نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد ششم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۳۹۷
شماره صفحه: ۱۶۶-۱۵۵
http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2017.677.1026

Archive of SID

معرفی شناساگر pH گیاهی از گلبرگ زعفران و تعیین میزان آنتوسیانین ضایعات آن

قدسیه باقرزاده [۱*] و مریم منظری توکلی [۲]
۱- دانشیار آزمایشگاه، تحقیقاتی شیمی آلی،گروه شیمی، دانشگاه بیرجند
۲-کارشناسی ارشد گرایش فیتوشیمی آزمایشگاه تحقیقاتی شیمی آلی،گروه شیمی، دانشگاه بیرجند
* نویسنده مسئول: Email: ghbagherzade@birjand.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۲۶

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی از خانواده زنبقیان می‌باشد که در دنیا به عنوان یک ادویه گران‌قیمت شناخته شده است. اما همزمان بخش زیادی از این گیاه یا همان گلبرگ به صورت ضایعات بی‌استفاده دور ریخته می‌گردد. رنگ گلبرگ زعفران به علت وجود ترکیباتی به نام آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها است. آنتوسیانین‌ها دسته‌ای از ترکیبات طبیعی و در گروه متابولیت‌های ثانویه و متعلق به خانواده فلاونوئیدها می‌باشند. شناساگرها ترکیبات رنگین آلی با ساختاری پیچیده هستند که در محلول‌ها، با تغییر pH تغییر رنگ می‌دهند. در این تحقیق ضایعات زعفران مربوط به ۳۲ منطقه از مزارع استان‌های خراسان رضوی، خراسان جنوبی و کرمان درآبان ماه جمع‌آوری و به فریزر با دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. میزان آنتوسیانین موجود اندازه‌گیری و سپس میزان بارندگی و دمای مناطق مختلف در ماه‌های فروردین تا آبان سال ۱۳۹۳ تعیین شد و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین محتوی آنتوسیانین و بارش رابطه خطی معنی‌دار و مثبتی وجود دارد. با توجه به حضور فراوان آنتوسیانین‌ها در ضایعات زعفران، تلاش موفقیت‌آمیزی در جهت استفاده از این رنگدانه طبیعی به عنوان شناساگر به عمل آمد. نتایج نشان داد که رنگ آنتوسیانین‌ها به pH محیط وابسته است. لذا از آن‌ها می‌توان به عنوان شناساگری طبیعی و مؤثر برای شناسایی اسید و باز استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات طبیعی، رنگدانه طبیعی، شناساگر طبیعی، متابولیت‌های ثانویه، میزان بارش.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

قبل از تهیه رنگ‌های مصنوعی، برای مصارف خوراکی، داروئی و صنعتی از رنگ‌های طبیعی استفاده می‌شد، لیکن با تهیه رنگ‌های مصنوعی، استفاده از رنگ‌های طبیعی رو به کاهش رفت. رفته‌رفته به مرور زمان مشخص گردید که رنگ‌های مصنوعی برای تغذیه انسان خالی از خطر نیست. لذا اخیراً توجه به رنگ‌های طبیعی مورد توجه مجدد قرار گرفته است. رنگ‌های طبیعی به طور گسترده‌ای در تمام طبیعت، در میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و ریشه‌ها وجود دارند. مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: کلروفیل، فلاونوئید، پروآنتوسیانین‌ها، کاروتنوئید، آنتوسیانین‌ها و کورکومین.

زعفران گیاهی متعلق به خانواده زنبق است. برای تولید یک کیلوگرم زعفران خشک حدود ۱۵۰۰۰۰ گل لازم است، بنابراین، مقدار زیادی گل زعفران برای به دست آوردن این مقدار کلاله خشک استفاده می‌شود که در نهایت حدود ۷۵ کیلوگرم گلبرگ به عنوان ضایعات تولید می‌شود (Kakouri et al., 2017).گلپوش‌های زعفران (کاسبرگ و گلبرگ) که معمولاً بعد از بیرون کشیدن خامه و کلاله به دور ریخته می‌شوند نیز حاوی مواد رنگی هستند که می‌توانند در صنایع غذایی، دارویی، شیرینی‌پزی و نوشابه‌سازی مورد مصرف قرار گیرند. و سالانه با استفاده از آن از خروج مقادیر زیادی ارز جلوگیری گردد.

زعفران گیاهی است که به طور عمده برای تولید ادویه از کلاله (با ارزش‌ترین اندام اقتصادی گیاه) استفاده و بقیه قسمت‌ها دور ریخته می‌شود. حدود ۹۰ درصد از گلبرگ‌های این گیاه بدون استفاده باقی می‌ماند. در حالی‌که ترکیب‌های فیتوشیمیایی برگ‌های این گیاه به تازگی علاقه جامعه علمی را به دلیل استفاده بالقوه در حوزه سلامت و صنایع غذایی به خود جلب کرده است (Tuberoso et al., 2016).

