Archive of SID

نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد ۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵ ص. ۲۲۴-۲۱۵

Saffron Agronomy & Technology
Vol. 4, No. 3, Fall 2016, P. 215-224
DOI: 10.22048/jsat.2016.38671

مقایسه ترکیبات مؤثره و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی زعفران تولید شده در شهرستان‌های کاشمر و مرند

معصومه وکیلی قرطاول[۱] و سعیده علیزاده سالطه[۲*]

تاریخ دریافت: ۶ اسفند ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) محصولی ارزشمند و نیمه مقاوم به خشکی است که می‌تواند در شرایط بسیار متفاوت آب و هوایی مورد کشت و کار قرار گیرد. مهم‌ترین ترکیب‌های شیمیایی زعفران را کروسین و مشتق‌های کروستین تشکیل می‌دهند. زعفران موارد استفاده مختلفی دارد، از جمله در صنایع غذایی به عنوان عامل عطر و طعم و همچنین در صنایع دارویی به عنوان ضد اسپاسم، ضد نفخ، آرامبخش، ضد افسردگی و بیماریهای قلبی. در این پژوهش، نمونه‌های زعفران از شهرستان مرند با ارتفاع ۱۳۶۰ متر و کاشمر با ارتفاع ۱۰۰۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری شدند و در شرایط مناسب و یکسان خشک گردیدند. همچنین نمونه تجاری از شرکت معروف بسته‌بندی زعفران در بازار نیز تهیه گردید. میزان ترکیبات مؤثره نمونه‌های زعفران شامل؛ کروسین، پیکروکروسین و سافرانال مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مرند، بیشترین میزان ترکیبات کروسین و پیکروکروسین مشاهده گردید (میزان جذب به ترتیب ۳۰۶ و ۱۱۸). همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های زعفران نیز به روش احیای رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که زعفران اکوتیپ مرند میزان ترکیبات مؤثره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اکوتیپ کاشمر دارد. بطور کلی با توجه به خشکی روزافزون و مسئله کم آبی در منطقه آذربایجان و کیفیت بالای زعفران برداشت شده از زعفران‌زارهای شهرستان مرند، زعفران می‌تواند به عنوان محصولی جهت کشت و کار وسیع در این منطقه قابل توصیه باشد.

کلمات کلیدی: کروسین، پیکروکروسین، سافرانال، خاصیت آنتی اکسیدانی.

مقدمه

رادیکال‌های آزاد مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که می‌توانند باعث صدمه به سلول‌ها و در نهایت جهش‌زایی شوند (Bergamini et al., 2004). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با روش‌های مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب، کاهش مرگ سلولی و کاهش بیماری‌های قلبی- عروقی و سرطان‌ها می‌شوند (Shrififar et al., 2007). کاروتنوئیدها ترکیباتی هستند که در بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها یافت می‌شوند و به‌خاطر برخوردار بودن از خاصیت پاداکسندگی از فعالیت رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند. بنابر پژوهش‌ها، ترکیبات موجود در زعفران می‌توانند اثر رادیکال‌های آزاد را مهار کنند. ترکیبات کلاله زعفران که شامل ترکیب‌های شیمیایی ازجمله کروسین[۳]،

۱- کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
(*- نویسنده مسئول: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)

3 -Crocin

www.SID.ir

Archive of SID

کروستین، پیکروکروسین[1] و سافرانال[2] می باشد، پاداکسنده‌هایی قوی به‌شمار می‌روند (Schmidt et al., 2007). کروسین علاوه بر تولید رنگ زعفران، باعث فعالیت آنتی اکسیدانی زعفران می‌شود و از سلول‌ها در برابر عوامل اکسید کننده محافظت می‌کند (Assimopoulou et al., 2005; Soeda et al., 2007)، همچنین سافرانال حاوی فعالیت آنتی اکسیدانی بالقوه بالایی است (Assimopoulou et al., 2005; Kanakis et al., 2007).

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی کوچک و چندساله از خانواده زنبق[3] و یکی از محصولات مهم اقتصادی ایران است (Koocheki, 2013). مهم‌ترین کاروتنوئیدهای موجود در زعفران، کروسین و کروستین هستند که مسؤل رنگ زعفران می‌باشند. کروسین در بدن متابولیزه شده، به کروستین تبدیل می‌شود. کروستین چندین ویژگی درمانی دارد، از جمله این‌که یک آنتی اکسیدان قوی و عامل ضد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی است (Martin et al., 2002). طعم تلخ زعفران مربوط به گلیکوزیدی به نام پیکروکروسین با فرمول $C_{16}H_{26}O_6$ است که یک منوترپن‌آلدئید فاقد رنگ است. بو و عطر زعفران نیز مربوط به سافرانال با فرمول $C_{10}H_{14}O$ می‌باشد که اسانس فرار زعفران بوده و در اثر جدا شدن قند از پیکروکروسین تولید می‌شود. غلظت این ترکیب پس از برداشت محصول و بسته به روش استفاده شده برای خشک کردن، تغییر می‌کند. با توجه به بررسی‌های انجام شده، کروسین، کروستین و سافرانال زعفران، اثرات از بین برنده رادیکال های آزاد و آنتی اکسیدان داشته‌اند (Chen et al., 2008; Kanakis et al., 2007). با توجه به این‌که فعالیت از بین برندگی رادیکال آزاد شدیداً با اثر ضدپیری ارتباط دارد، پیشنهاد شده که از عصاره زعفران به عنوان یک مکمل در غذاها و نوشیدنی‌ها و هم چنین فرآورده های دارویی و آرایشی استفاده شود (Assimopoulou et al., 2005).

