. لوسيدين پريم اوروزايد.....
۴۳.....	۸.۲. پزدوپورپورين.....
۴۳.....	۹.۲. كوئينيزارين.....
۴۵.....	۱۰.۲. دانترون.....
۴۷.....	۱۱.۲. آنترافلاوين.....
۴۸.....	۱۲.۲. نوردامنكانتال.....
۴۹.....	۱۳.۲. آنتراگالول.....
۵۰.....	۱۴.۲. ۵-هيدروكسي آليزارين.....
۵۱.....	۱۵.۲. فلاووپورپورين.....
۵۲.....	۱۶.۲. پورپوروزانتين.....
۵۴.....	منابع.....
۵۵.....	فصل سوم.....
۵۵.....	استخراج، جداسازی و تخليص آنتراکينون‌ها از رويبا تينكتروم.....
۵۶.....	۱.۳. کروماتوگرافي.....
۵۶.....	۲.۳. تاريخچه کروماتوگرافي.....
۵۸.....	۳.۳. دسته‌بندي روش‌های کروماتوگرافي.....
۵۹.....	۱.۳.۳. انواع روش‌های کروماتوگرافي مايع.....
۶۰.....	۲.۳.۳. کروماتوگرافي گازی.....
۶۱.....	۱.۲.۳.۳. انواع کروماتوگرافي گازی.....
۶۲.....	۳.۳.۳. کروماتوگرافي ستونی.....
۶۲.....	۴.۳.۳. استخراج فاز جامد.....

۶۳	۵.۳.۳ کروماتوگرافی مسطح.....
۶۴	۱.۵.۳.۳ کروماتوگرافی لایه نازک.....
۶۴	۲.۵.۳.۳ کروماتوگرافی کاغذی.....
۶۵	۳.۵.۳.۳ الکتروکروماتوگرافی.....
۶۵	۶.۳.۳ الکتروفورز.....
۶۶	۴.۳ استخراج.....
۶۹	۵.۳ کروماتوگرافی.....
۶۹	۱.۵.۳ ستون کروماتوگرافی.....
۷۰	۲.۵.۳ کروماتوگرافی کاغذی و کروماتوگرافی لایه نازک.....
۷۱	۳.۵.۳ کروماتوگرافی مایع‌گاز.....
۷۱	۴.۵.۳ کروماتوگرافی مایع کارایی بالا.....
۷۳	۵.۵.۳ کروماتوگرافی مایع-مایع.....
۷۶	۶.۳ الکتروفورز مویین.....
۷۷	۷.۳ استخراج به روش‌های جوشاندن و امواج فراصوت و استفاده از عصاره الکلی.....
۸۲	منابع.....
۸۳	فصل چهارم.....
۸۳	شناسایی آنتراکینون‌ها.....
۸۳	۱.۴ طیف‌سنجی با اشعه مادون قرمز و نور مرئی.....
۸۵	۲.۴ طیف‌سنجی مادون قرمز.....
۸۶	۳.۴ طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ای.....
۸۸	۴.۴ طیف‌سنجی جرمی.....
۵.۴	تأثیر پیوندهای درون‌مولکولی کتوفنولی و دی فنولی بر روی خواص کروماتوگرافی و اسپکترومتری هیدروکسی آنتراکینون‌ها.....
۸۹	اسپکترومتری هیدروکسی آنتراکینون‌ها.....
۹۷	فصل پنجم.....

۸ ◀ روناس

سنتز.....	۹۷
۱.۵. سنتز آلزارین.....	۹۷
۲.۵. بیوسنتز.....	۱۰۰
۳.۵. کشت سلولی.....	۱۰۱
منابع.....	۱۰۶
فصل ششم.....	۱۰۷
اصول رنگریزی طبیعی.....	۱۰۷
۱.۶. فرآیند شیمیایی تشکیل لاک.....	۱۰۷
۲.۶. انواع دندانها.....	۱۱۰
۱.۲.۶. دندانهای فلزی.....	۱۱۰
۲.۲.۶. تانن ها.....	۱۱۲
۳.۲.۶. دندانهای نوع روغنی.....	۱۱۲
۳.۶. رنگریزی با روناس.....	۱۱۲
۱.۳.۶. روش رنگریزی پشم و ابریشم با روناس.....	۱۱۳
۲.۳.۶. رنگریزی کتان و پنبه با روناس.....	۱۱۴
۴.۶. قرمز ترکی (قرمز آدریانوپل).....	۱۱۴
۵.۶. بررسی اثر دندانها در رنگریزی با روناس.....	۱۱۵
منابع.....	۱۲۳
فصل هفتم.....	۱۲۴
روشهای جدید رنگریزی با روناس و کاربردهای دیگر آن.....	۱۲۴
۱.۷. روشهای جدید رنگریزی با روناس.....	۱۲۴
۲.۷. مطالعه روند جذب در رنگریزی با روناس.....	۱۳۰
۳.۷. کاربرد روناس در زمینههای غیر رنگریزی.....	۱۳۳
منابع.....	۱۴۲

پیش‌گفتار

رنگزاهای طبیعی رنگینه‌هایی هستند که از منابع قابل تجدید طبیعی مثل گیاهان و جانوران به‌دست می‌آیند. گرچه تعدادی از این رنگزاهای از منابع معدنی نیز حاصل می‌شوند. رنگ حاصل‌شده از گیاه می‌تواند از ارگانوسم‌های مختلف گیاه مثل ریشه، برگ، پوست، تنه یا میوه به‌دست بیاید. رنگ‌های حیوانی نیز از منابعی نظیر لاک و قرمز دانه به‌دست می‌آیند. رنگزاهای طبیعی از روزگاران قدیم، کاربرد ویژه‌ای در صنایع غذایی، مواد آرایشی و رنگرزی منسوجات داشته‌اند. همچنین به منظور رنگرزی کاغذ، چرم و شمع نیز استفاده می‌کرده‌اند.

بعد از سنتز مووین توسط ویلیام هنری پرکین و تجاری‌سازی آن، استفاده از رنگزاهای طبیعی کاهش یافت؛ اما در چند مدت اخیر، استفاده دوباره از رنگزاهای طبیعی پایه‌های رنگ‌های مصنوعی به‌طور گسترده انجام می‌پذیرد. عموماً سازگاری بسیار زیاد این رنگ‌ها با محیط‌زیست، خاصیت تجزیه‌پذیر بودن مطلوب آن‌ها با وجود ثبات‌های پایین، باعث شده تا در سراسر دنیا رنگزاهای طبیعی پذیرفتنی‌تر باشند و در پاسخ به حرکت سبز و مبارزه دواستداران محیط‌زیست، برخی از کارخانه‌های رنگ، دوباره به سوی رنگزاهای طبیعی روی بیاورند.

موضوع مهم درباره این دسته از رنگزاهای، توجه محققان رشته‌های مختلف به آن است. تاریخ‌شناسان، گیاه‌شناسان، دانشمندان و طرفداران محیط زیست هنگام مطالعه رنگزاهای در تاریخ و باستان‌شناسی، دانش تخصصی خویش را ارائه می‌دهند و در عناوین بسیاری مرتبط با رنگزاهای طبیعی به بحث و مناظره می‌پردازند.

گیاه روناس در همه مناطق ایران به صورت وحشی می‌روید و در استان‌های آذربایجان، یزد، مازندران و کرمان کشت می‌شود. معمولاً روناس مناطق گرمسیری نسبت به انواع نواحی سردسیر مرغوب‌تر است و با استفاده از دندانه‌های مختلف می‌توان رنگ‌های زیادی با این گیاه به‌دست آورد. روناس دارای تعداد متنوعی ماده رنگزاست که بیشتر آن‌ها پایه آنتراکینونی دارند و از حدود ۲۰ نوع شناسایی شده آن، حداقل ۱۱ نوع خاصیت رنگرزی دارند؛ البته ترکیبات فنلی، نفتالینی و آنتراکینونی که در گیاه روناس شناخته شده و در ناحیه مرئی و نامرئی هستند، بیشتر از این تعداد است. میزان حلالیت مواد رنگی موجود در گیاه روناس در آب، بسیار کم و شاید کمتر از ۱۰ درصد است؛ لذا پساب حاصل از رنگرزی با این گیاه، رنگی است و می‌توان عملیات رنگرزی با پساب را تا چندین مرحله تکرار کرد و شیدهای روشن‌تری به‌دست آورد.

با توجه به این نکات، این کتاب از جهات زیادی همچون تاریخی، گیاه‌شناسی و تکنیک رنگرزی اطلاعاتی در زمینه گیاه روناس که متداول‌ترین، مشهورترین و پرکاربردترین رنگزای مورد استفاده در رنگرزی طبیعی است، فراهم آورده که از منابع بسیاری گردآوری و تهیه شده‌اند.

علاوه بر این، نظر به اهمیت تولید و انتشار منابع اطلاعاتی به‌خصوص کتاب‌های آموزشی، این مهم انجام شده است. امید است با همکاری مدرسان و اعضای هیئت علمی دانشگاه‌ها و مؤسسات علمی و پژوهشی کشور، این نوشته، افزایش کمی و کیفی بیشتری یابد.

این مجموعه که می‌تواند به صورت یک کتاب درسی استفاده شود، تحت عنوان «روناس» در اختیار دانشجویان رشته‌های نساجی و فرش، به‌ویژه گرایش رنگرزی، سعی کرده تا مباحث لازم و ضروری اعم از گیاه‌شناسی، ترکیبات اجزای تشکیل‌دهنده گیاه رنگزا، آشنایی با روش‌های مختلف استخراج و عصاره‌کشی و

استفاده از این روش‌ها در مراحل مختلف استخراج رنگینه از گیاه، موارد سنتز و بیوسنتز و کشت سلولی در گیاه روناس و روش‌های جدید در رنگرزی با روناس و کاربردهای دیگر این رنگزا در زمینه‌های غیر از رنگرزی را در دسترس مخاطبان این رشته و گرایش قرار دهد. امید است این کتاب، بخشی از خلأ موجود در کمبود منابع فارسی مربوط به این موضوعات را پر کرده و زمینه آموزشی مفیدی را فراهم آورد.

کتاب حاضر هفت فصل جداگانه دارد که عبارت‌اند از:

در فصل اول، ابتدا تاریخچه‌ای از گیاه روناس آورده شده است. پس از آن، دانشجویان با انواع گوناگون گونه‌های روناس و نام‌های مختلف آن‌ها در زبان‌های مختلف که به‌طور مفصل به خصوصیات گیاهی آن پرداخته شده است، آشنا می‌شوند. در ادامه، ترکیبات اجزای اصلی روناس معرفی و توصیف شده‌اند. از آنجاکه نوع اصلی این گیاه که عنوان اصلی در این نوشته نیز می‌باشد، روبیا تینکتروم است، در خصوص روش آماده‌سازی و مصارف صنعتی این گونه و روش آماده‌سازی روبیا پرگرینا (روناس وحشی) نیز توضیحات مفصلي آورده شده است. در آخر، تنوع ژنتیکی روناس در ایران بررسی و مطالعه شده است.

در فصل دوم، خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در روناس معرفی شده‌اند. به این منظور، نام‌های دیگر ترکیبات، شماره کالر ایندکس آن، فرمول و وزن مولکولی نیز آورده شده است. تأثیر مواد شیمیایی و محیط‌های اسیدی و قلیایی بر روی این ترکیبات و میزان حلالیت این ترکیبات در مواد مختلف نیز بررسی شده است.

در فصل سوم، ابتدا مخاطبان با موضوع استخراج، تاریخچه و انواع آن آشنا می‌شوند. سپس موضوع استخراج از ریشه روبیا تینکتروم و روش‌های مورد استفاده آن بررسی و محصولات به‌دست آمده از روش‌های مختلف استخراج، معرفی و شناسایی شده‌اند.

در فصل چهارم، به شناسایی آنتراکینون‌های موجود در روبیا تینکتروم، ماهیت و موقعیت استخلاfi آن‌ها و روش‌های مختلف در این شناسایی، پرداخته شده است. همچنین تأثیر پیوندهای درون‌مولکولی کتوفنولی و دی فنولی بر روی خواص کروماتوگرافی و اسپکترومتری هیدروکسی آنتراکینون‌ها نیز بررسی شده است. در آخر نیز، به شناسایی آنتراکینون‌ها بر روی منسوجات رنگرزی شده با روناس پرداخته شده است.

در فصل پنجم، به تشریح سنتز و بیوسنتز آلیزارین از نقطه‌نظر تاریخی و علمی پرداخته شده و مسیرهای مختلف واکنش‌های انجام‌یافته، بررسی شده است. از آنجاکه کشت سلولی در تعیین مسیر بیوسنتز اهمیت زیادی دارد، در ادامه این فصل، این مبحث نیز مطالعه شده است. استخراج‌کننده‌ها و روش‌های مختلف مورد استفاده در آن نیز به مخاطبان ارائه شده است.

در فصل ششم، اصول رنگرزی طبیعی شامل مکانیسم فرآیندها، انواع دندانه‌ها و بررسی تأثیر آن‌ها بر الیاف طبیعی، روش‌های متفاوت رنگرزی این الیاف با روناس، هم در تاریخ رنگرزی و هم از نظر علمی و اصول به‌کاررفته در انجام این عملیات‌ها بررسی و مطالعه شده است.

در فصل هفتم، روش‌های جدید در رنگرزی با روناس و همچنین خواص کاربرد این رنگزا در زمینه‌های غیر از رنگرزی مورد بررسی قرار گرفته است. در خاتمه، لازم است نخست از دانشگاه کاشان که چاپ و انتشار این کتاب با حمایت مادی و معنوی آن انجام گرفته، تشکر شود؛ سپس از سرکار خانم اقدس عدالت‌پور که ویراستاری آن را بر عهده گرفتند، قدردانی و سپاس‌گزاری گردد.

مؤلفان

تابستان ۱۳۹۳

فصل اول

انواع گونه‌های روناس

۱.۱. تاریخچه روناس

روناس از قدیمی‌ترین و مشهورترین رنگزاهای طبیعی مورد استفاده بشر است که از دل طبیعت قاره بزرگ اوراسیا (نامی مرکب از دو واژه اروپا و آسیا) یافت شده است. از زمان باستان، رنگزای استخراج‌شده از ریشه‌های خشک‌شده روبیا تینکتروم به‌منظور رنگرزی منسوجات به‌خصوص در اروپا و خاورمیانه و هند که گیاه بومی این مناطق است، استفاده می‌شده است [۱].

در گزارشی از تاریخ‌نویس معروف، هردوت آمده است که در ۴۵۰ ق‌م، زنان مصری از روناس استفاده می‌کرده‌اند. همچنین پلینی در کتاب تاریخ طبیعی خود درباره روناس مطالبی آورده است. در منسوجات یافت‌شده از قبرهای مصریان نیز آثاری از رنگزای روناس دیده شده است. در ایران و عربستان و بین‌النهرین (این نوع روناس شاید از نوع روبیا پرگرینا باشد) نیز شناخته شده است. به‌نظر می‌رسد قدیمی‌ترین نشانه از وجود روناس (احتمالاً از نوع روبیا کوردیفولیا هندی) در پارچه‌ای پنبه‌ای از موهنجودارو در دره ایندوس باشد که تاریخ آن به ۳۰۰۰ ق‌م می‌رسد. اولین نسخه نوشته‌شده درباره رنگرزی با روناس نیز در پاپیروس کراسوس هولمینسیس دیده است.

در نوشته‌های قدیمی، انواع روبیا با نام عمومی روناس طبقه‌بندی شده‌اند؛ اما در نوشته‌های جدید، بین انواع مختلف روبیاسیا تفاوت قائل شده‌اند. یکی از مشهورترین

انواع روناس، روبیا تینکتروم است، این گیاه بومی بیشتر کشورها، از اروپا، مدیترانه تا شرق نزدیک و چین و ژاپن، است. در زمان رومیان، روناس در مناطق رونا و کاریا کشت می‌شد. در قرن هفتم روناس در دنیس نزدیک پاریس کشت می‌شد و در قرن ۱۴ بهترین نوع روناس در هلند کاشته می‌شد. معروف‌ترین نواحی کشت در اروپا، جزیره سی‌لند در هلند و اطراف آویگنون در جنوب فرانسه بود. در اروپا روناس بیشتر به‌منظور رنگرزی پشم و کمتر جهت رنگرزی ابریشم استفاده می‌شده است. کالبرت شرح می‌دهد که از مخلوط روناس و قرمز دانه، رنگ قرمز درخشانی که به demi-grain معروف است، به‌دست می‌آید. در اواسط قرن ۱۷ با وجود کشف دندانه قلع برای رنگرزی با روناس، بیشتر از دندانه آلومینیوم استفاده می‌شد. بعدها تقریباً از هر دو استفاده می‌شد؛ گرچه دندانه آهن نیز برای ایجاد رنگ‌های ارغوانی همراه با روناس به‌کار می‌رفت. در قرن ۱۹ روناس در بیشتر نواحی جهان کشت می‌شد و نوع خالص آن (گارانسین که حاوی مقدار زیادی آلیزارین است) در فروشگاه‌ها فروخته می‌شد [۲].

۲.۱. روناس

روناس گیاهی متعلق به خانواده روباسیا^۱ است که انواع مختلفی دارد. دو نوع اصلی آن روبیا تینکتروم^۲ و روبیا پرگرینا^۳ است که در اروپای مدیترانه‌ای تا آسیا رشد می‌کند. دو نوع هندی آن روبیا کوردیفولیا^۴ و روبیا سیکیمینسیس کورز^۵ که از آسیا تا اندونزی رشد می‌کند. نوعی بومی ژاپن به نام روبیا آکان^۶ نیز وجود دارد. روبیا تینکتروم مشهورترین و پرمصرف‌ترین نوع روناس است [۳].

۱. Rubiaceae

۲. Rubia Tinctorum

۳. Rubia Peregrine

۴. Rubia Cordifolia

۵. Rubia Sikkimensis Kurz

۶. Rubia Akane

۳.۱. روبیا تینکتروم

این گیاه با عناوین آمده در جدول ۱-۱ در زبان‌های مختلف رایج است. همچنین اسامی منسوخ‌شده آن نیز در جدول ۲-۱ آمده است. این گیاه در کتاب مرجع رنگ با ^۸ C.I. Natural Red شناخته می‌شود [۲]. در شکل ۱-۱ تصویر این گیاه نشان داده شده است.

جدول ۱-۱: عناوین گیاه روبیا تینکتروم در زبان‌های مختلف [۲]

Madder	انگلیسی
Krapp/ Farberrote	آلمانی
Garance	فرانسوی
Robbia	ایتالیایی

جدول ۲-۱: اصطلاحات منسوخ‌شده روبیا تینکتروم [۲]

Alizari	Rote
Alzan(Arab)	Roza di fiandra
Chiocboyan(cypran)	Warance
Crap	Foyoy
Lizari (Persian)	Erythrodanan (Greek)
Mee (Dutch)	Varantina (latin)
Meede	Rubia major



شکل ۱-۱: گیاه روبیا تینکتروم [۴]

روپیا تینکتروم گیاهی علفی و پایا به ارتفاع ۰/۵ تا ۱/۵ متر است که به حالت وحشی در منطقه مدیترانه از اسپانیا تا آسیای صغیر و همچنین در شمال آفریقا و برخی نواحی آسیا می‌روید. منشأ اولیه آن، خاور نزدیک و قفقاز است. ساقه خشن این گیاه، چهارگوش و پوشیده از خارهای کوچک و قلاب‌مانندی است که به وسیله آن به تکیه‌گاه‌ها ارتباط پیدا می‌کند. این خارها در کناره‌های برگ و رگبرگ‌های میانی نیز دیده می‌شوند. برگ‌های آن بیضوی دراز و نوک‌تیز است و با آنکه به ظاهر مجتمع به تعداد عتایی در طول ساقه دیده می‌شوند، بیش از دوتای آن‌ها برگ نیست و بقیه استیپول‌های (زائده‌های زیر برگ) با ظاهر برگ‌مانند هستند. گل‌های آن کوچک، زردرنگ و مجتمع به صورت چترهای متعدد در محور ساقه و یا در قسمت‌های انتهایی آن است. میوه آن به صورت سته، گوشتدار و به رنگ قرمز تیره است. قسمت مورد استفاده گیاه، اعضای زیرزمینی یا ریزوم و ریشه آن است که به ضخامت انگشت است و طول آن نیز به یک متر می‌رسد. زراعت روناس پیش‌تر در بسیاری از نواحی اروپا و آسیا به منظور به دست آوردن ماده رنگی آلیزارین از ریشه آن، معمول بوده است؛ ولی از زمانی که این ماده به صورت مصنوعی در صنعت تهیه شد، پرورش آن در غالب نواحی محدود شد؛ به طوری که امروزه به ندرت ممکن است ریشه خردشده آن در بازار عرضه شود. از طرف دیگر، به دلیل آسانی روش تولید و کم‌هزینه بودن مراحل تولید آن، به طوری که به ازای هر کیلوگرم تولید آن مبلغ دو فرانک فرانسه در سال ۱۸۹۰ هزینه می‌گردید، باعث شد که پرورش گیاه در همه نواحی تقریباً از بین برود. در حال حاضر نواحی غربی ایران، اراک، اطراف دماوند، تبریز، یزدخاست، خوی، دیلمان و ارومیه از عمده محل‌های رویش این گیاه هستند. ریشه خشک‌شده روناس، گاهی به صورت قطعاتی به طول ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر و به قطر ۲ تا ۵ سانتی‌متر در بازارها یافت می‌شود. در سطح خارجی این قطعات، خطوط طولی به موازات محور طولی ریشه دیده می‌شود. پوست ریشه روناس، رنگ قهوه‌ای قرمز دارد و به سهولت از

طبقات پایین خود که رنگ قرمز روشن یا مایل به زرد دارند، جدا می شود. طعم آن ابتدا ملایم است؛ ولی بعد از مدتی گس و تلخ می گردد [۵]. ترکیبات اصلی موجود در ریشه‌های رویا تینکتروم عبارت‌اند از: ترکیبات هتروزیدیک^۱ مثل لوسیدین پریم اوروزاید^۲، روبریتریک اسید^۳ (آلیزارین پریم اوروزاید)^۴، گالیوزین^۵ (پزدوپورپورین پریم اوروزاید)^۶ و رویادین پریم اوروزید^۷ و مقدار کمی ترکیبات آگلیکونی^۸ مثل لوسیدین^۹ و آلیزارین^{۱۰} و پورپورین^{۱۱} نیز وجود دارد [۶].

۴.۱. آماده‌سازی رویا تینکتروم

در کشت گیاه روناس، تلاش‌هایی برای بزرگ کردن ریشه‌ها به منظور افزایش مقدار رنگزا انجام شده است. مقدار رنگزا فقط به نوع گیاه بستگی ندارد، بلکه کیفیت خاک نیز بسیار مهم است. برای کسب بالاترین درصد رنگزا در ریشه‌ها، خاک بسیار قلیایی (به خصوص کلسیمی) لازم است. خاک در جایی که گیاهان جوان روناس کاشته می‌شوند، اغلب مخلوط با گل و پسماندهای خیابانی هستند. کشت روناس در هلند، یکی از مهم‌ترین مکان‌های تولیدکننده روناس، به شدت تحت نظارت است. زمان برداشت گیاهان روناس بعد از گذشت سه سال از زمان کشت است. با توجه به اینکه منطقه محدودی دسترس پذیر است، پس از چیدن، ریشه‌ها را در هوای داغ در انبارهای بزرگ خشک می‌کنند. در ابتدای خشک شدن، پوست از ریشه جدا می‌شود و لایه حاوی رنگینه کوبیده و از الک عبور داده می‌شود. با توجه به میزان غربالگری، کیفیت‌های مختلفی از روناس موجود است. بهترین نوع باکیفیت مطلوب، نوع پوست‌کنده آن است که پوسته و قسمت‌های چوبی برداشته شده‌اند. ریشه‌هایی که

۱. Heterosidic Compounds

۲. Lucidin Primeveroside

۳. Ruberythric acid

۴. Alizarin primeveroside

۵. Galiosin

۶. Pseudopurpurin primeveroside

۷. Rubiadin Primeveroside

۸. Aglycone

۹. Lucidin

۱۰. Alizarin

۱۱. Purpurin

بدون جداسازی خشک شده‌اند، از نظر کیفی در درجهٔ دوم قرار دارند. ضایعات فرایند جداسازی به‌عنوان روناس با کیفیت اندک^۱ فروخته می‌شوند. در صنعت نساجی، اغلب نوع مرغوب آن برای رنگرزی لباس پشمی قرمز نیاز است [۲].

۵.۱. مصارف صنعتی روبیا تینکتروم

مصارف صنعتی روناس در رنگ کردن اشیا و پارچه زیاد است. برای این کار، پارچه را به روغن پنبه یا محلول سود سوزآور آغشته می‌کنند و سپس در محلول آبی روناس وارد می‌سازند. سپس آن را خارج می‌کنند و پس از خشک کردن، به‌ترتیب در آب صابون و محلول زاج یا کلرور قلع وارد می‌کنند. با انجام این اعمال و خشک کردن پارچه در هوای خشک، رنگ آن قرمز ارغوانی می‌شود [۵]. صنعتگران از روناس از زمان باستان استفاده می‌کردند و نقاشان از لاک روناس به‌عنوان وسیله‌ای برای نقاشی‌های خود بهره می‌بردند. برای به‌دست‌آوردن تغییرات جالب در رنگ، از روناس واکنش‌یافته استفاده می‌کردند. یکی از این روناس‌های واکنش‌یافته، گارانسین^۲ است که از هیدرولیز ترکیبات هتروزیدیک حاصل می‌شود. در نتیجهٔ این هیدرولیز با شکستن گلیکوزیدها در ریشه، آنتراکینون‌های آزاد تجزیه و به‌صورت رنگ قرمز عصارهٔ تغلیظ و سبب افزایش بهره‌وری رنگرزی می‌شود. نام گارانسین از کلمهٔ گارانس^۳ که در زبان فرانسه به‌معنی روناس است، گرفته شده است [۶].

۶.۱. روبیا پرگرینا (روناس وحشی)

این گیاه با عناوین آمده در جدول ۱-۳ در زبان‌های مختلف رایج است. در جدول

^۱. mull

^۲. Garancin

^۳. Garance

انواع گونه‌های روناس ۲۱

۴ نیز اسامی منسوخ‌شده این گیاه آمده است. این گونه در کتاب مرجع رنگ، با C.I. ۸ Natural Red شناخته می‌شود [۲] که در شکل ۱-۲ تصویر آن نشان داده شده است.

جدول ۱-۳: عناوین گیاه روبیا پرگرینا در زبان‌های مختلف [۲]

انگلیسی	Madder Wild
ایتالیایی	Robbia
فرانسوی	Garance sauvage
اسپانیایی	Rubia
آلمانی	Krapp levantinischer
هلند	Oost-Indischer krap

جدول ۱-۴: اصطلاحات منسوخ‌شده روبیا پرگرینا [۲]

Indischer krapp	Alizari
Morgenlandischer krapp	Foyoy
Smyrna madder	Fouyo



شکل ۱-۲: روبیا پرگرینا [۴]

گیاهی است که در جنگل‌های کم‌درخت، در کنار بوته‌ها یا درختچه‌ها و به‌طور کلی، تکیه‌گاه‌ها می‌روید. از مشخصات آن، این است که برگ‌هایش حالت خش و منحصراً یک رگبرگ دارد که تا حد عروق جانبی است. ساقه‌اش به طول ۱/۵ متر

می‌رسد. برگ‌هایش در زمستان نیز بر روی آن باقی می‌ماند. از قاعده ساقه گیاه، انشعابات خزننده خارج می‌شود که همواره عوامل تکثیر گیاه را فراهم می‌آورد [۵]. این گیاه ظاهری شبیه روبیا تینکتروم دارد؛ ولی بهتر از آن است. با اینکه ریشه‌های آن از نوع تینکتروم کوچک‌تر هستند، مقدار رنگزا در ریشه‌های پرگرینا زیادتر است. دلیل این امر، برداشت گیاه بعد از ۵ تا ۷ سال از زمان کاشت است؛ درحالی که نوع تینکتروم بعد از سه سال برداشت می‌شود. کیفیت روبیا پرگرینای شرقی اغلب بهتر از نوع اروپایی آن است؛ زیرا درصد بیشتری از رنگینه واقعی در ریشه‌ها وجود دارد و روش خشک کردن در مجاورت نور آفتاب و هوای باز است. در جنوب فرانسه، نواحی مدیترانه، ایران، ترکیه و به‌ویژه در ازمیر و یونان و بین‌النهرین رشد می‌کند. مواد اصلی رنگی آن، پزودوپورپورین^۱ و پورپورین هستند. پزودوپورپورین که گالیوزین نیز نامیده می‌شود، به فرم ۱-بتا-دی-پریم اوراوازد^۲ که تا حدی ناپایدار است، وجود دارد [۲]. پورپورین موجود احتمالاً از طریق کربوکسیل‌زدایی پزودوپورپورین تشکیل می‌شود. عصاره متانولی / آبی روبیا پرگرینا حاوی مانجستین، پزودوپورپورین، پورپورین و روبیادین است [۲]. در منسوجات رنگ‌شده با روبیا پرگرینا ترکیبات مانجستین^۳، پورپورین و روبیادین^۴ مشخص شده‌اند؛ اما اثری از آلیزارین دیده نشده است. گرچه در یک عصاره اسیدی / الکلی، آلیزارین گاهی اوقات تشخیص داده شده است [۲]؛ بنابراین حضور پیش‌ماده آلیزارین نشان‌دهنده روناس از نوع تینکتروم است. نمونه روبیا پرگرینا نیز همانند روبیا تینکتروم و به همان اندازه از ساختارهای هتروزیدیک مثل لوسیدین پریم اوروازد، گالیوزین و لوسیدین تشکیل شده است و تنها تفاوت آن‌ها عدم حضور آلیزارین در این نوع روناس است [۱].

۱. Pseudopurpurin

۲. ۱-β-D-primeveroside

۳. Munjistine

۴. Rubiadin

۷.۱. آماده‌سازی روبیا پرگرینا

روش آماده‌سازی این گیاه همانند روبیا تینکتروم است.

۸.۱. روبیا کوردیفولیا

این گیاه با عناوین آمده در جدول ۵-۱ در زبان‌های مختلف رایج است. اسامی منسوخ‌شده گیاه نیز در جدول ۶-۱ آمده است. این گونه در کتاب مرجع رنگ، با ۱۶ C.I. Natural Red شناخته می‌شود [۲]. در شکل ۳-۱ تصویر این گیاه آمده است.

جدول ۵-۱: عناوین گیاه روبیا کوردیفولیا در زبان‌های مختلف [۲]

Munjeet	انگلیسی
Indischer Krapp	آلمانی
La garance en coeur	فرانسوی
Munjeet	هلند

جدول ۶-۱: اصطلاحات منسوخ‌شده روبیا کوردیفولیا [۲]

Manjeet	Manjit	Manjitti	Manjistha	Ostindischer krap
---------	--------	----------	-----------	-------------------



شکل ۳-۱: گیاه روبیا کوردیفولیا [۴]

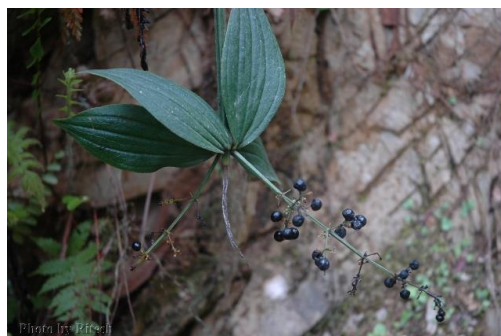
گیاهی علفی، چندساله، دارای ساقه چهارگوش و برگ‌های فراهم به صورت مجتمع و به تعداد ۴ تایی است. ابعاد برگ‌های آن به درازای ۲ تا ۴ و پهنای ۲ تا ۳

سانتی‌متر می‌رسد. گل‌هایی به رنگ زرد و مجتمع به‌صورت پانیکول دارد [۵]. این گیاه به‌خصوص در دارجیلینگ هند در ارتفاعات بین ۱۵۰۰ تا ۱۶۰۰ متر رشد می‌کند [۲]. بیشترین کاربرد ریشه‌های این گیاه در رنگری است؛ گرچه در بنگال از ساقه‌ها نیز استفاده می‌شود. مواد اصلی رنگی آن مانجستین به‌همراه پورپوروزانتین^۱، پزدوپورپورین و پورپورین هستند. همچنین مقدار ناچیزی آلیزارین در گیاه موجود است [۲]. این نوع از روناس به‌طور گسترده از روزگار باستان تا قرن نوزدهم کاشت می‌شده است و در نقاط زیادی از آسیا، اروپا و آفریقا منبع مهمی از رنگ قرمز محسوب می‌شود.

۹.۱. روبیا سیکیمنسیس کورز

گیاهی چندساله و عضوی از خانواده روبیاسیا است که در نواحی آسیای شرقی و هیمالیای شرقی یافت می‌شود. این گیاه تا طول ۲ متر و بیش از چند متر عرض می‌تواند رشد کند. روبیا سیکیمنسیس کورز گیاهی رنگی، بومی شمال هند و منسوب به خانواده روبیا کوردیفولیا است [۲]. در تپه‌های ناگا (قسمتی از رشته‌کوه‌های صخره‌ای در حاشیه هند و میانمار، بورما) و همچنین در کوه‌های هیمالیای شرقی (با نپال در غرب و بهوتان در بانداری شرقی) برای رنگری از روبیا سیکمنسیس استفاده می‌شود. ترکیبات رنگی آن شامل مانجستین، پورپورین و زانتو پورپورین هستند [۲].

۱. Purpuroxanthin



شکل ۱-۴: گیاه رویا سیکیمنسیس کورز [۷]

۱۰.۱. رویا آکان

روناس ژاپنی یا آکان- زوم، بومی ژاپن است که از ریشه آن در رنگرزی استفاده می‌شود. ترکیب رنگی اصلی در این نوع روناس، پزدوپورپورین است که به‌صورت گلیکوزید در گیاه وجود دارد. این ترکیب که به‌نظر پایدار می‌رسد، به‌عنوان رنگزا نیز عمل می‌کند. محصول اولین رنگرزی با روناس ژاپنی، رنگی قرمز و در دومین رنگرزی در همان حمام، رنگ قرمز مایل به زرد خواهد بود. این موضوع شاید به‌وجود مقدار زیاد پزدوپورپورین در حمام اول مربوط باشد [۲].



