SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

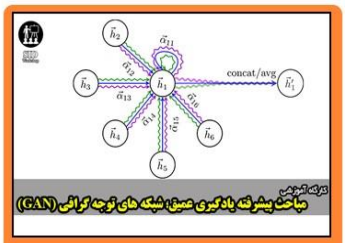
کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)

کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی

Archive of SID

اولین همایش ملی میان وعده های غذایی
مشهد مقدس - ۱۰ و ۱۱ اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

کاربرد کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در اندازه‌گیری متابولیتهای زعفران

اسما سلمانی بجستانی[۱]، زینب افتخاری[۲]، مهناز ژیانی اصغرزاده [*۳]، جواد فیضی[۴]

۱- کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار، سبزوار، ایران
۲- کارشناس ارشد شیمی تجزیه، آزمایشگاه کنترل کیفی تستا، مشهد، ایران
۳- کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار، سبزوار، ایران
۴- دانشجوی دکتری شیمی تجزیه، آزمایشگاه کنترل کیفی تستا، مشهد، ایران
E-mail: *mzhiany@yahoo.com*

چکیده:

امروزه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به طور گسترده برای جداسازی و تخلیص در زمینه‌های مختلف از جمله داروسازی، بیوتکنولوژی، صنایع زیست محیطی، پلیمر و صنعت غذا استفاده می‌شود. این روش در دهه اخیرتبدیل به یک روش انتخابی برای تجزیه و تحلیل طیف وسیعی از ترکیبات شده است. زعفران، کلاله خشک شده گیاه Crocus sativus L. به عنوان گیاه دارویی، رنگ دهنده و یا به عنوان یک عامل طعم دهنده استفاده می‌شود. حدود ۱۰ متابولیت در زعفران وجود دارد که مهترین آنها کروسین، پیکروکروسین و سافرانال است که به ترتیب عامل رنگ، طعم و بوی آن است. روشهای متفاوتی برای تعیین کیفیت زعفران از قبیل کروماتوگرافی لایه نازک(TLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی گازی (GC) و ... گسترش یافته است. نتایج بدست آمده از مقالات نشان داد که TLC و HPLC نتایج قابل مقایسه‌ای برای کروسین و کروستین (عامل رنگ زعفران)، پیکروکروسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل بو) می‌دهد. اندازه‌گیری و تعیین سافرانال با GC انجام می‌شود. در روشی از HPLC برای بررسی اجزا و درصد خلوص زعفران تجاری بوسیله آشکارساز آرایه دیودی حساس نسبت به نور استفاده شده است. عصاره‌ها از طریق استخراج نمونه‌های گیاه خشک با متانول۸۰٪ در دمای محیط و محیط تاریک بدست می آیند. نتایج HPLC-UV نشان داد که می‌توان از این روش به آسانی برای کنترل کیفیت گیاهان دارویی حاوی کروسین نیز استفاده کرد. همچنین از روش HPLC علاوه بر شناسایی و تعیین متابولیت‌ها می توان برای تشخیص تقلبات زعفران نیز استفاده کرد.

واژه های کلیدی: زعفران، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، کروسین، سافرانال، پیکروکروسین

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

زعفران (Crocus sativus L.) گیاهی است از خانواده زنبق که دارای کلاله سه شاخه قرمز نارنجی است. زعفران گیاهی چند ساله، که در زمین های خشک و نیمه خشک به خوبی سازگاری یافته و هرسال یک بار کلاله تولید می‌کند[۱].

این گیاه عمدتا در اسپانیا و ایران و در مقیاس کمتر در یونان، آذربایجان، فرانسه، ایتالیا، هند، چین، مراکش، ترکیه، اسرائیل، مصر، امارات متحده عربی، مکزیک، سوئیس، الجزایر، استرالیا، و نیوزیلند کشت می شود. بیشترین تولید جهانی زعفران مربوط به کشور ایران است. زعفران که گرانترین ادویه جهان محسوب می‌شود جدا از ارزش سنتی آن به عنوان یک افزودنی غذایی برای طعم‌دار کردن و رنگ آمیزی استفاده می‌شود. بزرگترین دلیل قیمت بالای زعفران این است که کاشت، داشت و برداشت آن هزاران سال است با دست انجام می‌شود و با توجه به کمبود آن، اقتصاد ضعیف تولید و هزینه بالای تولید، فروشندگان اقدام به ایجاد تقلب در آن با استفاده از مواد آلی و معدنی میکنند [۲].