این محصول به خوبی به زمین‌های خشک و نیمه خشک و همچنین به شرایط آب و هوایی مناطق معتدل و نیمه گرمسیری سازگار است و در خاک‌های شنی تا لومی رسی به خوبی زهکشی شده، رشد می‌کند (Sheykhdavodi et al., 2010). مهم‌ترین مناطق کاشت زعفران از گذشته تا به حال در فاصله عرض‌های جغرافیایی ۳۰ تا ۵۰ درجه شمالی از فلات ایران در شرق تا اسپانیا در غرب قرار دارد (Abrishami, 1997). این گیاه عمدتاً در غرب آسیا با میزان بارندگی سالیانه پایین، زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم گسترش دارد (Sepaskhah & Kamgar-Haghighi, 2009). آگاهی از چگونگی تناسب و انطباق تأثیر عوامل آب و هوایی بر کشاورزی از سایر فعالیت‌ها بیشتر بوده و به همین دلیل شناخت روابط متغیرهای اقلیمی بر محصولات، اهمیت و ارزش اقتصادی و اجتماعی بالایی برای کشورها دارد. عملکرد اکوتیپ‌های مختلف از منطقه‌ای به منطقه دیگر تغییر می‌کند و این نشان‌دهنده اثر متقابل اکوتیپ با مناطق و محیط می‌باشد (Ramezani, 2000; Omidbeigi et al., 2000). تغییر اقلیم به‌طور چشمگیری بر فعالیت‌های کشاورزی تأثیر گذاشته است و ادامه این روند باعث بروز تغییرات قابل ملاحظه‌ی در فرآیندهای رشد و نمو محصولات غذایی و نیز تولید سیستم‌های زراعی در مقیاس منطقه‌ای می‌گردد (Parry et al., 2004). در طی سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر کاهش عملکرد گل زعفران در مناطق مختلف خراسان ارائه شده است که عامل اصلی کنترل کننده رفتار گلدهی این گیاه درجه حرارت می‌باشد (Gresta et al., 2009; Molina et al., 2005; Molina et al., 2004). گلدهی معمولا در پاییز (نیمه مهر تا نیمه آبان) انجام شده و درجه حرارت مطلوب برای گلدهی ۱۷-۱۵ درجه سانتیگراد است

1 -C16H26O6
2 -Safranal
3 -Iridaceae

www.SID.ir

Archive of SID

(Molina et al., 2005). البته گل انگیزی مدت‌ها قبل از گلدهی و بسته به دمای محیط از اواخر بهار تا نیمه تابستان وقوع می‌یابد و دمای مطلوب آن ۲۷-۲۳ درجه سانتیگراد می‌باشد (Molina et al., 2004).

پژوهش انجام شده توسط شکوهیان و اصغری (Shokohian & Asghari, 2008) در سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴ مشخص کرد که بین اکوتیپ‌ها در دو منطقه غرب و شمال اردبیل از نظر صفات تعداد گل و عملکرد خشک زعفران اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی در منطقه جنوب اردبیل بین اکوتیپ‌ها از نظر دو صفت مذکور اختلاف معنی‌داری وجود داشت، که این مطلب بیانگر تفاوت‌های ژنتیکی بین اکوتیپ‌های زعفران و علت اختلاف عملکرد بین آن‌هاست. عملکرد اکوتیپ‌های زعفران با تغییر شرایط اقلیمی تغییر می‌کند (Ramezani, 2000). عوامل مختلفی از جمله سن گیاه، فصل، حمله میکروبی، چرا، تابش، رقابت و وضعیت تغذیه ای روی متابولیت ثانویه در گیاهان عالی اثر دارند (Harborne & Williams, 1988). از جمله این متابولیتهای ثانویه، محتوای کاروتنوئید می‌باشد که با شرایط متفاوت محیطی مانند خشکسالی و درجه حرارت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Bouvier et al., 1998). لیگ و کانترل (Lage & Cantrell, 2009) زعفران را در یازده منطقه جغرافیایی متفاوت ازلحاظ عرض جغرافیایی، خاک و اقلیم کشت نموده و بیان کردند که شرایط محیطی شدیداً بر روی کیفیت زعفران تأثیر می‌گذارد. همچنین ماگی و همکاران (Maggi et al., 2011) ۲۸ اکوتیپ زعفران را از مراکز کشت سنتی زعفران (۸ اکوتیپ غرب مقدونیه- یونان، ۷ اکوتیپ ایران- خراسان، ۶ اکوتیپ ساردینیا- ایتالیا و ۷ اکوتیپ کاستیلامانچا- اسپانیا) جمع‌آوری و از لحاظ ۱۶ ویژگی کیفی با یکدیگر مقایسه کردند، نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها نشان داد که اختلافات کاملاً معنی‌داری بین اکوتیپ‌های زعفران وجود دارد.

