بیست و یکمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و هفتمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۲۳ تا ۲۵ دی ماه ۱۳۹۳، دانشگاه شهید بهشتی

بررسی اثر حذف فلورسانس از طیف‌های رامان برای انجام تحلیل کمی اسانس آویشن

هانیه خوش‌رو، حسین خادم، سید حسن توسلی

تهران، اوین، بلوار دانشجو، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده لیزر و پلاسما

چکیده – در این مقاله اثر حضور و حذف فلورسانس با استفاده از روش فیلترهای تبدیل فوریه در تحلیل کمی نمونه بررسی شده است. با استفاده از طیف سنجی رامان، بر روی نمونه اسانس آویشن که از مهم‌ترین گیاهان دارویی محسوب می‌شود، تحلیل کمی و کیفی صورت گرفته است. تیمول در این نمونه تشخیص داده شد و عملکرد چیدمان رامان برای سنجش غلظت تیمول، توسط نمودار کالیبراسیون در دو بخش سنجیده شد. بخش اول ، طیف‌ها حامل فلورسانس بوده و در بخش دوم، طیف‌ها فیلتر شده و فلورسانس از آن-ها حذف شد.

کلید واژه- تحلیل کمی، اسانس آویشن، طیف‌سنجی رامان، نمودار کالیبراسیون.

The effect of fluorescence removal from Raman spectra in quantitative analysis of Thyme essential oil

Hanieh Khoshroo, Hosein Khadem, Seyed Hassan Tavassoli

Laser and Plasma Research Institute, University of Shahid Beheshti, Evin, Tehran

Abstract- In this paper, the effect of presence and removal of fluorescence has been investigated by Fast Fourier Transform filters in quantitative analysis. Qualitative and quantitative analysis were performed by Raman spectroscopy on Thymus Daenensis essential oil which is one of the most important medical plants in the world. Thymol was detected in those samples and Raman setup performance was measured by calibration curve in two parts. In the first part the spectra carried fluorescence and in the second, fluorescence was rejected.

Keywords: Raman Spectroscopy, quantitative analysis, calibration curve, thyme essential oil

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-12]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱- مقدمه

طیف‌سنجی رامان، روشی سریع، ارزان و غیرتهاجمی برای تحلیل انواع نمونه‌های جامد، مایع و گازی است. یکی از مشکلات طیف‌سنجی رامان در خصوص نمونه‌های زیست-شناسی وجود فلورسانس در طیف‌ها است. برای حذف فلورسانس روش‌های مختلف عملی از جمله تغییر طول-موج لیزر یا استفاده از چیدمان تبدیل فوریه و نظری از جمله انتقال طیف[1] و فیلترهای تبدیل فوریه[2] [1] وجود دارد.

اسانس‌های گیاهی[3] ترکیبات معطر و روغنی شکلی هستند که از نواحی مختلف گیاه به‌دست می‌آیند. روش مرسوم مورد استفاده برای شناخت و تجزیه اسانس‌ها روش گران و پرهزینه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف-سنجی جرمی است. با توجه به نتایج به دست آمده از این روش، ترکیب اصلی اسانس آویشن ، تیمول[4] می‌باشد [2]. گیاه آویشن با دارا بودن این ترکیب شیمیایی ضدعفونی کننده و دارویی از پرمصرف‌ترین و ارزشمند-ترین گیاهان جهان می‌باشد.

در این مقاله ابتدا نمونه آویشن تشخیص داده شد، سپس امکان غلظت‌سنجی ترکیب تیمول با رسم نمودار کالیبراسیون توسط طیف‌سنجی رامان و روش فیلترهای تبدیل فوریه بررسی شد و همانند تحقیقات انجام شده در دیگر نقاط جهان، سعی بر مقایسه این روش و جایگزین ساختن آن با روش کروماتوگرافی گازی شده است [3].