تاکنون در کلاله پروتئین‌ها، لیپیدها و مواد معدنی (شامل پتاسیم، منیزیم، کلسیم، آهن، پتاسیم و سدیم) (Serrano-Díaz et al., 2014) و مشتقات کاروتنوئیدی (کروستین، کروسین و لوتئین دی‌استرها) (Montoro et al., 2012; Goupy et al., 2013) مونوترپنوئیدها (پیکروکروسین، کروسین)، ترکیبات فنولی (بنزوئیک اسید، هیدروکسی سینامیک اسید) (Li et al., 2004) آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها (Serrano-Díaz, 2014) شناسایی شدند.

به طور معمول در مواد غذایی دریافتی روزانه مقادیر زیادی از رنگدانه‌های طبیعی به خصوص آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها مصرف می‌شود. رنگ‌های طبیعی از نظر خواص فیزیکی و شیمیایی دارای انواع متفاوتی هستند و تعدادی از آنها نسبت به اکسیداسیون، تغییر pH نور و حلالیت ذاتاً حساسند. این رنگ‌ها دارای پایداری کم بوده و نسبت به رنگ‌های صنعتی گران‌تر هستند.

آنتوسیانین‌ها متعلق به گروه فلاوونوئیدها و از پلی‌فنل‌ها بوده و دارای یک اسکلت $C_6C_3C_6$ فلاونوئیدی می‌باشند. آنتوسیانین‌ها مشتقات گلیکوزیله پلی‌هیدروکسی و پلی‌متوکسی از کاتیون ۲- فنیل بنزوپیریلیوم (کاتیون فلاویلیوم) می‌باشند. قسمت اصلی آنتوسیانین‌ها قسمت آگلیکون، کاتیون فلاویلیوم می‌باشد که شامل پیوندهای دوگانه است. مطالعات بسیاری فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و فواید سلامتی وجود آنتوسیانین‌ها را در میوه‌های مختلف و سبزیجات نشان می‌دهد.

از آنجا که فلاویلیوم در آنتوسیانین‌ها کمبود الکترون دارد، محلول‌های حاوی آنتوسیانین آمادگی شرکت در واکنش‌های تجزیه یا تغییر رنگ را دارا می‌باشند. آنتوسیانین‌ها ترکیباتی بسیار ناپایدار بوده و به‌راحتی مستعد تخریب می‌باشند. پایداری آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر pH، نور، اکسیژن، دمای نگهداری، حضور آنزیم‌ها، دی اکسید گوگرد، یون‌های فلزی، کوپیگمان‌ها، ساختمان و غلظت آنتوسیانین‌ها و حضور ترکیبات دیگر همچون سایر فلاونوئیدها و مواد معدنی قرار دارد (Francis, 1989).

تجزیه آنتوسیانین‌ها در pHهای بالاتر زیادتر صورت می‌گیرد. بسیاری از آنتوسیانین‌ها در شرایط اسیدی قرمز رنگ هستند و هر چه اسیدیته کمتر شود، به رنگ آبی-بنفش نزدیک‌تر می‌گردد. تاکنون حدود ۱۴۰ نوع آنتوسیانین در طبیعت شناسایی شده است. آنتوسیانین‌ها از یک قسمت غیرقندی به نام آنتوسیانیدین تشکیل شده‌اند که با منوساکاریدهایی نظیر گلوکز، گالاکتوز، آرابینوز و رامنوزو یا با دی‌ساکاریدهایی نظیر روتینوز[1] و یا تری‌ساکاریدها[2] ترکیب شده‌اند. در مواد غذایی فقط شش نوع از

1. Rutinose

2. Glucosyl Rutinoside

www.SID.ir

Archive of SID

آنتوسیانیدین‌ها[1] حائز اهمیت هستند که عبارتند از: پلارگونیدین[2]، سیانیدین[3]، دلفینیدین[4]، پئونیدین[5]، پتونیدین[6] و مالویدین[7].

تفاوت آنها در محل قرار گرفتن و تعداد گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی آن‌ها در مولکول آنتوسیانیدین است به طور کلی، سیانیدین‌ها در حد گسترده‌تر و فراون-تری نسبت به سایر انواع آنتوسیانیدین‌ها در طبیعت وجود دارند. جانشینی گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی در مولکول آنتوسیانین‌ها بر رنگ آنها تأثیرگذار می‌باشند. افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل رنگ آبی تندتری را ایجاد می‌کند. اما حضور گروه‌های متوکسی بر شدت رنگ قرمز می‌افزاید.