در حال حاضر ایران بزرگ‌ترین تولید کننده و صادر کننده زعفران در جهان است و بیش از ۹۰ درصد تولید جهانی این محصول گران‌بها به ایران اختصاص دارد (Koocheki, 2013). در ایران اهمیت زعفران‌کاری از جنبه‌های گوناگون نظیر بهره‌وری بالای آب در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی، اشتغال روستاییان و جلوگیری از مهاجرت آن‌ها، درآمدزایی آن نسبت به سایر محصولات کشاورزی و همچنین از لحاظ توسعه صادرات غیر نفتی قابل بررسی است (Ramezani, 2000). بدیهی است که با افزایش تولید و بالا بردن میزان بهره‌وری و همچنین افزایش توسعه صادرات زعفران، می‌توان درآمدهای ارزی قابل اطمینانی را برای کشور تأمین کرد (Anonymous, 1998; Sadeghi, 2012). همچنین زعفران به علت داشتن جنبه تجاری و صادراتی و ارزآوری بالا می‌تواند باعث بهبود معیشت کشاورزان و افزایش صادرات شود.

شهرستان مرند در یک موقعیت جغرافیایی کم آبی قرار دارد و زعفران جزو محصولات با نیاز آبی کم است، بر این اساس برنامه‌ریزی بر کاشت و ترویج این محصول است. با وجود این‌که در سالیان قبل کشت زعفران در ایران به استان خراسان اختصاص داشت، اما امروزه در نقاط مختلف کشور نیز مورد کشت و پرورش قرار می‌گیرد. از جمله کشت زعفران در منطقه آذربایجان نیز نتایج مناسبی در پی داشته‌است و یکی از مشاغل اصلی در بخش بناب شهرستان مرند به‌شمار می‌رود و افزایش عملکرد این محصول ارزشمند در منطقه آذربایجان مورد نظر می‌باشد (Alizadeh-Salteh, 2016). از سوی دیگر، کیفیت زعفران وابسته به غلظت سه متابولیت‌های عمده آن (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) است که باعث ارائه رنگ و عطر و طعم به کلاله می‌شوند (Lage & Cantrell, 2009). با توجه به اهمیت ترکیبات موجود در کیفیت زعفران و همچنین تأثیر شرایط آب و هوایی روی میزان متابولیت‌های ثانویه و خواص آنتی اکسیدانی این گیاه ارزشمند، آزمایش حاضر با بررسی و

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه نمونه‌های زعفران از مناطق مرند، کاشمر و نمونه تجاری در آزمایشگاه تولید و فرآوری گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه های مورد استفاده در این آزمایش شامل کلاله های زعفران از سه نوع نمونه از مناطق مرند (38°30'N/45°45'E و ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا) ، کاشمر (35°16'N/58°26'E، با ارتفاع ۱۰۰۰ متر از سطح دریا) و همچنین نمونه‌ای تجاری با برند شرکت معروف بهرامن موجود در بازار بود. نمونه‌های مورد بررسی در این آزمایش از مزارع زعفران مشخص شده از قبل، در سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش شامل؛ اتانول، متانول، کربنات سدیم و DPPH (۲،۲دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) و استاندارد ترکیب گالیک اسید و آسکوربیک اسید بودند که از شرکت سیگما تهیه گردید.

تعیین مقدار متابولیت‌های ثانویه کلاله زعفران (کروسین، سافرانال و پیکروکروسین)

برای تعیین میزان ترکیبات مؤثره زعفران از دستگاه اسپکتروفتومتری مطابق با استاندارد ملی ۲-۲۵۹ استفاده شد. برای جلوگیری از نفوذ نور و تخریب رنگدانه‌ها به بالن ژوژه ۱۰۰۰ و ۲۰۰ میلی لیتری فویل پیچیده، ۰/۵ گرم کلاله ساییده شده با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد. نمونه‌ها داخل بالن ژوژه ۱۰۰۰ میلی لیتری قرار داده شد و حدود ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه گردید. مگنت بزرگ داخل بالن انداخته توسط همزن مغناطیسی دور از نور به مدت یک ساعت هم‌زده شد. سپس بالن‌ها با آب مقطر به حجم رسانده و یکنواخت شدند. به‌وسیله پیپت ۲۰ میلی لیتری از محلول به بالن ژوژه ۲۰۰ میلی لیتری منتقل شدند. سپس با آب مقطر تا خط نشانه به حجم رسانده، درب را بسته و هم‌زده شدند تا محلول یکنواختی به‌دست آید. در صورت نیاز با صافی دور از نور به سرعت صاف شدند تا محلول شفافی به دست آید. سپس طیف سنج بر روی طول موج مربوطه، تنظیم شد. تغییر جذب محلول صاف شده با استفاده از آب مقطر به عنوان شاهد ثبت شد. متابولیت‌های ثانویه زعفران، کروسین، پیکروکروسین و سافرانال به ترتیب با طول موج‌های ۴۴۰، ۲۵۷ و ۳۳۰ نانومتر با طیف سنج اندازه‌گیری شدند. مقادیر هر یک از ترکیبات با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$A\ (\lambda max) = D \times 10000/\ m \times (100 - W_{MV}) \qquad (۱)$$

λmax. مقادیر هر ترکیب رنگی می‌باشد D میزان جذب هر یک از موارد ذکر شده است و m وزن نمونه بر حسب گرم، W_{MV} میزان رطوبت نمونه می‌باشد.