شکل ۱-۵: گیاه رویا آکان [۸]

۱۱.۱. ترکیبات رنگی در انواع روناس

ساختار ترکیبات مواد رنگی به آنتراکینون‌ها یا پایه‌های مشابه آن بستگی دارد. ریشه روناس حاوی رنگینه‌هایی با پایه آنتراکینونی (آنتراسن ۹ و ۱۰ دی ان) مربوط به مولکول‌های هتروزیدیکی و آگلیکون (آگلیکون‌ها بخش غیرقندی باقی‌مانده بعد از جایگزینی گروه گلیکوزیل از یک گلیکوزید به وسیله اتم هیدروژن است) است [۳]. علاوه بر این، شامل مقداری چربی، پکتین و مواد رزینی نیز است [۵]. ترکیبات آگلیکونی شامل آلزارین (۱، ۲- دی هیدروکسی آنتراکینون)^۱، پورپورین (۱، ۲، ۴- تری هیدروکسی آنتراکینون)^۲، پزدوپورپورین (۱، ۲، ۴- تری هیدروکسی - کربونیک اسید آنتراکینون)^۳، لوسیدین (۱، ۳- دی هیدروکسی - ۲- هیدروکسی متیل آنتراکینون)^۴، زانتوپورپورین (۱، ۳- دی هیدروکسی آنتراکینون)^۵ و روبیادین (۱، ۳- دی هیدروکسی - ۲- متیل آنتراکینون)^۶ و سایر ترکیبات آنتراکینونی بوده است [۳]. گیاه در ابتدا پیش‌ماده‌هایی چون لوسیدین پریم اوروزاید، اسید روبریتریک (آلزارین پریم اوروزاید)، گالیوزین (پزدوپورپورین پریم اوروزاید) و روبیادین پریم اوروزاید را بیوسنتز می‌کند. در گیاه سه‌ساله، پیوندهای بین گلیکوزیدها و آنتراکینون‌ها تحت هیدرولیز شدید آنزیمی، شکسته می‌شوند. این عمل با آزاد شدن آگلیکون‌ها همراه است. از هیدرولیز گالیوزین، پزدوپورپورین‌ها حاصل می‌شوند. این ترکیب، پیش‌ماده پورپورین است. حضور مقدار کم از ترکیبات هتروزیدیک نشان می‌دهد که روناس انتخابی، رشد کافی را برای رنگ‌دهی خوب دارد [۳]. ترکیبات اصلی موجود در ریشه روناس در جدول ۱-۷ نشان داده شده است. رنگ‌های هتروزیدیک از

۱. ۱,۲-Dihydroxyanthraquinone

۲. ۱,۲,۴-Trihydroxyanthraquinone

۳. ۱,۲,۴-Trihydroxy-۲-carbonic acid anthraquinone

۴. ۱,۳-Dihydroxy-۲-hydroxymethyl anthraquinone

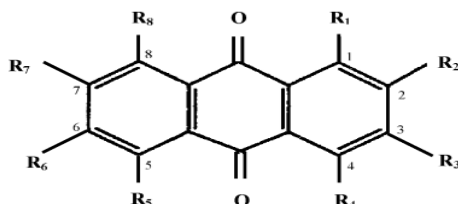
۵. ۱,۳-Dihydroxyanthraquinone

۶. ۱,۳-Dihydroxy-۲-methyl-anthraquinone

انواع گونه‌های روناس ۲۷

مولکول‌هایی تشکیل شده است که یک بخش آنتراکینونی (آگلیکون) و یک بخش پریم اوروزاید (یک دی ساکارید حاوی رسوبات زایلوز و گلوکز که به‌عنوان گلیکوزیدهای گیاهی یافت می‌شوند) دارند. اغلب رنگ‌های هتروزیدیکی عبارت‌اند از: لوسیدین پریم اوروزاید و روبریتریک اسید (آلیزارین پریم اوروزاید)، گالیوزین (پزدوپورپورین پریم اوروزاید) و روبیادین پریم اوروزاید [۳]. وجود نسبت فراوانی از این پیش‌سازهای هتروزیدیکی، ۸۰٪ برای روبیا تینکتروم و ۷۷٪ برای روبیا پرگرینا، جوان‌بودن گیاهان را اثبات می‌کند. گلیکوزیدهای آنتراکینونی در ریشه گیاه موجود هستند؛ اما در طول ذخیره‌سازی، هیدرولیز می‌شوند و تحت شرایط اسیدی در روند رنگ‌رزی، تکمیل می‌شود. هر ترکیبی که در روناس بیوسنتز می‌شود، رنگی خاص به عصاره آن می‌دهد. این ویژگی به گیاه اجازه می‌دهد تا ویژگی نوری خاصی داشته باشد. ترکیبات هتروزیدیکی، مثل لوسیدین پریم اوروزاید به رنگ زرد و آگلیکون‌ها نارنجی و قرمز هستند؛ بنابراین، تغییر ترکیب شیمیایی و یا نسبت این ترکیبات، رنگ نمونه را تغییر می‌دهد. آلیزارین نسبت به پورپورین، زردی بیشتری دارد و حضور هر دو این رنگینه به همراه پیش‌ماده‌های هتروزیدیک با یا بدون رنگینه آگلیکونی، با نسبت‌های متفاوت، در نمونه روناس روبیا تینکتروم خواص نوری خاصی به نمونه می‌دهد [۳].

جدول ۱-۷: ترکیبات رنگی اصلی موجود در ریشه روناس [۳]



نام متداول	فرمول تجربی	وزن مولکولی	نام شیمیایی	R _۱	R _۲	R _۳	R _۴	R _۵	R _۶	R _۷	R _۸
۱ آلزارین	C _{۱۴} H _۸ O _۴	۲۴۰	۱ و ۲-دی هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H	-H
۲ پورپورانتین	C _{۱۴} H _۸ O _۴	۲۴۰	۱ و ۳-دی هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-H	-H	-H	-OH	-H	-H
۳ کوئینیزارین	C _{۱۴} H _۸ O _۴	۲۴۰	۱ و ۴-دی هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H	-H
۴ دانترون	C _{۱۴} H _۸ O _۴	۲۴۰	۱ و ۸-دی هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H	-OH
۵ آنترافلاوین	C _{۱۴} H _۸ O _۴	۲۴۰	۲ و ۶-دی هیدروکسی آنتراکینون	-H	-OH	-H	-H	-H	-OH	-H	-H
۶ روبیادین	C _{۱۵} H _{۱۰} O _۴	۲۴۰	۱ و ۳-دی هیدروکسی-۲-متیل آنتراکینون	-OH	-OH	-CH _۳	-H	-H	-H	-H	-H
۷ مانجستین	C _{۱۵} H _{۱۰} O _۵	۲۸۴	۱ و ۳-دی هیدروکسی-۲-کربنیک اسید آنتراکینون	-OH	-COOH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H
۸ نوردامنانتال	C _{۱۵} H _۸ O _۵	۲۶۸	۱ و ۳-دی هیدروکسی-۲-متوکسی آنتراکینون	-OH	-CHO	-OH	-H	-H	-H	-H	-H
۹ لوسیدین	C _{۱۵} H _{۱۰} O _۵	۲۷۰	۱ و ۳-دی هیدروکسی-۲-متیل (هیدروکسی متیل) آنتراکینون	-OH	-CH _۲ OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H
۱۰ آنترافالول	C _{۱۴} H _۸ O _۵	۲۵۶	۱ و ۳ و ۴-تری هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-OH	-H	-H	-H	-H	-H
۱۱ پورپورین	C _{۱۴} H _۸ O _۵	۲۵۶	۱ و ۲ و ۴-تری هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	-H	-H
۱۲ ۵-هیدروکسی آلزارین	C _{۱۴} H _۸ O _۵	۲۵۶	۱ و ۵-تری هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	-H	-H
۱۳ فلاووپورپورین	C _{۱۴} H _۸ O _۵	۲۵۶	۱ و ۲ و ۶-تری هیدروکسی آنتراکینون	-OH	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-H
۱۴ یزدوپورپورین	C _{۱۴} H _۸ O _۷	۳۰۰	۱ و ۳ و ۴-تری هیدروکسی-۲-کربونیک اسید آنتراکینون	-OH	-COOH	-OH	-OH	-OH	-H	-H	-H
۱۵ روبریتریک اسید	C _{۲۵} H _{۲۶} O _{۱۳}	۵۳۴	۱-هیدروکسی-۲-[[۶-او]-۲-بتا-دی-زایلوپیرانوزیل-بتا-دی-گلوکوپیرانوزیل]-وکی-آنتراکینون	-OH	-O-primeveroside	-H	-H	-H	-H	-H	-H
۱۶ لوسیدین پریم اوروزاید	C _{۲۶} H _{۲۵} O _{۱۴}	۵۶۴	۱-هیدروکسی-۲-(هیدروکسی متیل)-۳-[[۶-او]-۲-بتا-دی-زایلوپیرانوزیل-بتا-دی-گلوکوپیرانوزیل]-وکی-آنتراکینون	-OH	-CH _۲ OH	-O-primeveroside	-H	-H	-OH	-H	-H

۱۲.۱. بررسی تنوع ژنتیکی روناس در ایران

به دلایل ارزیابی رخ مانگی و تنوع مولکولی بین انواع روناس ایرانی، مقایسه محتوای رنگی بین انواع روناس از مناطق مختلف زیستی، تعیین رابطه بین محتوای رنگی و صفات مورفولوژیکی و برآورد مفهوم گسترده وراثت پذیری برای صفات مورد بررسی، تنوع ژنتیکی روناس در ایران مورد بررسی قرار گرفته و از یک آنالیز ترکیبی واریانس برای ارزیابی ۱۲ نوع روناس ایرانی (خرم آباد، نطنز، یزد، آبسک، طالقان، کرمان، خوربیا بانک، ساوه، قم، تربت جام، شهرکرد و زنجان) در طی یک دوره ۲ ساله استفاده شده است. صفات مورد مطالعه شامل وزن ریشه، وزن ساقه و محتوای رنگی بودند. از نشانگر ^۱RAPD (مخفف چند دگردیسی تصادفی تکثیر DNA است که نوعی واکنش زنجیره پلی مرارز^۲ است. از این تکنیک در تشخیص بیماری‌ها و شناسایی انواع سلول‌ها استفاده می‌شود. اما بخشی از DNA که تکثیر می‌شود به طور تصادفی می‌باشد). نیز به منظور بررسی تنوع مولکولی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل آماری نشان داده که صفات نامبرده در انتخاب و ارزیابی نوع روناس اثر مهمی دارند. آزمون چند دامنه ای دانکن (آزمونی برای مقایسه میانگین بین چند گروه) نشان داده است که صفات مورد بررسی در میان انواع مختلف روناس، متفاوت بوده است. این آزمون نشان داده است که از بین ۱۲ گروه مورد آزمایش گروه ۹) شماره‌های ۳ تا ۱۱ به ترتیبی که آورده شد) دارای پتانسیل بالا به منظور تهیه رنگزا از گیاه هستند. تجزیه و تحلیل همبستگی ساده نشان داده که وزن ساقه با وزن ریشه و نیز با محتوای رنگ همبستگی مثبت داشته است. در این میان افزایش وزن ساقه در این دوره نشان می‌دهد که این صفت همبستگی بالایی با محتوای رنگی دارد. زیرا با افزایش رشد ساقه، فتوسنتز و چرخه متابولیکی گیاه تحریک می‌شود. تجزیه و

^۱. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

^۲. polymerase chain reaction (PCR)

تحلیل خوشه ای بر اساس صفات مورفولوژیکی یا فتوشیمیایی یا نشانگر RAPD هیچ ارتباط روشنی بین الگوی تنوع و خاستگاه جغرافیایی را معلوم نکرد. نتایج این آزمون نشان می‌دهد که بیشتر از آنکه ارتباطی بین تنوع مورفولوژیکی یا فتوشیمیایی و تنوع مولکولی وجود داشته باشد، تأثیرات محیطی بر تنوع ژنتیکی مؤثر بوده است. در خاتمه، تنوع ژنتیکی انواع روناس ایرانی همانطور که در این مطالعه نشان داده شد، یک نقش قطعی در انتخاب و پرورش آتی روناس ایفا می‌کند [۹].

منابع

۱. C. Clementi, W. Nowik, A. Romani, F. Cibin, G. Favaro. A Spectrometric and Chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on wool. *Analytica Chimica Acta* ۵۹۶, ۲۰۰۷, ۴۶-۵۴.
۲. J.h. Hofenk de graaff, The colourful past, Archtype, ۲۰۰۴.
۳. G. Cuoco, C. Mathe, P. Archier, F. Chemat, C. Vieillescazes, A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid Chromatography- photodiode array detection, *Ultrasonics Sonochemistry* ۱۶, ۲۰۰۹, ۷۵-۸۲.
۴. www.en.wikipedia.org
۵. علی. زرگر، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۹۱.
۶. G. Cuoco, C. Mathe, P. Archier, C. Vieillescazes, Characterization of madder and garancine in historic French red materials by liquid chromatography-photodiode array detection, *Journal of Cultural Heritage* ۱۲, ۲۰۱۱, ۹۸-۱۰.
۷. i.e. Dr. Ritesh Kumar Choudhary, Scientist, Agharkar Research Institute, Pune, India.
۸. www.flowers۲.la.coocan.jp
۹. K. Baghalian, M. Maghsodi, M.R. Naghavi, Genetic diversity of Iranian madder (*Rubia tinctorum*) populations based on agro-morphological traits, phytochemical content and RAPD markers, *Industrial Crops and Products* ۳۱ (۲۰۱۰) ۵۵۷-۵۶۲.

فصل دوم

خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

۱.۲. آلیزارین

نام‌های دیگر این ترکیب عبارت‌اند از:

- ۲،۱- دی هیدروکسی آنترآچینون^۱
- ۲،۱- دی هیدروکسی آنتراکینون^۲
- ۲،۱- دی هیدروکسی - ۱۰،۹- آنتراسن دی آن^۳
- ۱۰- آنتراسن دی آن، ۲،۱- دی هیدروکسی - ۹^۴
- ۱۰،۹- آنتراسن دی آن - ۲،۱- دی هیدروکسی^۵
- آلیزارین بی^۶ [۱].

آلیزارین با شماره کالر ایندکس ۵۸۰۰۰ به فرمول $C_{14}H_8O_4$ با وزن مولکولی ۲۴۰/۲ گرم بر مول است و از ریشه روناس به دست می‌آید [۲]. با دو مولکول گلوکز، اسید روبریتریک و دو مولکول آب ایجاد می‌کند. شکل ۱-۲ ساختار شیمیایی آن را نشان می‌دهد. نخستین بار در سال ۱۸۲۳م توسط کولین^۷ و روبیکوئیت^۸ شناخته شد [۳].

۱. ۱,۲-Dihydroxy-anthrachinon

۲. ۱,۲-Dihydroxy-anthraquinon

۳. ۱,۲-Dihydroxy-۹,۱۰-anthracenedione

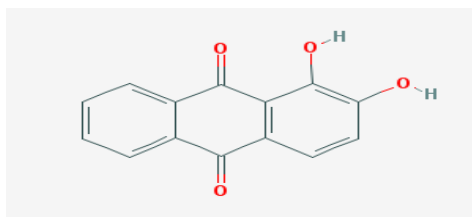
۴. ۱۰-Anthracenedione, ۱,۲-dihydroxy-۹

۵. ۹,۱۰-Anthracenedione, ۱,۲-dihydroxy

۶. Alizarin B

۷. Colin

۸. Robiquet



شکل ۲-۱: ساختار شیمیایی آلizarin [۱]

آلizarin به حالت آزاد در ریشه خشک روناس وجود دارد و با جوشاندن در الکل، می‌توان آن را استخراج کرد؛ اما از ریشه تازه گیاه، این ماده به صورت بلورهای سوزنی شکل ارتورومبیک و به رنگ نارنجی در الکل خالص و با روش تصعید متبلور می‌گردد. در حرارت ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد ذوب می‌شود و قابلیت تصعید شدن دارد. آلizarin در ۳۰۰ قسمت آب جوش و به مقدار متوسط، در الکل حل می‌شود. به مقادیر زیاد در متانول خیلی گرم و در اتر در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد محلول است. در بنزن، تولوئن، زایلن، سولفورکربن و اسیداستیک گلاسیال حل می‌شود [۳]. محلول آلizarin در کلرید قلع (II) به رنگ زرد طلایی است. با افزودن آمونیاک به این محلول، لاک قلع قرمز مایل به آبی تولید می‌شود که باعث رسوب آن می‌گردد. آلizarin نسبت به پورپورین در محلول اولئوم حلالیت کمتری دارد [۴].

۲.۲. پورپورین

این ترکیب به نام‌های دیگری نیز معروف است شامل:

- ۱،۲،۴-تری هیدروکسی-۱۰-آنتراسن دی ان^۱
- ۴،۲،۱-تری هیدروکسی-۱۰،۹-آنتراکینون^۲
- ۴،۲،۱-تری هیدروکسی آنترا-۱۰،۹-کینون^۱

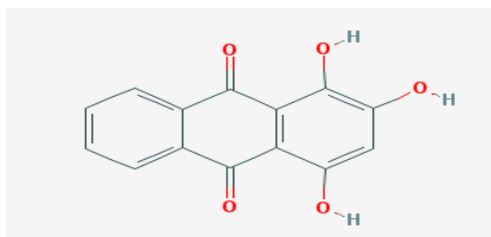
۱. ۱،۲،۴-Trihydroxy-۱۰-anthracendione

۲. ۱،۲،۴-Trihydroxy-۹،۱۰-anthraquinone

- ۴،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراچینون^۲
- ۱۰-آنتراسن دی ان، ۴،۲،۱-تری هیدروکسی-^۳[۲].
- هیدروکسیلیزاریک اسید^۴
- ورانتین^۵
- قهوه‌ای دودی جی^۶
- ۴،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراسن - ۱۰،۹-دی ان^۷
- ۴،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراکینون^۸ [۱].

پورپورین با شماره کالر ایندکس ۵۸۲۰۵ به فرمول $C_{14}H_8O_5$ با وزن مولکولی ۲۵۶/۲ گرم بر مول است [۲] و به حالت گلوکزیدی در ریشه روناس وجود دارد. شکل ۲-۲ ساختار شیمیایی آن را نشان می‌دهد. پورپورین در طول مدت نگهداری ریشه گیاه در انبار، به تدریج تشکیل می‌شود. مقدار نسبی آن در ریشه‌های تازه کم است [۳]. همچنان که ریشه خشک شده ذخیره می‌شود، پزدوپورپورین تمام مدت به پورپورین کربوکسیل زدایی می‌شود. در پروسه خشک کردن ریشه‌های روناس، پزدوپورپورین، احتمالاً به پورپورین تبدیل می‌شود [۴].

۱. ۱،۲،۴-Trihydroxy-۹،۱۰-quinone
 ۲. ۱،۲،۴-Trihydroxyanthrachinon
 ۳. ۱۰-Anthracendione، ۱،۲،۴-trihydroxy-۹
 ۴. Hydroxylicaric acid
 ۵. Verantin
 ۶. Smoke Brown G
 ۷. ۱،۲،۴-Trihydroxyanthracene-۹،۱۰-dione
 ۸. ۱،۲،۴-Trihydroxyanthraquinone



شکل ۲-۲: ساختار شیمیایی پورپورین [۱]

پورپورین به صورت بلورهای سوزنی شکل دراز به رنگ نارنجی، همراه با یک مولکول آب، در الکل رقیق به حالت انیدرید در گرمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به دست می آید و در گرمای ۲۵۷ درجه سانتی گراد ذوب می گردد. پورپورین بیشتر از آلیزارین در آب جوش حل می شود. به مقدار زیاد در الکل (به رنگ قرمز) و در اتر (به رنگ زرد پررنگ با تالو) محلول است. در بنزن، تولوئن، گزین (به رنگ زرد تیره) به مقادیر کمتر حل می شود. محلول های قلیایی آن، رنگ قرمز دارد؛ ولی محلول آن در آب باریت و یا در آب آهک به رنگ قرمز ارغوانی است [۳]. پورپورین در کلرید قلع (IV) (کلرید استانوس) حل می شود و یک رنگ قرمز مایل به زرد می دهد [۴]. پورپورین با حل شدن در اتانول به رنگ قرمز درمی آید. این ترکیب در هگزان نامحلول و در کلروفرم حل می شود و به صورت بلورهای سوزنی شکل مایل به قرمز درمی آید [۵]. برخلاف آلیزارین، پورپورین در محلول جوشان سولفات آلومینیوم حل می شود و در واکنش با اسیدها رسوب می دهد. از این خاصیت برای جدا کردن دو رنگ استفاده می شود [۶].

پورپورین اولین بار توسط پی یر روبیکت^۱ و کولین^۲، دو شیمیدان فرانسوی، در سال ۱۸۲۶ از ریشه روناس استخراج شد. همچنین در سال ۱۸۶۸ توسط گراب^۳ و لیبرمن^۴ نیز از مشتقات آنتراسن سنتز شد. قبل از این نیز لالاند^۱ با تبدیل آلیزارین

۱. Pierre Robiquet

۲. Colin

۳. Gräbe

۴. Lieberman

۳۷ خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

به پورپورین به آن دست یافته بود که اولین روش سنتز پورپورین بود. موقعیت گروه‌های هیدروکسیل نیز به وسیله بایر^۲ و کارو^۳ بین سال‌های ۱۸۷۴ تا ۱۸۷۵ مشخص شدند [۶].

۳.۲. اسید روبریتریک

دیگر نام‌های متداول این ترکیب عبارت‌اند از:

- روبیانیک اسید^۴
- روبریتریک اسید^۵
- آلیزارین پریم اوروزاید^۶ [۱].
- بتا-۲-آلیزارین پریم اوروزاید^۷ [۲].

به فرمول $C_{20}H_{12}O_{13}$ و به وزن مولکولی ۵۳۴/۴۶ گرم بر مول است و از ریشه روناس استخراج می‌شود. سنتز آن توسط زمپلن^۸ و بوگنر^۹ انجام گرفته است که به صورت بلورهای طلایی-زرد، ابریشمی، براق با ظاهر منشوری یا سوزنی دراز متبلور می‌شود. نقطه ذوب آن، در حرارت ۲۵۹ تا ۲۶۱ درجه سانتی‌گراد است. اسید روبریتریک در آب گرم و قلیایی‌ها حل می‌شود؛ اما در بنزن تقریباً نامحلول است [۳]. این ترکیب با گرم‌شدن به وسیله اسید معدنی رقیق، به آلیزارین و گلوکز هیدرولیز می‌شود [۴]. در شکل ۲-۳ ساختار شیمیایی اسید روبریتریک نشان داده شده است.

۱. M.F.De Lalande

۲. Bayer

۳. Caro

۴. Rubianic acid

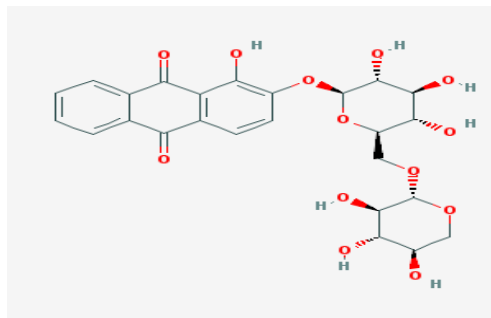
۵. Rubierythric acid

۶. Alizarin primeveroside

۷. Beta-۲-alizarin-primeveroside

۸. Zemplen

۹. Bognar



شکل ۲-۳: ساختار شیمیایی اسید روبیرتیک [۱]

۴.۲. روبیادین

نام‌های دیگر این ترکیب شامل:

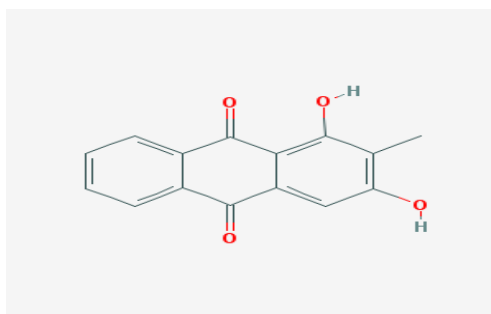
- ۳،۱- دی هیدروکسی- ۲- متیل ۱۰،۹- آنتراکینون^۱
- ۱۰،۹- آنتراسن دی ان ۳،۱- دی هیدروکسی- ۲- متیل^۲ [۱].
- ۳،۱- دی هیدروکسی- ۲- متیل آنتراکینون^۳
- ۳،۱- دی هیدروکسی- ۲- متیل ۱۰،۹- آنتراسن دی ان^۴
- ۳،۱- دی هیدروکسی- ۲- متیل آنتراسن ۱۰،۹- دی ان^۵
- ۲- متیل زانتوپورپورین^۶ هستند [۲].

روبیادین با شماره کالر ایندکس ۷۵۳۵۰ [۲] به فرمول $C_{10}H_{10}O_8$ و به وزن مولکولی ۲۵۴/۲۳ گرم بر مول است که از بعضی از گیاهان تیره روناس مانند روبیا تینکتروم و موریندا سیتروفولیا لین^۷ به دست می‌آید. سنتز آن توسط جوشی^۸ و همکارانش صورت گرفته است [۳].

۱. ۱,۲-Dihydroxy-۲-methyl-۹,۱۰-anthraquinone
 ۲. ۹,۱۰-Anthracenedione, ۱,۳-dihydroxy-۲-methyl
 ۳. ۱,۲-Dihydroxy-۲-methylanthraquinone
 ۴. ۱,۲-Dihydroxy-۲-methyl-۹,۱۰-anthracenedione
 ۵. ۱,۲-Dihydroxy-۲-methylanthracene-۹,۱۰-dione
 ۶. Methylxanthopurpurin
 ۷. Morinda citrifolia Linn
 ۸. Joshi

۳۹ خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

روبیادین به صورت بلورهای سوزنی شکل درخشان به دست می آید که بی بو بود و در حرارت ۲۹۰ درجه سانتی گراد ذوب می شود. روبیادین در آب، سولفور دو کربن و آب آهک غیرمحلول است؛ ولی در الکل و اتر و بنزن به مقادیر زیاد حل می شود [۳]. در شکل ۴-۲ ساختار شیمیایی روبیادین نشان داده شده است.



شکل ۴-۲: ساختار شیمیایی روبیادین [۱]

۵.۲. مانجستین

این ترکیب با نام های زیر نیز شناخته می شود :

- ۱۰،۹-دی هیدرو-۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو-۲-آنتراسن کربوکسیلیک اسید^۱
- ۱۰،۹-دی هیدرو-۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو-آنتراسن-۲-کربوکسیلیک اسید^۲
- ۱۰،۹-دی هیدرو-۱۰،۹-دی اکسو-۳،۱-دی هیدروکسی-آنتراسن-۲-کربوکسیلیک اسید^۳ [۲]

۱. ۹,۱۰-Dihydro-۱,۳-dihydroxy-۹,۱۰-dioxo-۲-anthracenecarboxylic acid

۲. ۹,۱۰-Dihydro-۱,۳-dihydroxy-۹,۱۰-dioxoanthracene-۲-carboxylic acid

۳. ۹,۱۰-Dihydro-۹,۱۰-dioxo-۱,۳-dihydroxyanthracene-۲-carboxylic acid

۴. ۱,۳-Dihydroxy-۹,۱۰-dioxo-۹,۱۰-dihydroanthracene-۲-carboxylic acid

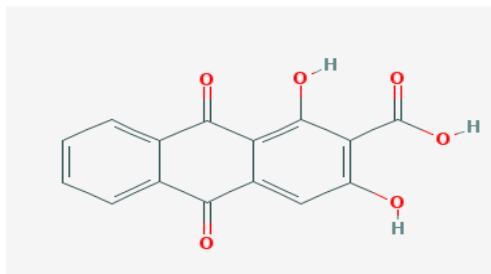
۵. Manjistin

۶. Hill

۷. Richter

- ۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو-۱۰،۹-دی هیدرو آنتراسن-۲-کربوکسیلیک اسید^[۱].

از انواع مختلف روناس، ماده‌ای به نام مانجستین به فرمول $C_{15}H_8O_6$ و به وزن مولکولی ۲۸۴/۲ استخراج می‌شود [۳]. سنتز آن توسط هیل^۶ و ریش^۷ در سال ۱۹۳۶ انجام گرفته است. مانجستین به صورت بلورهای زردرنگ، در الکل رقیق به دست می‌آید. در حرارت ۲۳۱ درجه سانتی‌گراد ذوب شده و سپس تصعید می‌گردد. مانجستین در آب سرد به مقدار خیلی کم ولی در آب جوش، الکل داغ، کلروفرم و اتر حل می‌شود. در سود سوزآور و در اسیداستیک گلاسیال محلول است و تالو سبز ایجاد می‌کند [۳]. وقتی مانجستین بیشتر از درجه حرارت ذوب خود حرارت می‌بیند، دی‌اکسیدکربن از دست می‌دهد (کربوکسیل‌زدایی) و زانتو پورپورین تشکیل می‌شود (همچنین از طریق هیدرولیز نیز می‌تواند تشکیل شود) [۴]. شکل ۲-۵ ساختار شیمیایی مانجستین را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۵: ساختار شیمیایی مانجستین [۱]

۶.۲. لوسیدین

نام‌های دیگری که برای بیان این ترکیب بکار می‌روند عبارتند از:

- هنینین^۱

- ۳،۱-دی هیدروکسی-۲- (هیدروکسی متیل) ۱۰-آنتراسن دی ان^۱

^۱. Henine

۴۱ خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

- ۳،۱- دی هیدروکسی-۲- هیدروکسی متیل آنتراکینولین^۲
 - ۳،۱- دی هیدروکسی-۲- هیدروکسی متیل آنتراکینون^۳
 - ۳،۱- دی هیدروکسی-۲- هیدروکسی متیل آنتراسن-۹،۱۰- دی ان^۴
 - ۳،۱- دی هیدروکسی-۲- (هیدروکسی متیل) آنتراکینون^۵ [۲].
- وزن مولکولی این ترکیب ۲۷۰/۲ گرم بر مول به فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_5$ است [۲]. در بررسی ترکیب لوسیدین در ریشه‌های معمولی و مویی روبیا تینکتروم مشخص شد که وقتی ریشه‌های مویی کوبیده می‌شوند، کیفیت رنگینه‌های هیدروفیلی کاهش می‌یابد؛ درحالی که کیفیت لوسیدین و دیگر ترکیبات لیوفیلیکی افزایش می‌یابند. لوسیدین در ریشه‌های مویی سالم (کوبیده نشده) قابل تشخیص نیست. پس از گذشت ۱/۵ دقیقه از عملیات کوبیدن، لوسیدین ظاهر می‌شود و مقدارش افزایش می‌یابد؛ اما طولانی شدن این عملیات از مقدار لوسیدین می‌کاهد. در بیشتر گیاهان دست‌نخورده، لوسیدین به‌صورت ۶- اُرتو- بتا- دی- زیلوپیرانوزیل- بی- دی- گلوکوپیرانوزید^۶ موجود است؛ به‌ویژه لوسیدین ۳-اُبی- پریم اوروزاید (LuP)^۷ که با آنزیم‌های درون‌زا به پورپورین تبدیل می‌شود. این تبدیل توسط انکوباسیون با پودر استون آماده شده از ریشه روناس تازه صورت می‌گیرد. تحقیقات نشان داده است که با کوبیدن و له کردن ریشه‌ها، رنگینه‌های هیدروفیلی به لیوفیلی تبدیل می‌شوند. در صورتی که در ریشه‌های دست‌نخورده و سالم این‌طور نیست [۷]. در شکل ۲-۶ ساختار شیمیایی لوسیدین آمده است.

۱. ۱,۳-Dihydroxy-۲-(hydroxymethyl)-۱۰-Anthracenedione

۲. ۱,۳-Dihydroxy-۲-hydroxymethylanthraquinoline

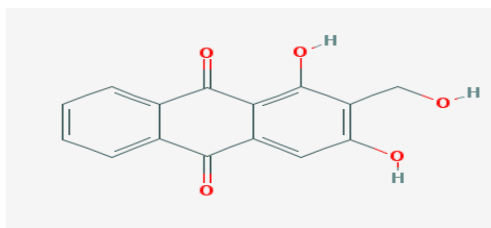
۳. ۱,۳-Dihydroxy-۲-hydroxymethyl-anthraquinone

۴. ۱,۳-Dihydroxy-۲-hydroxymethylanthracene-۹,۱۰-dione

۵. ۱,۳-Dihydroxy-۲-(hydroxymethyl) anthraquinone

۶. ۶-O-β-D-xylopyranosyl-b-D-glucopyranoside

۷. Lucidin ۳-O-b-primeveroside



شکل ۲-۶: ساختار شیمیایی لوسیدین [۱]

۷.۲. لوسیدین پریم اوروزاید

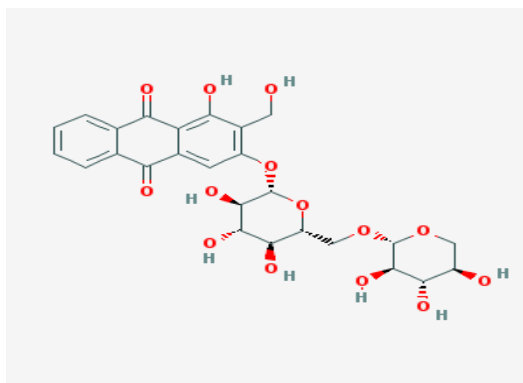
نام‌های دیگر این ترکیب عبارت‌اند از:

- لوسیدین-۳-ارتو-بتا-پریم اوروزاید^۱ [۱]
- ۱-هیدروکسی-۲-هیدروکسی متیل ۳-۶-ارتو-بتا-دی-زایلو پیرانوزیل-آلفا-دی-گلوکو پیرانوزیل اکسی-۹،۱۰-آنتراسن دی ان^۲
- لوسیدین-۳-ارتو-پریم اوراوزاید^۳ [۲]

وزن مولکولی این ترکیب ۵۶۴/۴۹ گرم بر مول و با فرمول مولکولی

$C_{26}H_{28}O_{14}$ است [۱]. ساختار شیمیایی لوسیدین پریم اوروزاید در شکل ۲-۷

آمده است.



شکل ۲-۷: ساختار شیمیایی لوسیدین پریم اوروزاید [۱]

۱. Lucidin ۳-O-beta-primveroside

۲. ۱-Hydroxy-۲-(hydroxymethyl)-۳-[(۶-O-β-D-xylopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl oxy]-۹،۱۰-anthracenedione

۳. Lucidin ۳-O-primiveroside

۸.۲. پزدوپورپورین

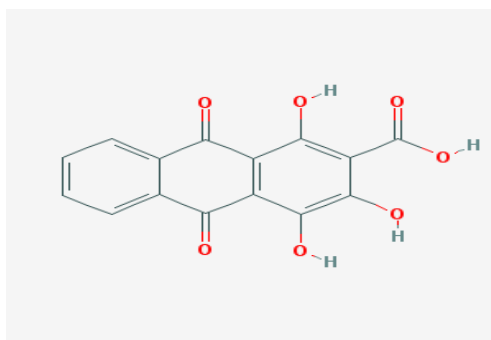
این ترکیب با نام زیر نیز متداول است :

• ۴،۳،۱- تری هیدروکسی- ۱۰،۹- دی اکسو آنتراسن- ۲- کربوکسیلیک

اسید^۱ [۱].

این ترکیب به فرمول $C_{14}H_8O_7$ و وزن مولکولی $300/2$ گرم بر مول است [۱]. در

شکل ۲-۸ ساختار شیمیایی پزدوپورپورین آمده است.



شکل ۲-۸: ساختار شیمیایی پزدوپورپورین [۱]

۹.۲. کوئینیزارین

نام‌های دیگر این ترکیب عبارت‌اند از:

• ۴،۱- دی هیدروکسی آنتراکینون^۲

• چینیزارین^۳

• نارنجی حلال^۴ ۸۶

• نارنجی دودی آر^۵

۱. ۱,۳,۴-Trihydroxy-۹,۱۰-dioxo-anthracene-۲-carboxylic acid

۲. ۱,۴-Dihydroxyanthraquinone

۳. Chinizarin

۴. Solvent Orange ۸۶

۵. Smoke Orange R

• ۴،۱ - دی هیدروکسی آنتراسن - ۱۰،۹ - دی ان^۱

• نارنجی ماکرولکس جی جی^۲ [۱].