۲- روش تجربی

۲-۱- مواد و آماده‌سازی نمونه‌ها

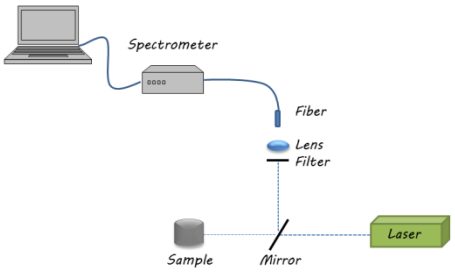
در بخش تحلیل کیفی، نمونه‌های مورد آزمایش، اسانس-هایی هستند که از آویشن دنایی کشت شده در مزرعه شرکت داروسازی خرمان، در منطقه کشکان استان لرستان، در زمان گل‌دهی گرفته شده. نمونه‌های مربوط به بخش کالیبراسیون، نمونه‌های استاندارد هستند که در آزمایشگاه ساخته شده‌اند. این نمونه‌ها با حل کردن کریستال تیمول خالص که کریستالی بی‌رنگ با وزن مولکولی g/mol ۱۵۰.۲۲در حلال هگزان، با غلظت‌های مشخص به‌دست آمده‌اند. ابتدا غلظت ۵ مولار ساخته شد، غلظت را تا ۱ مولار پایین آورده و طیف‌گیری انجام شده است. تیمول یا اسید تیمیک، فنولی به فرمول $C_{10}H_{14}O$ است.

۲-۲- نمودار کالیبراسیون

در رسم نمودار کالیبرسیون از ارتفاع قله $۷۴۲cm^{-1}$ مربوط به ارتعاش حلقوی مولکول تیمول برای نسبت دادن تغییر ارتفاع قله در طیف رامان به تغییر غلظت در نمونه استفاده شده است[3] . در بخش اول، ارتفاع قله بدین صورت به‌دست آمد که میانگین پایه‌ها از ارتفاع خالص قله کم شد و در بخش دوم از یک فیلتر بالاگذر برای حذف فلورسانس استفاده شد و همچنین ارتفاع خالص قله درنظر گرفته شد. در هر دو بخش از هر نمونه با غلظت خاص ۵ بار طیف‌گیری شد و میانگین آن به عنوان ارتفاع مشخص کننده در نظر گرفته شد. برای رسم نمودار و فیلتر کردن طیف‌ها از نرم‌افزار Origin Pro 8 استفاده شد.

۲-۳- چیدمان آزمایش

همانطور که در شکل ۲-۱ مشاهده می‌شود، از چیدمان ۱۸۰ درجه برای طیف‌گیری استفاده شده است. در این چیدمان نور لیزر



شکل ۲-۱: چیدمان مورد استفاده در آزمایش‌ها

پس از عبور از آینه به نمونه برخورد کرده و پراکنده می-شود. نور حاصل از پراکندگی در زاویه ۱۸۰ درجه، مجددا به آینه برخورد می‌کند و بعد از عبور از فیلتر شکافی که در ناحیه ۶±۵۳۲ نانومتر عمل می‌کند، توسط یک

[1] Shifted Spectra

[2] Fast Fourier Transform Filters (FFT Filters)

[3] Essential oil

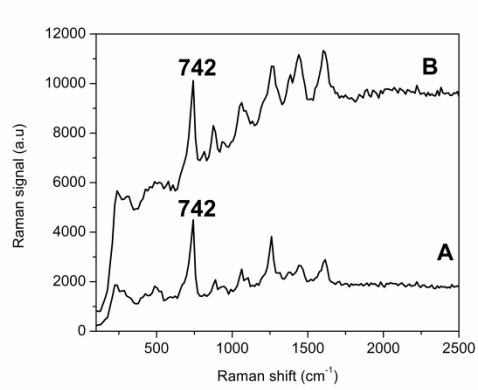
[4] Thymol

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-12]

عدسی بر روی فیبر نوری کانونی می‌شود. برای تحلیل طیف‌ها از یک طیف‌سنج Ocean Optics HR2000 +ES استفاده شده است.