در این مطالعه به جداسازی و اندازه‌گیری آنتوسیانین از ضایعات زعفران در استان‌های خراسان و کرمان پرداخته شده و همچنین بررسی تأثیر دمای هوا و میزان بارش بر مقدار آنتوسیانین آنها و از طرف دیگر، ساخت شناساگر pH گیاهی از گلبرگ زعفران مورد بحث قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه: ضایعات زعفران در آبان ماه سال ۱۳۹۳ از مزارع مختلف استان‌های خراسان رضوی، خراسان جنوبی و کرمان جمع‌آوری گردیدند. به منظور انجام آزمایشات، نمونه‌ها به فریزر با دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

اندازه‌گیری و مقایسه میزان آنتوسیانین: به مقدار ۱۲ گرم از ضایعات زعفران، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر حلال اتانول اضافه و بمدت ۲۴ ساعت به روش ماسیراسیون عصاره‌گیری انجام شد. به منظور اطمینان از آزاد شدن تمام ترکیبات در حلال، به مدت یک ساعت نمونه‌ها در معرض امواج اولتراسونیک (BANDELIN SONOREX DIGITEC, Type: DT 255 H SN: 3240, 00065150.020 HF-Frequent: 35 KHZ) قرار داده شدند.

به منظور پیدا کردن شرایط بهینه، از نمونه‌های خشک و منجمد ضایعات زعفران به کمک سه حلال آب، متانول و اتانول و طی زمان‌های مختلف استفاده و جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrophotometer UV–Vis 2501 PC Shimadzu, Japan) قرائت شد (Byamukama et al., 2006; Castañeda-Ovando et al., 2009; Qin et al., 2013; Ivanovic et al., 2014; Shao-qian., 2012). سپس عصاره‌ها صاف شدند. پنج میلی‌لیتر از محلول HCl ۰/۱ درصد حجمی به پنج میلی-لیتر از عصاره‌ها اضافه و محلول‌ها در ۵۰۰۰rpm به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۸ نانومتر قرائت و آنتوسیانین با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$\mathrm{TAC(g/100\ g)} = \frac{A.5000}{718.m} \quad \text{معادله (۱)}$$

با این روش، میزان آنتوسیانین، در نمونه‌ها به دست آمد و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت (Wang et al., 2014; Ogata et al., 2001; Nakabayashi et al., 2009; Wiczkowski et al., 2013; Deng et al., 2013).

ساخت شناساگر pH گیاهی از گلبرگ: بدین منظور، از عصاره اتانولی گلبرگ زعفران استفاده شد. به این ترتیب که عصاره‌گیری به روش خیساندن و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط انجام شد. سپس عصاره‌ها تحت خلأ خشک شدند و برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. دو گرم از عصاره خشک شده درون ۳۰ میلی لیتر آب مقطر حل و دو میلی‌لیتر از محلول حاصل به ۱۳ لوله آزمایش تمیز انتقال داده شد. pH محلول هر لوله با HCl و NaOH ۰/۱ مولار، از ۱ تا ۱۳ با استفاده از pH متر (SCHOTT, made in Germany Type: CG 843) تنظیم شد (Bondre et al., 2012). سپس کاغذ صافی‌ها به مدت دو دقیقه درون عصاره آبی ضایعات زعفران (به منظور عصاره-گیری ۱۲ گرم از گلبرگ به ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و از روش خیساندن و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط استفاده شد) قرار داده شد و پس از خشک شدن، به عنوان

1. Anthocyanidin
2. Pelargonidin
3. Cyanidin
4. Delphinidin
5. Peonidin
6. Petunidin
7. Malvidin

www.SID.ir

Archive of SID

شناساگر اسید و باز مورد استفاده قرار گرفت. نتایج اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین در نمونه‌ها با ذکر مکان جمع‌آوری در جدول ۱ آمده است. پراکندگی ۳۲ منطقه جمع‌آوری ضایعات زعفران بر روی تصویر ماهواره‌ای در شکل ۱ ارائه شده است.

میزان بارندگی و دمای مناطق مختلف در ماه‌های فروردین تا آبان سال ۱۳۹۳ از اداره هواشناسی‌های استان‌های خراسان رضوی، خراسان جنوبی و کرمان دریافت شد و رابطه بین میزان آنتوسیانین و میانگین بارش در شکل ۲ ترسیم گردید.

جدول ۱. نتایج جذب محلول‌ها و میزان آنتوسیانین ضایعات زعفران

Table 1. The results of absorbance and anthocyanin content of wastes saffron

شماره No.	منطقه Region	جذب در طول موج ۵۲۸ نانومتر Absorbance wavelength at 528 nm	میزان آنتوسیانین Anthocyanin content(mg cyanidin 3-O-glucoside/g dry weight)
1	سربیشه Sarbisheh	3.540794	3.08216
2	فریز Freez	3.52695	3.07011
3	خرگرد Khargerd	3.499027	3.47342
4	بهدان Behdan	3.49595	3.04313
5	تلمبه ریگو Tolambe Reego	3.493689	3.04116
6	گزیک Gazik	3.49181	3.03952
7	چاهک Chahak	3.48917	3.03723
8	کاشمر Kashmar	3.485348	3.03390
9	دیز Diz	3.484287	3.03297
10	حجت آباد Hojjatabad	3.4841104	3.03282
11	همت آباد Hemmatabad	3.478125	3.02761
12	حسین آباد (کاشمر) Hosseinabad (Kashmar)	3.476406	3.02611
13	تلمبه برده Tolambe Berdeh	3.475687	3.02549
14	مرغزار Marghzar	3.47553	3.02535
15	تلمبه چهل تایی Tolambeh Chehel Tayee	3.474264	3.02425
16	اسکر Osker	3.473306	3.02342
17	ریوش Reevash	3.46836	3.01911
18	شرق گناباد Gonabad East	3.465116	3.01629
19	کاخک Kakhk	3.460444	3.01222
20	نوفرست Noferest	3.459522	3.01142