• دی اس دی اسید^۳

• رنگدانه بنفش ۱۲^۴ [۲].

این ترکیب با شماره کالرایندکس ۵۸۰۵۰، وزن مولکولی ۲۴۰/۲۱ و فرمول مولکولی $C_{14}H_8O_4$ به صورت پودر بلوری به رنگ نارنجی تا قرمز قهوه‌ای وجود دارد و به مقدار کمی (کمتر از یک گرم بر لیتر در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) در آب محلول است. نقطه ذوب آن برابر با ۱۹۸ تا ۱۹۹ درجه سانتی‌گراد و نقطه جوش آن ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد است [۲].

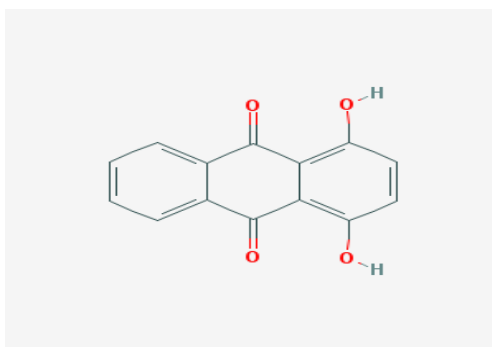
کوانیزارین با جانشینی دو اتم هیدروژن به وسیله گروه‌های هیدروکسیل، از آنتراکینون‌ها سنتز می‌شوند. این ترکیب یکی از صد ایزومر دی هیدروکسی آنتراکینون است که به مقدار کمی در ریشه روناس تینکتروم به شکل گلیکوزید وجود دارد. کوانیزارین را از طریق واکنش بین فتالیک انیدرید و ۴-کلروفنول که با هیدرولیز کلرید همراه است، تولید می‌شود. همچنین با بهره‌وری کمتر از واکنش بین فتالیک انیدرید و هیدروکینون نیز تولید می‌شود [۸]. در شکل ۲-۹ ساختار شیمیایی کوئینیزارین آورده شده است.

۱. ۱،۴-Dihydroxyanthracene-۹،۱۰-dione

۲. Macrolex Orange GG

۳. DSD Acid

۴. Pigment Violet ۱۲



شکل ۲-۹: ساختار شیمیایی کوئینزارین [۱]

۱۰.۲. دانترون

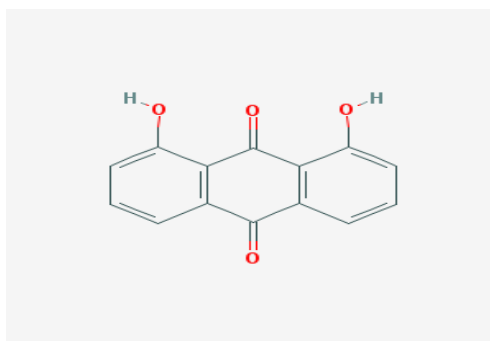
اسامی دیگر این ترکیب شامل :

- سیرسازین^۱
- ۸،۱ - دی هیدروکسی آنتراکینون^۲
- آنتراپورول^۳
- لاکانتترین^۴
- دیاکوان^۵
- دیونین^۶
- دانیواک^۷ [۱] .

۱. Chrysazin
۲. ۱,۸-Dihydroxyanthraquinone
۳. Antrapurol
۴. Laxanthreen
۵. Diaquone
۶. Dionone
۷. Danivac

- ۸،۱ - دی هیدروکسی - ۱۰،۹ - آنتراسن دی ان^۱
- ۸،۱ - دی هیدروکسی - ۱۰،۹ - آنتراکینون^۲
- ۴،۱،۵،۸ - تترا هیدروکسی آنتراکینون^۳
- ۸،۱ - دی هیدروکسی - ۱۰ - آنتراسن دی ان^۴
- ۸،۱ - دی هیدروکسی - ۱۰،۹ - کینون^۵
- ۸،۱ - دی هیدروکسی آنتراچینون^۶
- ۸،۱ - دی هیدروکسی - آنتراکینون^۷ هستند [۲].

دانترون دارای فرمول مولکولی $C_{14}H_8O_4$ و وزن مولکولی ۲۴۰/۲۱ گرم بر مول است [۱]. در آب نامحلول بوده و بیشتر به صورت پودر بلوری قهوه‌ای یا نارنجی قهوه‌ای موجود است. از خواص آن این است که با مواد کاهنده‌ای مثل هیدریدها، نیتریدها، فلزهای قلیایی و سولفیدها سازگاری ندارد و نقطه اشتعالی برای آن در دسترس نیست؛ اما احتمالاً احتراق پذیر است [۲]. شکل ۱۰-۲ ساختار شیمیایی این ترکیب را نشان می‌دهد.



-
۱. ۱,۸-Dihydroxy-۹,۱۰-anthracenedione
 ۲. ۱,۸-Dihydroxy-۹,۱۰-anthraquinone
 ۳. ۱,۴,۵,۸-Tetroxyanthraquinone
 ۴. ۱,۸-Dihydroxy-۱۰-anthracenedione
 ۵. ۱,۸-Dihydroxyanthra-۹,۱۰-quinone
 ۶. ۱,۸-Dihydroxyanthrachinon
 ۷. ۱,۸-Dihydroxy-anthraquinon

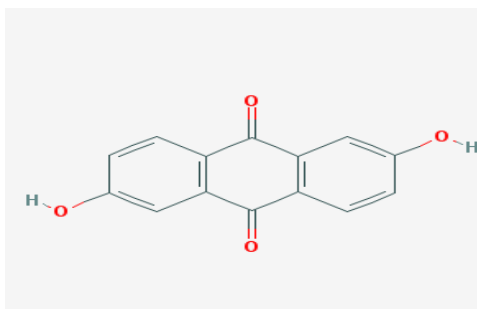
شکل ۲-۱۰: ساختار شیمیایی دانترون [۱]

۱۱.۲. آنترافلاوین

این ترکیب با نام‌های زیر نیز شناخته می‌شود:

- ۶،۲-دی هیدروکسی آنتراکینون^۱
- آنترافلاویک اسید^۲
- آنترافلاوین. ۶،۲-دی هیدروکسی آنتراسن - ۱۰،۹-دی ان^۳ [۱].
- ۶،۲-دی هیدروکسی آنترا-۱۰،۹-کیونون^۴
- ۱۰-آنتراسن دی ان، ۶،۲-دی هیدروکسی-۹^۵
- ۶،۲-دی هیدروکسی-۱۰-آنتراسن دی ان^۲
- ۱۰،۹-آنتراسن دی ان، ۶،۲-دی هیدروکسی-^۳
- آنتراکینون-۶،۲-دی هیدروکسی-^۴ [۲].

این ترکیب به وزن مولکولی ۲۴۰/۲ گرم بر مول و فرمول مولکولی $C_{14}H_8O_4$ است [۲]. در شکل ۲-۱۱ ساختار شیمیایی آن آمده است.



-
۱. ۲،۶-Dihydroxyanthraquinone
 ۲. ۲،۶-Dihydroxyanthra-۹،۱۰-quinone
 ۳. ۱۰-Anthracenedione، ۲،۶-dihydroxy-^۹
 ۴. ۲،۶-Dihydroxy-۱۰-anthracenedione
 ۵. ۹،۱۰-Anthracenedione، ۲،۶-dihydroxy
 ۶. ۲،۶-Dihydroxy-۱۰-anthracenedione
 ۳. ۹،۱۰-Anthracenedione، ۲،۶-dihydroxy-
 ۴. ۶. Anthraquinone، ۲،۶-dihydroxy-

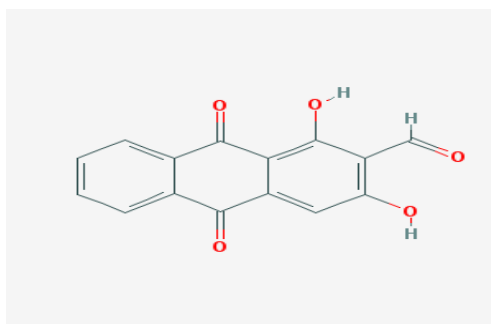
شکل ۲-۱۱: آنترافلاوین [۱]

۱۲.۲. نوردامنکانتال

اسامی دیگر ترکیب عبارت‌اند از:

- ۲-آنتراسن کربوکسالدئید^۱
- ۱۰،۹-دی هیدرو-۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو^۲ [۱].
- ۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو-۱۰،۹-دی هیدرو آنتراسن-۲-کربالدئید^۳
- ۲-فرمیل-۳،۱-دی هیدروکسی-۱۰،۹-آنتراکینون^۴
- ۱۰،۹-دی هیدرو-۱،۳-دی هیدروکسی-۱۰،۹-دی اکسو-۲-آنتراسن-کربالدئید^۵ [۲].

این ترکیب به فرمول مولکولی $C_{15}H_8O_5$ و وزن مولکولی آن ۲۶۸/۲۲ است [۱]. این ترکیب در شکل ۲-۱۲ آمده است.



شکل ۲-۱۲: ساختار شیمیایی نوردامنکانتال [۱]

-
۱. ۲-Anthracenecarboxaldehyde
 ۲. ۹،۱۰-Dihydro-۱،۳-dihydroxy-۹،۱۰-dioxo
 ۳. ۱،۳-Dihydroxy-۹،۱۰-dioxo-۹،۱۰-dihydroanthracene-۲-carbaldehyde
 ۴. ۲-Formyl-۱،۳-dihydroxy-۹،۱۰-anthraquinone
 ۵. ۹،۱۰-Dihydro-۱،۳-dihydroxy-۹،۱۰-dioxo-۲-anthracenecarbaldehyde

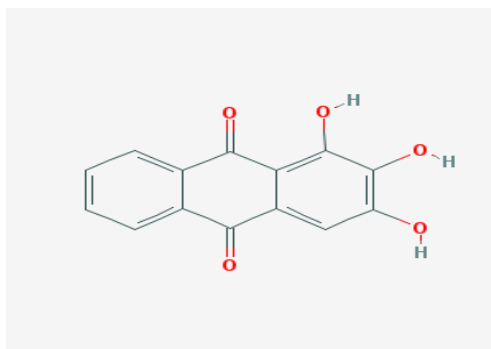
۱۳.۲. آنتراگالول

نام‌های دیگری که ترکیب با آنها نیز شناخته می‌شود عبارت‌اند از:

- آنتراگالیک اسید^۱
- آلیزارین قهوه‌ای آر^۲
- آنتراسن قهوه‌ای جی^۳
- آنتراسن قهوه‌ای ان^۴
- آنتراسن قهوه‌ای اس^۵
- آنتراکرومو قهوه‌ای دی^۶ [۱].
- ۳،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراکینون^۷
- ۳،۲،۱-تری هیدروکسی-۱۰،۹-آنتراسن دی ان^۸
- ۳،۲،۱-تری هیدروکسی-۱۰-آنتراسن دی ان^۹
- ۳،۲،۱-تری هیدروکسی-آنتراکینون^{۱۰}
- آنتراسن اسید قهوه‌ای جی^{۱۱}
- آنتراسن قهوه‌ای، محلول در آب^{۱۲} [۲].

این ترکیب دارای فرمول $C_{14}H_8O_5$ و وزن مولکولی آن ۲۵۶/۲ گرم بر مول است [۱]. ساختار این ترکیب در شکل ۲-۱۳ آمده است.

-
۱. Anthragallic acid
 ۲. Alizarine Brown R
 ۳. Anthracene Brown G
 ۴. Anthracene Brown N
 ۵. Anthracene Brown S
 ۶. Antracromo Brown D
 ۷. ۱,۲,۳-Trihydroxyanthraquinone
 ۸. ۱,۲,۳-Trihydroxy-۹,۱۰-anthracenedione
 ۹. ۱,۲,۳-Trihydroxy-۱۰-anthracenedione
 ۱۰. ۱,۲,۳-Trihydroxy-anthraquinon
 ۱۱. Anthracene acid brown g
 ۱۲. Anthracene brown, water soluble



شکل ۲-۱۳: ساختار شیمیایی آنتراکالول [۱]

۱۴.۲. ۵-هیدروکسی آلیزارین

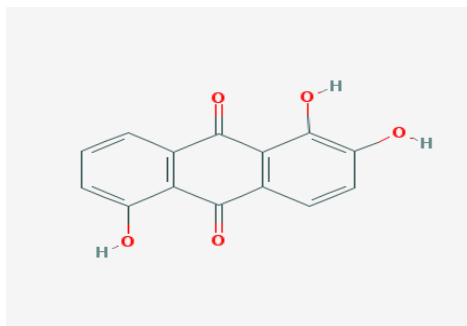
دیگر اسامی متداول این ترکیب شامل موارد زیر هستند :

- ۵،۲،۱ - تری هیدروکسی آنتراکینون^۱
- ۵،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراسن -۹،۱۰-دی آن^۲
- برلیانت آلیزارین بردو آر^۳
- ۲-هیدروکسی آنتراروفین^۴
- ۱۰،۹-آنتراسن دی آن، ۵،۲،۱-تری هیدروکسی^۵
- رنگ دندانهای قرمز ۴۵^۶
- هیدروکسی آنتراروفین^۷ [۲].

۱. ۱،۲،۵-Trihydroxyanthraquinone
 ۲. ۱،۲،۵-Trihydroxyanthracene-۹،۱۰-dione
 ۳. Brilliant Alizarine Bordeaux
 ۴. ۲-Hydroxyanthrarufin
 ۵. ۹،۱۰-Anthracenedione، ۱،۲،۵-trihydroxy
 ۶. C.I. Mordant Red ۴۵
 ۷. Hydroxyanthrarufin

۵۱ خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

در شکل ۲-۱۴ ساختار آن نشان داده شده است. این ترکیب با شماره کالر ایندکس ۵۸۲۳۰ [۲]، با وزن مولکولی ۲۵۶/۲ گرم بر مول و فرمول مولکولی $C_{14}H_8O_5$ است [۱].



شکل ۲-۱۴: ساختار شیمیایی ۵-هیدروکسی آلیزارین [۱]

۱۵.۲. فلاووپورپورین

نام‌های دیگر ترکیب عبارت‌اند از:

- ۸،۷،۲-تری هیدروکسی آنتراکینون^۱
- آلیزارین وای^۲
- آلیزارین قرمز وای کاپ^۳
- ۶،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراسن -۹،۱۰-دی ان^۴
- ۶،۲،۱-تری هیدروکسی آنتراکینون^۵
- رنگ دندان‌های^۶ [۱].

۱. ۲,۷,۸-Trihydroxyanthraquinone

۲. Alizarine Y

۳. Alizarine Red Y CAP

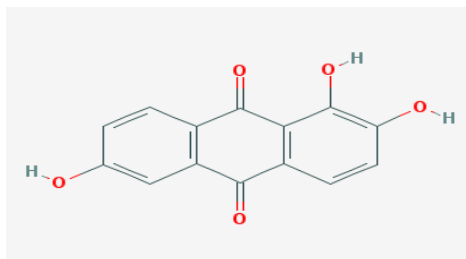
۴. ۱,۲,۶-Trihydroxyanthracene-۹,۱۰-dione

۵. ۱,۲,۶-Trihydroxyanthraquinone

۶. ۲. C.I. Mordant Red ۴

۵۲ ◀ روناس

این ترکیب با شماره کالر ایندکس ۵۸۲۴۰، وزن مولکولی ۲۵۶/۲۱ گرم بر مول و فرمول مولکولی $C_{14}H_8O_5$ است [۱]. شکل ۱۵-۲ ساختار شیمیایی این ترکیب را نشان می‌دهد.



شکل ۱۵-۲: ساختار شیمیایی فلاووپورپورین [۱]

۱۶.۲. پورپوروزانتین

دیگر نام‌های متداول این ترکیب عبارت است از :

- پورپورو^۱
- زانتوپورپورین^۲ [۲].
- ۳،۱-دی هیدروکسی آنتراکینون^۳
- ۳،۱-دی هیدروکسی-۹،۱۰-آنتراسن دی ان^۴
- ۲،۴-دی هیدروکسی-۹،۱۰-آنتراسن دی ان^۵
- ۳،۱-دی هیدروکسی-۹،۱۰-آنتراکینون^۶
- ۳،۱-دی هیدروکسی آنتراسن-۹،۱۰-دی ان^۷ [۱].

۱. Purpuro

۲. Xanthopurpin

۳. ۱,۳-Dihydroxyanthraquinone

۴. ۱,۳-Dihydroxy-۹,۱۰-anthracenedione

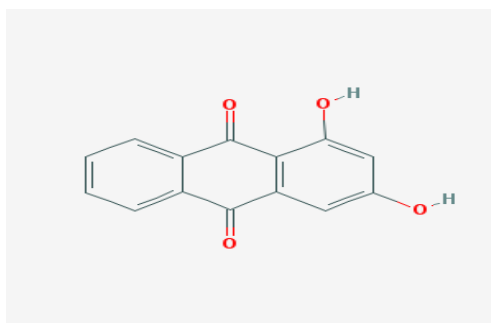
۵. ۲,۴-Dihydroxy-۹,۱۰-anthracenedione

۶. ۱,۳-Dihydroxy-۹,۱۰-anthraquinone

۷. ۱,۳-Dihydroxyanthracene-۹,۱۰-dione

۵۳ خواص ترکیبات اصلی آنتراکینونی در ریشه روناس

این ترکیب به فرمول $C_{14}H_8O_4$ و وزن مولکولی ۲۴۰/۲۱ گرم بر مول در هگزان نامحلول، اما در کلروفرم محلول است. نقطه ذوب این ترکیب ۲۷۰ تا ۲۷۳ درجه سانتی گراد است [۶]. ساختار شیمیایی این ترکیب در شکل ۱۶-۲ نشان داده شده است.



شکل ۱۶-۲: ساختار شیمیایی پورپورزانتین [۱]

منابع

۱. www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
۲. www.chemicalbook.com
۳. علی. زرگر، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۹۱.
۴. J.h. Hofenk de graaff, The colourful past, Archtype, ۲۰۰۴.
۵. Ecofriendly sonicator dyeing of cotton with *Rubia cordifolia* Linn. using biomordant. Padma S. Vankar, Rakhi Shanker, Debajit Mahanta, S.C. Tiwari. *Dyes and Pigments* ۷۶, ۲۰۰۸, ۲۰۷-۲۱۲.
۶. A.wahl, The manufacture of organic Dyestuffs, G.Bell and sons, Ltd, ۱۹۱۹, London.
۷. F. Nakanishi, Y. Nagasawa, Y. Kabaya, H. Sekimoto, K. Shimomura. Characterization of lucidin formation in *Rubia tinctorum* L. *Plant Physiology and Biochemistry* ۴۳ (۲۰۰۵) ۹۲۱-۹۲۸
۸. G.C.H. Derksen, H. A.G. Niederlander, T. A. van Beek. Analysis of anthraquinones in *Rubia tinctorum* L. By liquid-chromatography coupled with diode-array UV and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, ۹۷۸, ۲۰۰۲, ۱۱۹-۱۲۷.

فصل سوم

استخراج، جداسازی و تخلیص آتراكینون‌ها از رویا تینکتروم

روش‌های تجزیه شیمیایی برای اندازه‌گیری یک آنالیت معمولاً ویژه نیستند و در بیشتر مواقع، اندازه‌گیری به‌واسطه حضور مواد دیگر محدود می‌شود و به همین علت، حداقل یک مرحله جداسازی لازم است. علاوه بر این، هدف از جداسازی ممکن است تغلیظ گونه مد نظر برای افزایش حساسیت اندازه‌گیری باشد. در مرحله جداسازی یا اجسام مزاحم خارج می‌شوند یا آنالیت جدا می‌شود. در یک جداسازی موفق، اجسامی که قرار است جدا شوند، باید خواص فیزیکی یا شیمیایی متفاوتی باهم داشته باشند. این اختلاف، اساس روش‌های جداسازی است.

مهم‌ترین روش‌های جداسازی شامل رسوب‌گیری، استخراج، مبادله یون و روش‌های کروماتوگرافی هستند. رایج‌ترین روش جداسازی، استخراج است که گستره وسیعی از استخراج مواد آرایشی، دارویی و غذایی را دربرمی‌گیرد. طی این استخراج، چندین ترکیب به‌طور هم‌زمان جدا می‌شوند. استخراج‌های پیچیده تجزیه‌ای به منظور جداسازی دقیق یک یا چند ترکیب انتخابی از یک مخلوط پیچیده طراحی شده‌اند.

روش استخراج متکی بر انتقال گزینش‌پذیر یک یا چند ماده از یک مایع (معمولاً آب) به یک مایع امتزاج‌ناپذیر دیگر (معمولاً فاز آلی) و یا از یک جامد به یک مایع است. فرایند اول، استخراج مایع-مایع و فرایند دوم، استخراج جامد-مایع نامیده می‌شود. استخراج یون‌های معدنی و ترکیبات آلی قطبی که در محیط آبی

هستند، از طریق یک حلال آلی به فاز آلی، مثال‌هایی از استخراج مایع-مایع و استخراج اسانس‌ها از منابع طبیعی آن‌ها و یا استخراج روغن از دانه‌ها مثال‌هایی از استخراج جامد-مایع است. اخیراً با پیشرفت فازهای جامد واکنش‌پذیر، مواد توسط یک جامد از مایع استخراج می‌شوند. این حالت استخراج، فاز جامد تجزیه‌ای نامیده می‌شود [۱].

۱.۳. کروماتوگرافی

کروماتوگرافی متداول‌ترین روش جداسازی تجزیه‌ای است که در تمام شاخه‌های علوم، کاربردهای فراوانی دارد و امکان جداسازی اجزای یک مخلوط پیچیده و در نتیجه، شناسایی ماهیت اجزای جداسازی‌شده را فراهم می‌کند. کروماتوگرافی ستونی را اولین بار، گیاه‌شناسی روسی به نام میخائیل تسوت^۱، در سال ۱۹۰۶ ابداع و نامگذاری کرد. او برای جداکردن رنگدانه‌های گیاهی از جمله کلروفیل و زانتوفیل، محلول آن‌ها را از داخل یک ستون شیشه‌ای حاوی پودر نرم کلسیم کربنات عبور داد. گونه‌های جداشده به صورت نوارهای رنگی در ستون ظاهر شدند. وی به همین دلیل، نام کروماتوگرافی را برای این روش انتخاب کرد. (در زبان یونانی، کروما^۲ به معنی رنگ و گرافین^۳ به معنی نوشتن است). اهمیت کار تسوت تا دهه ۱۹۳۰، زمانی که لدرر^۴ و همکارانش نتایج تحقیقات خود را بر روی جداسازی رنگدانه‌های گیاهی از جمله کاروتنیدها منتشر کردند، ناشناخته ماند [۱].

۲.۳. تاریخچه کروماتوگرافی

جداسازی شبه کروماتوگرافی قدمتی به اندازه تپه‌ها دارد. مهاجرت گازها از بین

۱. Mikhail Tsweet

۲. Chroma

۳. Graphein

۴. Lederer

پوسته زمین و جامدات و همچنین تراوش آب از بین صخره‌ها و خاک منجر به جابه‌جایی سریع (جداسازی) و تغلیظ بعضی مواد نسبت به مواد دیگر می‌شود. طی قرن‌های متمادی، بشر از این فرایندها برای جداسازی رنگ از ریشه‌ها و برگ‌های گیاهان و همچنین استخراج فلزات الهام می‌گرفت. با این حال، ارزش علمی این جداسازی‌ها تا زمان انقلاب صنعتی در قرن ۱۹ میلادی ناشناخته ماند. در سال ۱۹۵۰، رانج^۱ که بر روی تولید رنگ‌ها از زغال‌سنگ کار می‌کرد، فرم ناقصی از کروماتوگرافی کاغذی را برای آزمایش مخلوط رنگ‌ها به کار برد. وی مخلوط را بر روی کاغذ خاصی نقطه‌گذاری کرد و نقاط رنگی جداگانه‌ای را به دست آورد که او را قادر به شناسایی مخلوط رنگ‌ها کرد.

استفاده از ستون در سال ۱۹۰۶، توسط تسوت به کار رفت. پیشرفت مهم بعدی را لدرر در سال ۱۹۳۱ انجام داد؛ به‌طوری‌که در دهه ۱۹۴۰، کروماتوگرافی جذب سطحی مایع، یک روش جداسازی آزمایشگاهی پذیرفته‌شده در مقیاس تجزیه‌ای و تهیه‌ای بود.

مرحله مهم بعدی را در دهه ۱۹۵۰ دو دانشمند به نام‌های مارتین و سینج^۲ که بر روی جداسازی و ایزوله کردن اسیدهای آمینه اکریل‌دارشده از پروتئین‌های هیدرولیزشده کار می‌کردند، انجام دادند. جداسازی اسیدهای آمینه به کمک استخراج بین دو فاز آبی و آلی (کلروفرم) انجام شد. آن‌ها به سرعت سیستم جداسازی خود را با یک ستون کروماتوگرافی شامل ذرات سیلیکاژل که آب روی آن بود و کلروفرم از میان ستون عبور می‌کرد، تغییر دادند. این روش کروماتوگرافی ستونی نامیده شد و با موفقیت برای جداسازی اسیدهای آمینه استیل‌دارشده به کار رفت. جایزه نوبل سال ۱۹۵۲ به پاس تحقیقاتی که در زمینه کروماتوگرافی انجام

۱. Runge

۲. Martin and Synge

داده بودند، به این دو دانشمند تعلق گرفت.

به‌طور کلی، در تمام روش‌های کروماتوگرافی از یک فاز متحرک^۱ و یک فاز ساکن^۲ استفاده می‌شود که اجزای مخلوط مدّ نظر به‌وسیلهٔ جریانی از فاز متحرک از درون فاز ساکن عبور داده می‌شود و جداسازی براساس اختلاف سرعت مهاجرت اجزای نمونه استوار است [۱].

۳.۳. دسته‌بندی روش‌های کروماتوگرافی

روش‌های کروماتوگرافی را می‌توان به شیوه‌های مختلفی دسته‌بندی کرد. در ادامه به دو شیوه از متداول‌ترین آن‌ها اشاره می‌شود: اولین شیوه براساس وسیله‌ای است که به کمک آن، فازهای متحرک و ساکن با یکدیگر تماس برقرار می‌کنند و از آن جمله، کروماتوگرافی ستونی و سطح است. در کروماتوگرافی ستونی، فاز ساکن در ستون باریکی قرار می‌گیرد که فاز متحرک از داخل آن به سمت پایین حرکت می‌کند. در کروماتوگرافی سطح، فاز ساکن بر روی یک صفحهٔ مسطح قرار می‌گیرد و فاز متحرک از لابه‌لای فاز ساکن و بر اثر خاصیت موئینگی یا نیروی جاذبه حرکت می‌کند. تعادل‌هایی که این دو نوع کروماتوگرافی بر پایهٔ آن‌ها بنا شده است، یکسان‌اند؛ از این‌رو، نظریهٔ ارائه‌شده برای کروماتوگرافی ستونی را می‌توان به‌آسانی در خصوص نوع سطح نیز به کار برد.

شیوهٔ دیگر طبقه‌بندی روش‌های کروماتوگرافی، براساس انواع فازهای متحرک و ساکن صورت می‌گیرد؛ البته در برخی مواقع، اساس طبقه‌بندی کروماتوگرافی، تعادل‌های مؤثر در انتقال مواد حل‌شده بین فاز متحرک و ساکن است. اگر فاز متحرک، مایع، گاز یا سیال فوق بحرانی باشد، روش را به‌ترتیب

۱. Mobile Phase

۲. Stationary Phase

کروماتوگرافی مایع^۱، کروماتوگرافی گازی^۲ و کروماتوگرافی سیال فوق بحرانی^۳ گویند. با توجه به فاز ساکن متفاوتی که می‌تواند وجود داشته باشد، این روش‌ها خود به چندین روش تقسیم می‌شوند [۱].

۱.۳.۳. انواع روش‌های کروماتوگرافی مایع

روش‌های کروماتوگرافی مایع را می‌توان به شیوه‌های مختلفی دسته‌بندی کرد؛ از جمله براساس نوع فاز ساکن و ماهیت شیمیایی مخلوطی که قرار است اجزای آن از هم جدا شوند؛ برای مثال، می‌توان به کروماتوگرافی جذب سطحی^۴ یا کروماتوگرافی جامد مایع^۵ اشاره کرد که مدت زمان زیادی است از آن استفاده می‌شود. در این روش، یک جاذب سطحی مانند آلومینا یا سیلیکا به عنوان فاز ساکن درون ستون فشرده می‌شود و مخلوطی که باید از هم جدا شود، در بالای ستون قرار می‌گیرد و توسط مایع مناسبی در طول ستون شویش می‌شود. هر یک از اجزا که جذب سطحی کمتری در فاز ساکن داشته باشند، سریع‌تر از ستون خارج می‌شوند.

در کروماتوگرافی مایع مایع^۶ از یک فاز ساکن مایع استفاده می‌شود که به صورت یک لایه روی یک نگه‌دارنده جامد قرار می‌گیرد. در این روش، جداسازی بر مبنای اختلاف ضریب تقسیم اجزای نمونه بین فاز ساکن و فاز متحرک استوار است. اگر فاز ساکن نسبتاً قطبی و فاز متحرک غیرقطبی باشد، آن را فاز نرمال و اگر فاز ساکن غیرقطبی و فاز متحرک قطبی باشد، آن را فاز معکوس گویند.

— اگر فاز ساکن مایع باشد و بر روی بستری جامد قرار گیرد، روش را

۱. Liquid Chromatography
۲. Gas Chromatography
۳. Supercritical fluid Chromatography
۴. Adsorption Chromatography
۵. Liquid-Solid Chromatography
۶. Liquid-Liquid Chromatography

کروماتوگرافی مایع مایع (LLC) گویند. تعادل موجود توزیع اجزای بین دو مایع امتزاج ناپذیر است.

– اگر فاز ساکن جامد باشد، روش را کروماتوگرافی مایع جامد (LSC) گویند و تعادل براساس جذب سطحی توسط فاز ساکن استوار است.

– اگر فاز ساکن مایع پیوند شده باشد، روش را کروماتوگرافی فاز مایع پیوند شده^۱ (LBC) گویند و تعادل براساس توزیع و یا جذب سطحی انجام می شود. مایع پیوند شده شامل گونه های آلی پیوند شده در سطح یک جامد پیوند شده است. – اگر فاز ساکن رزین تبادل یونی باشد و تعادل براساس مبادله یون انجام شود، روش را کروماتوگرافی تبادل یونی^۲ (IEC) گویند [۱].

۲.۳.۳. کروماتوگرافی گازی

حدود ۵۰ سال بعد از معرفی کروماتوگرافی توسط میخائیل تسوت (۱۹۰۶)، کروماتوگرافی گازی (GC) را مارتین و جیمز^۳ در سال ۱۹۵۲ معرفی کرد و به سرعت رشد یافت. با به کار بردن ستون های لوله ای باز^۴ یا ستون های موئین، توانایی جداسازی GC افزایش یافت و توانایی جداسازی نمونه های پیچیده ای مانند عطر ها و باقیمانده های محیط زیستی به بیش از ۱۰۰ ترکیب مختلف فراهم شد. تکنیک های هیبریدی به ویژه با استفاده از اسپکتروسکوپی جرمی به عنوان آشکارساز، قدرت آنالیز GC را به میزان زیادی بهبود بخشید. هم اکنون GC قادر به جداسازی، شناسایی و اندازه گیری ترکیبات یک مخلوط گازی، ایزوتوپ های هیدروژن، روغن های اسانس در عطر، اسید های چرب در روغن های گیاهی، موم ها و همچنین آلاینده های موجود در آب و خاک است. در GC آنالیز مستقیم به

۱. Liquid-Bonded Chromatography

۲. Ion-Exchange Chromatography

۳. Martin and James

۴. Open Tubular

ترکیباتی با وزن مولکولی ۴۰۰-۵۰۰ مشتقات مواد تبخیرنشده و کمپلکس‌های فلزات که بدون شکستن ترکیب به قطعات کوچک‌تر^۱ دمایی تبخیر می‌شوند، محدود می‌گردد. GC از نوع تهیه‌ای^۲ روشی برای به‌دست آوردن ترکیبات بسیار خالص در مقادیر و مصارف بالا است که با استفاده از آن می‌توان اندازه‌گیری‌های شیمیایی فیزیکی نیز انجام داد و با توجه به ویژگی‌های سطح، سینتیک و ترمودینامیک جداسازی و فرآیندهای جذب سطحی را بررسی کرد.

در GC یک فاز متحرک گازی شکل، ترکیبات را به‌صورت بخار از روی فاز ساکن عبور می‌دهد و جداسازی براساس میزان برهم‌کنش ترکیبات با فاز ساکن و نسبت توزیع، K، مربوط به هر گونه انجام می‌شود. جداشدن گونه‌ها از یکدیگر به نسبت توزیع فشار بخار ترکیب، ویژگی‌های ترمودینامیکی بافت و میزان تمایل هر گونه به فاز ساکن بستگی دارد [۱].

۱.۲.۳.۳. انواع کروماتوگرافی گازی

- اگر فاز ساکن مایعی باشد که بر روی یک بستر جامد قرار گرفته است، در این صورت، تعادل براساس توزیع اجزا بین دو فاز مایع و گاز انجام می‌شود. این روش را کروماتوگرافی گازمایع^۳ (GLC) گویند.

- اگر فاز ساکن جامد باشد و تعادل براساس جذب سطحی انجام شود، روش را کروماتوگرافی گازجامد^۴ (GSC) گویند.

- اگر فاز ساکن، ترکیبات آلی پیوندشده بر روی سطح یک جامد باشد و تعادل براساس توزیع یا جذب سطحی انجام شود، روش را کروماتوگرافی فاز گاز پیوندشده^۵ (GBC) گویند.

۱. Degradation

۲. Preparative

۳. Gas-Liquid Chromatography

۴. Gas-Solid Chromatography

۵. Gas- Bonded Chromatography

۳.۳.۳. کروماتوگرافی ستونی^۱

در کروماتوگرافی ستونی از سه شیوه متفاوت برای جداسازی اجزای تشکیل دهنده یک مخلوط و گسترش کروماتوگرام استفاده می‌شود:

- تجزیه جبهه‌ای^۲ که فقط برای پیش‌تغلیظ‌سازی برخی نمونه‌ها به کار می‌رود و در کروماتوگرافی ستونی جذب سطحی و کروماتوگرافی مبادله یون به کار می‌رود.
- گسترش با جابجایی^۳
- گسترش با شوی^۴ متداول‌ترین روش کروماتوگرافی است و کروماتوگرافی خطی یا شویی نامیده می‌شود.

۴.۳.۳. استخراج فاز جامد

استخراج مایع‌مایع در خالص‌سازی نمونه مورد اندازه‌گیری از عوامل مزاحم و تغلیظ آن، نقش عمده‌ای دارد؛ اما بازیابی اجزای نمونه به این روش کامل نیست و به‌کندی انجام می‌شود؛ از این‌رو، محبوبیت و کاربرد روش استخراج فاز جامد^۵ (SPE) به سرعت رو به افزایش گذاشت. استخراج فاز جامد نسبت به استخراج مایع‌مایع آسان‌تر خودکار می‌شود، سریع‌تر بوده و معمولاً بازده استخراج بیشتری دارد. همچنین مواد مورد استفاده در این روش، از عوامل غیرآلاینده محیط زیست است و نیز مقدار حلال مایع مورد استفاده به میزان درخور توجهی کمتر از استخراج مایع‌مایع است.