جهت عصاره‌گیری زعفران، ابتدا کلاله‌های زعفران مناطق مختلف به طور مجزا آسیاب شدند، به این ترتیب که پودر کلاله زعفران و حلال اتانول ۷۰ درصد به نسبت ۲۰:۱ (وزنی: حجمی) با هم مخلوط شده و اختلاط به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط روی شیکر انجام شد. پس از فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی و قیف بوخنر، سانتریفوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. قبل از صاف کردن توسط کاغذ صافی به عصاره استخراج شده اجازه داده شد تا بخش جامد بر اساس اختلاف دانسیته با حلال‌های مورداستفاده، از حلال جدا گردد (Su et al., 2007). این روش آماده‌سازی در هر درصد حلال با چهار بار تکرار صورت پذیرفت.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های زعفران به روش DPPH

جهت تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های مورد آزمایش، در لوله‌های آزمایشی درب‌دار و پوشیده شده با فویل آلومینیومی (به منظور جلوگیری از نفوذ نور)، ۵۰ میکرولیتر از عصاره زعفران را با ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول ۵۰۰ میکرولیتر DPPH در متانول، مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای

www.SID.ir

Archive of SID

۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر و در برابر سل حاوی اتانول خوانده شد و مطابق با فرمول زیر محاسبه شد.

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{sample}) \times 100 \quad (۲)$$

در این رابطه A_{blank} جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره می‌باشد، نشان می‌دهد و A_{sample} جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان می‌کند (Kosar et al., 2007; Kossah et al., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه آنالیز واریانس به کمک روش ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به کمک نرم افزار SPSS انجام شد. اطلاعات به‌دست آمده به صورت میانگین± انحراف معیار (Mean ±SD) بیان شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه شامل میزان سافرانال، کروسین و پیکروکروسین، بین اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۱).

نتایج حاصل از سنجش ترکیبات کاروتنوئیدی و منوترپن آلدئیدی شامل سه ترکیب کروسین، پیکروکروسین و سافرانال زعفران از مناطق کاشمر و مرند و نمونه تجاری نشان داد که بالاترین میزان رنگیزه کروسین در اکوتیپ مرند و کمترین میزان آن در اکوتیپ کاشمر وجود دارد (شکل ۱). همچنین بالاترین میزان پیکروکروسین در اکوتیپ مرند و کمترین میزان آن در اکوتیپ کاشمر با طول موج ۲۵۷ نانومتر تعیین کیفیت شدند (شکل ۲). به طور کلی زعفران اکوتیپ مرند حاوی ترکیبات کروسین و پیکروکروسین بیشتری نسبت به اکوتیپ کاشمر می‌باشد. تفاوت این ترکیبات در دو منطقه می‌تواند به دلیل شرایط اقلیمی این مناطق، ژنتیک و سن گیاه باشد.

نتایج مربوط به مقایسه میانگین میزان جذب سافرانال در نمونه‌های مختلف مورد بررسی نشان داد که میزان سافرانال در نمونه تجاری بیشتر از دو نمونه دیگر بود. از سوی دیگر بین دو منطقه جمع‌آوری، میزان سافرانال در منطقه مرند بیشتر از کاشمر بود (شکل ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس میزان کروسین، پیکروکروسین، سافرانال و فعالیت آنتی اکسیدانی کلاله زعفران در شرایط اقلیمی کاشمر و آذربایجان.

Table 1- Variance analysis of quantative Crocin, Picrocrocin, Saffranal and Anti-oxidant activity of saffron stigma from Kashmar and Azarbayjan conditions.

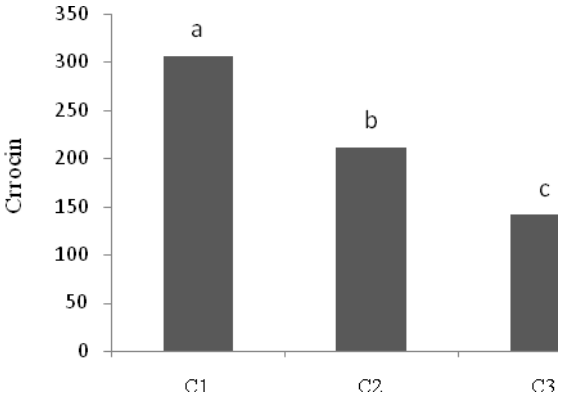
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square			
		کروسین Crocin	پیکروکروسین Picrocrocin	سافرانال Safranal	آنتی اکسیدان (۲،۲دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) Anti-oxidant (DPPH)
تیمار Treatment	2	20496.000**	1456.000**	55.000**	157.000**
خطای آزمایشی Error	6	1.000	0.000	0.027	5.000
ضریب تغییرات C.V (%)	-	1.3677	0.00	1.2324	20.1248

*,**: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

*, **: significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively.