خواص درمانی

زعفران در طب سنتی چینی برای مدت طولانی به عنوان ضد آنژین استفاده می شده است[۳]. مطالعات اخیر نشان داده است زعفران ضد تومور (اثر مهارکنندگی بر رشد سلول های بدخیم) و ضد سرطان (اثر مهارکنندگی بر القا سرطان توسط عوامل شیمیایی) است و قادر به فعالیت در سیستم های بیولوژیکی هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی است و در حال حاضر دانشمندان موفق به بررسی اثر سیتوتوکسیک آن روی انواع مختلف سلولهای توموری شده اند[۴]. تحقیقات نشان می‌دهد زعفران به میزان کمی بدن را در برابر بیماری های عمده مانند بیماری عروق کرونر قلب و سرطان محافظت می‌کند و همچنین ممکن است پتانسیل تقویت حافظه را نیز داشته باشد [۲].

همچنین تحقیقات دیگری نشان می‌دهد که مشتقات کروسین، به خصوص کروسین ۱ و عصاره زعفران توانایی سرکوب رشد تومور و افزایش نفوذ اکسیژن به سلول های اندوتلیال مویرگی را دارد [۳].

ترکیبات شیمیایی

ترکیبات شیمیایی زعفران به طور کامل در طول دهه گذشته توسط گروه های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. در حدود بیش از ۱۵۰ ترکیب فرار و غیر فرار در حال حاضر شناسایی شده است. سه متابولیت ثانویه اصلی در زعفران، کروسین، خانواده ای از رنگدانه زرد که در آب حل می‌شود، پیکروکروسین که گلیکوزید بی رنگ و تلخ مزه است و سافرانال روغن فرار که مسئول بو و عطر زعفران است. پیکروکروسین می‌تواند هیدرولیز شود که محصول آن سافرانال است. مقداری از این ترکیبات در بافت کلاله خشک شده که یکی از مهمترین شاخص‌های کیفیت و ارزش این ادویه است. علاوه بر این زعفران شامل پروتئین ها، قند، ویتامین‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، صمغ ها و دیگر ترکیبات شیمیایی است[۲].

پیکروکروسین که مسئول طعم تلخ زعفران است پتانسیل این را دارد که به عنوان یک افزودنی غذایی استفاده شود. در بین ۴ کروسین، کروسین ۱ فراوانترین کروسین در زعفران است که به طور گسترده برای اثرات دارویی آن مورد مطالعه قرار گرفته است [۳].

بحث و نتایج

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در اواخردهه ۱۹۶۰ و اوایل دهه ۱۹۷۰ گسترش یافت که امروزه به طور گسترده‌ای برای جداسازی و خالص‌سازی در زمینه‌های مختلف از جمله داروسازی، بیوتکنولوژی، محیط زیست، پلیمر و صنایع غذایی استفاده می شود.کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در دهه گذشته تبدیل به روش انتخابی برای تجزیه و تحلیل طیف گسترده ای از ترکیبات شده است. مزیت اصلی آن نسبت به کروماتوگرافی گازی(GC) این

www.SID.ir

Archive of SID

است که نیازی نیست آنالیت‌ها فرار باشند، بنابراین ماکروملکول‌ها برای آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مناسب هستند.

لوزانو و همکاران در سال ۱۹۹۸ از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به بررسی اجزا و خلوص زعفران تجاری از طریق آشکارساز آرایه دیودی پرداختند. در این روش ۱۰ نوع متابولیت زعفران که مسئول طعم و مزه، عطر و رنگ بودند شناسایی شدند و اندازه‌گیری با دقت، صحت و انتخابگری بالا انجام گرفت. همچنین بعضی از رنگ‌های مصنوعی که استفاده از آنها تقلب محسوب می‌شود، شناسایی شد. در این تحقیق سه نوع مختلف زعفران Mancha sierra وRio مورد بررسی قرار گرفت و غلظت متابولیتهای آنها در طول موجهای مختلف مشخص شد [۵].

ارتگا و همکاران در سال ۲۰۰۴ در روشی دیگر از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با استفاده از تجزیه و تحلیل آرایه دیودی روی سیستم HPLC آبی برای جداسازی اجزای تشکیل دهنده عصاره الکلی چهار نوع زعفران استفاده کردند. ۴ نمونه زعفران خالص از ۴ کشور آذربایجان، اسپانیا، هند و ایران تهیه شد. نتایج نشان داد که کل محتوای کاروتنوئیدها در نمونه های زعفران آذربایجان و ایران در مقایسه با سایر نمونه‌ها بالاتر بود. متابولیت‌های زعفران اسپانیایی برای خاصیت سیتوتوکسیک روی سلولهای سرطانی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاروتنوئیدهای نوع گلیکوزیدی مسئول اثرات ضد توموری توسط زعفران می‌باشد [۴].