در استخراج فاز جامد، آنالیت‌ها از یک فاز مایع به درون یک فاز جامد استخراج می‌شوند. معمولاً فاز جامد شامل ذرات کوچک و متخلخلی از سیلیکا است که به

۱. Column Chromatography

۲. Frontal Analysis

۳. Displacement Development

۴. Elution Development

۵. Solid-Phase Extraction

یک فاز آلی یا یک پلیمر آلی (مانند پلی‌استیرن دارای پیوند عرضی^۱) پیوند شده‌اند. این استخراج را می‌توان به صورت ناپیوسته انجام داد که در آن ماده جامد استخراج‌کننده به خوبی با محلول نمونه مایع مخلوط می‌شود. روش متداول‌تر در شیمی تجزیه به این صورت است که ماده استخراج‌کننده جامد را در یک لوله کوچک انباشته می‌کنند و نمونه مایع را از درون این لوله عبور می‌دهند. موادی را که به وسیله ذرات جامد استخراج می‌شوند، می‌توان با شستشو توسط یک حلال مناسب جدا کرد. بیشتر آنالیت‌های آلی را می‌توان از یک ستون SPE با یک حلال آلی مثل استون، استونیتریل یا متانول شستشو داد. معمولاً حجم حلال لازم برای شویش کامل آنالیت‌ها بسیار کمتر از حجم نمونه اصلی است؛ بنابراین، محلول تغلیظ‌شده‌ای از آنالیت به دست می‌آید. مولکول‌های استخراج‌شده را می‌توان به وسیله حرارت دادن از طریق جریان ملایمی از یک گاز حامل بی‌اثر از ذرات جامد جدا کرد. این کار روش مناسبی برای انتقال مولکول‌ها به درون یک دستگاه کروماتوگرافی گازی برای آنالیز آن‌هاست.

۵.۳.۳. کروماتوگرافی مسطح^۲

کروماتوگرافی مسطح یکی از روش‌های کروماتوگرافی است که در آن، فاز ساکن یک لایه نازک خوداتکاست یا توسط صفحه فلزی، پلاستیکی یا شیشه‌ای نگه داشته می‌شود. فاز متحرک بر اثر خاصیت موئینگی از درون فاز ساکن عبور می‌کند و گاهی اوقات حرکت آن توسط نیروی جاذبه و یا پتانسیل الکتریکی کمک می‌شود. کروماتوگرافی مسطح به طور کلی، به سه شکل انجام می‌شود که عبارت است از:

۱. کروماتوگرافی لایه نازک^۳ (TLC)

۱. Crosslinked

۲. Planar Chromatography

۳. Thin Layer Chromatography

۲. کروماتوگرافی کاغذی^۱ (PC)

۳. الکتروکروماتوگرافی^۲

۱.۵.۳.۳. کروماتوگرافی لایه نازک

روشی برای جداسازی اجزای موجود در یک مخلوط از طریق شستشو آن از میان یک بستر کروماتوگرافی مسطح و سپس مشاهده پذیر کردن ترکیبات جدا شده به وسیله رنگ کردن^۳ یا سوزاندن^۴ آنهاست. در ساده ترین شکل، صفحات می توانند در آزمایشگاه آماده شوند و نمونه به صورت یک نقطه در پایین صفحه قرار می گیرد و سپس صفحه در ظرفی با اندازه مناسب قرار داده می شود و کروماتوگرام حاصل ظاهر می گردد.

۲.۵.۳.۳. کروماتوگرافی کاغذی

یکی از قدیمی ترین انواع کروماتوگرافی است که در آن، از یک قطعه کاغذ مرطوب به عنوان فاز ساکن و بی اثر استفاده می شود؛ به طوری که نمونه به صورت یک نقطه کوچک در انتهای کاغذ گذاشته می شود و ترکیبات با عبور فاز متحرک از میان کاغذ براساس خاصیت موئینگی شویش می شوند. با وجود تفکیک ضعیف و زمان آنالیز طولانی، باز هم PC روشی ارزان قیمت برای مطالعات بنیادی و عملی است و کاربردهای موفقیت آمیزی در زمینه آنالیز اسیدهای آمینه و پپتیدها داشته و برای آنالیز ترکیبات آلی و یون های معدنی نیز با اصلاح روش به کار برده شده است. استفاده از کاغذ به عنوان حد واسط کروماتوگرافی در حقیقت، یک سیستم تقسیمی نوعی است که در آن فاز ساکن آب است که به وسیله جاذبها بر روی کاغذ نگه داشته است. درصد اندکی از آب (حدود ۷٪) به طور محکم براساس پیوند هیدروژنی

۱. Paper Chromatography

۲. Electro Chromatography

۳. Staining

۴. Charring

به کاغذ پیوند داده شده و فاز ساکن را تشکیل می‌دهد. سایر مولکول‌های آب به وسیله سلولز جذب سطحی می‌شوند و فضاهای درونی لیف را پر می‌کنند که بدین صورت کاغذ می‌تواند تا ۲۰٪ آب را نگه دارد.

۳.۵.۳.۳. الکتروکروماتوگرافی

نوع خاصی از روش‌های الکتروفورز است که در آن جداسازی بر روی یک بستر تثبیت‌شده انجام می‌شود. بسترهای جامد به کاررفته در الکتروکروماتوگرافی همانند سایر روش‌های کروماتوگرافی شامل کاغذ، غشاهای سلولز استات، ژل‌های نشاسته و آگار، رزین‌های مبادله یون، پودر سلولز و غیره است. بسته به ماهیت فیزیکی جامد، جداسازی بر روی نوارهای کاغذی یا غشاهای در ستون‌ها، بر روی بشقابک‌ها یا بر روی بسترهای لایه نازک انجام می‌شود. متداول‌ترین مواد تثبیت‌شده شامل کاغذ صافی و سلولز استات است.

۶.۳.۳. الکتروفورز^۱

الکتروفورز را اولین بار در سال ۱۹۳۷، شیمیدان سوئدی به نام آرن تیسلیوس^۲ که بر روی پروتئین‌های سرم تحقیق می‌کرد، معرفی نمود. وی به سبب تحقیقاتی که در این زمینه انجام داد، در سال ۱۹۴۸ موفق به دریافت جایزه نوبل شد. در آن زمان به این کار، روش مرز متحرک^۳ گفته می‌شد. الکتروفورز روشی است که در آن مولکول‌های باردار براساس میزان حرکتشان در یک میدان الکتریکی از یکدیگر جدا می‌شوند. در این صورت، یون‌های مثبت به سمت الکتروود منفی و یون‌های منفی به سمت الکتروود مثبت مهاجرت می‌کنند و مولکول‌های بدون بار، بی حرکت باقی می‌مانند. بار بیشتر یا اندازه کوچک‌تر منجر به مهاجرت سریع‌تر می‌شود. در الکتروفورز، یک بافر وجود دارد که در بستری جامد مانند کاغذ یا ژل نیمه جامد نگه

۱. Electrophores

۲. Arne Tiselius

۳. Moving Boundary Method

داشته می‌شود و باعث رسانایی جریان الکتریکی می‌شود که توسط ولتاژ خارجی اعمال می‌شود. برای اینکه ذره‌ای بتواند در یک میدان الکتریکی مهاجرت کند، باید دارای بار الکتریکی خالص مثبت یا منفی باشد و بار آن چند برابر یک الکترون که برابر 1.6×10^{-19} efu است، باشد. ترکیباتی را که به‌طور طبیعی بار ندارند، می‌توان پس از باردار کردن با روش الکتروفورز جدا کرد [۱].

تصفیه‌سازی برای مطالعه بیوسنتز آنتراکینون‌ها یا آنالیز خواص رنگریزی یا برای جداسازی فعالیت جهش‌زایی لازم است.

۴.۳. استخراج

روش‌های جداسازی برحسب اینکه هدف از استخراج، جدا کردن آگلیکون‌های آزاد باشند یا جداسازی گلیکوزیدها، می‌تواند انواع متفاوتی داشته باشد. آنتراکینون‌ها را می‌توان با استخراج متوالی به‌وسیله حلال‌های شدیداً قطبی، جداسازی کرد. محلول‌های مختلف عصاره‌گیری را می‌توان به‌وسیله استخراج مایع‌مایع، بیش از پیش تصفیه و خالص‌سازی کرد. در اولین مرحله از استخراج، یک حلال غیرقطبی مثل اتر، بنزن، کلروفرم، دی‌کلرومتان یا اتیل استات استفاده می‌شود. گلیکوزیدهای آنتراکینونی در هر حال باید با استفاده از آب، اتانول، متانول یا مخلوط آب-اتانول استخراج شوند. استخراج می‌تواند در دماهای مختلفی انجام شود. در هنگام استخراج آنتراکینون‌ها از گیاه با متانول یا اتانول داغ، محصولات جانبی تشکیل می‌شوند. این آنتراکینون‌ها به‌ترتیب حضور ۲-متوکسی متیل یا ۲-توکسی متیل را که ناشی از تبدیل جزئی لوسیدین به w-اتیل اتر مشابه است، نشان می‌دهند. این واکنش به مقدار زیادی به دما بستگی دارد؛ بنابراین، در استخراج آنتراکینون‌ها از کاربرد متانول یا اتانول داغ باید اجتناب شود. برای این منظور می‌توان از محلول‌های بازی مثل سدیم کربنات، سدیم بی‌کربنات یا سدیم هیدروکسید استفاده کرد. بیشتر

آنتراکینون‌ها در روناس، به صورت ترکیبات فنولی هستند. به طور کلی فنول‌ها به خوبی در محلول‌های بازی حل می‌شوند. با وجود این خاصیت، ماساواکی (۱۹۹۶) توانست به طور هم‌زمان هردو آگلیکون‌ها و گلیکوزیدها را استخراج کند. وقتی از محلول هیدروکسید پتاسیم به عنوان حلال در استخراج استفاده شود، پریم اوروزایدهای روبریتریک اسید و لوسیدین هردو استخراج می‌شوند و وقتی از کلروفرم به عنوان حلال استفاده شود، پریم اوروزایدهای آنتراکینونی استخراج نمی‌شوند و تنها مقدار کمی آلیزارین و لوسیدین استخراج می‌شود. با استفاده از روش استخراج دوفازی کلروفرم-آب و تنظیم pH برابر با ۵، از ریشه‌های خشک و پودر شده روناس، آنتراکینون‌های آلیزارین و لوسیدین داخل کلروفرم و پریم اوروزایدها داخل فاز آبی به دست می‌آید. در بسیاری از موارد، متعاقباً گلیکوزیدهای موجود در عصاره در محلول آبی ۲ تا ۵ درصد اسید سولفوریک یا اسید کلریدریک در ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز می‌شوند. در این فرآیندها گلیکوزیدهای اصلی روناس، اسید روبریتریک و پریم اوروزایدهای لوسیدین به آگلیکون‌های مربوط، یعنی آلیزارین و لوسیدین با آزادسازی هم‌زمان گلوکز و زایلوز (قندی متبلور و تخمیرناپذیر) تبدیل می‌شوند. در هنگام هیدرولیز بیشتر آگلیکون‌ها رسوب می‌کنند. هیدرولیز مستقیم عصاره ریشه روناس رسوب سیاه می‌دهد. عصاره آبی ریشه روناس همچنین حاوی آسپیرولوزید (یک ایریدوئید گلیکوزید) است که در حرارت دادن با اسیدهای رقیق در واکنش هیدرولیز، آسپیرولوزید ابتدا رنگی سبز و سپس رسوبی سیاه قیری رنگ می‌دهد. هیدرولیز جزئی گلیکوزیدهای آنتراکینونی می‌تواند هم با محلول آبی هیدروکسید سدیم و هم با هیدرولازها انجام شود. ماساواکی ادعا می‌کند که اسید روبریتریک در محلول دو فاز کلروفرم-آب، به طور انتخابی و به طور کامل می‌تواند در مدت ۶ ساعت تحت واکنش هیدرولیز آنزیمی به کمک بتاگلیکوزیداز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۵، به آلیزارین تبدیل شود. در مقابل در یک محلول

آبی تک‌فازی بعد از گذشت ۶ ساعت فقط مقدار ۶۰ درصد از اسیدروبریتریک به آلیزارین تبدیل می‌شود. دلیل این اتفاق را می‌توان این‌گونه توضیح داد که آلیزارین نوعی اثر بازدارنده در هیدرولیز آنزیمی اسید روبریتریک در محلول از خود نشان می‌دهد. در استخراج دوفازی، هیدرولیز آنزیمی اسید روبریتریک به‌طور مؤثری انجام می‌پذیرد، زیرا اثر بازدارندگی آلیزارین با استخراج آلیزارین در کلروفرم کاهش می‌یابد. در این آزمایش، پریم اوروزاید لوسیدین به‌وسیلهٔ بتاگلیکوزیداز هیدرولیز آنزیمی می‌شود. پس از استخراج کشت سلولی حاوی آنتراکینون، اغلب، مقدار آنتراکینون‌ها بر حسب آلیزارین محاسبه می‌شوند. در بیشتر مواقع، عصاره‌ها با حجم برابری از محلول متانول یا محلول ۸۰ درصد اتانول تنظیم می‌شوند و تجزیهٔ کمی و کیفی در ۴۳۴ نانومتر انجام می‌شود و با منحنی کالیراسیون آلیزارین در ۴۲۴ نانومتر یا در ۵۵۰ نانومتر بعد از افزودن هیدروکسید پتاسیم به محلول، مقایسه می‌شود. آنتراکینون‌ها می‌توانند بیش از این نیز، همچنین با تشکیل رسوب یا کروماتوگرافی خالص‌سازی شوند. عمل رسوب‌گذاری می‌تواند با عواملی مثل استات سرب انجام شود. رسوب سرب در گذشته بیشتر استفاده شده است و امروزه از کروماتوگرافی استفاده می‌شود [۲].

۵.۳. کروماتوگرافی

۱.۵.۳. ستون کروماتوگرافی

فرایند جداسازی از عصارهٔ خام آنتراکینون‌ها می‌تواند بیشتر به روش ستون کروماتوگرافی انجام گیرد. در تخلیص آنتراکینون‌ها از روبیا تینکتروم از مواد بسیار مختلفی در ستون کروماتوگرافی استفاده می‌شود. شوینده‌های مورد استفاده برای ستون در فاز نرمال معمولاً شامل یکسری از حلال‌های به‌شدت قطبی هستند. لیست بعضی از آن‌ها که توسط محققان مختلف مورد استفاده قرار گرفته، در جدول

۳-۱ آمده است. پیش تصفیه و تغلیظ آنتراکینون‌ها در عصاره‌های گیاهی می‌تواند به وسیله روش استخراج فاز جامد^۱ با استفاده از ترکیبات ۸ کربنه عملی شود. عصاره اتانولی خام به میزان ۱۰ برابر با آب رقیق می‌شود و سپس قطره‌قطره از کارتریج پیش فعال عبور داده می‌شود. این کارتریج‌ها ابتدا با آب و در ادامه با متانول آب (محلول ۷۰ تا ۳۰) شسته می‌شوند. بعد از خشک کردن کارتریج‌ها با هوا، مجدداً جزء آنتراکینونی با متانول آب (۸۰:۲۰) شسته می‌شود.

جدول ۳-۱: نمونه‌هایی از جداسازی آنتراکینون‌ها به روش ستون کروماتوگرافی فشار [۲]

نام محصول	مواد	حلال
سیلیکاژل	SiO_2	متانول
-	-	استون
-	-	کلروفرم
-	-	پتروئوم اتر ۴۰ تا ۶۰
-	-	بنزن
-	-	کلروفرم متانول
-	-	هگزان اتیل استات
-	-	هگزان
-	-	کلروفرم متانول
سفادکس G-۲۵	دکسترن با پیوندهای عرضی	۵/۰٪ کربنات سدیم مایع
سفادکس LH۲۰	دکسترن هیدروکسی پروپیل دارشده با پیوندهای عرضی	متانول
-	-	متانول
-	-	کلروفرم متانول
Amberlite XAD-۲	جاذب پلیمری غیرآنیونی	آب متانول
Dowex ۵۰H ⁺	رزین تبادل یونی کاتیونی شدیداً اسیدی	متانول

۲.۵.۲. کروماتوگرافی کاغذی و کروماتوگرافی لایه نازک

تشخیص آنتراکینون‌ها در صفحات TLC با توجه به رنگ‌های زردنارنجی آن‌ها بسیار ساده است. برخی آنتراکینون‌ها وقتی که با اشعهٔ ماوراءبنفش در طول موج ۲۵۴ نانومتر دیده می‌شوند، یک رنگ و بیشترشان وقتی با اشعهٔ ماوراءبنفش در طول موج ۳۶۶ نانومتر دیده شوند، چند رنگ را نشان می‌دهند. یک تغییر رنگی نیز هنگامی دیده می‌شود که هیدروکسی آنتراکینون‌ها به محلول هیدروکسید پتاسیم یا هیدروکسید سدیم در متانول (۵٪ وزنی حجمی) اضافه می‌شوند. این روش تشخیص برای هیدروکسی آنتراکینون‌ها به واکنش Borntrager معروف است. تغییرات رنگی از زردنارنجی به قرمزبنفش، به دلیل یونیزه شدن گروه هیدروکسیل است. در این صورت، رزونانس مولکول طویل‌تر و سبب انتقال ماکزیمم جذب، به طول موج بلندتر می‌شود.

تست شناسایی دیگری، قرارگرفتن در معرض بخار آمونیاک است که تغییر رنگی نقاط آنتراکینونی مشاهده می‌شود. همچنین نقاط می‌توانند با مرطوب‌شدن با محلول ۵٪ استات منیزیم در متانول به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد تشخیص داده شوند. آن دسته از هیدروکسی آنتراکینون‌هایی که حداقل یک گروه هیدروکسیل در موقعیت یک داشته باشند، می‌توانند با این معرف واکنش بدهند. ترکیباتی که حاوی دو گروه هیدروکسیل در موقعیت‌های ۲ و ۱ هستند، یک رنگ بنفش می‌دهند و ترکیبات با دو گروه هیدروکسیل در موقعیت‌های ۳ و ۱ رنگ نارنجی‌قرمز یا صورتی و ترکیبات با دو گروه هیدروکسیل در موقعیت‌های ۴ و ۱، رنگ ارغوانی می‌دهند [۱].

۳.۵.۳. کروماتوگرافی مایع‌گاز

چون آنتراکینون‌ها به اندازهٔ کافی فرار نیستند، در روش GLC از مشتقات بسیار فرار هیدروکسی آنتراکینون‌ها مانند مشتقات متیل‌اترها، تری‌متیل سیلیل (TMS)

استخراج، جداسازی و تخلیص آنتراکینون‌ها از... ۷۱

اترها و مشتقات تری‌فلوروآسیل استفاده می‌شود. دیگر مشتقات آنتراکینونی که به‌طور کاهشی سیلیل‌دار شده‌اند، با انجام کروماتوگرافی، دنباله‌دار می‌شوند. سیلیل‌دار شدن کاهشی، روشی انتخابی برای مشتقات هیدروکسی آنتراکینون به حساب می‌آید. تعداد و موقعیت استخلاف‌ها در هسته آنتراکینون در رفتار GLC کاملاً مؤثر است. ترتیب شویش (جداسازی) در GLC بر حسب وزن مولکولی آنتراکینون‌ها است. زمان احتباس با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل افزایش می‌یابد. در بین هیدروکسی آنتراکینون‌ها، ۴و۱ دی‌هیدروکسی آنتراکینون‌ها نسبت به ۲و۱ و ۳و۱ دی‌هیدروکسی آنتراکینون‌ها زمان‌های احتباس کوتاه‌تری دارند. هیدروکسی آنتراکینون‌ها نسبت به متیل آنتراکینون‌های مشابه‌شان زمان‌های احتباس طولانی‌تری دارند. زمان احتباس در هنگام جایگزین شدن گروه هیدروکسی با گروه متوکسی، کاهش می‌یابد.

۴.۵.۳. کروماتوگرافی مایع کارایی بالا

علی‌رغم جداسازی بسیار خوب آنتراکینون‌ها با روش GLC از روش (HPLC) نیز استفاده می‌شود. در این روش، نیازی به سیلیل‌دار کردن آنتراکینون‌ها نیست؛ زیرا این خود سبب صرفه‌جویی در زمان و مانع از هدر رفتن برخی آنتراکینون‌ها در واکنش سیلیل‌دار کردن می‌شود. چندین روش جداسازی، برای آنتراکینون‌های موجود در رویا تینکتروم بر پایه HPLC در مقالات گزارش شده است. ترکیبات ۱۸ کربنه فاز معکوس بیشتر با سیلیکاژل استفاده می‌شوند. در کل، HPLC بر آگلیکون‌ها یا حتی فقط بر آلیزارین تمرکز دارد. در بیشتر مواقع، عصاره رونس ابتدا هیدرولیز می‌شود و تمامی مقادیر آلیزارین بعد از جداسازی به روش HPLC مشخص و تعیین می‌شود. مقدار آنتراکینون‌ها در ریشه رونس در محدوده طیف ماوراءبنفش با طول موج‌های ۲۵۴ و ۲۸۰ نانومتر یا برای آنتراکینون‌های خیلی خاص در طول موج‌های مرئی مانند ۴۳۰، ۴۸۰ یا ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. شوینده‌های مورد استفاده در این

روش، مخلوط آب و استونیتریل یا آب و متانول هستند [۲].

در روند شناسایی ترکیبات روناس با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، اسپکترسکوپی جرمی- آشکارسازی آرایه‌های دیودی^۱، ۶ آنتراکینون آلزارین، پورپورین، پزدوپورپورین، لوسیدین، نوردامناکانتال و مانجستین یافت شدند. طول موج‌های ماکزیمم ترکیبات که با HPLC – DAD به دست آمده‌اند، در جدول ۳-۲ با توجه به نوع ترکیب آمده است. بدین ترتیب، دیده می‌شود که آنتراکینون‌ها و ۱-هیدروکسی آنتراکینون‌ها به طور درخور توجهی، طیف متفاوتی نسبت به ۲-هیدروکسی آنتراکینون‌ها دارند. در جریان هیدرولیز اسیدی، پزدوپورپورین سریع به پورپورین تبدیل می‌شود. لوسیدین به آرامی به ترکیباتی نامشخص تجزیه می‌شود و در آخر پیوندهای گلیکوزیدی شامل ساکاریدها به مونو ساکاریدها هیدرولیز می‌شوند؛ در نتیجه، هیدرولیز آنزیمی، همه گلیکوزیدهای آنتراکینونی به آنتراکینون‌های مشابه‌شان و ساکاریدها هیدرولیز می‌شوند. لوسیدین به نوردامناکانتال اکسید می‌شود و خوشبختانه ساکاریدها با بالاترین درجه پلیمریزاسیون، دست‌نخورده باقی می‌مانند [۳].

جدول ۳-۲: طول موج ترکیبات شناسایی شده در روناس به روش HPLC – DAD [۳]

طول موج (نانومتر)	ترکیبات
۲۲۴،۲۸۰،۴۱۲	لوسیدین*
۲۲۴،۲۸۰،۴۱۲	لوسیدین متیل اتر*
۲۲۴،۲۸۰،۴۱۲	لوسیدین-O-اتیل استر*
۲۲۴،۲۸۰،۴۱۲	نوردامناکانتال*
۲۵۸ و ۲۶۰	پزدوپورپورین*
۴۷۸ و ۴۹۲	پورپورین*
۲۵۰،۲۸۰،۴۲۸	آلزارین*

^۱. High Performance Liquid Chromatography Coupled With Diode Array Detection and Mass Spectrometry (HPLC-DAD-MS)

ترکیبات	طول موج (نانومتر)
آلیزارین-۲- متیل اتر*	۲۵۰، ۲۸۰، ۴۲۸
مانجستین اتیل استر	۴۱۰
کوانیزارین*	۲۵۰، ۲۸۰، ۴۷۶
آنتراکینون	۲۵۲
۱-هیدروکسی آنتراکینون*	۲۵۲، ۳۲۶، ۴۰۲
۲-هیدروکسی آنتراکینون	۲۷۰

* این ترکیبات بیش از یک پیک دارند.

۵.۵.۳. کروماتوگرافی مایع-مایع

از روش کروماتوگرافی مایع-مایع نیز به‌طور موفقیت‌آمیزی، به‌منظور جداسازی گلیکوزیدهای آنتراکینونی و آگلیکون‌ها استفاده کرده‌اند. سیستم حلال در این روش، شامل کلروفرم-متانول-آب با نسبت‌های ۳:۵:۵ است که به‌منظور جداسازی دو گلیکوزید آنتراکینون اصلی در روبیا تینکتروم استفاده شده است. در روش جدیدتر که کروماتوگرافی با نیروی گریز از مرکز^۱ انجام می‌شود و نسبت به روش قبل سرعت بیشتری دارد، سیستم حلال بهینه‌سازی شده است. سیستم‌های حلال حاوی n- هگزان- اتیل استات- متانول آب با نسبت ۵:۵:۱ و ۹:۱:۵ و کلروفرم-متانول-آب- استیک اسید با نسبت ۵/۰:۴:۶:۵ هستند که از سیستم حلال اولی برای جداسازی آگلیکون‌های آنتراکینونی و سیستم حلال دوم برای جداسازی آگلیکون‌ها و گلیکوزیدها استفاده شد [۲].

برای شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌های روبیا تینکتروم و تعیین مقدار آنتراکینون‌های موجود از روش‌های مختلف کروماتوگرافی مایع استفاده شده و در همه موارد، آنتراکینون‌ها با طیف‌سنجی اشعه ماوراءبنفش- مرئی شناسایی شدند.

۱. Centrifugal Partition Chromatography(CPC)

از روش کروماتوگرافی مایع طیف‌بینی جرمی^۱ به‌عنوان روشی سریع جهت تشخیص ترکیبات موجود در عصاره‌ها استفاده شده است. برای یونیزاسیون فنول‌ها و گلیکوزیدهای آن از یونیزاسیون الکتروافکن^۲ و یونیزاسیون شیمیایی فشار اتمسفر^۳ بهره گرفته‌اند. بدین‌وسیله نتیجه شد آنتراکینون‌هایی که با طیف‌بینی جرمی تشخیص داده نمی‌شوند، با طیف‌سنجی اشعه ماوراءبنفش- مرئی^۴ در ۴۳۰ نانومتر یا DAD تشخیص‌پذیرند. در این طول موج همه پیک‌ها مشخص شدند و با یونیزاسیون منفی- یونیزاسیون الکتروافکن^۵ نیز یک سیگنال دادند.

با روش کروماتوگرافی مایع-آشکارسازی آرایه‌های دیودی و کروماتوگرافی مایع-اسپکتروسکوپی جرمی می‌توان آنتراکینون‌های ناشناخته مثل پزدوپورپورین، مانجستین، گلیکوزید لوسیدین و گلیکوزید آلیزارین را شناسایی کرد. نتیجه شد که آلیزارین به‌وسیله یونیزاسیون شیمیایی فشار اتمسفر در روش یونیزاسیون منفی، بهتر آنالیز شده است؛ اما درباره اسید روبریتریک این‌طور نبود. وقتی عصاره اتانول - آب ریشه روناس با کروماتوگرافی مایع-یونیزاسیون الکتروافکن-اسپکتروسکوپی جرمی و کروماتوگرافی مایع-آشکارسازی آرایه‌های دیودی آنالیز شد، در طول موج ماوراءبنفش در ۲۵۴ پریم اوروزایدهای لوسیدین و اسید روبریتریک ترکیبات آنتراکینونی بزرگی بودند. پریم اوروزایدهای لوسیدین و روبریتریک اسید در اسپکتروسکوپی جرمی سیگنال‌هایی را نشان دادند. پزدوپورپورین (در طول موج ۲۵۹ نانومتر) و مانجستین (در طول موج ۲۹۴ نانومتر) نیز که در ابتدا ناشناخته بودند، وقتی با اسید سولفوریک هیدرولیز شدند و

۱. Liquid Chromatographic-Mass Spectroscopy (LC-MS)

۲. Electrospray Ionisation (ESI)

۳. Atmospheric Pressure Chemical Ionisation

۴. UV-Vis

۵. Negative Ionization- Electrospray Ionisation (NI-ESI)

کربوکسیل‌زدایی نیز انجام شد، به پورپورین و زانتوپورپورین تبدیل شدند [۴].

در تحقیقات بیشتری که توسط افراد دیگری انجام شده‌اند، نشان دادند که ترکیبات حاصل از استخراج دو گونهٔ رونس روبیا تینکتروم و روبیا پرگرینا که در مدیریتانه رشد می‌کنند، شامل آگلیکون‌های آلیزارین، پورپورین، لوسیدین، پزدوپورپورین و روبیادین و پیش‌ماده‌های هتروزیدیک شامل اسید روبریتریک، پریم اوروزاید لوسیدین، گالیوزین و پیش‌ساز روبیادین هستند. این ترکیبات از طریق زمان احتباس و طیف‌سنجی با اشعهٔ ماوراءبنفش در مقایسه با استانداردهای خالص شناسایی شدند؛ در نتیجه، ماکزیمم جذب برای آنتراکینون‌ها بالای ۴۰۰ نانومتر حاصل شد؛ اما حضور استخلاف در مولکول مثل گلیکوزیدها، به دلیل ممانعت پیوستگی الکترونیکی، این مقدار را کاهش می‌دهد. مقدار ماکزیمم جذب برای پیش‌ماده‌های هتروزیدیک رونس از آگلیکون‌های مشابه کمتر است. مثلاً اسید روبریتریک (پریم اوروزاید آلیزارین) در ۴۱۸ نانومتر و آلیزارین در ۴۲۸ نانومتر بیشترین جذب را دارد. شیفٔ هیپسوکرومیک در فام این رنگینه و بنابراین در رنگ عصارهٔ رونس تأثیر دارد. مولکول‌های اصلی موجود در ریشه‌های روبیا تینکتروم عبارت‌اند از: پیش‌ماده‌های هتروزیدیک مثل پریم اوروزاید لوسیدین، اسید روبریتریک (پریم اوروزاید آلیزارین)، گالیوزین (پریم اوروزاید پزدوپورپورین) و پریم اوروزاید روبیادین و مقدار کمی ترکیبات آگلیکونی مثل لوسیدین و آلیزارین و پورپورین. نمونهٔ روبیا پرگرینا نیز به همان اندازه از ساختارهای هتروزیدیک مثل پریم اوروزاید لوسیدین، گالیوزین و لوسیدین تشکیل شده است. ملاحظه می‌شود که ساختار آلیزارین یا اسید روبریتریک یا آلیزارین در این نوع از رونس وجود ندارد. پس حضور ساختار آلیزارین نشان‌دهندهٔ رونس از نوع تینکتروم است. نسبت فراوانی از پیش‌سازهای هتروزیدیکی در هر دو گونه، یعنی ۸۰٪ برای تینکتروم و ۷۷٪ برای پرگرینا جوان‌بودن گیاه را اثبات می‌کند. کروماتوگرافی گارانسین

رنگ‌های آگلیکونی مثل لوسیدین، آلیزارین، روبیادین و پورپورین را نشان می‌دهد؛ بنابراین، ماکزیمم جذب کم است؛ مثلاً پریم اوروزاید لوسیدین، اسید روبریتریک ماکزیمم جذب آنها به ترتیب ۴۰۶ و ۴۱۸ نانومتر هستند. وقتی این پیش‌ماده‌ها هیدرولیز شوند، غلظت رنگ قرمز افزایش می‌یابد و ماکزیمم جذب بالا می‌رود؛ به طوری که در لوسیدین به ۴۱۴ و آلیزارین به ۴۲۸ نانومتر می‌رسد. درواقع، تجزیه و تحلیل طیف ماوراءبنفش از هر ترکیب نشان می‌دهد که حضور شیف و هیپسوکرومیک در افزایش جذب برای مولکول هتروزیدیک در مقایسه با آگلیکون‌های مشابه، اثر مثبتی دارد [۵].

۶.۳. الکتروفورز مویین

اخیراً جداسازی ۱۰ آگلیکون آنتراکینونی و دو گلیکوزید از روناس توسط الکتروفورز مویین انجام گرفته و با (HPLC) مقایسه شده است. دو آگلیکون مطالعه شده در روناس، آلیزارین و پورپورین هستند. چون همه آنتراکینون‌ها با تشکیل کمپلکس بافر بورات می‌توانند شارژ شوند، الکتروفورز مویین منطقه‌ای^۱ برای جداسازی انتخاب گردید. ردیابی در طول موج ۲۶۰ نانومتر صورت می‌گیرد. میزان تشخیص با این روش ۱۰ برابر بیشتر از روش (HPLC) است [۲].

۷.۳. استخراج به روش‌های جوشاندن و امواج فراصوت^۲ و استفاده از عصاره

الکلی

در بررسی‌های انجام شده در ارتباط با استخراج رنگینه ریشه روناس، ریشه سه‌ساله روناس به‌عنوان بهترین رنگزا استفاده شده است. با هیدرولیز آنزیمی

۱. Capillary Zone Electrophoresis (CZE)

۲. Ultrasound

ریشه‌ها، ترکیبات آگلیکونی را جدا کردند. این رنگ‌ها و به‌خصوص پیش‌ماده‌های هتروزیدیک، ترکیبات حساس به گرما^۱ هستند.

در فرایند استخراج، دمای زیاد سبب تسریع در هیدرولیز آنزیمی یا تخریب هر ترکیبی مثل گالیوزین می‌شود. با تخریب دوگانه گالیوزین به وسیله هیدرولیز آنزیمی، پیش‌ماده هتروزیدیک پزدوپورپورین که تحت واکنش کربوکسیل‌زدایی قرار می‌گیرد، پورپورین تشکیل می‌شود؛ در نتیجه، دما از نظر حفظ ترکیبات شیمیایی رنگ، عامل مهمی در فرایند استخراج است.

در مقایسه دو روش استخراج معمولی (جوشاندن) و فراصوتی نتیجه شد که روش فراصوتی نسبت به روش معمولی، سبب کاهش هزینه، عملکرد و محصول بهتری شده است. همچنین در زمان و انرژی نیز صرفه‌جویی می‌شود. البته در روش فراصوتی، اندازه ریشه نیز اهمیت زیادی دارد؛ در نتیجه، عصاره‌گیری مؤثر است. ریشه‌ها هرچه بزرگ‌تر شوند، سطح تماسشان با عصاره، نسبت به وزنشان، کمتر می‌شود و ریشه‌های کوچک‌تر هم در عصاره می‌مانند. پس باید اندازه مطلوب معین شود. در هر دو روش، تمام ترکیبات استخراج شدند؛ اما ترکیب زانتوپورپورین فقط با روش معمولی از ریشه استخراج شد. برای شناسایی ترکیبات موجود در ریشه‌ها، از کروماتوگرافی مایع استفاده شد. این ترکیبات شامل سه پیش‌ماده هتروزیدیکی شامل پیش‌ساز لوسیدین، اسید روبریتریک و گالیوزین و همچنین آگلیکون با نسبت کمتر بود. در بیش از ۸۰ درصد تمام رنگینه‌ها، این مواد به‌ترتیب با درصدهای ۳۶/۴ و ۴۱/۲ و ۴/۴ در ماکزیمم طول موج ۴۵۰ نانومتر شناسایی شدند. آلیزارین، آگلیکون اصلی است که در تمام عصاره‌ها با غلظت بین ۵.۵٪ تا ۲۴.۶٪ یافت شد. این اختلاف رابطه مستقیمی با شرایط استخراج دارد. حضور آلیزارین به سبب تخریب پیش‌ماده‌ای به نام روبریتریک اسید است؛ اما مشخص کردن مقدار

۱. Thermosensitive

آن در عصاره مشکل است. در استخراج، مخلوط حاوی عصاره، عامل مهم و مؤثر در نوع و درصد ترکیبات است؛ البته اثر دما و زمان هم مؤثر است [۶].