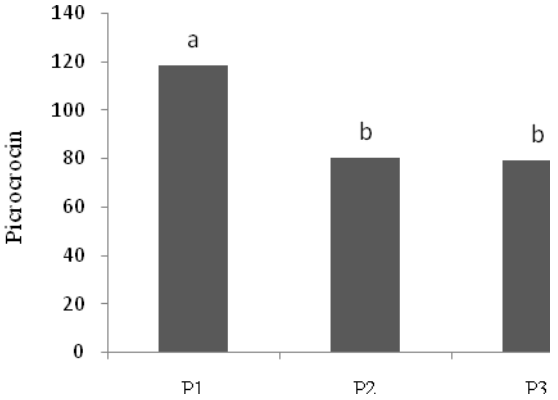
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مقایسه میزان رنگیزه کروسین مناطق مرند، کاشمر و نمونه شرکت تجاری. C1) اکوتیپ مرند، C2) نمونه تجاری، C3) اکوتیپ کاشمر

Figure 1- Comparison between Crocin in saffron samples from Marand, Commercial Company and Kashmar.

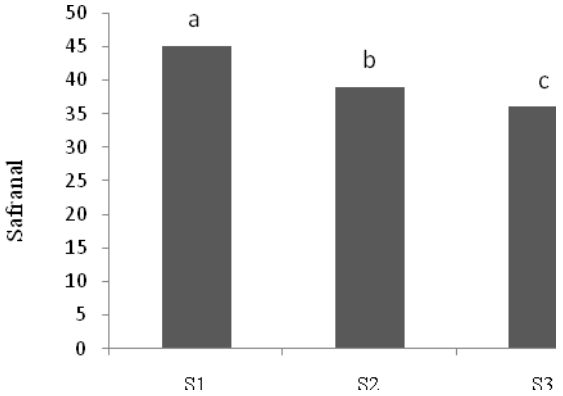


شکل ۲- مقایسه میزان رنگیزه پیکروکروسین مناطق مرند، نمونه- شرکت تجاری و کاشمر .P1) اکوتیپ مرند، P2) نمونه تجاری و P3) اکوتیپ کاشمر

Figure 2- Comparison between Crocin in saffron samples from Marand, Commercial Company and Kashmar.

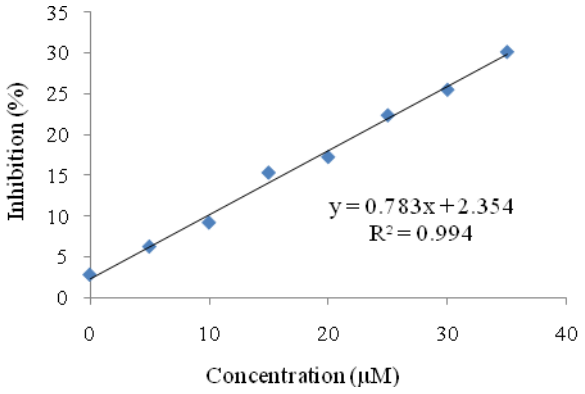
علاوه بر این‌که سافرانال طی شرایط خشک کردن و ذخیره سازی از پیکروکروسین ایجاد می‌شود، مقداری نیز در کلاله با توجه به شرایط اقلیمی منطقه تولید می‌شود.

بررسی فعالیت به دام اندازی رادیکالهای آزاد DPPH یکی از روشهای تعیین میزان خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد. در این روش رنگ ارغوانی رادیکالهای آزاد DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر، توسط آنتی اکسیدان کاهش یافته و به رنگ زرد تبدیل می‌شود. درجه بی رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی اکسیدان مربوطه می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بالاترین میزان درصد بازدارندگی در زعفران اکوتیپ مرند و کمترین میزان در اکوتیپ کاشمر مشاهده گردید.



شکل ۳- مقایسه میزان سافرانال موجود در کلاله های زعفران از نمونه های شرکت تجاری، مناطق مرند و کاشمر. S1) نمونه تجاری، S2) اکوتیپ مرند، S3) اکوتیپ کاشمر

Figure 3- Comparison of safranal in saffron samples from Commercial Company, Marand and Kashmar.



شکل ٤- منحنی استاندارد آسکوربیک اسید

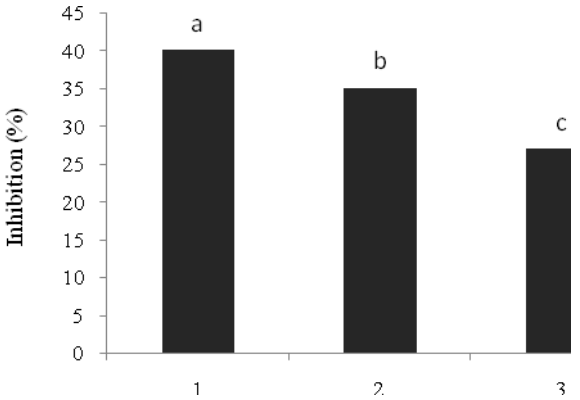
Figure 4- Standard curve for Ascorbic acid.