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱

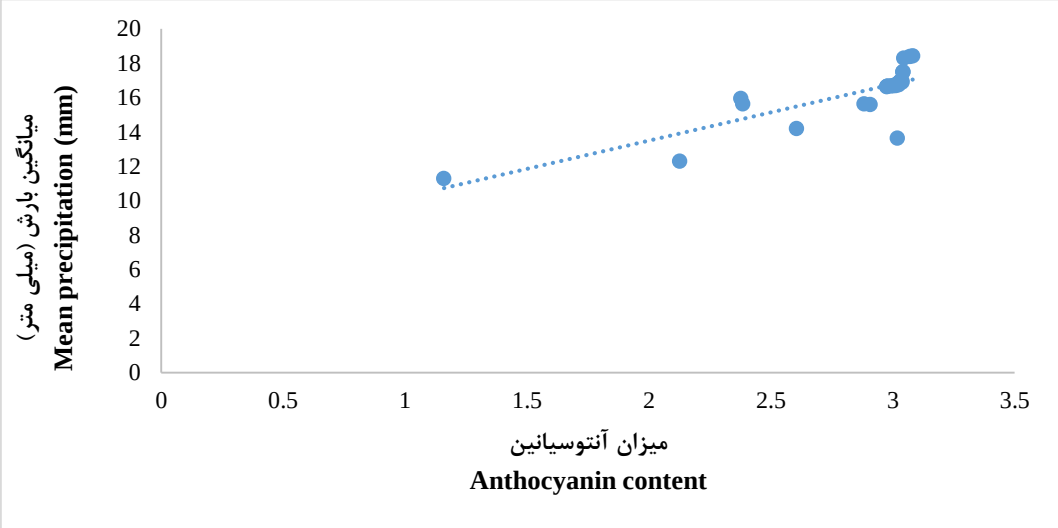
21	غرب گناباد Gonabad west	3.448779	3.01911
22	شمس آباد Shamsabad	3.439592	2.99407
23	خواف Khaf	3.423805	2.98033
24	ادبه Adabeh	3.419313	2.97642
25	روم Rome	3.418192	2.97544
26	آبیز Abiz	3.3407	2.90799
27	خوسف Khosef	3.311825	2.88285
28	خانیکوک Khanikook	2.993636	2.60588
29	بالاده اسفیان Baladeh Asfian	2.739608	2.38475
30	کوشک Koushk	2.731648	2.37782
31	خضری Khezri	2.442569	2.1261
32	پایین ده Paeen Deh	1.331644	2.37782

شکل ۱. مناطق جمع‌آوری ضایعات زعفران

Fig. 1. Collection areas of wastes saffron

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. رابطه بین میزان آنتوسیانین زعفران و میانگین بارش طی ماه‌های فروردین تا آبان

Fig. 2. Correlation between anthocyanin content of saffron and mean precipitation between March to October months

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور انجام تحلیل آماری، تمامی آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار و نتایج میانگین‌گیری و با انحراف استاندارد مقایسه گردید. با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 رگرسیون خطی ساده برای بررسی رابطه بین متغیر وابسته آنتوسیانین با متغیرهای مستقل دما و بارش، استفاده و تحلیل آماری انجام شد.

نتایج و بحث

میزان آنتوسیانین در ضایعات: با بررسی میانگین بارش در ماه‌های فروردین تا آبان، نتیجه گرفته شد که با افزایش بارش میزان آنتوسیانین‌ها افزایش یافته است. بنابراین، در مناطقی که میانگین بارش به صورت باران بیشتر است، آنتوسیانین موجود نیز بیشتر می‌باشد. با بررسی میانگین دمای مناطق مورد نظر در ماه‌های فروردین تا آبان مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین میانگین دما و میزان آنتوسیانین در این ماه‌ها وجود ندارد.