به منظور استخراج رنگدانه‌های روناس و شناخت حلال مناسب، در یک تحقیق از حلال‌های آبی مثل اتانول یا متانول در نسبت‌های حجمی مختلف، اتر، کلروفرم یا تترا هیدروفوران استفاده کرده‌اند. همچنین در این آزمایش‌ها برخی از مواد مانند بنزن، هگزان، اتر، اتیل استات، کلروفرم و تترا هیدروفوران، به عنوان حلالی مناسب برای حل کردن آگلیکون‌ها (ترکیباتی غیرقندی که از هیدرولیز گلیکوزیدها به دست می‌آید) در نظر گرفته شده و برخی دیگر مثل متانول، اتانول و آب، بیشتر برای انحلال گلیکوزیدها استفاده شده‌اند. بدین منظور از اتر، استون، اتانول، متانول و آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت استفاده شده است. با مشاهده نتایج (مقدار محصول استخراجی و غلظت آلیزارین تولیدی) که در جدول ۳-۳ آمده است، متانول به عنوان بهترین حلال انتخاب شده است. [۷].

جدول ۳-۳: مقدار محصول استخراج شده از ریشه رویا و میزان غلظت آلیزارین استخراجی [۷]

حلال	محصول استخراج شده (گرم بر کیلوگرم)	غلظت آلیزارین استخراجی (گرم بر مترمکعب)
اتر	0.18 ± 0.03	4.5 ± 0.3
استون	0.18 ± 0.04	4 ± 1
اتانول	0.34 ± 0.02	8.5 ± 0.6
متانول	1.5 ± 0.2	37.5 ± 0.8
آب	1.06 ± 0.08	26 ± 2

ساده‌ترین راه در استخراج، استفاده از عصاره آبی است. هرچند که تمامی رنگدانه‌ها در آب محلول نیستند، با استفاده از حلال‌های آبی می‌توان بازدهی این عصاره را افزایش داد. برای این هدف، از حلال‌های قلیایی و یا محلول آبی با دمای زیر ۶۵ درجه سانتی‌گراد تحت اکسیژناسیون مخلوط جامد - مایع استفاده شد تا آلیزارین آزاد از لوسیدین تهیه شود. ضریب بازدهی استخراج متانول 1.5 ± 0.2

است که از دیگر حلال‌ها بیشتر بود و غلظت آلزارین (C_{AE}) $0/8 \pm 37/5$ گرم بر مترمکعب است. در ادامه تحقیق مشخص شد که عصاره متانولی ریشه‌های روناس شسته‌شده با اتر، در ۲۴۰ نانومتر و آلزارین مصنوعی در متانول در ۲۶۰ نانومتر جذب ماکزیمم دارند. از حلال اتر برای استخراج آگلیکون (آلزارین آزاد) و حلال متانول برای استخراج گلیکوزیدها (آلزارین پیوندشده) و سپس از هیدرولیز اسیدی برای آزاد کردن گلیکوزیدها استفاده شد؛ در نتیجه، مقدار $0/2$ آگلیکون و $2/6$ گلیکوزید استخراج شد که مجموع آلزارین استخراج‌شده $2/8$ گرم برای یک کیلو ماده خشک بود و با انجام هیدرولیز اسیدی این مقدار به $2/9$ گرم رسید. با توجه به نتایج حاصل در مرحله استخراج، حلال انتخابی خواص زیر را تضمین می‌کند:

۱. با انتخاب حلال مناسب، بیشترین مقدار رنگینه استخراج می‌شود و راندمان بالایی خواهیم داشت؛ در عین اینکه عصاره استخراجی عاری از هرگونه واکس‌ها، مواد کلوئیدی و آلبومینی خواهد بود.
۲. به دلیل داشتن دمای جوش و گرمای تبخیر نهفته پایین، جداسازی در دمای پایین با حداقل انرژی انجام می‌شود.
۳. حداقل واکنش‌پذیری با رنگ‌زاها و رنگدانه‌ها وجود دارد؛ لذا مقدار رنگزای هدررفته کمتر است [۷].

به منظور بررسی خواص ارگانومیک و همچنین ارزش صنعتی آنها بر روی ۴ نوع روناس تحقیقاتی انجام گرفته و پتانسیل اهلی‌سازی این نمونه‌ها در مدیترانه امتحان شده و نیز ارزش آن برای یک محصول صنعتی جدید ارزیابی شده است. آلزارین در هر دو فرم قندی و غیرقندی با متانول و اتر استخراج و برای بررسی تفاوت بین مقدار محصول به دست آمده از ریشه خشک یا تر، تحلیل واریانس انجام شده، سپس داده‌ها با HPLC شناسایی شدند. محصول ریشه خشک گیاهان

برداشت‌شده در اولین فصل رشد، مقدار ۲۱ گرم برای هر گیاه بود؛ درحالی‌که برای گیاه ۳۰ ماهه، مقدار ۶ برابر و حدود ۱۲۰ گرم بود. یعنی ۸ تن برای هر هکتار محصول خشک برآورد شد. اما تفاوت درخور توجهی بین محصول گیاه اولین و سومین فصل رشد وجود نداشت؛ درحالی‌که بین ویژگی‌های توده‌های بعد از ۱۵ ماهه، تفاوت‌های بارزی وجود داشت. در تودهٔ فرانکفورت آلمانی وزن تر ۱۸۶ گرم برای هر گیاه، اما در فرانسوی ۹۲ گرم بود. محصول تجاری ارائه‌شده به‌صورت ریشهٔ خشک، از ۴۰٪ در تودهٔ فرانکفورت آلمانی تا ۲۹٪ در تودهٔ برلینی نسبت به محصول تر متفاوت بود. میانگین مقدار برای همه ۳۵٪ بود؛ یعنی محصول ریشهٔ خشک‌شده برای هر هکتار ۳۵ تن بود. در جدول ۳-۴، مقدار آلیزارین موجود در ریشه‌های روبیا تینکتروم آورده شده است [۸].

جدول ۳-۴: مقدار آلیزارین موجود در ریشه‌های روبیا تینکتروم [۸]

آلیزارین کل mg g^{-1} وزن خشک	آلیزارین پیوندی/ آزاد	آلیزارین پیوندی وزن خشک mg g^{-1}	آلیزارین آزاد mg g^{-1} وزن خشک	نژاد
۸۲۲۶	۰/۴۶	۲۵۸۸	۵۶۳۸	برلین/ آلمان ۵ ماهه
۶۸۰۸	۱/۲۱	۳۷۲۵	۳۰۸۴	برلین/ آلمان ۱۵ ماهه
۷۱۴۵	۱/۰۱	۳۵۸۷	۳۵۵۷	برلین/ آلمان ۳۰ ماهه
۶۹۵۶	۱/۹۰	۴۵۵۴	۲۴۰۲	فرانکفورت (آلمانی)
۷۱۷۶	۱/۷۵	۴۵۶۷	۲۶۰۹	برلین (آلمانی) ۱۵ ماهه
۷۹۲۷	۰/۹۷	۳۹۰۵	۴۰۲۲	پاریس (فرانسوی) ۱۵ ماهه
۶۴۸۹	۰/۷۲	۲۷۱۵	۳۷۷۴	سیانا (ایتالیا) ۱۵ ماهه

با توجه به آنچه از جدول برداشت می‌شود، مقدار آلیزارین در ریشه سالم برلینی، بعد از ۵ ماه (۸/۲ میلی گرم بر گرم ریشه خشک) به قدر کافی بیشتر از ریشه ۱۵ ماهه (۶/۸ میلی گرم بر گرم) و ریشه ۳۰ ماهه (۷/۱ میلی گرم بر گرم) بود. مقدار آنتراکینون‌های پیوندی در ریشه‌های جوان در مقایسه با ریشه‌های بالغ، بیشتر است. نتایج نشان می‌دهد که آلیزارین پیوندی هنگام بالغ شدن ریشه از ۳۱/۵٪ به ۵۰/۲٪ در ریشه ۵ و ۳۰ ماهه نسبت به کل آلیزارین افزایش می‌یابد. همچنین مقدار کلی آلیزارین از دومین فصل رشد تا سال سوم، تغییر خاصی نمی‌کند. یکی از دلایل تفاوت در مقدار آلیزارین، مربوط به تفاوت ژنتیکی است. مقدار متوسط آلیزارین در ریشه‌هایی که ۱۵ ماهه برداشت شده‌اند، از ۶/۵ میلی گرم در ریشه ایتالیایی تا ۷/۹ میلی گرم در ریشه فرانسوی متفاوت است. به نظر می‌رسد که در فرم پیوندی، مقدار آلیزارین بیشتری نسبت به فرم آزاد آن، انباشته باشد. این نسبت در نژادهای مختلف با هم فرق دارد. مقدار آلیزارین در تمام بخش‌های گیاه ۱۵ ماهه فرانکفورتی آنالیز و دیده شده است که این مقدار در قسمت کورتکس از آوندها بیشتر است.

منابع

۱. S.M. Ghoreishi, M. Golestaneh, separation Methods, Kashan University publishing, ۲۰۱۳.
۲. G.H. derksen, T. vanbeek, Rubia tinctorum. Laboratory of Organic Chemistry, Phytochemical Section, Wagening University, Dreijenplein ۸, ۶۷۰۳, HB Wageningen, The Netherlands.
۳. I. Boldizsar Z. Szucs, Zs. Füzfa, I. Molnár-Perl, Identification and quantification of the constituents of madder root by gas chromatography and high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A, ۱۱۳۳ (۲۰۰۶) ۲۵۹-۲۷۴.
۴. G.C.H. Derksen, H. A.G. Niederlander, T. A. van Beek. Analysis of anthraquinones in Rubia tinctorum L. By liquid-chromatography coupled with diode-array UV and mass spectrometric detection. Journal of Chromatography A, ۹۷۸ (۲۰۰۲) ۱۱۹-۱۲۷.
۵. G. Cuoco, C. Mathe, P. Archier, C. Vieillescazes, Characterization of madder and garancine in historic French red materials by liquid chromatography-photodiode array detection, Journal of Cultural Heritage ۱۲, ۲۰۱۱, ۹۸-۱۰.
۶. G. Cuoco, C. Mathe, P. Archier, F. Chemat, C. Vieillescazes, A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid Chromatography- photodiode array detection, Ultrasonics Sonochemistry ۱۶, ۲۰۰۹, ۷۵-۸۲.
۷. De Santis, M. Moresi, Production of alizarin extracts from Rubia tinctorum and assessment of their dyeing properties, Industrial Crops and Products ۲۶, ۲۰۰۷, ۱۵۱-۱۶۲.
۸. L. G. Angelini, L. Pistelli, P. Belloni, A. Bertoli, S. Panconesi, Rubia tinctorum a source of natural dyes: agronomic evaluation quantitative analysis of alizarin and industrial assays, Industrial Crops and Products ۶, ۱۹۹۷, ۳۰۳-۳۱۱.

فصل چهارم

شناسایی آنتراکینون‌ها

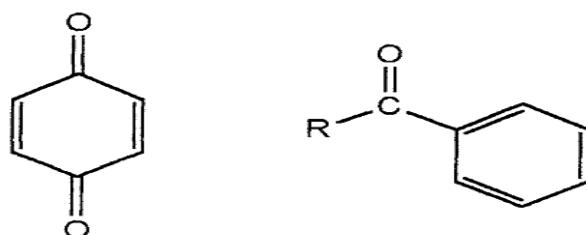
آنتراکینون‌های موجود در روبیا، در ماهیت استخلاف‌ها و موقعیت استخلافی با هم اختلاف دارند. این استخلاف‌ها فقط در گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی کربن‌های ۱ و ۲ و ۳ و ۴ هستند. ترکیب اصلی (۹ و ۱۰-آنتراکینون) می‌تواند توسط عصارة پودر روی یا مذاب پودر روی شناسایی شود. با استفاده از واکنش‌های انتخابی، می‌توان گروه‌های هیدروکسیل را در موقعیت‌های مختلف با گروه‌های دیگر استخلاف نمود. گروه‌های هیدروکسیل در موقعیت ۲ به آسانی با دی آزومتان متیله می‌شوند. گروه‌های دنداندار شده ۱-هیدروکسیل در برابر بسیاری از مواد شیمیایی مقاوم‌اند؛ اما تحت تأثیر مخلوط‌هایی از متیل یدید/اکسید نقره/کلروفرم یا متیل سولفات/کربنات پتاسیم/استون قرار می‌گیرند. در این فصل، روش‌های مختلف شناسایی آنتراکینون‌ها در روناس نوع روبیا تینکتروم، به‌طور خلاصه توضیح داده می‌شوند [۱].

۱.۴. طیف‌سنجی با اشعه مادون قرمز و نور مرئی^۱

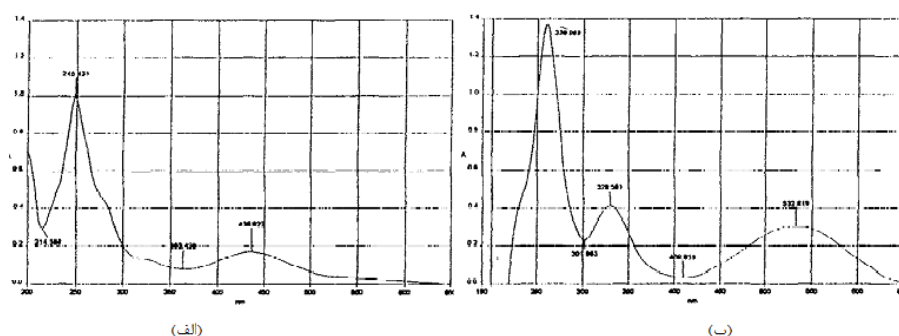
طیف‌سنجی با کمک اشعه مادون قرمز و نور مرئی یک روش بسیار متداول برای شناسایی آنتراکینون‌هاست. در این روش، طیف‌های جذبی، ترکیبی از جذب کروموفورهای استوفنون و بنزوکینون است (شکل ۴-۱). جذب قوی بین

^۱. Ultraviolet and Visible Light Spectroscopy

۲۲۰ تا ۲۳۰ نانومتر به پیوندهای برانگیختگی موضعی^۱ حلقه‌های بنزوئیدی کروموفور استوفنون مربوط است. جذب در نواحی بین ۲۵۲ تا ۲۵۸ نانومتر به سبب پیوندهای انتقال الکترونی^۲ است که در حالت استخلاف حلقه‌های کروموفور استوفنون اورتو یا متا در محدوده ۲۴۰ تا ۲۷۰ نانومتر دیده می‌شود. حلقه بنزوئید و یک عامل کتونی مسئول ایجاد پیوند انتقال الکترونی هستند. جذب در نواحی بین ۲۶۵ تا ۲۸۰ و ۲۸۵ تا ۲۹۰ نانومتر، ناشی از پیوند انتقال الکترونی کروموفور بنزوکینونی است. جذب در نواحی ۴۳۰ تا ۴۳۷ نانومتر ناشی از پیوندهای برانگیختگی موضعی گروه‌های کربونیل از حلقه کینون است. شکل ۴-۲ طیف اشعه ماوراءبنفش- مرئی آلزارین حل شده در متانول و مخلوط متانول/ هیدروکسید پتاسیم را نشان می‌دهد [۱].



شکل ۴-۱: ساختار بنزوکینون و استوفنون [۱]

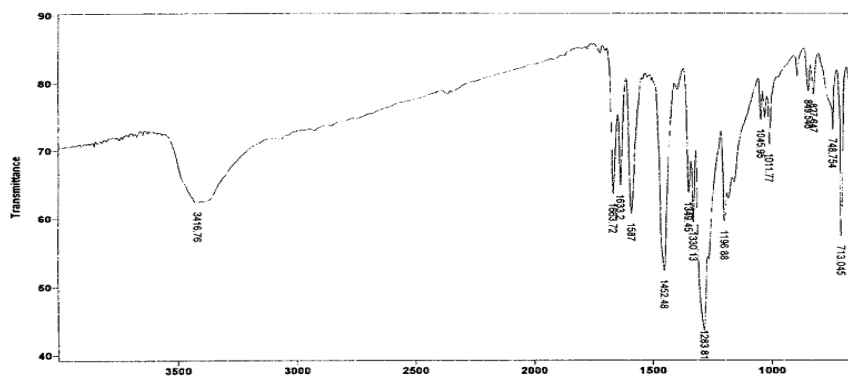


-
۱. Local Excitation Bond
۲. Electron Transfer Bond

شکل ۴-۲: طیف اشعه ماوراءبنفش- مرئی آلیزارین حل شده در متانول (الف) و مخلوط متانول / هیدروکسید پتاسیم (ب) [۱]

۲.۴ طیف‌سنجی مادون قرمز

آنتراکینون‌ها در حلال‌های مورد استفاده مادون قرمز، حلالیت کمی دارند و در عمل، اکثراً طیف‌سنجی در دیسک (قرص) برمید پتاسیم انجام می‌شود. طیف IR، ترکیب ۹ و ۱۰ آنتراکینون، با توجه به ویژگی متقارن آن، فقط یک جذب کربونیلی در ناحیه 1678 cm^{-1} نشان می‌دهد. جذب IR گروه کربونیل با انجام استخلاف در هر دو حلقه A و C تغییر می‌کند. متداول‌ترین استخلاف‌ها عبارت‌اند از: آلکیل، هیدروکسیل و آلکوکسیل. گروه ۱- هیدروکسیل، فرکانس گروه کربونیل مجاور را خیلی بیشتر از فرکانس کربونیل دیگر که به پیوند هیدروژنی بین ۱- هیدروکسیل و گروه کربونیل مجاور مربوط است، کاهش می‌دهد؛ بنابراین این طیف، دو پیوند کربونیلی را نشان می‌دهد. آنتراکینونی که گروه ۱- هیدروکسیل ندارد، فقط یک پیک کربونیلی را نشان می‌دهد و موقعیت آن به سبب استخلاف در کربن شماره دو (۲-C) یا کربن شماره سه، اندکی به اعداد موجی پایین‌تر انتقال می‌یابد. باند جذبی فرکانس کششی گروه هیدروکسی در ناحیه 3320 cm^{-1} تا 3380 cm^{-1} اتفاق می‌افتد. طیف IR آلیزارین در پتاسیم برمید در شکل ۴-۳ نشان داده شده است [۱].



شکل ۴-۳: طیف مادون قرمز آلیزارین در پتاسیم برمید [۱]

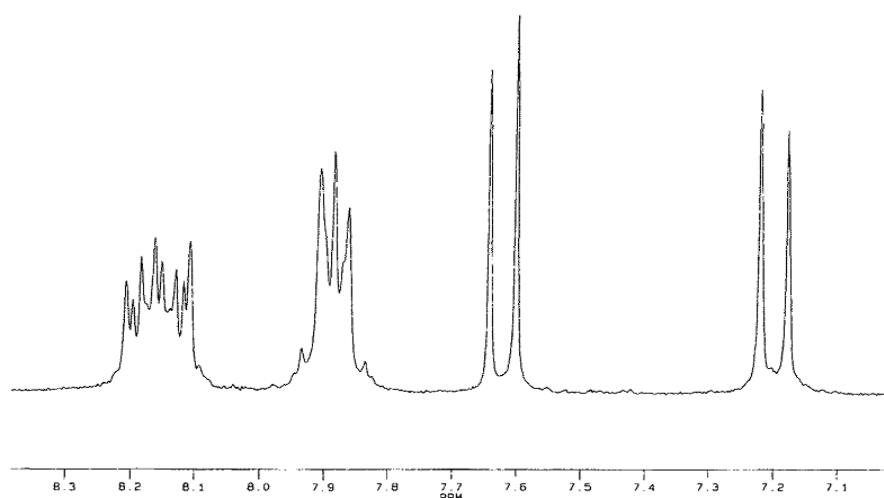
۳.۴. طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ای^۱

این طیف که ابزاری ضروری برای توضیح ساختار آنتراکینون‌هاست، سبب شناسایی ماهیت و تعداد استخلاف می‌شود؛ زیرا استخلاف سبب می‌شود تا شیفت شیمیایی اتفاق بیفتد. موقعیت‌های استخلافی روی حلقه A را می‌توان از پیک‌هایی شناسایی کرد که در مناطق بین ۷ تا ۸/۵ ppm دیده می‌شود. از آنجاکه دو گروه کربونیل در مولکول، اثر واپوشیدگی نسبتاً محکمی روی استخلافات در موقعیت یک اعمال می‌کند، می‌تواند کمک خوبی برای تشخیص موقعیت استخلاف باشد. اثر واپوشیدگی پیوند هیدروژن با گروه کربونیل (اثر کشندگی الکترون توسط گروه کربونیل)، برای تشخیص گروه هیدروکسیل آزاد و هیدروکسیل در موقعیت ۱، مؤثر است. هیدروژن‌ها در موقعیت‌های کربن ۱ و ۴ بیشتر از آن‌هایی که در موقعیت‌های ۲ و ۳ هستند، تحت تأثیر اثر واپوشیدگی گروه کربونیل قرار دارند؛ بدین سبب، پیک‌هایی در میدان‌های بالاتر را نشان می‌دهند. اولی بین ۱۲ تا ۱۳ ppm و دومی در ۱۰ ppm پیک دارد که ناشی از تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه هیدروکسی در موقعیت یک با اکسیژن گروه کربونیل است. در استخلاف با گروه‌های متوکسی نیز

^۱. Nuclear Magnetic Resonance Spectra

۸۷ شناسایی آنتراکینون‌ها

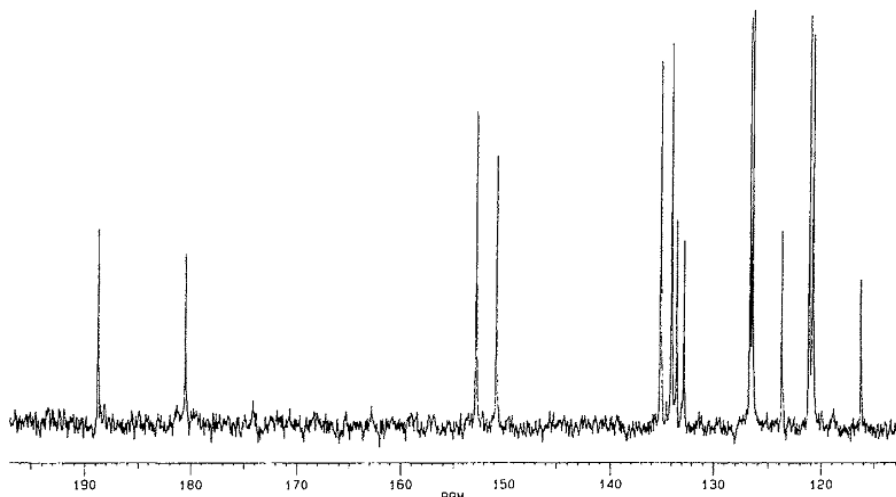
همین رفتار را از آنتراکینون می‌توان دید؛ به‌طوری‌که در موقعیت‌های ۱ و ۴ در ppm ۴/۰۵ و در موقعیت‌های ۲ و ۳ در ppm ۳/۹ پیک دارد. حلال‌های مورد استفاده در این سنجش، طیفی (CDCl₃, DMSO-d₆, CD₃OD) هستند. بهترین حلال برای آنالیز آنتراکینون‌ها و به‌خصوص گلیکوزیدها، DMSO-d₆ است. طیف H-NMR آلیزارین در حلال DMSO-d₆ در شکل ۴-۴ نشان داده شده است [۱].



شکل ۴-۴: طیف H-NMR آلیزارین در حلال DMSO-d₆ [۱]

برای ۱- هیدروکسی آنتراکینون‌ها اثر واپوشیدگی در کربن شماره ۹ (ppm ۵) به‌سبب وجود پیوند هیدروژنی بین مولکولی قوی بین هیدروکسیل و اکسیژن در کربونیل، قوی‌تر از کربن شماره ۱۰ (ppm ۱) است که در نتیجه اثر پیوند گشتاور دوقطبی ایجاد شده توسط پیوند هیدروژنی درون مولکولی، ایجاد می‌شود. اثر واپوشیدگی در ۱- هیدروکسی آنتراکینون‌ها از ۲- هیدروکسی آنتراکینون‌ها (ppm ۱/۵) بیشتر است. این اتفاق ممکن است به دلیل انتقال چگالی الکترونی توسط پیوستگی متقابل بین کربن‌های شماره ۲ و ۱۰ باشد. اثر واپوشیدگی کم در کربن شماره ۹ (ppm ۰/۷) با ساختار آنتراکینونی ۱-OCH₃ و در کربن موقعیت

شماره ۱۰ (ppm^۳) با ساختار آنتراکینونی ۲-OCH_۳ را نیز انتقال چگالی الکترونی توسط پیوستگی متقابل توضیح می‌دهد. طیف C-NMR آلزارین در حلال دی متیل سولفوکسید در شکل ۴-۵ نشان داده شده است [۱].



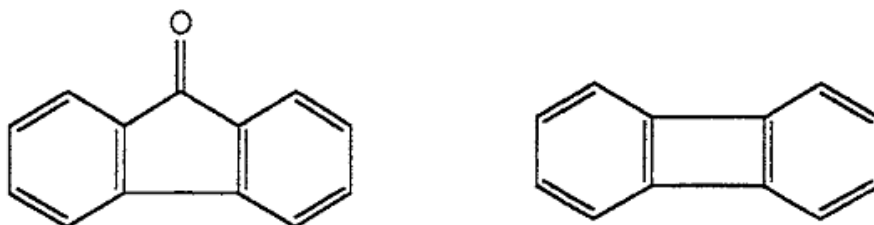
شکل ۴-۵: طیف C-NMR آلزارین در حلال دی متیل سولفوکسید [۱]

۴.۴. طیف‌سنجی جرمی^۱

برای آگلیکون‌ها، بلندترین پیک همیشه مربوط به بیشترین فراوانی است. در اینجا پیک در ۲۴۰ نانومتر ظاهر شده که مربوط به آلزارین با عدد جرمی m/z ۲۴۰ است. طیف جرمی ۱۰۹ و ۱۰۰ آنتراکینون، با حذف پی‌درپی دو مولکول مونوکسیدکربن با پیک‌های قوی با ازدست‌دادن فقط یک مونوکسیدکربن ($M-CO$)، مقدار m/z ۱۸۰ و با ازدست‌دادن دو مونوکسیدکربن ($M-2CO$)، مقدار m/z ۱۵۲ نشان می‌دهد. این مقادیر به ترتیب با یون‌های مولکولی فلئورنون و بی‌فنیلین که در شکل ۴-۶ آمده‌اند، مطابقت دارند. در ترکیب ۲- هیدروکسی آنتراکینون، پیک‌های $M-CO$ و $M-OH$ قوی‌تری از ۱- هیدروکسی آنتراکینون دیده می‌شوند. طیف هر دو هیدروکسی

^۱. Mass Spectroscopy

آنتراکینونی با ازدست‌دادن سه مولکول مونوکسیدکربن (سومین مولکول مونوکسیدکربن ازدست‌رفته ناشی از گروه فنولی)، در m/z ۱۴۰ پیک دارند. دی هیدروکسی آنتراکینون‌ها رفتارهای مشابهی دارند و با موقعیتی که ۴ مونوکسیدکربن از دست داده ($M-4Co^+$)، یک پیک را در m/z ۱۲۸ نشان می‌دهند. گروه $1-OCH_3$ به دلیل وجود هیدروکسیل آزاد واقع در کربن شماره ۲ موجب پیک‌های $[M-OH]^+$ و $[M-H_2O]^+$ می‌شود که در مشتقات $2-OCH_3$ دیده نمی‌شود. دلیل آن را اثر الکترون‌کشندگی گروه کربونیل بر گروه هیدروکسیل واقع در کربن موقعیت یک توضیح می‌دهد [۱].



شکل ۴-۶: فلئورنون و بی‌فیلین [۱]

۵.۴. تأثیر پیوندهای درون‌مولکولی کتوفنولی و دی فنولی بر روی خواص

کروماتوگرافی و اسپکترومتری هیدروکسی آنتراکینون‌ها

آنتراکینون برای محافظت خودشان در مقابل قارچ‌ها در خاک، در ریشه گیاهان زیادی مثل ریواس، روناس و آلوئه بیوسنتز می‌شوند. آنتراکینون‌ها نمی‌توانند به‌طور مستقیم با الیاف پیوند بدهند. این کار توسط دندان‌ها که نمک‌های مختلف فلزی هستند (و مهم‌ترینشان آلومینیوم است)، انجام می‌شود. نقش اصلی دندان‌ها، سازمان‌دهی آرایش فضایی ساختار جهت تثبیت کمپلکس رنگی است. در یک تحقیق به منظور بررسی تأثیر پیوندهای درون‌مولکولی کتوفنولیک و دی فنولیک، نقش غیرمستقیم پیوند هیدروژنی در تغییر خواص نوری کمپلکس‌های

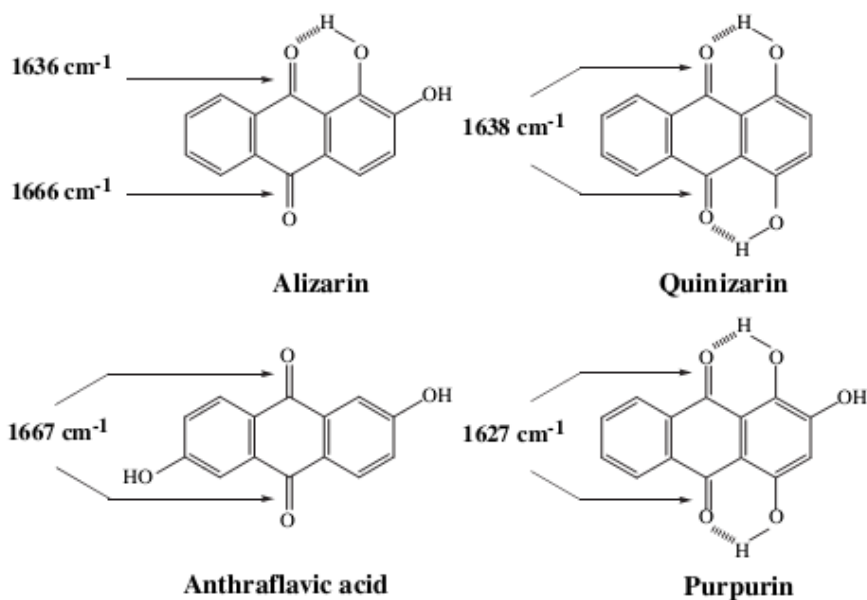
کتوردیناسیون بین نمک‌های فلزی و دی هیدروآنتراکینون‌ها را توضیح داده شده است. این تغییرات به تشکیل پیوندهای درون مولکولی از طریق نمک‌های فلزی نسبت داده می‌شوند. طیف‌سنجی FT-IR تکنولوژی مناسبی برای شناسایی مشخصات گروه‌های عاملی و محیط شیمیایی آن‌هاست. همچنین به بررسی واکنش‌های مخصوصی مثل پیوند هیدروژنی درون مولکولی نیز کمک می‌کند. با روش FT-IR برای آنترافلایک اسید و کوپنیزارین و پورپورین تنها یک پیوند هیدروژنی مشخص شد؛ درحالی‌که برای آلیزارین دو پیوند جذبی مشخص شد. این پدیده از تشکیل پیوند بین مولکولی بین اکسیژن در گروه کربونیل و هیدروژن گروه هیدروکسیل استخلاف‌شده در کربن موقعیت‌های ۴ و ۱ به‌وجود می‌آید. این موضوع دلیل وجود دو پیوند جذبی برای آلیزارین و یک پیوند برای سایر ساختارها را توجیه می‌کند. این پدیده در مورد شکاف گروه کربونیل بین کوپنیزارین و پورپورین صادق نیست و دلیل آن تغییر در توزیع چگالی الکترونیکی استخلاف گروه هیدروکسیل سیستم آروماتیک است. ارتعاش کششی گروه کربونیل به‌سبب تغییر در نیروی پیوندی که به‌علت نبودن استقرار الکترونیکی ایجاد شده، به فرکانس‌های ضعیف‌تر منتقل می‌شود. در تحقیقات قبلی ثابت شده که این ارتعاش در آنتراکینون‌ها با استخلاف مشتقات آمینو کاهش می‌یابد؛ زیرا آمینو سبب به‌وجود نیامدن استقرار الکترونیکی می‌شود.

تحقیقات کامپیوتری وجود پیوندهای هیدروژنی کتوفنولی بین هیدروژن در هیدروکسیل کربن موقعیت‌های ۴ و ۱ و اکسیژن در کربن موقعیت‌های ۹ و ۱۰ را تأیید کردند؛ در نتیجه، تشکیل برهم‌کنش‌های دی فنولیکی بین هیدروژن در هیدروکسیل کربن موقعیت ۲ و اکسیژن در هیدروکسیل کربن شماره ۱ را توضیح می‌دهد. افزایش ۰/۱۲ آنگستروم در طول پیوند هیدروژنی، عامل هیدروکسیل با گروه کربونیل در

آنتراکینون‌های آلیزارین و پورپورین عاملی مناسب در تعیین واکنش‌های کتوفنولی در آن‌ها است که با اسپکتروسکوپی FT-IR نیز مشخص شده‌اند.

تشکیل پیوندهای کتوفنولی و دی فنولیکی باعث افزایش در استحکام، مسطح‌بودن و عدم استقرار الکترونیکی این سیستم‌های رنگی و نیز سبب بروز نتایج جالبی در خواص فیزیکی - شیمیایی آن‌ها می‌شود. با توجه به اینکه کوینیزارین و پورپورین و آنترافلاویک اسید با هم در موقعیت گروه‌های هیدروکسیل تفاوت دارند و تعداد گروه‌های قطبی در کروماتوگرافی تعیین‌کننده است و وجود پیوندهای بین‌مولکولی با وجود گروه قطبی آزاد ارتباط دارد، از طریق روش زمان احتباس، ترتیب جدا شدن رنگینه‌ها بدین‌صورت است که آنترافلاویک اسید با زمان احتباس ۱۰/۹ دقیقه و با داشتن ۴ گروه قطبی آزاد، اولین ترکیبی است که در ستون کروماتوگرافی شسته می‌شود. دومین جداشونده آلیزارین با زمان احتباس ۲۳/۸ دقیقه و با یک گروه قطبی آزاد و آخری کوینیزارین با زمان احتباس ۳۴/۱ دقیقه است که گروه قطبی آزاد ندارد. پیوندهای بین‌مولکولی نه تنها در کروماتوگرافی بلکه در خواص اسپکتروسکوپی هم تأثیر دارد. اسید آنترافلاویک که پیوند هیدروژنی تشکیل نمی‌دهد، در ناحیه مرئی جذب ندارد و تنها در طول موج ۳۲۸ نانومتر دارای جذب است. آلیزارین و کوینیزارین که هریک دو پیوند هیدروژنی دارند، به ترتیب در ۴۷۶ و ۴۲۶ نانومتر جذب دارند. مشاهده طیف ماوراءبنفش- مرئی کوینیزارین نشان می‌دهد که این ترکیب با داشتن دو پیوند کتوفنولیکی نسبت به آلیزارین که یک پیوند کتوفنولیکی و یک دی فنولیکی دارد، در طول موج بالاتری جذب دارد و این شیفت باتوکرومیک به انتقال شارژ درون‌مولکولی کتوفنولیکی از گروه‌های هیدروکسی به گروه کربونیل مربوط می‌شود. با وجود اینکه همه ترکیبات آنتراکینونی خاصیت فلئورسانس دارند، در این میان تنها پورپورین و کوینیزارین در این آزمایش، در طول موج‌های ۴۶۷ و ۵۶۱ خاصیت فلئورسانس نشان داده‌اند. شکل

۷-۴ تشکیل پنج چرخه ۶ عنصری که ناشی از تشکیل دو پیوند هیدروژنی کتوفنولیکی است، فلئورسانس بودن پورپورین و کوینیزارین را توضیح می‌دهد. به علاوه، درک بهتری از اسپکتروسکوپی نیز می‌دهد. تشکیل هردو حلقه کتوفنولیکی و دی فنولیکی، احتباس کروماتوگرافی هیدروکسی آنتراکینون‌ها را در فاز ثابت قطبی که توسط گروه‌های قطبی منحصر شده، در ساختمان‌شان تعیین می‌کنند [۲].