شرایط مؤثر بر کمیت و کیفیت زعفران شامل شرایط اقلیمی و عوامل زراعی می باشد. با توجه به کشت زعفران در نقاط مختلف و سازگار شدن محصول با شرایط خاص آب و هوایی،

www.SID.ir

Archive of SID

اکوتیپ های مختلفی از این گیاه در نقاط متفاوت وجود دارند. براساس تحقیق‌های قبلی می‌توان گفت که بین متابولیت‌های ثانویه مناطق مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همان‌طور که عبدالله و ارتگا (Abdullave & Ortega, 2007) تفاوت میزان ترکیبات موجود در کلاله زعفران در مکان‌های مختلف را عمدتاً ناشی از تفاوت محیط، ژنتیک (واریته) و فعالیت‌های کشاورزی دانسته‌اند. همچنین زرین‌کمر و همکاران (Zarinkamar et al., 2011) غلظت بیشتر ترکیبات مؤثره در زعفران قائن نسبت به طبس را به علت تفاوت در شرایط اقلیمی منطقه به‌دلیل ارتفاع از سطح دریای بالاتر این منطقه می‌دانند.



شکل ۵- مقایسه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی اتانولی نمونه های مختلف زعفران : 1) اکوتیپ مرند، 2) نمونه بازاری، 3) اکوتیپ کاشمر

Figure 5- Comparison of anti-Oxidant activity of ethanol extract from saffron samples: 1) Marand, 2) Commercial Company and 3) Kashmar.

لازم به ذکر است که اثر مثبت ارتفاع روی محتوای کروسین نیز اثبات شده است (Lage & Cantrell, 2009). نظر بر این است که افزایش محتوای ترکیبات فنولی و کارتنوئیدی با افزایش ارتفاع به عنوان یک پاسخ به افزایش اشعه فرابنفش خورشید می‌باشد (Zidorn et al., 2005). بیوسنتز کارتنوئیدها توسط شرایط محیطی مثل دما، و مقدار کارتنوییدها با کاهش دما افزایش می‌یابد (Schonhof et al., 2006) همچنین طبق پژوهش‌های انجام گرفته، کروسین، کروستین و سافرانال اثرات از بین برنده رادیکال های آزاد و اثر آنتی اکسیدانی دارند (Assimopoulou et al., 2005; Chen et al., 2008; Kanakis et al., 2007) و تأثیر کاروتنوئیدهای زعفران بر سلامت انسان به علت فعالیت آنتی اکسیدانی بالای آن است (Abdullaev, 2002; Bathaie & Mousavi, 2010). طبق نتایج حاصل از این تحقیق، افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه مرند را می‌توان با افزایش میزان کروسین و کروستین نیز مرتبط دانست.

یکی از راههای اساسی برای تولید و ارتقاء فعالیتهای زراعی در کشور استفاده بهینه از اراضی متناسب با شرایط اکولوژیک آنهاست. تولید در بخش کشاورزی وابستگی زیادی به آب و هوا و قابلیتهای جذب آب دارد. دمای هوا علاوه بر این که نقش عمده‌ای در تاریخ کشت و پیش‌بینی مراحل مختلف رشد و نمو تا برداشت محصول ایفا می‌کند و بارش و رطوبت خاک شرایط لازم برای رشد و نمو محصول تأمین می‌کند، بر کیفیت محصول زعفران نیز تأثیرگذار است. لذا در تحقیق حاضر بررسی داده های هواشناسی ده ساله در نمودار ۴ نشان داده شده است. شهرستان کاشمر بر اساس طبقه بندی دومارتن جزو اقلیم خشک محسوب می‌شوند. از سویی میانگین بارش سالانه در شهرستان کاشمر ۱۹۲/۱ میلی متر گزارش شده است. بر اساس طبقه بندی اقلیمی دومارتن گسترش یافته، شهرستان مرند دارای اقلیم نیمه خشک می‌باشد. باوجود این که زعفران نسبت به مناطق نیمه خشک سازگار است، ولی نمی‌توان چنین استدلال کرد که این گیاه نسبت به خشکی مقاوم است، زیرا وجود بارندگی و رطوبت در فصل رشد رویشی لازم می‌باشد. تغییرات دمای ماهانه مهمترین عامل محیطی در تنظیم گلدهی بسیاری از گیاهان پیازدار بوده و دما می‌تواند مهمترین عامل در تنظیم گلدهی زعفران باشد (Halevy, 1990). با توجه به اینکه مراحل اصلی یا به عبارت بهتر محدوده ای از دوره رشد و نمو زعفران که منجر به عملکرد اقتصادی می‌شود، بسته به شرایط و موقعیت

www.SID.ir

Archive of SID

جغرافیایی هر شهر در طی ماه های مهر، آبان و آذر صورت می‌گیرد، لذا دمای هوا در این زمان بر عملکرد و کیفیت زعفران تأثیر زیادی می‌گذارد (Koozegaran et al., 2011).