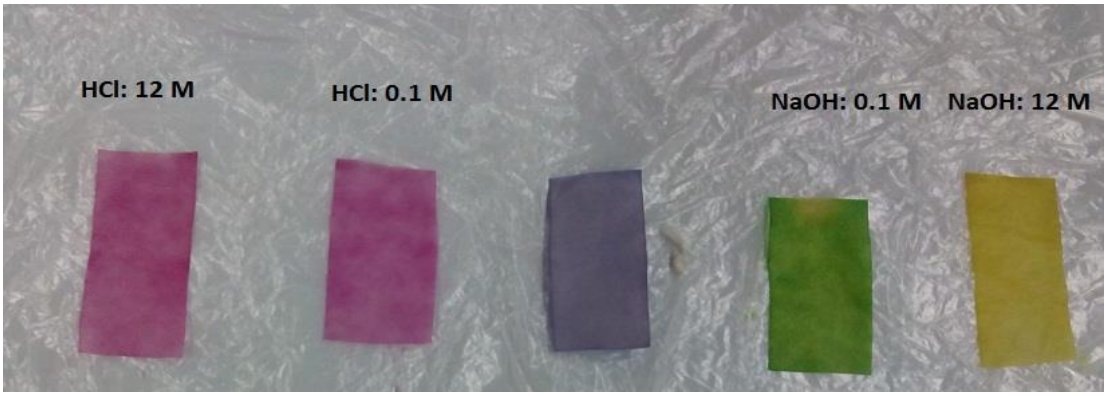
با توجه به مقدار R^2=0.005 و سطح معنی‌داری آزمون F، که برابر ۰/۶۹ (بزرگتر از ۰/۰۵) می‌باشد، بی-اهمیتی مقدار R^2 پذیرفته می‌شود. با توجه به سطح معنی-داری ضریب رگرسیونی (بتا) برابر ۰/۶۹، می‌توان نتیجه گرفت که بین آنتوسیانین و دما رابطه خطی معنی‌داری وجود ندارد. برای متغیرهای آنتوسیانین و بارش مقدار R^2=۰/۶۷ و سطح معنی‌داری آزمون F برابر ۰/۰۰ (کوچکتر از ۰/۰۵) می‌باشد، بدین‌ترتیب می‌توان گفت که ۶۷ درصد از تغییرات متغیر آنتوسیانین به وسیله متغیر بارش تبیین می‌شود و با توجه به سطح معنی‌داری و مقدار ضریب رگرسیونی که به ترتیب برابر با ۰/۰۰ و ۰/۸۱ حاصل گردید، می‌توان نتیجه گرفت که بین آنتوسیانین و بارش رابطه خطی معنی‌دار و مثبت وجود دارد.

ساخت شناساگر pH گیاهی از گلبرگ: رنگ آنتوسیانین‌ها با تغییر pH محیط تغییر می‌کند، در نتیجه عصاره حاصل از گلبرگ زعفران می‌تواند نقش شناساگر طبیعی را داشته باشد که تغییر رنگ برای محیط اسیدی صورتی مایل به قرمز و در محیط‌های بازی زرد رنگ است آنتوسیانین‌ها یکی از مهم‌ترین رنگدانه‌های موجود در ضایعات زعفران می‌باشند و رنگ ارغوانی مایل به بنفش این گلبرگ‌ها مربوط به این رنگدانه است. از طرف دیگر، آنتوسیانین‌ها آنتی‌اکسیدان‌های قوی نیز می‌باشند. قسمت اصلی آنتوسیانین‌ها، بخش آگلیکون آن به نام کاتیون فلاویلیوم $C_{15}H_{11}O^+$ است که شامل پیوندهای دوگانه مزدوج بوده و در طول موج حدود ۵۰۰ نانومتر جذب نور داشته و در نتیجه به رنگ قرمز دیده می‌شوند.

در شکل ۳ تغییر رنگ کاغذهای آغشته شده به عصاره حاصل از ضایعات زعفران نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. تغییر رنگ کاغذهای آغشته به عصاره گلبرگ زعفران در محیط‌های اسیدی و بازی

Fig. 3. Color changing of soaked paper in saffron petals extract affected as acidic and alkaline conditions

همانطور که مشخص است در pH های شدیداً قلیایی، تغییر رنگ کاغذ به رنگ زرد و در pH های پایین تر به رنگ سبز می‌باشد. در محدوده pH های اسیدی به رنگ صورتی مایل به قرمز در می‌آید (شکل ۳). در شکل ۴ عصاره حاصل از گلبرگ زعفران در pHهای مختلف نشان داده شده که این تغییر رنگ برای محیط‌های اسیدی به رنگ صورتی و در محیط‌های قلیایی به رنگ زرد است. مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها در شکل ۵ نشان داده شده است. آنتوسیانین‌ها در pHهای مختلف رنگ‌های متفاوتی را ایجاد می‌کنند. مکانیسم ارائه شده در شکل ۶ نشان‌دهنده تغییر رنگ آنتوسیانین‌ها در pH های مختلف است.