شکل ۷-۴: تشکیل چرخه ۶ عنصری که موجب تشکیل پیوند هیدروژنی کتوفنولی می‌شود [۲].

۶.۴. شناسایی آنتراکینون‌های موجود بر روی منسوجات رنگری شده

با روناس

با اینکه سالهاست از روناس به عنوان رنگزا در رنگری منسوجات مثل پارچه و فرش استفاده می‌شود اما اطلاعات استفاده کنندگان در مورد ترکیبات این گیاه

چندان زیاد نیست. گرچه گونه‌های بسیاری از این گیاه شناخته شده است اما تعداد کمی از آنها بطور گسترده در رنگرزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر این هرچند تعداد آنتراکینون شناسایی شده به بیش از ۷۰ عدد می‌رسد اما فقط تعداد کمی از آنها بهره‌وری بالایی دارند. بدین ترتیب دانستن اطلاعاتی در زمینه ترکیبات رنگزای گیاه برای ایجاد محل تولید، روش تولید و یا حتی تاریخ جسم رنگرزی شده با آن بسیار مفید است.

در تحقیقی به کمک روش‌های HPLC با DAD و اسپکتروفتومتری جرمی، به شناسایی آنتراکینون‌های مختلف در انواع گونه‌های روناس که برای رنگرزی منسوجات مورد بررسی استفاده شده‌اند، پرداخته شده است. تمامی الیاف رنگرزی شده با انواع مختلف روناس حاوی ترکیب پورپورین بودند اما فقط الیافی که با روبیا آکانه رنگرزی شده‌اند، حاوی مقدار زیادی از ترکیبی به نام ۶-هیدروکسی رویادین (۱ و ۳ و ۶-تری هیدروکسی-۲-متیل آنتراکینون) یا گلیکوزید آن است. منسوجات رنگرزی شده با روبیا تینکتروم عمدتاً حاوی الیزارین بودند در حالی که منسوجات رنگرزی شده با روبیا کوریفولیا و روبیا پرگرینا عمدتاً حاوی پورپورین، مانجستین و پزدوپورپورین و میزان کمی آلیزارین و یا بدون آلیزارین و یا ۶-هیدروکسی رویادین بوده‌اند. با این حال، گونه‌های کوردیفولیا و پرگرینا بطور مطمئن از هم قابل تشخیص نیستند. گیاهانی که دارای پیش سازهای گلیکوزیدی هستند اغلب خودشان در مواد رنگرزی شده دیده نمی‌شوند [۳]. عصاره منسوجات رنگرزی شده با روبیا تینکتروم از طریق حضور قله بزرگ آلیزارین و قله کوچکتر پورپورین (یا گاهی خصوصاً با نبود پورپورین) شناسایی می‌شود. با این حال، مشخص شده است که ریشه روبیا تینکتروم حاوی پیش ساز آلیزارین، اسید روبریتریک (پریم اوروزاید آلیزارین) و همچنین پریم اوروزاید لوسیدین است که در ۴۵۰ نانومتر با جرم‌های ۵۳۴ Da و ۵۶۴ Da به ترتیب مشخص شده‌اند. این قله-

ها عموماً از طریق آنزیم‌های درونی قبل یا در حین فرایند رنگرزی به ترتیب به آلزارین و لوسیدین تبدیل می‌شوند. هرچند گاهی اوقات این پریم اوروزایدها در منسوج رنگرزی شده دیده می‌شوند باید گفت این موضوع ظاهراً به نحوه فراوری ریشه روناس بستگی دارد [۳]. در مورد حضور پورپورین اطلاعات زیادی در دست نیست بجز اینکه این ترکیب از کربوکسیل زدایی پزدوپورپورین حاصل می‌شود. ریشه‌های گرما دیده روناس به نظر می‌رسد که حاوی همان پیش ساز پزدوپورپورین، گالیوزین باشد.

لوسیدین ترکیبی غیرمعمولی است که در منسوجات رنگرزی شده این مطالعه دیده نشده است و از آنجایی که خاصیت جهش زایی دارد، تصور می‌شود که به ترکیبی جهش زا تبدیل بشود. لوسیدین به طور معمول جز در مواد گیاهی که به صورت گلیکوزیدی یافت می‌شود، دیده نمی‌شود چون آنزیم‌های درونی آن را به مواد دیگری تبدیل می‌کنند.

در بررسی ترکیب لوسیدین موجود در ریشه روناس دیده شده که این ترکیب در ریشه‌هایی که کوبیده می‌شوند ظاهر می‌شود.

با این حال، اگر عصاره پریم اوروزاید لوسیدین با اسید کلریدریک که باعث هیدرولیز گلیکوزیدها و آنزیم‌های غیر فعال می‌شود، عمل آوری شود، لوسیدین یک قله با جرم 270 Da پس از آلزارین جدا شده و استخراج می‌شود [۳].

اینکه در حمام رنگرزی برای لوسیدین چه اتفاقی می‌افتد مشخص نیست. محققان حدس می‌زنند که لوسیدین در حضور اکسیژن از طریق آنزیم‌های درونی به نوردامناکانتال اکسید می‌شود. از طرف دیگر برخی دیگر نشان داده اند که لوسیدین می‌تواند بطور آنزیمی به متاید کینون^۱ تبدیل بشود که گونه‌ای شناخته

^۱. Quinone methide

شده به عنوان عامل آلکیل کننده قدرتمند برای نوکلئوفیل‌هایی مثل DNA است [۳]. قابل ذکر است که تنها یافته اصلی از این مطالعه روش تشخیص آسان سه نوع روبیا با نام‌های آکانه، تینکتروم و کوریفولیا است که به ترتیب فقط حاوی ترکیبات ۶-هیدروکسی روبیادین، آلیزارین و پورپورین هستند. محققان ذکر کرده اند که نتوانسته اند نشانه قابل اعتمادی برای تشخیص پرگرینا از کوریفولیا ارائه دهند زیرا روبیادین در انواع روناس با مقادیر مختلف وجود دارد و نمی‌تواند وجه مشخصی برای پرگرینا باشد [۳].

منابع

١. G.H. derksen, T. vanbeek, *Rubia tinctorum*. Laboratory of Organic Chemistry, Phytochemical Section, Wagening University, Dreijenplein ٨, ٦٧٠٣, HB Wageningen, The Netherlands.
٢. M. Hovaneissian, P. Archier, C. Vieillescazes. Influence of cetophenolic and diphenolic intramolecular hydrogen bonding on the chromatographic and spectroscopic properties of hydroxyanthraquinones. *Dyes and Pigments* ٧٤, ٢٠٠٧, ٧٠٦-٧١٢.
٣. Chika Mouri, Richard Laursen, Identification of anthraquinone markers for distinguishing *Rubia* species in madder-dyed textiles by HPLC, *Microchim Acta* (٢٠١٢) ١٧٩:١٠٥-١١٣.

فصل پنجم

سنتز

۱.۵. سنتز آلیزارین

در ۱۸۶۸ میلادی، گریب^۱ و لیبرمن^۲ نشان دادند که آلیزارین می‌تواند با کمک تقطیر روی، به آنتراسن تبدیل شود. در آن زمان، ساختار آلیزارین معلوم نبود و آن‌ها ساختار ۱ و ۲-دی هیدروکسی آنتراکینون را پیشنهاد دادند و در همان سال با سنتز آلیزارین، این ساختار را تأیید کردند. در عملیات با قلیایی، دو اتم هالوژن می‌تواند با گروه‌های هیدروکسیل جایگزین شود و یک دی برم آنتراکینون^۳ را ایجاد کنند. این اولین سنتز کلی یک رنگدانه طبیعی بود و با توجه به هزینه برم، این مسیر از لحاظ اقتصادی به صرفه نبود. تقریباً در همان زمان، گریب و لیبرمن و کارو^۴ در آلمان و پرکین در انگلستان به مسیر مشابهی برای سنتز آلیزارین دست یافتند. گریب و همکارانش این واکنش را به نام خود ثبت کردند. این مسیر در شکل ۵-۱ نمایش داده شده است. آن‌ها سولفوناسیون^۵ آنتراکینون را به ۲-آنتراکینون سولفونیک اسید^۶ معرفی کردند که بعد به آلیزارین تبدیل می‌شود. در جانشینی نوکلئوفیلی یک یون هیدروکسیل، جایگزین یک یون هیدرید می‌شود. این روش توسط کخ^۷ براساس سولفون دار کردن آنتراکینون با اولئوم^۸ توسعه یافت.

۱. Graebe

۲. Liebermann

۳. Dibromoanthraquinone

۴. Caro

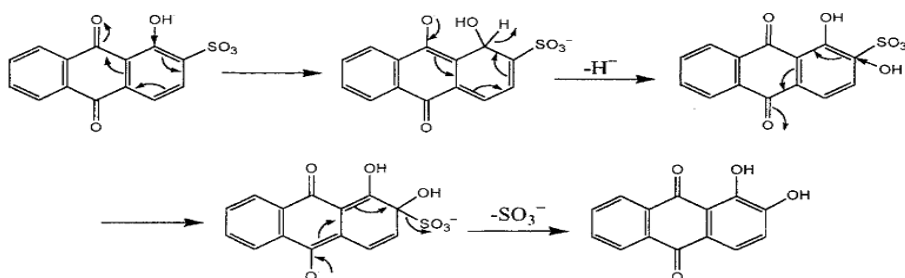
۵. Sulphonation

۶. ۲-Anthraquinone sulphonic acid

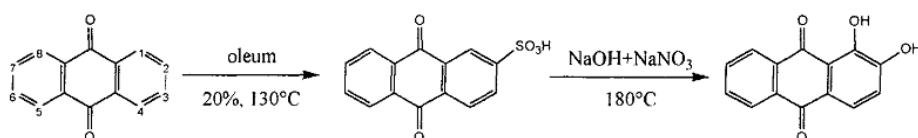
۷. Koch

۸. Oleum

امروزه نیز با یک ذوب قلیایی با افزودن یک عامل اکسیدکننده ادامه می‌یابد. فرایند این سنتز در شکل ۹ آورده شده است [۱].



شکل ۵-۱: مسیر معرفی شده توسط گریب و لیبرمن در سنتز آلزارین [۱]



شکل ۵-۲: سنتز آلزارین با استفاده از سولفون دار کردن آنتراکینون با اولئوم به همراه یک

همجوشی قلیایی [۱]

در طول زمانی که قلیایی ذوب می‌شود، جهت سنتز آلزارین بسیار خالص، باید با ۲- آنتراکینون سولفونیک اسید شروع کرد. این هدف زمانی کسب می‌شود که شرایط واکنش و غلظت آلئوم طوری انتخاب شود تا فقط ۴۰ درصد آنتراکینون، سولفوناته شود. پس از آن، آنتراکینون سولفونیک اسیدهای تشکیل شده، تقریباً ۸۵٪ ایزومر مورد نظر است. بقیه اسیدهای سولفونیک متشکل از ۱- آنتراکینون سولفونیک اسید و تقریباً ۱۵٪ ۲ و ۶ و ۷ - اسیدهای دی سولفونیک هستند. این نتایج می‌توانند با ۲۰٪ اولئوم، در دمای واکنش ۱۳۰ درجه و ۴ ساعت زمان واکنش و نسبت وزنی SO_3 به آنتراکینون ۱:۱ به دست آیند. با این روش، احتمال زیادی وجود دارد که محصول ۲ - سولفونیک اسید باشد. پس از واکنش، محلول با ۸۰٪

اسید سولفوریک رقیق می‌شود تا اینکه اولئوم باقی‌مانده به ۹۰٪ اسیدسولفوریک تبدیل بشود. تحت این شرایط، رسوبات آنتراکینون که واکنش نداده‌اند، بعد از فیلتراسیون، شسته و خنثی‌سازی و خشک می‌شوند. در مرحله بعدی، محلول فیلترشده با ۴۰٪ اسیدسولفوریک رقیق می‌شود و نمک کلریدسديم اضافه می‌شود تا نمک سدیم ۲- آنتراکینون سولفونیک اسید رسوب کند. بقیه سولفونیک‌اسیدها در محلول باقی می‌مانند. نمک با افزودن قليا و نیترات سدیم به نمک سدیم آلزارین در اتوکلاو^۱ در ۱۸۰ درجه تبدیل می‌شود. این واکنش ۷ ساعت طول می‌کشد و راندمان محصول ۹۵٪ است. بعد از رقیق‌سازی با آب، آلزارین از محلول واکنش به‌وسیله اسیددار کردن و فیلتراسیون جدا می‌شود. رسوب آن‌قدر شسته می‌شود تا از اسیدها پاک شود. سپس با ۲۰٪ آب مخلوط می‌شود تا به شکل خمیر درآید و بدین ترتیب برای رنگری استفاده می‌شود. این محلول به‌عنوان آلزارین BB ۲۰٪ (F.B.A.S.) یا آلزارین (ICI) B₂ عرضه می‌شود. آلزارین به‌وسیله این کمپانی‌ها به هیچ صورت دیگری فروخته نمی‌شود.

اگر مرحله سولفوناسیون به طول بینجامد، تمام آنتراکینون‌ها تقریباً به ۶۲ و ۷۲ - آنتراکینون اسیدهای دی سولفونیک تبدیل خواهد شد. پس از رقیق‌سازی مخلوط این واکنش به ۴۰٪ اسیدسولفوریک با اشباع‌سازی محلول به‌وسیله نمک‌ها، ترکیبات رسوب می‌کنند. بعد از هم‌جوشی با قليا مخلوط ۶۲ و ۱ یا ۷۲ و ۱ - تری هیدروکسی آنتراکینون‌ها به‌دست می‌آید که منجر به تولید رنگ قرمز مایل به زرد بر روی منسوجاتی می‌شود که به دندانۀ آلومینیوم آغشته شده است [۱].

۱. Autoclave

۲.۵. بیوسنتز

لستنر^۱ در آلمان و برنت^۲ در بریتانیای بزرگ، کارهای زیادی بر روی بیوسنتز آنتراکینون انجام دادند. دو مسیر مختلف برای بیوسنتز آنتراکینون‌ها در گیاهان وجود دارد:

۱. پلی‌کتید^۳ (پلی‌کتیدها از طریق تراکم کربوکسیل‌زدایی واحدهای ممتد مشتق از کوآنزیم مالونیل در فرایندهای شبیه به سنتز اسید چرب بیوسنتز می‌شوند).

۲. شیکیمیت^۴ (اسید شیکیمیت بخش گلیکوزیدی برخی از تانن‌های هیدرولیزشونده است).

آنتراکینون‌های سنتز شده با روش اول در دو حلقه A و C جانشین می‌شوند. ایمودین^۵ و کریسوفانول^۶ از این دسته‌اند. این آنتراکینون‌ها در ریهاناسیا^۷ (تیره عنب) و پلیگوناسیا^۸ (تیره گندم‌سیاه) و لگومینوسا^۹ (تیره پروانه‌سانان) یافت می‌شوند. آنتراکینون‌های تشکیل شده با روش دوم با یک تعویض فقط در یک حلقه مشخص می‌شوند. این آنتراکینون‌ها مثل آلیزارین در خانواده روبیاسیا مثل روبیا تینکتروم یافت می‌شوند. حلقه A و یکی از گروه‌های کربونیل آنتراکینون‌ها از اسید شیکیمیک^{۱۰} مشتق می‌شوند. گروه دیگر کربونیل و باقی‌مانده حلقه B از آ-کتوگلوکوتورات^{۱۱} مشتق می‌شوند که از گلوتامات منشأ می‌گیرد.

۱. Leistner

۲. Burnett

۳. Polyketide

۴. Shikimate

۵. Emodin

۶. Chrysophanol

۷. Rhamnaceae

۸. Polygonaceae

۹. Leguminosae

۱۰. Shikimic acid

۱۱. A-ketoglutarate

آنتراکینون‌ها به‌طور عمده در روبیا تینکتروم به‌صورت گلوکزیدی وجود دارند. محصولات ثانویه گلوکزیده با آگلیکون‌های آزاد از دو جهت تفاوت دارند: آن‌ها سبب افزایش حلالیت آب و کاهش واکنش شیمیایی می‌شوند. به‌دلیل حلالیت بهتر آب، گلوکزیدها در واکوئل گیاه ذخیره می‌شوند. گلوکزیدها نسبت به ترکیبات سلول، واکنش کمتری دارند و این شاید دلیل این باشد که چرا ترکیبات گلوکزیده نسبت به آگلیکون‌های آزاد متراکم‌ترند. پژوهش‌ها دربارهٔ بیوسنتز آنتراکینون‌ها اکثراً روی آگلیکون متمرکزند. پژوهش کوچکی روی واکنش‌های اصلاحی روی بخش آگلیکون روی گلیکوزیلاسیون و ذخیره‌سازی گلیکوزیدهای آنتراکینونی در روبیا تینکتروم انجام شده است [۱].

۳.۵. کشت سلولی

از اواخر دهه ۱۹۶۰ میلادی، کشت‌های سوسپانسیون سلولی و کالوس^۱ گیاهان تولیدکنندهٔ آنتراکینون انجام شده و با توجه به کیفیت، کمیت و روش‌های بیوسنتز بررسی‌هایی صورت گرفته است. ترکیبات آنتراکینونی به‌دست‌آمده با این روش‌ها با آنچه از گیاهان معمولی (گیاهی که کشت سلولی روی آن انجام نگرفته است) به‌دست می‌آید، کمابیش فرق دارد. این ترکیبات جدید قبلاً در گیاه معمولی دیده نشده‌اند؛ بنابراین، با استفاده از این روش‌ها فرصتی جدید برای تولید موادی به‌دست می‌آید که به‌طور معمول از گیاهان معمولی به‌دست نمی‌آیند [۲].

کشت سلولی در تعیین مسیر بیوسنتز اهمیت زیادی دارد. بیوسنتز آنتراکینون‌ها می‌تواند توسط عوامل محیطی و فیزیولوژیکی تحت تأثیر قرار بگیرد. تشکیل محیط با حضور تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه آثار عمده‌ای بر روی سنتز آنتراکینون در تعدادی از گونه‌ها دارد. مقدار محصول آنتراکینون به‌دست‌آمده به

۱. Callus

روش آزمایشگاهی تا حدودی کمتر از مقدار آنتراکینون موجود در گیاهان معمولی است. ترکیبات آنتراکینون به دست آمده در شرایط آزمایشگاهی با مقدار آن در ریشه‌ها و ریزوم‌های گیاهان معمولی متفاوت است. اسکالت^۱ و همکارانش تولید آنتراکینون در ریشه گیاه روبیا تینکتروم را با تولید آنتراکینون به کمک کشت سوسپانسیون سلولی مقایسه کردند. آن‌ها دریافتند که با توجه به سرعت رشد سریع تر کشت سوسپانسیونی، بهره‌وری نیز بیشتر است. تأثیر هورمون‌های گیاهی نظیر ایندوئیل-۳-استیک‌اسید^۲، ۴و۲ دی کلروفنوکسی استیک‌اسید^۳ و نفتالین استیک‌اسید^۴ و کینیتین و غلظت ساکارز روی رشد ریشه‌ها و محصول آنتراکینون در کشت‌های ریشه مویی روبیا تینکتروم توسط ساتو^۵ و همکارانش بررسی شدند. بیشترین تولید آنتراکینون در یک کشت رشد در محیط مخصوص کشت سلولی^۶ حاوی ۵٪ ایندوئیل-۳-استیک‌اسید و ۳٪ ساکارز یافت شد؛ درحالی‌که کینیتین اثری نداشت. غلظت‌های بالاتر ساکارز (۶ تا ۱۸٪) از رشد در حضور هورمون‌های گیاهی (IAA یا NAA) جلوگیری کرد. در یک محیط بدون حضور هورمون گیاهی، ۱۲٪ ساکارز منجر به رشد ماکزیمم و آنتراکینون شد. بالاترین سطوح لیسیدین، آلزارین و پورپورین در کشت درحال رشد در محیط هورمون گیاهی، بدون حضور MS حاوی ۱۸٪ ساکارز یافت شد؛ اما رشد در این محیط ضعیف بود. همچنین دیده شد که اگر هر دو گلوکز و فروکتوز به عنوان منبع کربن در دسترس باشند، کشت سلولی جذب گلوکز را ترجیح می‌دهد. رشد کشت روی گلوکز نسبت به فروکتوز آرام‌تر است. ریشه‌های مویی روبیا تینکتروم می‌توانند بر اثر باکتری

۱. Schulte

۲. Indolyl-۳-acetic acid (IAA)

۳. ۲,۴-Dichlorophenoxyacetic acid (۲,۴-D)

۴. Naphthalene acetic acid (NAA)

۵. Sato

۶. Liquid Murashige and Skoog (MS)

خاکی ریشه‌زا^۱ تحریک شوند. چنین شرایطی می‌تواند ظرفیت بیوسنتز آنتراکینون‌ها را حفظ کند. یک تیم ژاپنی از باکتری خاکی (گیاهی) ریشه‌زا نوع ۱۵۸۳۴ استفاده کردند و کشت ریشه‌روناس با شاخص رشد^۲ کم (شاخص رشد = وزن تر نهایی / وزن تر اولیه = ۷/۵) در محیط بدون هورمون را به‌دست آوردند. افزودن هورمون گیاهی IAA به محیط ماده مغذی، سبب تحریک در رشد ریشه‌ها شد؛ اما شاخص رشد در طی ۴ هفته بالاتر از ۱۹ نشد. یک گروه ژاپنی دیگر، تغییری ژنتیکی با باکتری خاکی ریشه‌زا نوع ATCC ۱۳۳۳۲ انجام دادند. شاخص رشد در کشت ریشه‌مویی مشتق‌شده، به مقدار ۴۰٪ بیش از یک دوره ۴ هفته‌ای بود. در این پژوهش، نواحی پیک HPLC اسید روبریتریک و آلزارین به‌عنوان مقدار آنتراکینون موجود، تفسیر شد. انتقال روبیا تینکتروم با نوع آگروپاین^۳ باکتری خاکی ریشه‌زای نوع LBA۹۴۰۲ منجر به یک خط ریشه‌شد و نوع مختلفی از ساختار آنتراکینونی را تولید کرد. نوردامناکانتال محصول عمده برای این خط ریشه در محیط اصلاح‌شده B^۵ بود [۱].

در یک بررسی توسط محققان نشان داده شده است که روش و نوع استخراج، سبب افزایش سنتز مشتقات آنتراکینونی به‌دست‌آمده از کشت سوسپانسیون سلولی روبیا تینکتروم می‌شود. عملیات مؤثر استخراج کشت سوسپانسیونی، مقدار رنگزای طبیعی را افزایش می‌دهد. شرایط کشت در یک محیط مایع مخصوص شامل ساکارز، اسید ایدول استیک، اسید نفتالین استیک و کینیتین در دمای اتاق و در معرض نور طبیعی روز مهیا می‌شود. با انجام کشت سوسپانسیون سلولی ۷ مشتق آنتراکینونی و با کشت کالوس مقدار زیادی از اسید روبریتریک و روبیادین - ۳ - گلیکوزید از گیاه استخراج می‌شود. در کشت ریشه‌های مویی، آلزارین و پورپورین

۱. Agrobacterium rhizogenes strains

۲. Growth index (G.I)

۳. Agropine

مواد اصلی استخراج شده هستند. استخراج کننده های مختلف مثل پلی ساکاریدهای قارچی^۱ (اسفنجی) در ۴ نوع کاریولوس ورسیکالر نوع ۱، ۲ و ۳ (CVI و CVII و CVIII) و باترتیس سینرا (BC) و مولکول های درونزا (اسید سالیسیلیک^۲ و جاسمونیک اسید^۳) محصولات مخصوصی از مشتقات آنتراکینونی را طی انجام کشت سلولی از گیاه استخراج می کنند.

کاریولوس ورسیکالر^۴ نوعی قارچ است که پلی ساکاریدهایی نظیر پلی ساکارید کا^۵ و پلی ساکارید پپتید^۶ و پلی ساکارید ورسیکالر^۷ از آن استخراج می شود. پلی ساکاریدها کربوهیدراتهایی هستند که از تعداد زیادی مولکول های قندی تشکیل شده اند. باترتیس سینرا^۸ نوعی کپک خاکستری است که از کلمه باترس^۹ یونان قدیم به معنی انگور می آید. این قارچ بیماری را بر روی بسیاری از گونه های گیاهی عمل می کند؛ گرچه معروف ترین میزبان آن تاک های انگور هستند.

بعد از ارزیابی محصول کلی آنتراکینون ها در نمونه های آزمایشی، پس از گذشت ۷ روز از زمان استخراج مشخص شد که استخراج کننده های قارچی تأثیر زیادی در افزایش مقدار محصول داشته اند. به این ترتیب که نوع یک بیشترین تأثیر را داشته و سبب افزایش سه برابری مقدار محصول شده است. انواع ۲ و ۳ و نوع باترتیس سینرا نیز به ترتیب بعد از آن قرار دارند. مقدار محصول نیز به ترتیب برابر با ۲۶۲، ۱۸۲/۹، ۱۴۸/۵ و ۱۰۷/۷ میلی گرم بر گرم است. این در حالی است که مقدار محصول در نمونه ریشه روناس معمولی ۸۲/۸ میلی گرم بر گرم است و با استخراج کننده های

۱. Fungal polysaccharides

۲. Salicylic acid

۳. Jasmonic acid

۴. Coriolus Versicolor(CV)

۵. Polysaccharide K(PSK)

۶. Polysaccharide-peptide (PSP)

۷. Verisicolor Polysaccharide (VPS)

۸. Botrytis Cinerea(BC)

۹. Botrys

سنتز ۱۰۵

قارچی، این مقدار به ۱۰۷/۷ تا ۲۶۲ میلی گرم بر گرم رسیده است. به همین صورت، مقدار پیش ساز لوسیدین و اسیدروبریتریک اسید به دست آمده از روش کشت سلولی با استفاده از استخراج کننده ها ۳ برابر شدند. علاوه بر تأثیر استخراج کننده های قارچی، اسید جاسمنیک بر روی پزدوپورپورین و اسید سالیسیلیک نیز بر روی مقدار آلزارین تأثیر می گذارند. در این مطالعه، از روش های HPLC-DAD-MS نیز برای تشخیص و معرفی عناصر دو گلیکوزید پریم اوروزاید لوسیدین و اسید روبریتریک و ۸ آگلیکون، یعنی پزدوپورپورین، لوسیدین، آلزارین، پورپورین، آلزارین-۲-متیل اتر، لوسیدین- ω -اتیل اتر، نوردامناکانتال و مانجستین اتیل اتر استفاده شد [۳].

منابع

١. G.H. derksen, T.vanbeek, RUBIA TINCTRUM. Laboratory of Organic Chemistry, Phytochemical Section, Wagening University, Dreijenplein ٨,٦٧٠٣, HB Wageningen, The Netherlands.
٢. H. koblitz. Cell culture and somatic cell cenetic of plants, vol ٥. Academic press Inc, ١٩٩٨.
٣. N. Orban, I. Boldizsar, Z. Szucs, B. Danos. Influence of different elicitors on the synthesis of anthraquinone derivatives in Rubia tinctorum L. Cell suspension cultures. Dyes and Pigments ٧٧, ٢٠٠٨, ٢٤٩-٢٥٧.

فصل ششم

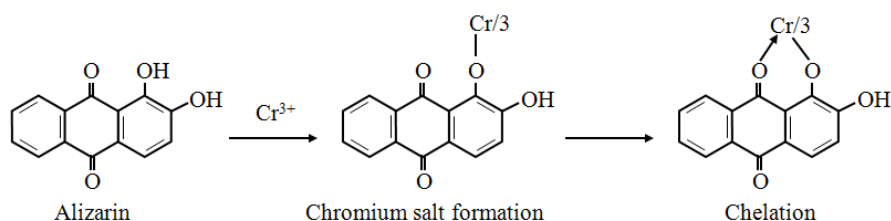
اصول رنگریزی طبیعی

بیشتر رنگزاهای طبیعی بدون استفاده از دندان، تمایلی به جذب شدن بر روی الیاف ندارند. به منظور ایجاد تمایل بین لیف و رنگ، نیاز به یک دندان است (ترجیحاً نمک‌های فلزی با عواملی مناسب برای تشکیل کمپلکس کئوردینانس). این نمک‌های فلزی یک کمپلکس با الیاف و رنگزا تشکیل می‌دهند. بعد از دندان‌دادن، نمک‌های فلزات پیوند داده شده با الیاف، رنگزا را جذب و پل اتصالی بین مولکول‌های رنگ و لیف را به وسیله تشکیل کمپلکس‌های کئوردینانس ایجاد می‌کنند. سولفات آلومینیوم یا دیگر دندان‌های فلزی با لیف پیوند می‌دهد و به طور شیمیایی با گروه‌های عاملی خاصی با قابلیت دندان‌دار شدن که در رنگزاهای طبیعی وجود دارند، ترکیب می‌شوند و به وسیله پیوندهای کئوردینانس / کووالانت یا پیوندهای هیدروژنی و دیگر نیروهای بین مولکولی پیوند می‌دهند [۱].

۱.۶. فرآیند شیمیایی تشکیل لاک

معمولاً رنگینه‌های دندان‌ای را می‌توان با اکسیدهای فلزی یا هیدروکسیدهای آن‌ها ترکیب کرد تا «لاک» تشکیل شود. لاک تشکیل شده در درون الیاف نساجی ثبات بسیار خوبی در عملیات شست‌وشوی بعدی دارد. نمک‌های آلومینیوم، کروم، مس، آهن و روی که هیدروکسیدهای کم‌محلول ایجاد می‌کنند، دندان‌های مناسبی هستند. نمک‌های کروم تنها دندان‌ای است که در رنگریزی پشم اهمیت دارد؛ به این دلیل، رنگینه‌های دندان‌ای روی پشم به عنوان رنگینه‌های کرومی نامیده می‌شوند.

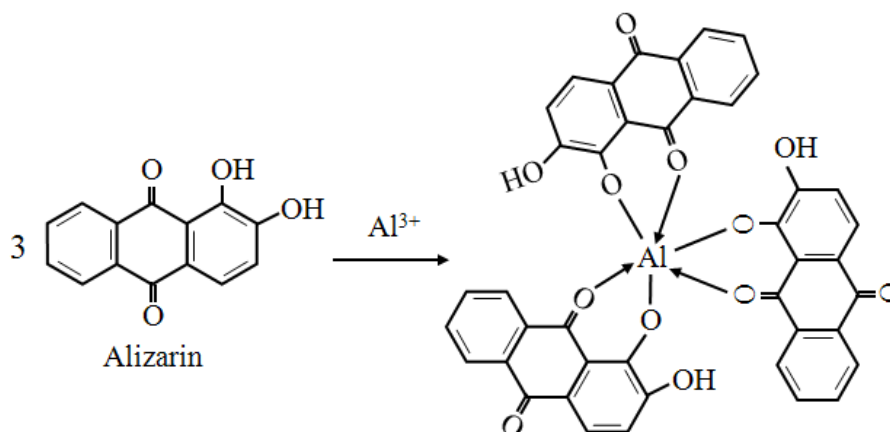
نمک فلزی به عنوان یک دندان عمل می‌کند و هنگامی که با پشم حرارت داده می‌شود، با لیف واکنش داده و تشکیل لاک‌های رنگی می‌دهد. این لاک‌ها در برابر نور، اسیدها، بازها و محلول‌های پاک‌کننده مقاوم هستند. روشی را که در آن رنگینه کرومی با پشم ترکیب می‌شود، می‌توان مشابه فرآیند دندان‌دادن در نظر گرفت. هرچند هنوز مکانیزم آن کاملاً شناخته شده نیست. ترکیب بین رنگینه و فلز توسط مورگان و براساس مطالعات ورفر به وضوح مشخص شده است. در شکل ۶-۱ تشکیل لاک با توجه به تئوری مورگان نشان داده شده است؛ برای نمونه، آلیزارین با نمک کروم به تصویر کشیده شده است [۲].



شکل ۶-۱: واکنش آلیزارین با کروم سه ظرفیتی [۲]

همان‌طور که دیده می‌شود، اولین مرحله واکنش، ترکیب بین آلیزارین و نمک کروم است؛ زیرا کروم (Cr) سه ظرفیتی است و با سه مولکول آلیزارین ترکیب می‌شود؛ اگرچه برای سهولت، تنها یک مولکول ترکیب شده با کروم نشان داده شده است؛ یعنی با یکی از سه ظرفیت اصلی کروم. نوع دیگر پیوند در مرحله دوم ایجاد می‌شود و از آنجا که این پیوند، پیوند نوع کئوردینانس است، هیچ ظرفیتی را اشباع نمی‌کند. حضور توأم این دو پیوند، موجب تشکیل حلقه‌ای شش ضلعی می‌شود که به ساختار کمپلکس حاصل ثبات می‌بخشد [۲].

تکمیل این ساختار در شکل ۶-۲ دیده می‌شود.



شکل ۲-۶: واکنش سه مولکول آلizarin با آلومینیوم سه ظرفیتی و تشکیل کمپلکس رنگی [۲]

همان طور که دیده می شود، برای تشکیل لاک لازم است:

۱. وجود یک گروه که معمولاً هیدروکسیل است (همچنین می تواند نیتروز باشد)، برای تشکیل نمک فلزی لازم است. این گروه ابتدا یونیزه شده و با کروم یک پیوند کووالانسی تشکیل می دهد؛ در نتیجه تشکیل این پیوند، یکی از ظرفیت های فلز کروم کاهش می یابد.

۲. اتم اشباع نشده که می تواند پیوند کئوردینانس ایجاد کند؛ مانند اکسیژن و نیتروژن که در گروه های کتونی ($C=O$)، کریوکسیل ($-COOH$)، آزو ($-N=N-$) و غیره وجود دارد. این گروه ها باید نسبت به گروه هایی که نمک تشکیل می دهند، در موقعیت اورتو قرار بگیرند. آن ها به عنوان دهنده های الکترون به اتم فلزی عمل می کنند و «عدد کئوردینانسیون» کروم (که ۶ می باشد) را با دادن شش الکترون از سه مولکول رنگینه پر می کنند.