براساس مطالعات انجام گرفته روی متابولیت‌های ثانویه زعفران و فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه در شرایط اقلیمی متفاوت و تأثیر شرایط اقلیمی منطقه روی این ترکیبات، نتایج تجربی نشان داد که شرایط مختلف اقلیمی از جمله ارتفاع از سطح دریا و دمای هوا، مقدار سه متابولیت عمده زعفران (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) را تحت تأثیر قرار می‌دهند. زعفران منطقه مرند با ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا در مقایسه با زعفران منطقه کاشمر با ارتفاع ۱۰۰۰ متر از سطح دریا حاوی غلظت‌های بالاتر این ترکیبات هستند، بنابراین ارتفاع بالا و دمای پایین منطقه مرند ممکن است روی این ترکیبات اثر داشته باشد. با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت که ارتفاع از سطح دریا و طول شب‌های سرد در کیفیت زعفران تأثیرگذار است و زعفران‌هایی که در مناطق کوهستانی تولید می‌شوند با کیفیت‌تر از زعفران‌هایی است که در مناطق بیابانی کشت می‌شوند.

طبق نتایج به دست آمده میزان کروسین و پیکروکروسین و فعالیت آنتی اکسیدانی زعفران مرند بیشتر از زعفران کاشمر بود. یافته‌های این پژوهش در توافق با پژوهش‌های قبلی مبنی بر تأثیر شرایط آب و هوایی در میزان متابولیت‌های ثانویه و تأثیر کمیت ترکیبات کروسین، پیکروکروسین و سافرانال زعفران در ارزش اقتصادی و کیفیت این گیاه می‌باشد. بنابراین با توجه به عملکرد و کیفیت مناسب زعفران تولید شده در شهرستان مرند، و با توجه به عطر و طعم زعفران استحصالی و بازار پسندی آن از دیدگاه مصرف‌کنندگان و همچنین درآمدزایی مناسب این محصول در منطقه، افزایش کشت و کار زعفران در شهرستان مرند و مناطق اطراف آن با توجه به افزایش روند رو به خشکسالی در منطقه، قابل توصیه است.

منابع

Abdullaev, F.I. 2002. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron *Crocus sativus*. Experimental Biology and Medicine 227: 20-25.

Abdullave, F., and Ortega, C. 2007. HPLC quantification of major active components from different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. Food Chemistry 10: 1126-1131.

Abrishami, M.H. 1997. Saffron of Iran. Toss publications, Tehran, Iran. 382 pp. (In Persian).

Alizadeh-Salteh, S. 2016. Evaluation of the effect of maternal corm and planting methods on flower and replacement corms yield of two ecotypes of saffron (*Crocus sativus* L.) in Tabriz. Saffron Agronomy and Technology 3 (4): 31-45. (In Persian with English Summary).

Anonymous, M. 1998. Saffron: red gold of the desert Iran. Journal of Commerce 5(1): 38-40.

Assimopoulou, A.N., Sinakos, Z., and Papageorgiou, V.P. 2005. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. Phytotherapy Research 19: 997-1000.

Bathaie, S.Z., and Mousavi, S.Z. 2010. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 50(8): 761-86.

Bergamini, C.M., Gambetti, S., Dondi A., and Cervellati C. 2004. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. Current Pharmaceutical Design 10(14): 1611-1626.

Bouvier, F., Backhaus, R., and Camara, B. 1998. Induction and control of chromoplast –specific carotenoids genes by oxidative stress. The Journal of Biological Chemistry 273: 30651-30659.

Chen, Y., Zhang, H., Tian, X., Zhao, C., Cai, L.,

www.SID.ir

Archive of SID

Liu, Y., Jia, L., Yin, HX., and Chen, C. 2008. Antioxidant potential of crocins and ethanol extracts of *Gardenia jasminoides* ELLIS and *Crocus sativus* L.: A relationship investigation between antioxidant activity and crocin contents. Food Chemistry 109: 484-492.

Gresta, F., Avola, G., Lombardo, G.M., Siracusa, L., and Ruberto, G. 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. Scientia Horticulturae 119: 320-324

Halevy, A.H. 1990. Resent advanced in control of flowering habit of geophytes. International Society for Horticultural Science 66: 35-42.

Harborne, J.B., and Williams, C.A. 1988. Distrbution and evolution of flavonoids in the monocotyledons, Hall Lid. London.

Kanakis, C.D., Tarantilis, P.A., Tajmir-Riahi, H.A., and Polissiou, M.G. 2007. Crocetin, dimethylcrocetin, and safranal bind human serum albumin: Stability and antioxidative properties. Jornal of Agriculture Food Chemistry 55: 970-977.

Koocheki, A. 2013. Research on production of Saffron in Iran: Past trend and future prospects. Saffron Agronomy and Technology 1(1): 3-21. (In Persian with English Summary).

Koozegaran, S., Mousavi Baygi, M., Sanaeinejad, H., and Behdani, M. 2011. Study of the minimum, average and maximum temperature in South Khorasan to identify relevant areas for saffron cultivation using GIS Soil and Water 25: 892-904. (In Persian with English Summary).

Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F., and Baser, K.H.C. 2007. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts. Food Chemistry 103: 952-959.

Kossah, R., Zhang, H., and Chen, W. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruit extract. Food Control 22: 128-132.

Lage, M., and Cantrell, C. 2009. Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. Scientia Horticulturae 121: 366–373.

Maggi, L., Carmona, M., Kelly, S.D., Marigheto N., and Alonso, G.L. 2011.Geographical origin differentiation of saffron spice (*Crocus sativus* L.) stigmas Preliminary investigation using chemical and multi-element (H, C, N) stable isotope analysis. Food Chemistry 128: 543–548.