۳- نتایج و تحلیل

ابتدا از تیمول خالص که به شکل بلور است طیف رامان گرفته که در آن قله مربوط به ارتعاشی حلقوی تیمول در ۷۴۲ cm^{-1} دیده می‌شود. سپس از یک نمونه اسانس آویشن انتخابی طیف‌گیری شده است. در
جدول ۳-۱ نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی این نمونه دیده می‌شود. با ملاحظه این جدول مشخص می‌شود که بیش‌ترین حجم اسانس را تیمول تشکیل می‌دهد. در شکل ۳-۱طیف رامان این دو نمونه را مشاهده می‌کنیم و همانطور که انتظار می‌رود



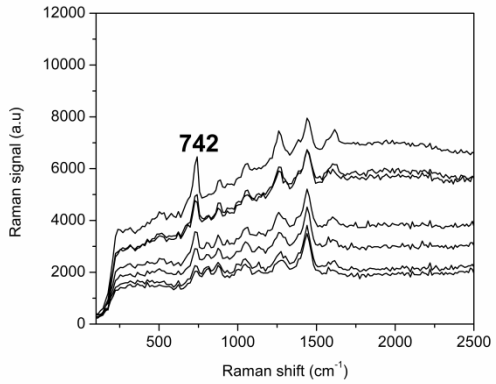
شکل ۳-۱: مقایسه طیف رامان A) تیمول خالص وB) نمونه مورد آزمایش

جدول ۳-۱: ترکیبات تشکیل دهنده نمونه اسانس مورد آزمایش

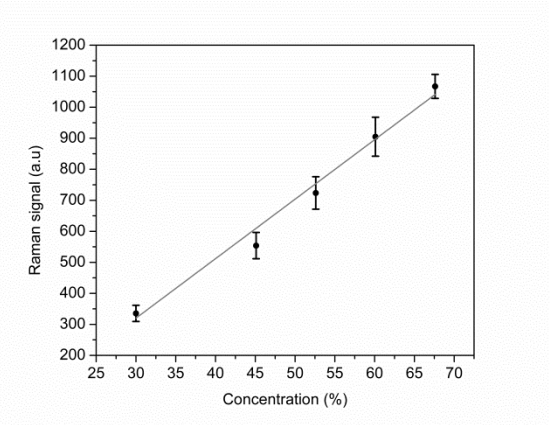
شماره	ترکیب	مقدار (٪)
۱	thymol	۹۰/۰
۲	p-cymene	۸/۴
۳	Beta-caryophyllene	۰/۶
۴	Gama-terpinene	۰/۳
۵	Gama-terpinene	۰/۱

طیف رامان همانند نتایج حاصل از آنالیز کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی وجود تیمول را به‌خوبی نشان می‌دهد.

با دقت در طیف‌های رامان گرفته شده از اسانس آویشن، دیده می‌شود که به‌همراه قله‌های رامان، طیف پهن فلورسانس نیز وجود دارد اما قله‌های رامان و بخصوص قله ۷۴۲cm^{-1}، به خوبی دیده می‌شوند. پس می‌توان از ارتفاع این قله برای سنجش غلظت تیمول در آویشن استفاده کرد. شکل ۳-۲ طیف‌های رامان گرفته شده از نمونه های استاندار با غلظت تیمول ۷۵/۱ تا ۲۲/۵ را نشان می‌دهد. شکل ۳-۳ نمودار کالیبراسیون رسم شده با طیف‌های شکل ۳-۲ را نشان می‌دهد. این نمودار در حضور فلورسانس و با غلظت‌هایی که بهترین پاسخ را می‌دهند رسم شده است.



شکل ۳-۲: طیف رامان غلظت‌های مختلف تیمول محلول در هگزان. غلظت‌ها از بالا به پایین کاهش می‌یابند



شکل ۳-۳: نمودار کالیبراسیون در حضور فلورسانس.