پیشنهاد شده است که مکانیزم تشکیل لاک، یک کمپلکس یک به دو را نتیجه می دهد. این مکانیزم نشان می دهد که در این حالت، ثبات رنگینه کروم بالاتر است؛ زیرا در این رنگینه ها، نفوذ قبل از تشکیل کمپلکس رخ می دهد؛ به طوری که قادر به

نفوذ در بخش‌های مختلف لیف هستند. رنگینه کروم داخل لیف مولکول بزرگ‌تری ایجاد می‌کند که عملاً قادر نیست از لیف خارج شود و ثبات بسیار زیاد آن را در برابر عملیات مرطوب توجیه می‌کند [۲].

بنابراین به‌منظور تثبیت رنگزاهای طبیعی روی الیاف، در بیشتر مواقع، دندان‌دادن لازم است. دندان‌دادن می‌تواند قبل از رنگرزی (پیش‌دندان)، بعد از رنگرزی (پس‌دندان)، و در هنگام رنگرزی (هم‌زمان) انجام شود.

۲.۶. انواع دندان‌ها

دندان‌ها موادی شیمیایی هستند که جذب رنگ طبیعی را به‌وسیله الیاف نساجی افزایش می‌دهند. دندان‌های مختلف، روی یک رنگزا، به‌دلیل خاصیت پلی‌ژنتیک خود، فام‌های رنگی مختلفی را ایجاد می‌کنند؛ بنابراین، فام نهایی، درخشش آن و خواص ثبات تنها به رنگزا بستگی ندارد؛ بلکه همچنین توسط غلظت‌های متفاوت و نوع روش استفاده از دندان‌ها نیز تعیین می‌شوند؛ بنابراین، دندان‌ها از رنگزا خیلی مهم‌تر است. گرچه دندان‌ها ایده‌آل باید بدون تأثیر جدی بر خصوصیات فیزیکی الیاف یا خواص ثبات رنگ‌ها و با کمترین هزینه بتواند مقدار قابل ملاحظه‌ای محصول رنگی ایجاد کند. همچنین دندان‌ها نباید در طول مراحل رنگرزی به الیاف آسیب بزنند و منسوج رنگ شده نیز نباید هنگام استفاده هیچ اثر سرطان‌زایی داشته باشد. دندان‌ها می‌توانند به دسته‌های زیر طبقه‌بندی شوند:

۱.۲.۶. دندان‌های فلزی

این دسته از دندان‌ها عموماً نمک‌های فلزاتی چون آلومینیوم، کروم، آهن، مس و قلع هستند که دارای حداقل ظرفیت ۲ بوده و اربیتال d آن‌ها در حال پرشدن باشد. دندان‌ها را می‌توان بر حسب تأثیرشان روی روشنایی فام نهایی به دو دسته به شرح زیر تقسیم کرد:

الف. دندان‌های روشن‌کننده

دندان‌هایی که باعث شفافیت و روشن‌شدن فام رنگی می‌شوند و عبارت‌اند از:

۱. زاج سفید: همان سولفات مضاعف آلومینیوم و پتاسیم است که دندان‌های ارزان و بی‌خطر بوده و به راحتی دسترس‌پذیر است.
۲. کروم (دی کرومات پتاسیم): منسوب به کرومات قرمز و نسبتاً خیلی گرانبه‌است. Cr^{3+} و Cr^{6+} به سبب آسیبی که به پوست می‌رسانند و جزء فلزات سنگین هستند، طبق اصول و قوانین استانداردهای محیط‌زیست، کاربردشان محدود شده است. محلول دی کرومات بسیار به نور حساس است و در معرض آن تغییر رنگ می‌دهد.

۳. قلع (کلرید استانوس): این دندان‌رنگ‌های درخشان‌تری نسبت به دیگر دندان‌ها ایجاد می‌کند؛ گرچه با قرارگیری در معرض هوا اکسید می‌شود و ممکن است زیردست سختی به الیاف بدهد. کلرید قلع اگر بیش از حد استاندارد استفاده شود، استحکام کششی منسوج را به مقدار زیادی کاهش می‌دهد.
- ب. دندان‌های کدر:

این دندان‌ها که باعث تیره و کدرشدن فام نهایی می‌شوند، عبارت‌اند از:

۱. مس (سولفات مس): این دندان‌ها به عنوان زاج آبی (کات کبود) شناخته می‌شود که به آسانی در آب حل می‌گردد. کاربرد آسانی دارد و آثار خاصی در شیدها ایجاد می‌کند؛ به طوری که از دیگر دندان‌ها نمی‌توان به دست آورد.
۲. آهن (سولفات آهن): این دندان‌ها به عنوان زاج سبز شناخته می‌شود و به آسانی در آب حل می‌گردد. از این دندان‌ها برای تیره کردن، قهوه‌ای کردن و سیاه کردن فام رنگی استفاده می‌شود و به آسانی در دسترس است. این دندان‌ها یکی از قدیمی‌ترین دندان‌های شناخته شده است که به طور گسترده برای شیدهای خاکستری تا سیاه استفاده می‌شود.

۲.۲.۶. تانن‌ها

واژه تانن دار اساساً به مواد سلولزی محلول در آب اطلاق می‌شود که رسوب ژلاتینی از محلول است؛ اما تمامی رسوب ژلاتینی، تحت عنوان تانن شناخته نمی‌شود. تانن‌ها ترکیباتی پلی فنولی با ظرفیت ژله‌ای شدن تحت شرایطی خاص هستند که عبارت‌اند از:

- تانن‌های پیروگالول هیدرولیزشونده؛ مثل تانیک اسید، گالوتانن‌های (مازوها) چینی یا ترکی و سماق سیسیلانی و تاگشورنی.
- تانن‌های الاژیک هیدرولیزشونده که هنگام هیدرولیز الاژیک اسید یا اسیدهای مشابه از آن حاصل می‌کنند؛ مثل بلوط.
- تانن‌های غلیظ‌شده یا کاتچول شامل مقدار کمی کربوهیدرات‌ها یا بدون کربوهیدرات هستند و به فرم اسیدی پلیمرهای آمورف نامحلول تبدیل می‌شوند. بین تانن‌ها، هلیله و بین مازوها، سماق مهم‌ترین‌ها هستند.

۳.۲.۶. دندانه‌های نوع روغنی

روغن‌های سبزیجات یا روغن قرمز ترکی^۱ (TRO) نوعی از دندانه‌ها هستند. روغن قرمز ترکی به‌عنوان دندانه، اساساً در رنگریزی رنگ قرمز تیره با روناس کاربرد دارد. نقش اصلی TRO هنگام کاربرد به‌عنوان دندانه روغنی اصلی، این است که با زاج سفید کمپلکس تشکیل می‌دهد. روغن سولفونه‌شده ظرفیت پیوندی بهتری نسبت به روغن‌های طبیعی دارد. نمونه‌هایی که با دندانه‌های روغنی دندانه شده‌اند، ثبات و فام بیشتری را نشان می‌دهند [۱].

۳.۶. رنگریزی با روناس

در رنگریزی سنتی با روناس، کمپلکس‌های تشکیل‌شده بین رنگزا و لیف و دندانه

۱. Turkey red oil

۱۱۳ اصول رنگرزی طبیعی

شامل فلزاتی همچون آلومینیوم و کلسیم‌اند. دیگر دندان‌های استفاده‌شده شامل آهن (II)، قلع (II) یا مس است؛ اگرچه به‌دلیل محدودیت در مصرف فلزات سنگین، امروزه بیشتر از فلزات آلومینیوم، کلسیم و آهن استفاده می‌شود.

آلیزارین روناس به‌عنوان رنگزای اصلی، با دو گروه هیدروکسیل خود می‌تواند در تشکیل کمپلکس شرکت کند. pK_a گروه‌های هیدروکسیل برای گروه ۱- هیدروکسیل برابر ۱۲ و برای گروه ۲- هیدروکسیل برابر ۸/۲ است [۳]. یون کلسیم با ۲- هیدروکسیل واکنش می‌دهد و آلومینیوم نیز یک کمپلکس با گروه ۱- هیدروکسیل تشکیل می‌دهد. نسبت استوکیومتری بین آلیزارین آلومینیوم و کلسیم برابر با ۱:۱:۲ است. رنگ و شید کمپلکس‌های تشکیل‌شده به یون فلزی مورد استفاده بستگی دارد؛ هم‌چنان‌که قلع (II) یک کمپلکس نارنجی، آلومینیوم کمپلکس قرمز، مخلوط کمپلکس کلسیم-آهن-آلیزارین رنگ بنفش می‌دهد [۳].

۱.۳.۶. روش رنگرزی پشم و ابریشم با روناس

مراحل رنگرزی با روناس شامل دندان‌دادن با آلومینیوم می‌شود. از این فرایند در هلند و دیگر کشورهای اروپایی، در قرن ۱۷ استفاده می‌شد [۴]. منسوج پشمی در آب حاوی پوسته گندم (سبوس) و آلومینیوم جوشانده می‌شود. در ادامه، در برخی از نسخه‌ها منسوج با آب سرد شسته و در برخی منسوج در محلول نگه داشته می‌شد تا سرد شود. منسوج دندان‌شده مدت ۲ ساعت در سوسپانسیون حاوی پودر خشک‌شده روناس در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. حمام رنگ نباید بجوشد؛ زیرا رنگ کدر و مایل به قهوه‌ای می‌شود؛ مثلاً پورپورین در دماهای بالاتر از ۸۵ درجه، رنگی متمایل به آبی می‌دهد. در این حالت، فقط در ۵ دقیقه آخر رنگرزی، حمام را به جوش می‌رسانند تا ثبات خوبی حاصل شود. سپس منسوج را از حمام خارج و آبکشی می‌کنند. در عملیات تکمیلی، منسوج را با آب جوش و ادرار و سرانجام با آب گرم آبکشی می‌کنند [۴].

۲.۳.۶. رنگرزی کتان و پنبه با روناس

رنگرزی کتان یا پنبه (الیاف سلولزی) با رنگرای دندانه‌ای مثل روناس، پیچیده‌تر از رنگرزی الیاف پروتئینی (پشم و ابریشم) است. در یک روش مخصوص، فرایند قرمز ترکی زمانی طولانی (تا اواخر قرن ۱۸) یک راز بزرگ در اروپا برای رنگزها بود. مراحل چاپ روی پنبه با رنگ‌های درخشان و با ثبات نیز تا قرن ۱۷ ناشناخته بود. در قرن ۱۶ و ۱۷ نخ پنبه‌ای رنگرزی می‌شد و الیاف رنگ‌شده و چاپ‌شده از آسیا به اروپا صادر می‌شدند [۴].

۴.۶. قرمز ترکی (قرمز آدریانوپل)

مراحل رنگرزی قرمز ترکی در طی قرن‌ها در کشورهای شرق دور و نزدیک توسعه یافت. پنبه قرمز شده به دلیل رنگ درخشان و داشتن ثبات‌های شست‌وشویی و نوری خوب طالبان زیادی داشت. در طی قرن ۱۸، شمار زیادی از منسوجات رنگ‌شده با قرمز ترکی از ترکیه و یونان به فروشگاه‌های اروپایی راه یافتند. تا آن زمان، روش رنگرزی یک راز بود؛ اما اواسط قرن ۱۸ در شهر رووان فرانسه، به وسیله شرکت‌های کارآفرین فرانسوی- با کمک رنگرزه‌های یونانی- موفق به فهمیدن روش رنگرزی شدند. سپس این دانش به تمام اروپا انتشار یافت و مولهاوز مرکز اصلی این روش شد. برای زدودن چربی و واکس طبیعی روی الیاف، پنبه قبل از رنگ‌شدن ابتدا باید تحت عملیات قرار بگیرد. این عملیات شامل پتاس، حمام‌های روغنی مختلف که در آن ترجیحاً روغن زیتون ترش شده استفاده می‌شود و کود گوسفند است. ابتدا الیاف در یک حمام قلیایی قرار می‌گیرند تا واکس زدوده شود. سپس در حمام حاوی روغن زیتون و کود دندانه می‌شود و سپس در آب روان شسته می‌شود [۴].

۵.۶. بررسی اثر دندان‌ها در رنگرزی با روناس

در بررسی اثر دندان‌ها در رنگرزی الیاف با روناس از آلوم $[KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O]$ ، سولفات مس (II) و سولفات آهن (II) به‌عنوان دندان‌ها، در غلظت‌های مختلف و با دو روش متفاوت پیش‌دندان (MD) و دندان‌هم‌زمان (M+D) استفاده شده است. با توجه به نتایج کالریمتری، در بین همه الیاف دندان‌شده، دندان آلومینیوم بیشترین درخشندگی (L^*) را حاصل کرده است. تفاوت در رنگ، ناشی از تفاوت در کمپلکس‌هایی است که در نتیجه شرایط مختلف رنگرزی مثل غلظت یون فلزی، ماهیت کروموفور رنگزا و pH تشکیل می‌شوند. در pH برابر با ۵- $3/5$ یون فلزی می‌تواند به گروه کربوکسیلات در الیاف پشم یا در برخی مواقع با کروموفور رنگزا یا آب متصل شود. طبق نظریه میدان لیگاند، تشکیل این کمپلکس منجر به انحطاط الکترون‌های d می‌شود و آن‌ها را با یک شکاف انرژی به دو گروه جدا تقسیم می‌کند. شکافتگی اوربیتال‌ها بستگی به ماهیت شیمیایی لیگاندها و نوع توزیع فضایی آن‌ها و ماهیت و حالت اکسیداسیون یون فلزی دارد. بعضی فلزات مثل آلومینیوم که در لایه d الکترون ندارند، به‌دلیل انتقال الکترونی می‌تواند کمپلکس رنگی تشکیل بدهد؛ به‌طوری‌که دیگر الکترون‌های ظرفیتی را نیز درگیر می‌کنند. شرایط مختلف رنگرزی، ساختارهای کمپلکس مختلف با شکاف‌های انرژی متفاوتی تولید می‌کنند که سبب ایجاد رنگ روی الیاف پشمی می‌شود. رنگ‌های متمایل به قرمز به کمپلکس با شکاف انرژی بزرگ‌تر مربوط‌اند و رنگ‌های متمایل به آبی به کمپلکس با شکاف انرژی کوچک‌تر مربوط هستند و رنگ‌های بنفش در بین اینها قرار دارند. با افزایش غلظت دندان‌ها، جذب آن در لیف، فقط کمی افزایش می‌یابد. این افزایش برای دندان‌ مس از آهن و آلومینیوم بیشتر بود. مشخص شد که تمایل مس به الیاف از آن دو بیشتر است [۵].

به‌طور کلی، مقدار یون فلزی روی الیاف پشم در روش پیش‌دندانه از روش هم‌زمان بیشتر است. در روش پیش‌دندانه چون یون فلزی با پشم پیوند می‌دهد، مقدار یون روی الیاف زیاد است؛ اما در روش دندانه هم‌زمان، یون قبل از ورود پشم به حمام، با کروموفور رنگزا اتصال می‌دهد و مقدار کمتری از آن با الیاف پشم اتصال می‌دهند.

از آنالیز ایدکس (EDS) برای بررسی توزیع یون روی الیاف استفاده شد و نشان داد که توزیع یون‌های فلزی در همه مناطق الیاف یکسان نیست و در مناطق داخلی نسبت به سطح الیاف، مقادیر بیشتری از یون، به دلیل شست‌وشوی بعد از رنگریزی دیده شده است.

ثبات نوری ضعیف، مشکل عمده رنگزاهای طبیعی است. ماهیت شیمیایی دندانه بر روی ثبات نوری پشم رنگ‌شده مؤثر است. از دست‌دادن رنگ، به‌سبب تخریب کروموفورهای رنگ‌های طبیعی است که با تخریب اکسیداسیون نوری صورت می‌گیرد. محققان نشان دادند که در پدیده رنگ‌پریدگی با یک‌سری از رنگزاهای طبیعی زرد، ماهیت دندانه از تأثیر رنگزا یا همچنین طول موج نوری که منسوج رنگ‌شده در معرض آن قرار می‌گیرد، مهم‌تر است. تغییرات در قدرت کششی و الاستیسیته پشم به ماهیت دندانه بستگی دارد. این قدرت در پشم دندانه‌شده با آلومینیوم وقتی در معرض نور آفتاب قرار می‌گیرند، کاهش می‌یابد. رنگ‌پریدگی الیاف دندانه‌شده با آلومینیوم از الیاف دندانه‌شده با سولفات‌های آهن و مس و کروم بیشتر است؛ اما ثبات رنگ کروموفورهای روناس همراه با دندانه آلومینیوم از کروموفورهای رنگزای زرد بیشتر است. بیشترین رنگ‌پریدگی در یک ساعت اول اتفاق می‌افتد و از ۴۸۰ تا ۶۰۰ ساعت بعدی به تدریج ثابت می‌شود.

جدای از غلظت دندانه، روش رنگریزی نیز در رنگ‌پریدگی تأثیر دارد. این تأثیر در خصوص دندانه آلومینیوم کم است؛ اما پشم دندانه‌شده با آهن به‌طور هم‌زمان،

رنگ‌پریدگی زیادی نسبت به پیش‌دندانه دارد. این اختلاف رنگ‌پریدگی در دو روش دربارهٔ دندانهٔ مس نیز زیاد است. در غلظت‌های کم دندانه‌ها، در روش هم‌زمان (M+D) آلومینیوم و مس اختلاف رنگی زیادی بر اثر قرارگرفتن در معرض نور ایجاد می‌شود؛ اما در روش پیش‌دندانه (MD)، با غلظت کم دندانهٔ آلومینیوم، اختلاف رنگی زیادی ایجاد می‌شود؛ اما در دندانهٔ مس نتایج برعکس بود^۱ و اختلاف رنگی کمتری داشته است. جهت ارزیابی مقدار آلیزارین و پورپورین در پشم و روند رنگ‌پریدگی از EDTA/DMF و در ادامه، از روش کروماتوگرافی مایع کوبله‌شده با اسپکتروسکوپی جرمی و یونیزاسیون الکتروافکن^۱ استفاده شده است. برای همهٔ نمونه‌های دندانه‌شده با انواع دندانه‌ها، در روش پیش‌دندانه، مقدار کروموفور بیشتر است. قبل از قرارگیری در معرض نور، پشم پیش‌دندانه‌شده با آلومینیوم و رنگرزی با روناس به رنگ صورتی پررنگ، و پشم دندانه‌شده به روش هم‌زمان به رنگ پرتقالی دیده شده است. در پیش‌دندانه با آلومینیوم و فلز آهن، منطقهٔ پیک برای آلیزارین و پورپورین زیر یک بود؛ ولی در روش هم‌زمان با تمامی دندانه‌ها، منطقهٔ پیک بالای یک بود. همین رفتار برای پشم دندانه‌شده با ۲۰٪ آلومینیوم که با روناس رنگ شده، در روش پیش‌دندانه مشاهده شده است.

نمونهٔ دندانه‌شده با آهن به روش هم‌زمان، شدت قرمزی کمتری دارند. آنالیز کروموفورها نشان می‌دهد که منطقهٔ پیک برای آلیزارین و پورپورین ۵ تا ۱۰ برابر کمتر از آن‌هایی است که به روش پیش‌دندانه رنگرزی شده‌اند.

آنالیز کروموفور روی نمونه‌هایی که در معرض نور قرار گرفته‌اند، نشان داده که تخریب کروموفور روناس سبب ایجاد رنگ‌پریدگی در نمونه می‌شود. همچنین اینکه افزایش زمان قرارگیری در معرض نور، سبب کاهش منطقه پیک کروماتوگرافی

۱. Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry and Electrospray Ionization (LC-ESI-MS/MS)

الیزارین و پورپورین می‌شود. شدت این تخریب در تمام زمانی که نمونه در معرض نور است، ثابت نیست. در ابتدا (در ۴۸۰ ساعت اولیه) تخریب برای نمونه‌های دندان‌شده با آلومینیوم از مس و آهن بیشتر است. تنوع زیاد در پارامتر ΔE برای نمونه‌های دندان‌شده با آلومینیوم با هر دو روش، در همان زمان، ضعیف‌بودن ثبات نوری الیاف رنگ‌رزی‌شده با روناس و آلومینیوم را نشان می‌دهد. علاوه بر این، الیزارین در این نمونه‌ها، بیشتر از پورپورین تخریب می‌شود [۵].

به منظور تعیین مشخصات رنگی نمونه‌های الیاف پنبه‌ای و پشمی (دندان‌شده با ۲/۵ گرم سولفات مضاعف آلومینیوم و پتاسیم و ۱۰ گرم ریشه خشک و پودر شده روناس رنگ‌رزی‌شده) مشخص شده است که مقدار قرمزی و زردی در ناحیه مثبت قرار دارد و قرمزی رنگ از زردی بیشتر است. مقدار کروما برابر با ۲۵/۸ و ضریب روشنایی نمونه پشم رنگ‌شده با ریشه روناس مقدار ۲۶/۸ گزارش شده است. زاویه فام ۲۷/۸ درجه نشان می‌دهد که پشم رنگ‌شده با ریشه خردشده روناس، یک شید تیره با فام قرمز و شدت رنگ بالا داشته است.

در پنبه رنگ‌شده، مقدار کروما با ۲۴/۳ و زاویه فام ۲۲/۲ درجه و ضریب روشنایی هم ۳۹/۶ و ΔE برابر با 1 ± 36 بود. واضح است که میزان جذب روناس روی پشم از پنبه بیشتر بوده و رنگ تیره‌تری حاصل شده است. ΔE برای پشم رنگ‌رزی‌شده با ریشه روناس از ۵۴/۹ تا ۵۶ با میانگین $0.5 \pm 55/3$ بود [۶].

۱۱۹ اصول رنگرزی طبیعی

جدول ۶-۱: پارامترهای رنگی الیاف پشمی و پنبه‌ای دندان‌شده با ۲/۵ گرم سولفات مضاعف

آلومینیوم و پتاسیم و رنگرزی شده با ۱۰ گرم ریشه خشک شده روناس [۶]

Tan h*	ΔE	C*	b *	a *	L*	پارامترهای رنگی الیاف
۲۷/۸	۵۴/۹-۵۶	۲۵/۸	$۱۵/۱ \pm ۰/۴$	$۲۰/۹ \pm ۸$	۲۶/۸	پشم
۲۲/۲	۳۶ ± ۱	۲۴/۳	$۱۴/۴ \pm ۰/۵$	$۱۹/۷ \pm ۰/۷$	۳۹/۶	پنبه

بعد از انجام تست‌های شستشویی دستی در ۴۰ درجه و تست‌های اسیدی و قلیایی ΔE به ۱ ± ۵۹ رسید. ثبات رنگی الیاف پنبه‌ای رنگ‌شده با ریشه روناس بعد از انجام انواع تست‌های ثبات تغییری نیافته است [۶].

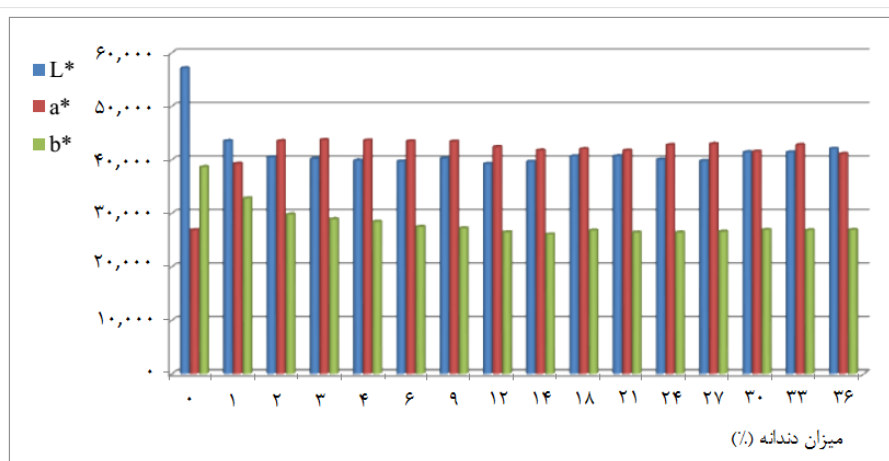
بررسی تأثیر غلظت دندان‌های مختلف بر روی رنگرزی پارچه‌های ابریشمی صمغ گیری و سفیدگری شده با استفاده از عصاره روبیا تینکتروم که از سولفات مضاعف کلسیم و آلومینیوم به عنوان دندان‌ استفاده شده است، نشان می‌دهد که تیره ترین رنگ در ۱۲٪ از غلظت دندان‌ بدست می‌آید. شاخصه (a^*) برابر با میزان قرمزی نمونه‌ها نشان می‌دهد که قرمزی پارچه‌ها با افزایش میزان دندان‌ افزایش می‌یابد و بیشترین قرمزی با ۳٪ از دندان‌ حاصل شده است. همچنین اینکه (L^*) برابر میزان روشنایی نمونه‌ها نیز با افزایش دندان‌ بیشتر شده است. با بررسی ناحیه طیف رنگی مشاهده می‌شود که بین غلظت پورپورین و میزان قدرت رنگی (K/S) رابطه مستقیمی وجود دارد. با افزایش غلظت پورپورین قدرت رنگی افزایش می‌یابد. در همین حال با افزایش میزان غلظت آلیزارین از قدرت رنگی کاسته می‌شود. این حقیقت می‌تواند مربوط به میزان گروه‌های هیدروکسیل آلیزارین با دو گروه هیدروکسیل و پورپورین با سه گروه هیدروکسیل باشد.

جدول ۶-۲: نتایج کالریمتری نمونه‌های رنگرزی شده [۷]

نمونه	میزان دندانه (%)	L*	a*	b*
۱	۰	۵۷/۱۵۱	۲۶/۸۷۵	۳۸/۶۸۱
۲	۱	۴۳/۵۳۹	۳۹/۲۸۵	۳۲/۸۱۰
۳	۲	۴۰/۴۸۸	۴۳/۵۴۱	۲۹/۸۰۹
۴	۳	۴۰/۲۱۸	۴۳/۷۵۱	۲۸/۹۲۷
۵	۴	۳۹/۸۸۲	۴۳/۶۴۳	۲۸/۴۵۰
۶	۶	۳۹/۷۴۰	۴۳/۵۱۷	۲۷/۵۱۱
۷	۹	۴۰/۲۶۸	۴۳/۴۳۵	۲۷/۲۱۸
۸	۱۲	۳۹/۲۶۶	۴۲/۴۲۴	۲۶/۴۸۰
۹	۱۴	۳۹/۶۷۲	۴۱/۷۷۱	۲۶/۰۷۸۹
۱۰	۱۸	۴۰/۶۸۸	۴۲/۰۴۸	۲۶/۸۲۴
۱۱	۲۱	۴۰/۷۰۲	۴۱/۷۳۸	۲۶/۴۴۱
۱۲	۲۴	۴۰/۰۶۵	۴۲/۷۸۹	۲۶/۴۲۶
۱۳	۲۷	۳۹/۸۰۳	۴۲/۹۹۴	۲۶/۶۰۵
۱۴	۳۰	۴۱/۴۳۹	۴۱/۵۵۱	۲۶/۹۳۰
۱۵	۳۳	۴۱/۴۳۰	۴۲/۸۱۹	۲۶/۸۶۶
۱۶	۳۶	۴۲/۰۹۷	۴۱/۱۲۹	۲۶/۹۱۷

۱۲۱ اصول رنگرزی طبیعی

بنابراین دندان‌ها با پورپورین نسبت به آلizarین پیوند بیشتری می‌دهد. افزایش دندان‌ها منجر به افزایش قدرت رنگی می‌شود و بیشترین قدرت رنگی با ۴٪ از دندان‌ها بدست آمده است (شکل ۳-۶). بیشترین روشنایی در نمونه بدون دندان‌ها مشاهده شده است و این میزان با افزایش دندان‌ها کاهش می‌یابد و این موضوع به تأثیر پیوند رنگزا با دندان‌ها مربوط می‌شود. بیشترین قرمزی در نمونه‌ها با مصرف ۳٪ از دندان‌ها حاصل شده است و البته تفاوت معناداری در استفاده از غلظت‌های متفاوتی از دندان‌ها دیده نشده است. به طور عمومی آلizarین و پورپورین هر دو عامل قرمزی نمونه‌ها هستند [۷] و تفاوت بین مقدار آلizarین و پورپورین تأثیری در میزان قرمزی نمونه‌ها نداشته است. در همین حال میزان زردی نمونه‌ها متأثر از غلظت روبیادین است. کاهش در غلظت میزان روبیادین سبب کاهش درجه زردی نمونه‌ها (b^*) است که بالاترین زردی در نمونه بدون دندان‌ها بدست آمده است. (جدول ۲-۶).



شکل ۳-۶: میزان قدرت رنگی (K/S) الیاف رنگرزی شده [۷]

خواص ثباتی مرطوب به پیوند رنگزا و لیف مربوط می‌شود. بنابراین افزودن دندانۀ ثبات را افزایش می‌دهد. این در حالی است که افزایش در غلظت دندانۀ سبب افزایش ثبات شستشویی می‌شود. با این وجود در مورد آزمایشات ثبات تعریقی قلیایی، نتایج ضعیفی مشاهده شد. این حقیقت می‌تواند به علت یون‌های هیدروکسیل بیش از حد در محلول تعریقی باشد. در مقایسه با ثبات تعریقی قلیایی، نتایج نسبتاً بهتری در ثبات تعریقی اسیدی حاصل شده است و بهترین نتایج در ثبات تعریقی با مصرف ۶٪ از دندانۀ آلوم بدست آمده است [۷].

منابع

۱. A.K. Samanta, A. Konar, Dyeing of Textiles with Natural Dyes, Chapter ۳, Publisher: InTech, ۲۰۱۱.
۲. اکبری، احمد، رنگرزی الیاف پروتئینی با رنگینه‌های شیمیایی، انتشارات دانشگاه کاشان، ۱۳۹۱.
۳. T. Bechtold, R. Mussak, Handbook of Natural Colorants, John Wiley & Sons, Ltd, ۲۰۰۹.
۴. J.h. Hofenk de graaff, The colour ful past, Archtype, ۲۰۰۴.
۵. A. Manhita, V. Ferreira, H. Vargas, I. Ribeiro, A. Candeias, D. Teixeira, T. Ferreira, C. Barrocas Dias, Enlightening the influence of mordant, dyeing technique and photodegradation on the colour hue of textiles dyed with madder– A chromatographic and spectrometric approach, Microchemical Journal ۹۸, ۲۰۱۱, ۸۲–۹۰.
۶. D. De Santis, M. Moresi, Production of alizarin extracts from Rubia tinctorum and assessment of their dyeing properties, Industrial Crops and Products ۲۶, ۲۰۰۷, ۱۵۱–۱۶۲.
۷. Karadag Recep^۱, Torgan Emine, Erkan Gökhan, Dyeing Properties and Analysis by Rp-Hplc-Dad of Silk Fabrics Dyed with Madder (Rubia tinctorum L.), Textile Science & Engineering ۴, ۲۰۱۴, ۱۵۴.

فصل هفتم

روش‌های جدید رنگرزی با روناس و کاربردهای دیگر آن

۱.۷. روش‌های جدید رنگرزی با روناس

به تازگی تحقیقاتی با هدف احیا و ترمیم رنگرزی سنتی به همراه دندان‌سازگار با محیط زیست به جای دندان‌های فلزی، توسط محققین انجام گرفته است که به برتری دندان‌های سازگار با محیط زیست اشاره شده و تأیید شده است که اینگونه از دندان‌ها می‌توانند جایگزینی برای مواد شیمیایی باشند. در یکی از این مطالعات همچنین با رویکردی به روش‌های نوین استخراج رنگزا و استفاده از فن‌آوری‌های مدرن به همراه حفظ محیط زیست، از روش فراصوت برای رنگرزی الیاف پشم استفاده کرده است. نتایج این بررسی نشان داده است که خواص ثباتی نمونه‌ها با روش پیش‌دندان با استفاده از هر دو نوع دندان‌سازگار با محیط زیست و دندان‌های فلزی بهتر بوده است. اگرچه در مقایسه با دندان‌های فلزی میزان جذب با دندان‌های سازگار با محیط زیست کمتر بوده است اما از آنجا که این نوع از دندان‌ها نقش بسزایی در کاهش آلودگی پساب‌ها و بهبود خواص ثباتی نمونه همانطور که در این تحقیق گزارش شده است، دارند لذا از لحاظ زیستی نسبت به دندان‌های فلزی برتری دارند.

در ادامه این محققان با بررسی تأثیر امواج فراصوت در حمام رنگرزی نشان داده‌اند که با استفاده از این دندان‌های سازگار و در روش فراصوت نه تنها خواص ثباتی بهبود یافته بلکه خصوصیات رنگی خوبی نیز در نمونه‌ها بدست آمده

است [۱].

در مطالعات انجام شده توسط دیگر محققان با هدف انجام استخراجی کارآمد، بدون وجود هرگونه مواد رنگزای شیمیایی و مصنوعی با استفاده از عصاره‌های متانولی رویبیا تینکتروم، روش فراصوت با دو روش معمولی شامل رفلکس و تحریک مغناطیسی مقایسه کرده و در مورد کارایی امواج فراصوت بر روی بافت گیاهی گزارش داده‌اند. آنالیز HPLC نسبت آنتراکینونی برای هر کدام از فرایندهای استخراج و تأثیرات دنا توره شدن^۱ آنها را نشان داده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان رنگزای استخراجی در روش فراصوت نسبت به دو روش معمولی دیگر بالاتر بوده است. آنالیز HPLC نیز نشان می‌دهند که ترکیبات آنتراکینونی حاصله بر حسب روش استخراج متفاوت بوده اند [۲].

در نهایت مشاهدات بافت شناسی یاخته ای^۲ اهمیت هر انجام فرایند روی سازماندهی سلولی در ریشه‌های روناس نشان می‌دهد. مشاهدات بافت شناسی یاخته ای تغییرات مهمی را در دیواره سلولی لیف نشان می‌دهد. در روش فراصوت برخورد امواج به دیواره سلول و ایجاد کویتاسیون و ایجاد نواحی حفره دار متعدد در دیواره، سبب افزایش میزان استخراج با این روش می‌شود. این مطالعه نشان می‌دهد که روش استخراج فراصوت با مخلوط متانول-آب با درصد (۷/۷ ، ۳۷:۶۳) در زمان ۱۸ دقیقه و دمای ۳۶ درجه سانتیگراد هم از نظر کیفی و هم کمی نسبت به دو روش معمول رفلکس و تحریک مغناطیسی (۷/۷ ، ۳۷:۶۳ و ۷/۷ ، ۸۰:۲۰) در زمان ۶۰ دقیقه بهره وری بالاتری داشته است. میزان محصول از عصاره‌های معمول به ترتیب ۶۰/۲۵ و ۵۸/۷۱ درصد بوده است این در حالی است که این میزان در روش فراصوت به ۶۳/۳۱ درصد رسیده است. به طور کلی

^۱.Denaturing effects

^۲.Cytohistological observations

در روش رفلکس تمام ترکیبات رنگزا شامل آلیزارین، روبریتریک اسید، لوسیدین، پزدوپورپورین، پیش ساز روبیادین و پیش ساز لوسیدین و گالیوزین استخراج شده اند اما ترکیبات هیتروزیدیکی کمتری استخراج شده است که شاید مربوط به اثر دنا توره شدن باشد. در روش تحریک مغناطیسی تنها ۵ ترکیب (آلیزارین، روبریتریک اسید، لوسیدین، پیش ساز روبیادین و پیش ساز لوسیدین) به مقادیر قابل ملاحظه ای استخراج شده که البته این ترکیبات معرف ترکیب کامل بومی روناس نیستند. در حالی که روش فراصوت با ارائه بیشترین میزان محصول با کارایی بالاتر و ارائه تمامی ترکیبات روناس با حفظ ساختار این ترکیبات، شامل آلیزارین، روبریتریک اسید، لوسیدین، پزدوپورپورین، پورپورین، پیش ساز روبیادین و پیش ساز لوسیدین و گالیوزین به عنوان بهترین روش معرفی می شود. همچنین عصاره فراصوتی غنی از ترکیبات آنتراکینونی، ارائه دهنده اثر نگاهدارندگی است [۲].