Martin, G., Goh, E., and Neff, A.W. 2002. Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on Xenopus. Food and Chemical Toxicology 40: 959–964.

Molina, R.V., Garcıa-Luis, A., Coll, V., Ferrer, C., and Valero, M. 2004. Flower formation in the saffron Crocus (*Crocus sativus* L.). The role of temperature. Acta Horticulture 650: 39–47.

Molina, R.V., Valero1, M., Navarro1, Y., Guardiola, J.L., and Garcı´a-Luis, A. 2005. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Horticulturae 103: 361–379.

Omidbeigi, R., Sadeghi, B., and Ramezani, A. 2000. Effects of cultivation area on saffron quality. Journal of Horticultural Science and Technology 3,4: 167-178. (In Persian).

Parry, M., Rosenzweig, C., Iglesias, A., Livermore, M., and Gischer, G. 2004. Effects of climate change on global food production under SRES emissions and socio-economic scenarios. Global and Environmental Change 14: 53–67.

Ramezani, A. 2000. Effect of corm weight on saffron yield in Neyshabur climate. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, The University of Tarbiat Modarres Tehran, Iran. (In Persian with English Summary).

Sadeghi, B. 2012. Effect of corm weight on saffron flowering. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Saffron Biology

www.SID.ir

Archive of SID

and Biotechnology. Kashmir, India. 22-25.

Schmidt, M., Betti, G., and Hensel, A. 2007. Saffron in phytotherapy: Pharmacology and clinical uses. Wiener Mediziniche Wochenschrift 157(13-14): 315-319.

Schonhof, I., Klaring, H., Krumbein, A., Chuben, W., and Schrerer, M. 2006. Effect of temperature increase under radiation condition on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. Agriculture, Ecosystems and Environment 119: 103-111.

Sepaskhah, A.R., and Kamgar-Haghighi, A.A. 2009. Saffron irrigation regime. International Journal of Plant Production 3: 1-16.

Sheykhdavodi, M.J., Ebrahimi Nik, M.A., Pourreza Bilondi, M., Atashi, M., and, Seyedian, M. 2010. Mechanization planning for tillage of saffron fields using multiple criteria decision-making technique as a policy framework in Iran. Australian Journal of Crop Science 4(5): 295-300.

Shokohian, A.A., and Asghari, A. 2008. Consideration of adaptation of saffron ecotypes to Ardabil climate condition. Iranian Journal of Agriculture Science 38(4): 563-570. (In Persian).

Shrififar, F., Moshafi, M.H., and Mansouri, S.H. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic. *Zataria multiflora* Boiss. Food Control 18: 800-805.

Soeda, S., Ochiai, T., Shimeno, H., Saito, H., Abe, K., Tanaka, H., and Shoyama Y. 2007. Pharmacological activities of crocin in saffron. Journal of Natural Medicines 61: 102−111.

Su L., Yin, J.J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., and Yu, L. 2007. Total phenolic contents chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry 100: 990-997.

Zarinkamar, F., Tajik, S., and Soleimanpour S. 2011. Effects of altitude on anatomy and concentration of crocin, picrocrocin and safranal in *Crocus sativus* L. Australian Journal of crop Science 5 (7): 831-838.

Zidorn, C., Schubert, B., and Stuppner, H. 2005. Altitudinal differences in the contents of phenolics in flowering heads of three members of the tribe Lactuceae (Asteraceae) occurring as introduced species in New Zealand. Biochemical Systematics and Ecology 33: 855-872.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison between metabolites and antioxidant activity of saffron (*Crocus sativus* L.) from Kashmar and Marand regions

Masoumeh Vakili-ghartavol[1] and Saeideh Alizadeh-salteh[2*]

Received: 25 February, 2016 **Accepted:** 18 May, 2016

DOI: 10.22048/jsat.2016.38671

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is a valuable product that is moderately resistant to drought and is cultivated in environments with very different climatic conditions. The most important chemical compositions of saffron include crocin and crocetin derivatives. Saffron is used as a food colouring and flavouring agent in the food industry. Moreover, it is utilized in folk medicine as antispasmodic, carminative, sedative, anti-depression and for heart disease. In this study, saffron samples from different altitudes, i.e. Marand with altitude of 1360m and Kashmar with altitude of 1000m above sea level were collected and dried in the same conditions and compared with commercial samples. Three major metabolites (crocin, picrocrocin and safranal) were quantified in both altitudes by Spectrophotometry. The results obtained showed that saffron samples from Marand had the most amounts of crocin and picrocrocin (absorbance: 306 and 118). Also, after extraction, antioxidant activity was quantified by the DPPH free radical scavenging method. The results indicated that saffron samples from Marand had higher concentration of these constituents and antioxidant activity in comparison to that of samples from Kashmar. However, due to reduction of rain and increasing drought in the Azerbaijan region, cultivation of saffron in Marand is recommended on the basis of the results of this research and high yield and quality of saffron.

Keywords: Antioxidant activity, Crocin, Picrocrocin, Safranal.

1 & 2 - M.Sc. student and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz (*-Corresponding author E-mail: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)

www.SID.ir