شکل ۴. کاربرد عصاره گلبرگ زعفران به عنوان شناساگر

Fig. 4. The utilization of saffron petals for an indicator

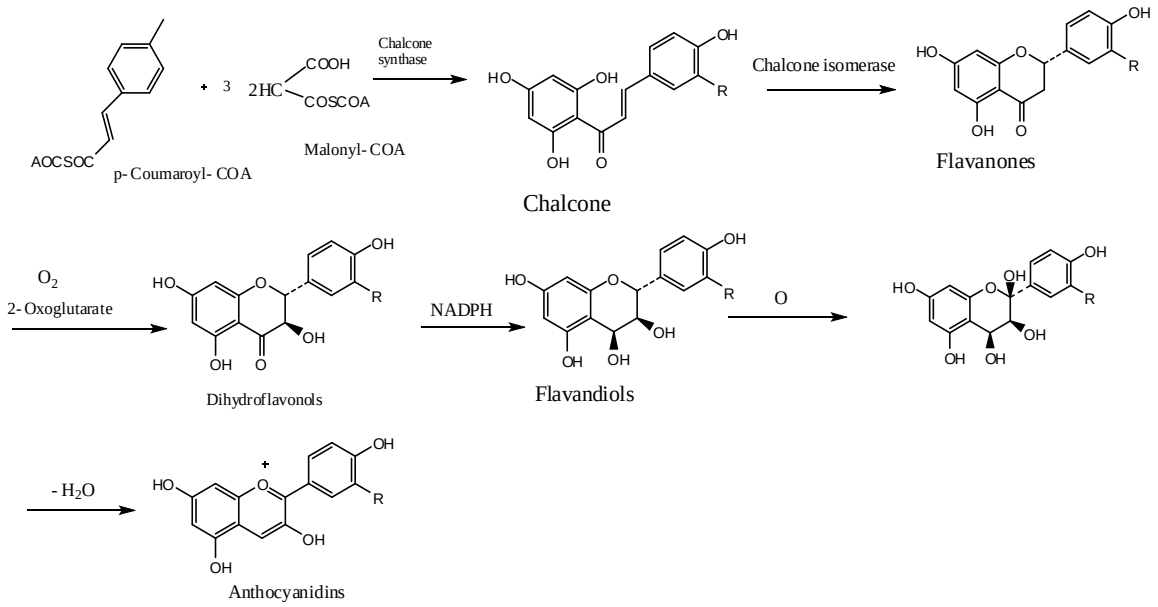
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. رنگ مشاهده شده تحت تأثیر تغییرات pH

Table 2. Observed color affected as pH changes

رنگ Color	pH
صورتی پررنگ Bold pink	1
صورتی پررنگ Bold pink	2
صورتی کمرنگ Light pink	3
صورتی رنگ پریده Pale pink	4
ارغوانی کمرنگ Light purple	5
ارغوانی Purple	6
آبی Blue	7
سبز پررنگ Bold green	8
سبز کمرنگ Light green	9
زرد مایل به سبز Greenish yellow	10
زرد پررنگ Bold yellow	11
زرد Yellow	12
زرد Yellow	13

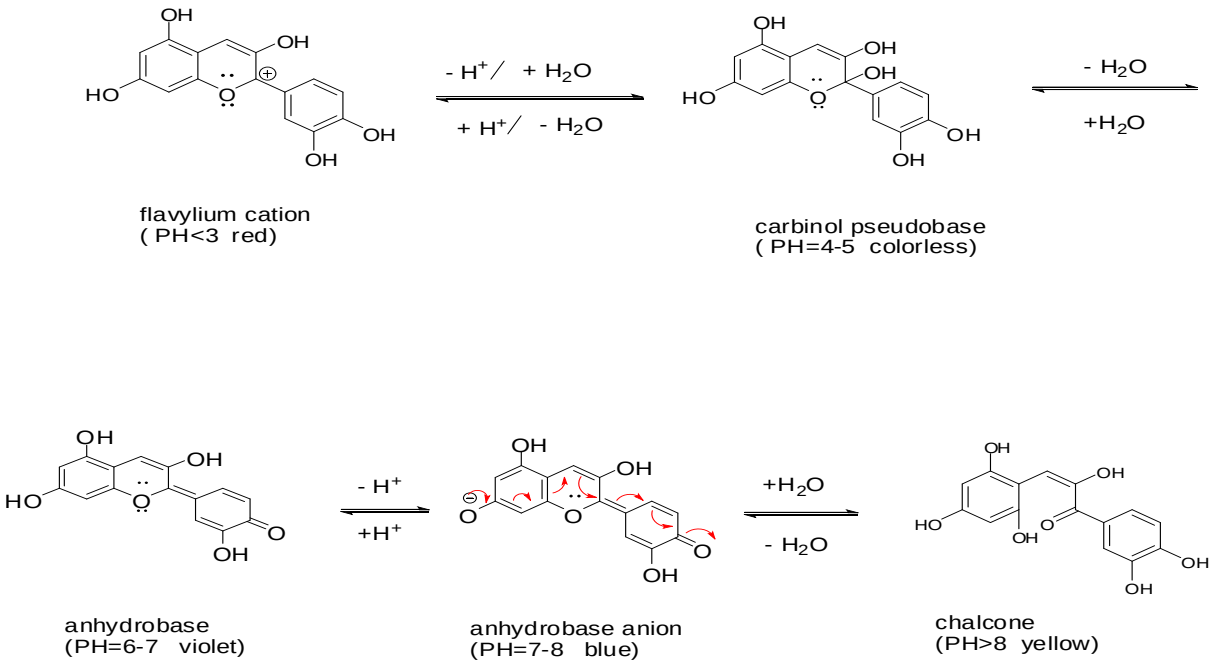


شکل ۵. مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها

Fig. 5. Biosynthesis pathway of anthocyanins

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۶. تغییر رنگ آنتوسیانین‌ها در pH های مختلف