اخیراً مقالات بسیاری در ارتباط با استخراج ترکیبات رنگزا از خانواده روبیا منتشر شده است. رایج ترین روش های کاربردی برای بهبود استخراج از بافت های گیاهی روش هایی همچون رفلکس با برخی حلال ها مانند اتانول-آب (۷/۷، ۱:۳، در زمان ۶ ساعت) و (۷/۷، ۱:۱، در زمان ۳ ساعت) یا دی متیل اتر و خیساندن با اتانول آبی (۷/۷، ۱:۳، در زمان ۲۴ ساعت) بکار رفته است. همچنین انکوباسیون با استفاده از اتانول-آب (۷/۷، ۴:۱، در زمان ۱۰ ساعت) برای استخراج آنتراکینون ها از کشت سلولی گیاه گزارش شده است. به تازگی امواج فراصوت در عصاره متانول-آب (۷/۷، ۷:۳، در زمان ۱/۵ ساعت) توسط وینگ^۱ و همکارانش برای استخراج آنتراکینون ها از اعضای زیرزمینی ریواس ترکی^۲ استفاده شده است. از

^۱.Weng

^۲. Rhei Rhizoma

اصول رنگرزی طبیعی ۱۲۷

آنجایی که تکنیک‌های استخراج مایع - جامد معمولی مانند استخراج سوکسله، رفلکسی با حلال‌های آلی و حرکات مکانیکی پر زحمت و وقت گیر هستند و نیاز به مصرف بالایی از حلال‌های آلی سمی است لذا استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست و کارآمدتر برای استخراج سریع بسیار مورد توجه است.

استخراج به کمک ماکروویو با توجه به کاهش در زمان مورد نیاز برای انجام فرایند و مصرف کمتر حلال به عنوان جایگزینی برای روش‌های معمولی مطرح است. گزارشات بسیاری در مورد استفاده از این روش در استخراج ترکیبات آلی بخصوص آفت کش‌ها و ترکیبات آلی فلزی از بسترهای محیطی و تعداد اندکی گزارش در ارتباط با کاربرد آن در موارد دارویی و فتوشیمیایی منتشر شده است.

محققین از امواج ماکروویو برای استخراج و بهینه سازی دو ترکیب اصلی در نمونه‌های مختلف از گیاهان متعلق به خانواده رویا، آلیزارین و پورپورین استفاده کرده اند. چندین متغیر که بطور بالقوه بر روی بهره وری استخراج تأثیر می‌گذارند شامل: دما، غلظت متانول در مخلوط عصاره، زمان و حجم حلال با استفاده از روش طراحی مرکب مرکزی بهینه سازی شده است. نتایج نشان داده است که درجه حرارت و غلظت متانول در مخلوط حلال از نظر آماری مهمترین عوامل تأثیرگذار در فرایند بهینه سازی هستند. جداسازی و تعیین کمی ترکیبات در کمتر از ۶ دقیقه به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با شناساگر UV در ۲۵۰ نانومتر انجام شده است. در شرایط بهینه، روش ماکروویو نسبت به روش‌های فراصوت و رفلکسی بین ۸۴ تا ۹۴٪ برتری راندمان داشته است. همچنین اینکه با توجه به قرار دادن رفلکس به عنوان روش مرجع، به کمک ماکروویو در زمان و مقدار حلال صرفه جویی شده است در حالی که در روش رفلکس زمان ۶ ساعت و مصرف حلال به میزان ۱۰۰ میلی لیتر بوده این مقادیر برای روش ماکروویو به ۲۰

دقیقه و مصرف ۲۰ میلی لیتر از حلال رسیده است و میزان استخراج هر دو ترکیب (آلیزارین و پورپورین) به مقدار ۱۴۰٪ بهبود یافته است [۳].

به تازگی برای بهبود نفوذ پذیری رنگزای طبیعی روناس در الیاف پشم از روش‌های سازگار با محیط زیست در حضور لسیتین^۱ سویای طبیعی که از نظر شیمیایی و فیزیکی اصلاح شده اند، مورد استفاده قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که توسط محققین در راستای این موضوع انجام گرفته است ابتدا شرایط رنگرزی الیاف پشم با روناس توسط روش سطح پاسخ^۲ (RSM) بهینه سازی شده و پنج متغیر مستقل در ارزش های سطح پایین و بالا انتخاب شدند. که نتایج ANOVA مدل درجه دوم نشان می دهد که شرایط مدل مانند دمای رنگرزی، زمان رنگرزی، غلظت لسیتین، مدت عملیات پلاسما، روش رنگرزی، و اثر متقابل آنها قابل توجه است. علاوه بر این، شرایط مطلوب بهینه شده که برای رنگرزی طبیعی الیاف پشم عمل شده با پلاسما در دمای کم^۳ مطرح شده است، باعث رسیدن دمای رنگرزی به ۷۶/۵۳ درجه سانتیگراد در حضور لسیتین استیله شده، می-شود. نتایج نشان می دهد که عملیات LTP یک اثر اچینگ (حک کنندگی) بر روی سطح الیاف پشم داشته و اندازه الیاف پشم را کاهش داده است. عملیات LTP سبب بروز ترک‌های کوچکی بر روی سطح الیاف پشم می شود که نشان می دهد برخی تغییرات فیزیکی در سطح الیاف پشم به وجود آمده است که به طور چشمگیری زمان نفوذ آب را کاهش و سرعت رنگرزی افزایش داده است. علاوه بر این، عملیات LTP خواص مکانیکی الیاف پشم را بهبود می بخشد. لسیتین به منظور بهبود قدرت رنگی الیاف پشم رنگرزی شده از طریق

^۱. Lecithin

^۲. response surface methodology (RSM)

^۳. low temperature plasma (LTP)

هیدروکسیلاسیون-متیلاسیون و استیلاسیون در معرض تغییرات شیمیایی قرار گرفته است. با این حال، تنها محصول هیدروکسیله-استیله شده نتایج ناخوشایندی داشت بدین صورت که میزان قدرت رنگی (K/S) پائینتری را نشان داد و محصول استیله شده به طور قابل توجهی قدرت رنگی را بهبود داد. داده های تجربی منطبق با مدل چند جمله ای درجه دوم بود و ANOVA پس از آن نشان داد که فرایند رنگرزی طبیعی الیاف پشم با این مدل متناسب است. علاوه بر این، نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ها نشان داد که مقادیر واقعی با مقادیر پیش بینی شده بطور معناداری منطبق بودند [۴].

در روند بهینه سازی استخراج از ریشه روناس به روش های رفلکس و استفاده از حلال، ابتدا در هر دو روش تأثیر اندازه ذرات و ماهیت حلال مورد بررسی قرار گرفته است. عصاره ها به روش HPLC-UV-DAD آنالیز شدند. میزان محصول الیزارین استخراج شده تعیین شده است و تأثیر پارامترهای مختلف بر روی دیگر ترکیبات آنتراکینونی از طریق مقایسه نواحی قله های کروماتوگرافی ارزیابی شده است. روند سینتیک روی نمونه استخراج شده به روش استخراج رفلکسی با مخلوط متانول / آب (۱/۱) به مدت ۵ ساعت مطالعه شده است. لوسیدین پریم اوروزاید، روبریتریک اسید و الیزارین در ۳۰ دقیقه و پورپورین و کوانیزارین در ادامه زمان استخراج حاصل شده اند. ناپدید شدن کوانیزارین در انتهای زمان استخراج می تواند به علت هیدرولیز یا اتریفیکاسیون مولکول در محیط واکنش باشد. پروفایل های کروماتوگرافی بدست آمده بعد از استخراج رفلکسی، با نتایج حاصل از استخراج با حلال یکسان بوده است. در هر دو روش میزان آلیزارین استخراجی با افزایش اندازه ذرات کاهش یافته است و این میزان در عصاره

متانولی بیشتر از اتانولی بوده است. عصاره استخراجی با حلال^۱، غلظتی همچون عصاره رفلکسی داشته که البته در زمان کوتاه‌تر و با میزان حلال کمتری بدست آمده است. با این حال، سرعت استخراج آنتراکینون‌ها در مقادیر کم، به روش استخراج بستگی دارد[۵].

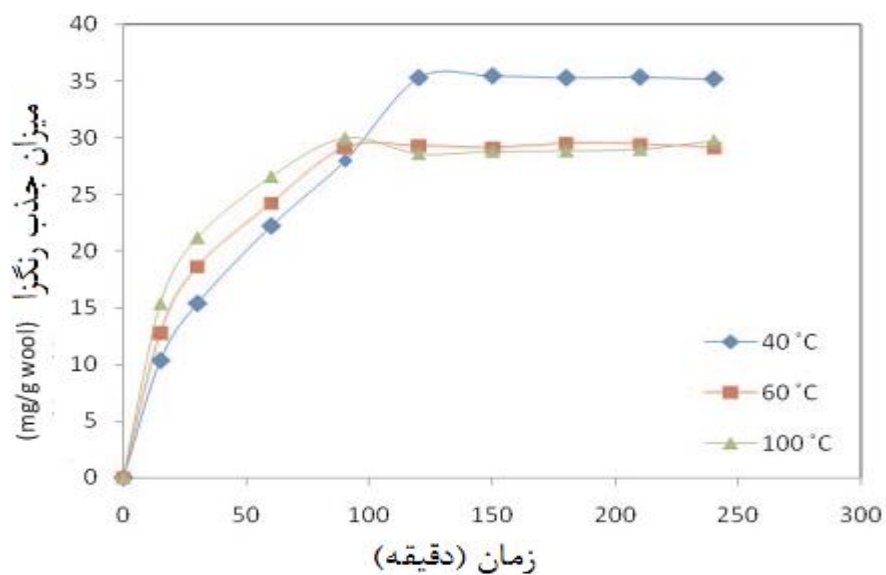
۲.۷. مطالعه روند جذب در رنگرزی با روناس

به منظور مطالعه روند جذب روناس بر روی الیاف پشم شسته شده و دندان‌ها شده با سولفات آلومینیوم در ابتدا محلول روناس آماده شده است و سپس ترکیبات اصلی آن نظیر آلیزارین، پورپورین و کوانیزارین (۱ و ۴ در هیدروکسی آنتراکینون) بوسیله کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) مشخص گردیده است. مقادیر CIELAB نمونه‌های رنگرزی شده با روناس در دما و زمان‌های مختلف اندازه‌گیری شده و نتایج تایید کرده است که جذب روناس توسط الیاف پشم یک فرایند گرمازا است. مطالعه روند جذب روناس در پشم شسته شده و دندان‌ها شده بوسیله مدل شبه مرتبه اول و شبه مرتبه دوم، مرتبه صفر و مدل پخش داخل ذرات در دماهای مختلف منطبق شده است. نتایج نشان می‌دهند که مطالعه روند جذبی روناس بر روی الیاف پشم شسته شده و دندان‌ها شده با مدل شبه مرتبه دوم منطبق شده است[۶].

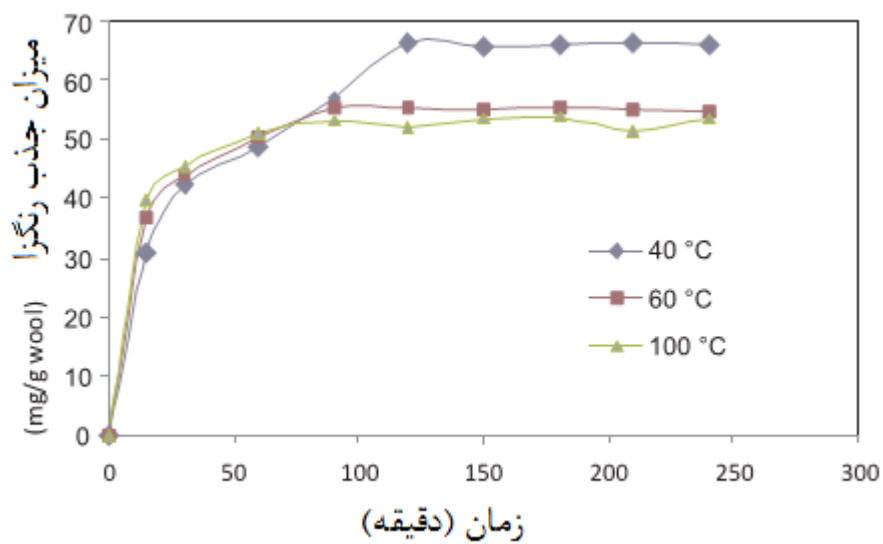
انرژی فعال‌سازی و روند جذبی رنگزای استخراجی از روناس بر روی پشم شسته شده و دندان‌ها شده همچنین بوسیله مدل شبه مرتبه دوم تعیین شده است. نتایج نشان داده است که افزایش دما منجر به کاهش در جذب رنگزا بر روی الیاف پشم شسته شده و دندان‌ها شده گردیده است (شکل ۶-۱ و ۶-۲).

^۱. Assisted Solvent Extraction (ASE)

۱۳۱ اصول رنگرزی طبیعی



شکل ۷-۱: نمودار میزان جذب رنگزا (میلی گرم بر گرم پشم) بر روی الیاف پشم شسته شده بر حسب زمان



شکل ۷-۲: میزان جذب رنگزا (میلی گرم بر گرم پشم) بر روی الیاف پشم دندان شده بر حسب زمان

آنالیز HPLC پساب رنگی برای پشم شسته شده تایید می کند که کاهش در دمای رنگری منجر به کاهش در ترکیبات رنگی باقی مانده در پساب می-شود [۶].

نتایج همچنین نشان می دهد که افزایش زمان رنگری و همچنین کاهش دمای رنگری منجر به کاهش در مقدار آلیزارین و پورپورین در حمام رنگری خواهد شد (جدول ۷-۱).

جدول ۷-۱: تعیین میزان آلیزارین و پورپورین در حمام رنگری از طریق HPLC

۱۰۰°C		۴۰°C		دما
پورپورین	آلیزارین	پورپورین	آلیزارین	رنگزا (میلی گرم بر لیتر)
				زمان (دقیقه)
۳/۳۳	۴/۵۶	۱/۲۱	۲/۶۲	۱۵
۰/۶۹	۱/۵۵	۰/۷۰	۱/۲۹	۴۵
۰/۴۰	۱/۲۶	۰/۵۵	۰/۸۴	۹۰

در این گزارش جذب فیزیکی منبع اصلی انرژی خوانده شده است. جذب فیزیکی نوعی فرایند جذب است که در آن نیروهای موثر، نیروهای بین مولکولی (واندروالس) بوده و در اثر این فرایند جذب، تغییر محسوسی در الگوی اوربیتال الکترونی اتمهای درگیر به وجود نمی آید. این نوع جذب دارای انرژی

فعال سازی نیست و انرژی آزاد شده در طی آن در مقایسه با جذب شیمیایی کمتر است [۶].

۳.۷. کاربرد روناس در زمینه های غیر رنگرزی

عصاره ریشه روبیا تینکتروم شامل برخی ترکیبات خاص دارویی است. از عصاره خام آن برای درمان مشکلات مثانه و سنگ کلیه استفاده می شود [۷]. به ویژه برای درمان بیمارانی که اکسالات کلسیم و فسفات کلسیم در دستگاه ادراری دارند. تحقیقات آزمایشگاهی نشان می دهد که روبریتریک اسید از تشکیل فسفات کلسیم و اکسالات کلسیم جلوگیری می کند. از عصاره ریشه روناس به عنوان ماده تشکیل دهنده فیتوپارما - سیوتیکا^۱ استفاده می شود. که قرص های روبیا تیپ^۲ از مادوس^۳ در کلن آلمان نمونه ای از این فیتوپارما - سیوتیکا است.

بنابراین در نگاهی به خاصیت سمی بودن روناس و جهش زایی لوسیدین از طرف کمیسیون آلمانی مادوس برای منع استفاده از روناس توصیه ای منتشر شد [۷]. آلیزارین می تواند به منظور تغییر رنگ دادن رسوبات کلسیم در بافت های نرم، استفاده بشود. آسیب شناسان پوستی از آلیزارین برای تشخیص کلسیم پوستی در اختلالات پزدوزانتوما الاستیکوم^۴ و کالسینوزیس پوست زیرین^۵ استفاده می کنند. استخوان حیواناتی که از روناس تغذیه می کنند به رنگ قرمز یا صورتی درمی آید. تصور می شود که ترکیب فعالی که مسئول تغییر رنگی است، پزدوپورپورین باشد. آلیزارین همچنین به عنوان نشانگری برای رشد استخوان مورد استفاده قرار می گیرد. آلیزارین و کلسیم رادیواکتیو به طور مشابه در

^۱. phytopharma-ceutica

^۲. RubiaTeep

^۳. Madaus

^۴. pseudoxanthoma elasticum

^۵. Calcinosis cutis

استخوان‌های در حال رشد مثل استخوان جمجمه رسوب می‌کنند. با این حال کلسیم رادیواکتیو برای محقق و بیمار سمی است و این نقطه ضعفی است که در استفاده از آلزارین وجود ندارد.

کاربرد دیگر رونس در استفاده به عنوان رنگ در مواد غذایی است. به دلیل استقبال مصرف کنندگان از محصولات طبیعی به تازگی از رنگ غذای طبیعی به جای نمونه‌های شیمیایی آن استفاده می‌شود. در کشور ژاپن از عصاره ریشه رونس به دلیل خصوصیات حرارتی مشخص و ثبات نوری به عنوان رنگ غذا در پخت شیرینی، ماهی آب پز و نوشیدنی‌های شیرین استفاده می‌شود [۷]. ترکیبات آنتراکینونی در ریشه رونس پس از واکنش دادن با پروتئین موجود در غذا به رنگ بنفش درمی‌آیند.

فعالیت جهش زایی و سرطان زایی عصاره ریشه روبیا تینکتروم در فیتوپارما - سیوتیکا و به عنوان رنگ در غذا سبب تحقیق برای تأمین امنیت در استفاده از آن شده است.

براون و دیتریچ^۱ (۱۹۷۹) برای اولین بار گزارشی در مورد جهش زا بودن لوسیدین ارائه کردند. بعد از آن نویسندگان مختلفی درباره خاصیت جهش زایی این آنتراکینون در چندین گونه سالمونلا تیفیموریوم^۲ تحقیقات بسیاری ارائه دادند.

خاصیت جهش زایی لوسیدین همچنین در آزمایشات جهش زایی نیز مورد آزمایش قرار گرفته است. لوسیدین باعث سنتز DNA برنامه ریزی نشده در سلول‌های کبدی موش صحرایی می‌شود.

^۱. Brown and Dietrich

^۲. salmonella typhimurium

خاصیت جهش زایی لوسیدن موجود در عصاره روبیا تینکتروم سبب نگرانی است به عنوان مثال قرص روبیا تیپ حاوی مقدار اندکی لوسیدین و لوسیدین پریم اوروزاید است و این عصاره در مواردی مثل رنگ در غذا مورد استفاده قرار می گیرد. پریم اوروزاید لوسیدین گلیکوزیدی (ترکیب ریشه روناس) در بدن موش های صحرایی از طریق متابولیسم به لوسیدین و روبیادین جهش زا تبدیل می شوند.

در یک تحقیق کاواساکی^۱ و همکارانش به طور کامل شرح داده اند که خاصیت جهش زدایی در روبیا تینکتروم منحصر به لوسیدین مربوط نمی شود. ریشه های خشک شده روناس با حلال های مختلف عصاره گیری شده و سپس به روش کروماتوگرافی تجزیه و تحلیل شده اند. ۲۰ ترکیب از عصاره ها جداسازی شده و این ترکیبات به منظور خاصیت جهش زدایی شان در سالمونلا تیفیموریوم^۲ تی آ ۱۰۰ یا تی آ ۹۸ مورد آزمایش قرار گرفته اند.

۱- هیدروکسی-۲-متیل آنتراکینون، لوسیدین-۱۰-متیل اتر، روبیادین، زانتوپورپورین، ۷-هیدروکسی-۲-متیل-آنتراکینون، لوسیدین، لوسیدین-۱۰-اتیل اتر، لوسیدین پریم اوروزاید و ترکیب غیر آنتراکینونی مولوجین^۳ خاصیت جهش زایی از خود نشان داده اند.

ترکیب غیر آنتراکینونی مولوجین یک جهش زای مستقیم است. به منظور تعیین رابطه بین ساختار و خاصیت جهش زایی کاواساکی و همکارانش مطالعات بیشتری بر روی ۲۵ انتراکینون انجام داده اند.

^۱. Kawasakie

^۲. Salmonella typhimurium strain TA۱۰۰ and / or TA۹۸

^۳. Mollugin

لوسیدین و مشتقات آلکوکسی (لوسیدین- ω -متیل اتر و لوسیدین- ω -اتیل اتر) به عنوان ترکیب جهش زا معرفی شده اند. روبیادین که می تواند لوسیدینی در نظر گرفته شود که یک گروه هیدروکسی متیل از دست داده است نیز تنها پس از فعالیت متابولیکی است که خاصیت جهش زایی دارد.

انها نتیجه گرفتند که ۱ و ۳ - دی هیدروکسی آنتراکینون با داشتن یک گروه متیل یا هیدروکسی متیل در کربن موقعیت ۲ جهش زا هستند. به منظور جهش زایی مستقیم، یک حالت آمیخته با اکسیژن کربن بنزیلی موقعیت ۲ - اساسی است. این نتایج، یافته های قبلی در مورد جهش زایی لوسیدین را به اثبات رسانید. این مطالعات جهش زایی نشان داد که لوسیدین می تواند به یک ترکیب واکنش دار تبدیل بشود که با DNA و احتمالا با دیگر مولکول ها، ترکیبات افزایشی کووالانسی تشکیل می دهد.

گزارش شده است که لوسیدین با حرارت دیدن با اسیدهای الکلی اترها و استرها را تشکیل می دهد. این موضوع خاصیت راکتیو بودن لوسیدین را آشکار می کند. لوسیدین اتیل اتر و لوسیدین متیل اتر نیز همچنین خاصیت جهش زایی از خود نشان داده اند.

کاواساکی و همکارانش (۱۹۹۴) ثابت کردند که لوسیدین با اسیدهای نوکلئیک و آدنین و گوانین در شرایط فیزیولوژیکی یک ترکیب اضافی تشکیل می دهد. فعالیت آدنین از گوانین بالاتر است و هیچ ترکیب اضافی پرمیدینی تشخیص داده نشده است. این ترکیبات اضافی به عنوان محصولات از یک واکنش در موقیت بنزیلی لوسیدین با یک اتم نیتروژن پایه شناخته شده اند. این پدیده تشکیل یک ترکیب اگزومتیلنی را به عنوان یک واسطه الکتروفیلی ثابت می کند.

پوگینسکی^۱ و همکارانش نیز تشکیل واسطه الکتروفیلی را ارائه دادند که می‌تواند با DNA واکنش دهد.

ترکیباتی مثل نوردامناکانتال (۲-فرمیل-۱ و ۳-دی هیدروکسی آنتراکینون) و مانجستین (۲-کربوکسی-۱ و ۳-دی هیدروکسی آنتراکینون) یک گروه اوکسی اتیلنی در کربن موقعیت ۲ ندارد و خاصیت جهش زایی ندارند، چون که یک دهیدراسیون^۲ آسان به یک گروه اکسوسیکلیک متیلن^۳ در این ترکیبات ممکن نیست.

جایگزینی ۱ و ۳ دی هیدروکسی بطور چشمگیری جهش زایی را کاهش می‌دهد چون اگزومتیلن الکتروفیلی مشتق شده از ترکیب جایگزین، مثل لوسیدین پریم اوروزاید به عنوان یک توتومر پایدار نمی‌تواند وجود داشته باشد [۷].

نتایج غربالگری اولیه عصاره‌های متانولی روبیا تینکتروم و رامنوس فرانگولا^۴ از تیره توسکا (آلیزارین و ایمودین) در مقایسه با خاصیت ضدقارچی گل‌سنگ کالوپلاکل سرینا^۵ (و ترکیب پاریتین^۶، متابولیک ثانویه اصلی آن) نشان داده است که عصاره‌های مورد آزمایش در برابر قارچ‌ها بطور قابل توجهی فعال هستند. هر سه عصاره حاوی مشتقات آنتراکینونی به صورت متابولیت‌های ثانویه اصلی هستند. با این حال، اگلیکون‌های آنتراکینونی اصلی جدا شده از گیاهان (آلیزارین و ایمودین) و از گل‌سنگ (پاریتین) نسبت به عصاره‌های مرتبط فعالیت کمتری در برابر قارچ داشته‌اند. در بین مواد مورد آزمایش بهترین فعالیت بوسیله عصاره

^۱. Poginsky

^۲. Dehydration

^۳. Exocyclic methylene group

^۴. Rhamnus frangula

^۵. Caloplaca cerina

^۶. Parietin

گل‌سنگ در مقابل تریکودرما ویرید^۱ نشان داده شده است. در حالی که در مورد متابولیت‌ها، ایمیدین بیشترین فعالیت را در مقابل آلترناریا آلترنیت^۲ نشان داده است [۸].

نتایج بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی، متانولی، اتیل استاتی و آبی روبیا تینکتروم به روش دیسک دیفیوژن نشان داده است که روبیا تینکتروم در مقابل برخی باکتری‌های گرم مثبت^۳ و گرم منفی، مخمرها، کپک قارچی و گروهی از باکتری‌های مثبت به نام اکتینومیسیت^۴ دارای خاصیت ضد میکروبی است [۹].

با توجه به گزارش مانجلیوک^۵ در سال ۲۰۰۵ مبنی بر فعالیت ضد قارچی روبیا تینکتروم در برابر تریکودرما ویرید و دوراتومیس استمونیتیس^۶ و پنی سیلیوم وروکسیوم^۷ و نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان گفت که انتظار می‌رود تأثیر عصاره‌های روبیا تینکتروم روی میکروارگانیسم‌ها بکار رفته بر طبق خواص ضد میکروبی مواد موجود در این عصاره‌ها تفاوت داشته باشند. همچنین اینکه عصاره ریشه‌های روبیا تینکتوم نسبت به عصاره‌های اندام هوایی آن از خاصیت ضد میکروبی بیشتری برخوردار هستند و تمامی عصاره‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی مشابهی روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی هستند [۹].

بررسی تأثیرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی، متانولی و کلروفرمی روبیا تینکتروم، گلرنگ و برگ گردو (از آنجایی که مواد طبیعی دارای عوارض جانبی

^۱. *Trichoderma viride*

^۲. *Alternaria alternata*

^۳. Gram (+) bacteria

^۴. actinomycete

^۵. Manojlovic

^۶. *Doratomyces stemonitis*

^۷. *Penicillium verrucosum*

کمتر و واکنش‌های ناخواسته کمتری با محیط زیست هستند، لذا از این سه گل و گیاه در این تحقیق استفاده شده است) بر روی برخی میکروارگانیسم‌های موجود در هوا که می‌توانند سبب واکنش‌های آلرژیک، آلودگی منسوجات مخصوصاً در محیط‌های مرطوب، آلودگی دانه و مسمومیت غذایی بشوند، با استفاده از روش‌های مرسوم که معمولاً در میکروبیولوژی به این منظور استفاده می‌شود، نشان داده است که عصاره این گیاهان دارای خواص ضد میکروبی در برابر برخی باکتری‌های باکیلوس^۱ و برخی قارچ‌ها هستند. اثرات ضد میکروبی مشخص شده میکروب کش هستند. عصاره‌های آبی و کلروفرمی به ترتیب بیشترین و کمترین اثرات میکروب کشی را دارا هستند. عصاره آبی گلرنگ و برگ گردو نیز به ترتیب دارای بیشترین و کمترین اثرات میکروب کشی هستند [۱۰].

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس^۲ یکی از معمولی‌ترین باکتری‌ها است که باعث عفونت در انسان می‌شود. مقاومت افزایشی آن باعث شده تا با رشد دادن آن در ساخت آنتی بیوتیک و ورود داروهای جدید به بازار استفاده بشود. گونه‌هایی از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مثل وانکومایسین^۳ در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها مقاوم هستند. از آنجا که مقاومت این باکتری به وانکومایسین در حال افزایش است، مهم است که وانکومایسین با داروهای دیگری جایگزین شود. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی ایرانی انتخاب شده روی گونه‌های بالینی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم به وانکومایسین و بررسی عصاره هیدروالکلی اندام‌های گیاه با اثرات آزمایشگاهی ضد میکروبی گزارش شده، شامل لاجناریا ولگاریس^۴، پوست انار، موسیر، مرزنجوش ایرانی،

^۱. Bacillus

^۲. Staphylococcus epidermidis

^۳. Vancomycin

^۴. Lagenaria vulgaris

گزنه، کاسنی معمولی، روبیا تینکروم، شنبلیله، خردل سوفیا و پسته با استفاده از دیسک دیفیوژن و آزمایشات حساسیت ضد میکروبی رقیق در محیط مایع برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده ۱۵ گونه استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مقاوم در برابر اپیدرمیدیس نشان داده است که بالاترین و پایین ترین غلظت به ترتیب در عصاره موسیر ($128 \mu\text{g/ml}$ MIC $_{50}$) و لاجناریا ولگاریس ($\mu\text{g/ml}$) یافت شدند. از آنجا که مقاومت در برابر وانکومایسین در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در حال رشد است، یافته های این مطالعه ممکن است به دلیل اثر قابل توجه عصاره موسیر روی مقاومت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا سازی شده در برابر وانکومایسین مهم باشد. در این میان روبیا تینکتروم با میزان غلظت ($256 \mu\text{g/ml}$ MIC $_{50}$) نتیجه متوسطی را به همراه داشته است [۱۱].

از ریشه روبیا تینکتروم در مراکش بطور سنتی برای درمان بیماری های دستگاه گوارش استفاده می شده است. یک مطالعه به منظور بررسی اثر ضد انقباضی عصاره آبی روناس^۱ بر روی موش انجام شده است. اثر فوق بر روی انقباض خودبخودی در شرایط آزمایشگاهی بر روی ژژونوم^۲ جدا شده از خرگوش ها در شرایط حضور و عدم حضور مهارکننده آدرنرژیک (پرازوزین، پراپرانولول و یوهیمبین^۳) بررسی شده است. این اثر بر روی ژژونوم موش های از قبل منقبض شده بوسیله کرباکول^۴ و کلرید پتاسیم غنی شده با محلول بافر KHB بررسی شده است. این بررسی فعالیت ضد اسپاسم روناس را که احتمالاً مربوط به مهار

^۱.Aqueous Extract of Rubia tinctorum L (AR)

^۲. Jejunum

^۳.Yohimbine

^۴.Carbachol

اصول رنگرزی طبیعی ۱۴۱

هجوم کلسیم و یا مختل کردن یکی از مراحل متعدد بیوشیمیایی مرتبط با هجوم کلسیم به سلول‌های ماهیچه‌ای صاف است، را نشان می‌دهد. این بررسی می‌تواند دلیل استفاده کردن از روناس را در حل مشکلات گوارشی توضیح بدهد [۱۲].

منابع

١. Padma S. Vankar, Rakhi Shanker, Debajit Mahanta, S.C. Tiwari, Ecofriendly sonicator dyeing of cotton with *Rubia cordifolia* Linn. using biomordant, *Dyes and Pigments* ٧٦ (٢٠٠٨) ٢٠٧-٢١٢.
٢. Guillaume Cuoco, Carole Mathe, Paul Archier, Mohamed El Maâtaoui, Cathy Vieillescazes, Cytological and phytochemical study of madder root extracts obtained by ultrasonic and classical extractions, *Phytochem. Anal.* ٢٠٠٩, ٢٠, ٤٨٤-٤٩٠.
٣. Minoo Dabiri^١, Shabnam Salimi, Alireza Ghassempour, Ali Rassouli, Mohammad Talebi, Optimization of microwave-assisted extraction for alizarin and purpurin in Rubiaceae plants and its comparison with conventional extraction methods, *J. Sep. Sci.* ٢٠٠٥, ٢٨, ٣٨٧ - ٣٩٦.
٤. Hossein Barani, Homa Maleki, Plasma and Ultrasonic Process in Dyeing of Wool Fibers with Madder in Presence of Lecithin, *Journal of Dispersion Science and Technology*, ٣٢:٨, ١١٩١-١١٩٩.
٥. Jean-François Blanco, Nouzha Habbadi, Didier Kleiber, Yolande Pérès-Lucchese, David Riboul, Frédéric Violleau, Influence of particles size and nature of solvent in reflux and ASE extraction of anthraquinones from *Rubia Tinctorum* L.,
٦. K. Farizadeh, M.E. Yazdanshenas, M. Montazer, R.M.A. Malek and A. Rashidi, Kinetic Studies of Adsorption of Madder on Wool Using Various Models, *Textile Research Journal*, ٢٠١٠ ٨٠: ٨٤٧.
٧. Goverdina.C.H.Derksen, RED, REDDER, Madder, Analysis and isolation of anthraquinones from madder roots (*Rubia tinctorum*), Wageningen university, ٢٠٠١, chapter ١.
٨. N.T. Manojlovic, S. Solujic, S. Sukdolak, M. Milosev, Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*, *Fitoterapia* ٧٦ (٢٠٠٥) ٢٤٤ - ٢٤٦.

۹. Fatih Kalyoncu, Burcu Cetin, Hüsniye Saglam, Antimicrobial Activity of Common Madder (*Rubia tinctorum* L.), PHYTOTHERAPY RESEARCH. ۲۰, ۴۹۰-۴۹۲ (۲۰۰۶).
۱۰. Sedigheh Mehrabian, Ahmad Majd, Iman Majd, Antimicrobial effects of three plants (*rubia tinctorum*, *carthamus tinctorius* and *juglans regia*) on some airborne microorganisms, *Aerobiologia* ۱۶: ۴۵۵-۴۵۸, ۲۰۰۰.
۱۱. Abachi S, Khademi F, Fatemi H, Malekzadeh F, Study of Antimicrobial activity of selected Iranian plant extracts on vancomycin resistant *Staphylococcus epidermidis*, *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, ۴ (۲۰۱۳), PP ۵۹-۶۳.
۱۲. Ahmed Karim, Mohamed Bnouham, Hassane Mekhfi, Abderrahim Ziyat, Souliman Amrani, Abdelkhaleq Legssyer, Mohammed Aziz, Antispasmodic Effect of Aqueous Extract of *Rubia tinctorum* L. Roots on Rodents, *J. Med. & Allied Health Sciences* ۱(۱), ۰۱-۰۵, ۲۰۱۲.