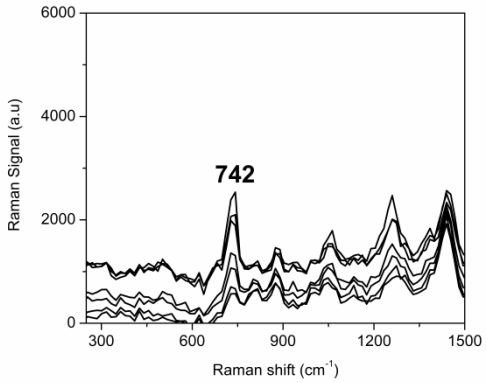
نتایج حاصل از رسم نمودار در جدول ۳-۲ دیده می‌شود. همچنین حد آشکارسازی که از رابطه $LOD = \frac{3\sigma}{S}$ به‌دست می‌آید نیز محاسبه شد. در این رابطه σ انحراف معیار برای یک بازه نویزی نزدیک به قله مورد نظر و s شیب نمودار است. شکل ۳-۴ طیف‌های رامان مربوط به همان غلظت‌ها، پس از فیلتر و حذف شدن

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-12]

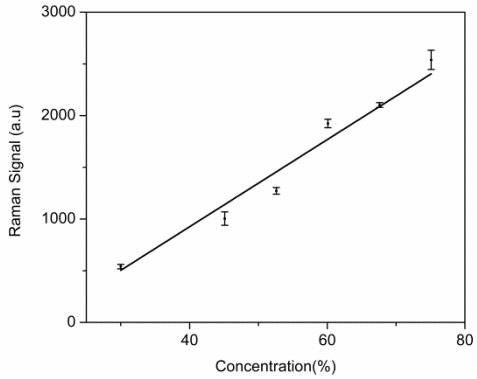
فلورسانس را نشان می‌دهد. نمودار کالیبراسیون برای این حالت در شکل ۳-۵ نشان داده شده است و نتایج حاصل نیز در جدول ۳-۳ نشان داده شده است.

جدول ۳-۲: نتایج نمودار کالیبراسیون در حضور فلورسانس

شیب خط	ضریب خطی سازی	خطای استاندارد	حد آشکارسازی(درصد)
۱۹/۱۷	۰/۹۹	۱/۱۵	۱۴/۱۲



شکل ۳-۴: طیف رامان غلظت‌های مختلف پس از فیلتر شدن.



شکل ۳-۵: نمودار کالیبراسیون پس از فیلتر شدن طیف‌ها.

جدول ۳-۳: نتایج نمودار کالیبراسیون با حذف فلورسانس

شیب خط	ضریب خطی سازی	خطای استاندارد	حد آشکارسازی(درصد)
۴۲/۱۲	۰/۹۷	۰/۷۹	۵

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله اثر حذف فلورسانس از طیف رامان نمونه اسانس آویشن برای انجام تحلیل کیفی بررسی شد. همانطور که در نتایج مشاهده شد، روش فیلترهای تبدیل فوریه که روشی قابل اطمینان برای حذف فلورسانس است، نتایج آزمایش را به‌طور مثبتی تغییر می‌دهد. استفاده از این روش به‌عنوان مکملی به‌همراه طیف‌سنجی رامان برای تشخیص وجود تیمول در نمونه‌ها وتعیین غلظت آن ، می‌تواند روش رامان را به عنوان جایگزینی مناسب،کم هزینه و سریع‌تر نسبت به روش کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی در تجزیه و تحلیل اسانس آویشن معرفی کند.

۵- مراجع

[1] P.A. Mosier-Boss, S.H. Lieberman, R. Newbery, *Fluorescence rejection in Raman Spectroscopy by Shifted-Spectra, Edge Detection, and FFT Filtering Techniques*, **Applied Spectroscopy**.49(1995).

[2] H. Schulz, M. Baranska, H-H. Belz, P. Rosch, M.A. Strehle, J. Popp, *Chemotaxonomic characterisation of essential oil plants by vibrational spectroscopy measurements*, **Vibrational Spectroscopy** 35 (2004) 81–86.

[3] H. Schulz, G. O. zkan and M. Baranska, *Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy*,**Vibrational Spectroscopy**. 39(2005) 249–256.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-07-12]