Fig. 6. Color changing of anthocyanins affected as different pH

در pH=۱-۳ آنتوسیانین به شکل کاتیون قرمز فلاویلیوم است. افزایش pH باعث کاهش شدت رنگ و غلظت یون فلاویلیوم می‌شود. با کم شدن شدت اسیدی محیط و حمله مولکول آب به موقعیت شماره ۲ محلول بی‌رنگی ایجاد می‌شود. در اثر حذف یک مولکول آب ترکیب anhydrobase تشکیل می‌شود که ارغوانی رنگ است. با افزایش pH و در اثر باز شدن حلقه پیران چالکون پدیدار می‌شود که به رنگ زرد می‌باشد. رنگ محلول اسیدی می‌تواند با تغییر pH محیط به سمت قلیایی تغییر کند. هسته فلاویلیوم در آنتوسیانین‌ها به دلیل کمبود الکترون برای شرکت در واکنش‌هایی است که معمولاً با تجزیه آنتوسیانی‌ها یا تغییر رنگ ماده غذایی همراه می‌باشد، بسیار مستعد است. میزان تجزیه آنتوسیانین‌ها در pHهای بالاتر زیادتر صورت می‌گیرد. pH بافت‌های گیاهی مشخصاً در محدوده ۵/۵- ۳/۵ می‌باشد. از آنجایی‌که مولکول‌های آنتوسیانین‌ها به صورت متصل به یکدیگر بوده و از طریق پیوندهای هیدروفوبی و هیدروژنی که میان هسته‌های فلاویلیوم آن‌ها برقرار می‌گردد دارای ساختمان مارپیچی می‌شود که مولکول‌ها به شکل انباشته شده روی یکدیگر می‌باشند. در چنین حالتی قسمت ایجادکننده رنگ در مولکول آنتوسیانین در پشت قسمت قندی قرار می‌گیرد. از این طریق از دسترسی آب به آن و واکنش‌های نابودکننده رنگ در اثر حضور آب مصون و بدون تغییر باقی می‌ماند و آنتوسیانین‌ها رنگ خاص خود را حفظ می‌کنند و نظیر هنگامی که در یک محلول بوده تغییر رنگ نمی‌دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه بعد از جداسازی کلاله زعفران، گلبرگ آن دور انداخته می‌شود و در حال حاضر، بالغ بر ۲۰ هزار تن گلبرگ تولیدی به عنوان ضایعات تولید می‌گردند، انباشته شدن و مدفون کردن آنها در سطح اراضی کشاورزی باعث تغییر ناخواسته اسیدیته خاک گردیده و در صورتی‌که توسط احشام بلعیده گردد، نیز موجب بیماری و حتی مرگ آنها می‌شود، لذا این استفاده از چند جنبه مفید فایده می‌باشد. شناساگرهایی که امروزه در آزمایشگاه‌ها استفاده می‌شوند، شیمیایی بوده که علاوه بر ایجاد آلودگی‌های زیست‌محیطی هزینه‌های زیادی هم صرف ساخت آن‌ها می‌شود که از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست، اما استفاده از ضایعات یک روش سبز جهت ساخت شناساگرها می‌باشد و از هدر رفتن این رنگیزه ارزشمند جلوگیری می‌کند. همچنین میزان آنتوسیانین در مناطق مختلف استان‌های خراسان و کرمان اندازه‌گیری و سپس با میزان بارش و دمای

www.SID.ir

Archive of SID

هوای این مناطق مقایسه و نتیجه گرفته شد که بین آنتوسیانین و دما رابطه خطی معنی‌داری وجود ندارد، اما بین آنتوسیانین و میزان بارش رابطه خطی معنی‌دار و مثبتی وجود دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از گروه شیمی و گروه پژوهشی زعفران دانشگاه بیرجند که امکان انجام این پژوهش را فراهم کردند، اعلام می‌دارند.

منابع

Bondre, S., Patil, P., Kulkarni, A.M., and Pillai, M., 2012. Study on isolation and purification of anthcyanins and its application as pH indicator. International Journal of Advances in Biotechnology. 3, 698-702.

Byamukama, R., Jordheim, M., Kiremire, B., Namukobe, J., and Andersen, M., 2006. Anthocyanins from flowers of *Hippeastrum* cultivars. Scientia Horticulture. 109, 262-266.

Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., and Galán-Vidal, C., 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry. 113, 859-871.

Deng, J., Chen, S., Yin, X., Wang, K., Liu, Y., and Yang, P., 2013. Systematic qualitative and quantitative assessment of anthocyanins, flavones and flavonols in the petals of 108 lotus (*Nelumbo nucifera*) cultivars. Food Chemistry. 139, 307-312.

Francis, F.J., 1989. Food colorants: Anthocyanin. Critical Reviews in Food Technology. 28, 273-314.

Goupy, P., Vian, M.A., Chemat, F., and Caris-and Veyrat, C., 2013. Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra-performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. Industrial Crops and Products. 44, 496–510.

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., and Stamenic, M., 2014. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "ˇCaˇcanskaBestrna". Industrial Crops and Products. 53, 274-281.

Kakouri, E., Daferera, D., Paramithiotis, S., Astraka, K.H., Drosinos, E.G., and Polissiou, E., 2016. *Crocus sativus* L. tepals: The natural source of antioxidant and antimicrobial factors. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 4, 66-74.

Li, C.Y., Lee, E.J., and Wu, T.S., 2004. Antityrosinase principles and constituents of the petals of *Crocus sativus*. Journal of Natural Products. 67, 437-440.

Montoro, P., Maldini, M.I.G., Tuberoso, C., Congiu, F., and Pizza, C., 2012. Radical scavenging activity and LC-MS metabolic profiling of petals, stamens, and flowers of *Crocus sativus* L. Journal of Food Science. 77(8), 893-900.

Nakabayashi, R., Kusano, M., Kobayashi, M., Tohge, T., Yonekura-Sakakibara, K., Kogure, N., Yamazaki, M., Kitajima, M., Saito, K., and Takayama, H., 2009. Metabolomics-oriented isolation and structure elucidation of 37 compounds including two anthocyanins from *Arabidopsis thaliana*. Phytochemistry. 70, 1017–1029.

Ogata, J., Sakamoto, T., Yamaguchi, M., Kawanobu, S., and Yoshitama, K., 2001. Isolation and characterization of anthocyanin 5-O-glucosyltransferase from flowers of *Dahlia variabilis*. Journal of Plant Physiology. 158, 709-714.

Qin, Q., and Xiaojun, M., 2013. Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (An ning). Food Science and Human Wellness. 2, 68-74.

Serrano-Díaz, J., Estevan, C., Sogorb, M.A., Carmona, M.L., Alonso, G., and Vilanova, E., 2014. Cytotoxic effect against $3T_3$ fibroblasts cells of saffron floral bio-residues extracts. Food Chemistry. 147, 55–59.

Serrano-Díaz, J., M. Sánchez, A., Martínez-Tome, M., Winterhalter, P.L., and Alonso, G., 2014. Flavonoid determination in the quality control of floral bioresidues from *Crocus sativus* L. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 62, 3125−3133.

Shao-Qian, C., Si-Yi, P., Xiao-Lin, Y., and Hong-Fei, F., 2012. Isolation and

www.SID.ir

Archive of SID

purification of anthocyanins from blood oranges by column chromatography. Agricultural Sciences. 9(2), 207-215.

Tuberoso, C.I.G., Rosa, A., Montoro, P., Fenu, M.A., and Pizza, C., 2016. Antioxidant activity, cytotoxic activity and metabolic profiling of juices obtained from saffron (*Crocus sativus* L.) floral by-products. Food Chemistry. 199(1), 18–27.

Wang, E., Yin, Y., Xu, C., and Liu, J., 2014. Isolation of high-purity anthocyanin mixtures and monomers from blueberries using combined chromatographic techniques. Journal of Chromatography. 1327, 39-48.

Wiczkowski, W., Szawara-Nowak, D., and Topolska, J., 2013. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. Food Research International. 51, 303–309.

www.SID.ir

Journal of Saffron Research (semi-annual)
Archive of SID
Vol.6, No.2, Fall & Winter, 2018-2019

p. 155-166

http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2017.677.1026

University of Birjand

Introduction of Green pH Indicator from Saffron Petals and Determination of Anthocyanins Content from its Wastes

Ghodsieh Bagherzade*[1] and Maryam Manzaritavakoli[2]
1- Associate of Organic Chemistry Research Laboratory, University of Birjand.
2- Phytochemistry Student Research Laboratory of Organic Chemistry, University of Birjand
*Corresponding author E-mail: ghbagherzade@birjand.ac.ir

Received 16 April 2017; Accepted 17 July 2017

Abstract

Saffron is a spice derived from the flowers of saffron which has been known in the world as an expensive spice. But huge amount of the petals are discarded as useless waste. The color of saffron petals is due to the compounds that called anthocyanins and flavonoids. Anthocyanins, are a class of natural compounds and secondary metabolites in family of flavonoids. Indicators are the Colored organic compounds with complex structure which change in pH change their color. In this study, wastes of saffron of 32 different regions were collected from fields of saffron of Razavi Khorasan, Southern Khorasan and Kerman in November and then were transferred to the freezer with a temperature of -15 °C. The amount of anthocyanins was determined in wastes of saffron then rainfall and temperature in different regions between April and November 2014 were asked from Bureau of Meteorology. The SPSS 18 was used for statistical analysis. The results showed that there was a strong correlation between anthocyanins and amount of rain. Due to the abundant presence of anthocyanins in saffron waste, successful pursuit done to use these natural pigments as an indicator. Results showed the color of anthocyanin pigments changes drastically with change in pH value, so it can be used as a natural and effective indicator to detect acid and base.

Keywords: Natural indicator, Natural pigment, Natural products, Rainfall, Secondary metabolites.

www.SID.ir