در تحقیقی دیگر توسط ارتگا و همکاران در سال ۲۰۰۵، یازده نمونه زعفران از آذربایجان، چین، یونان، فرانسه، هند، ایران، ایتالیا، نیوزلند، اسپانیا، ترکیه و شرکت شیمیایی سیگما جمع آوری و با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا آنالیز شد. در این مطالعه مقدار و غلظت ۱۰ترکیب عمده زعفران، هر نمونه در سه طول موج مختلف مشخص شد.نتایج نشان داد عصاره زعفران یونان، هند، نیوزیلند و عصاره زعفران اسپانیا بالاترین غلظت کاروتنوئیدی گلیکوزیدی محلول در آب را نشان می دهد که می تواند منبع خوبی از این نوع متابولیت برای ارزیابی بیولوژیکی بیشتر باشد[۶].

سوجاتا و همکاران در سال ۱۹۹۲، برای تعیین کیفیت زعفران از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)،کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و کرواتوگرافی گازی (GC) استفاده کردند.کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نتایج قابل مقایسه ای برای کروسین و کروستین(عامل رنگ)، پیکروکروسین(طعم) و سافرانال(عطر) ارائه دادند. به طور مشابه، تعیین سافرانال توسط کروماتوگرافی گازی هم راستا با آنالیز توسط کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بود. روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بر خلاف روش کروماتوگرافی لایه نازک که روش وقت‌گیری است برای تشخیص تقلب مناسب و برای تجزیه و تحلیل کیفیت آسانتر و کارآمدتر بود [۷].
آلونسو و همکاران در یکی از آخرین بررسی های انجام شده به مقایسه میزان سافرانال در نمونه های اسپانیایی با نمونه هایی از ایران، هند و ایتالیا پرداختند.آنها از هر دو روش کروماتوگرافی گازی و طیف سنجی استفاده، و نتیجه گیری کردند که نمونه های ایرانی به دلیل نوع فرایند خشک کردن پایین ترین میزان سافرانال را دارا هستند [۸].

لوزانو و همکاران در سال ۲۰۰۰، از روش استخراج دی اکسید کربن فوق بحرانی برای بدست آوردن ترکیبات انتخابی فرار زعفران بدون تخریب نمونه استفاده کردند. هم اثر فشار و هم اثر دما مورد مطالعه قرار گرفت، فشار۲۰مگاپاسکال و دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد بهترین شرایط برای استخراج سافرانال بود.در تمام شرایط عصاره‌های حاوی سافرانال و HTCC به روش کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا آنالیز شد که هر دو روش کروماتوگرافی مذکور برای تعیین سافرانال مناسب بود. این آزمایش مزایای استفاده از روش‌های سریع و غیر مخرب برای جداسازی سافرانال با استفاده از سیالات فوق

www.SID.ir

Archive of SID

بحرانی را نشان می‌دهد. ترکیب این روش با آنالیز کروماتوگرافی گازی یا کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای اندازه‌گیری محتوای سافرانال نمونه به خوبی عمل می‌کند. فرآیند استخراج نشان می‌دهد که استفاده از استخراج فوق بحرانی یک روش عالی برای جدا کردن سافرانال و HTTC است که امکان جدا سازی عامل بوی زعفران را بوجود آورده و می‌توان از آن در مصارف صنعتی از جمله لوازم آرایشی استفاده کرد [۹].

لی و همکاران در سال ۱۹۹۹ برای اولین بار از روش ساده و حساس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکارساز ماورای بنفش-مریی، برای تعیین انواع کروسینهای فعال بیولوژیکی که شامل کروسین۱، کروسین۲، کروسین۳ و کروسین۴ بود، استفاده کردند. این روش برای اندازه‌گیری چهار نوع کروسین در سه نمونه زعفران و گیاهان حاوی کروسین به طور موفقیت‌آمیزی استفاده شد. نتایج نشان داد که از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا توسعه یافته می‌توان به عنوان یک روش کنترل کیفیت گیاهان دارویی حاوی کروسین استفاده کرد [۳].

نتیجه‌گیری

استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکارسازهای آرایه دیودی و ماورای بنفش-مریی می‌تواند در کنترل کیفیت زعفران و تشخیص تقلبات آن به طور موثری مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به اینکه ایران بزرگترین تولید کننده و صادر کننده این محصول گرانبهاست، لذا توجه به کیفیت این محصول و آنالیز آن با استفاده از روشهای تجزیه‌ای پیشرفته امری ضروری به نظر می‌رسد.

مراجع

[1] Lage, Mounira., and Cantrell Charles, L., 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, pp.366-373.

[2] Haghighi, behzad., Feizy, javad., and Hemati kakhki, Abbas., 2007. "LC Determination of Adulterated Saffron Prepared by Adding Styles Colored with Some Natural Colorants".*Chromatographia,* 66, pp. 325-332.

[3] Li, Na., Lin, Ge., Kwan, Yiu-Wa., and Min, Zhi-Da., 1999. "Simultaneous quantification of five major biologically active ingredients of saffron by high-performance liquid chromatography". *Journal of Chromatography A,*849, pp. 349-355.

[4] Caballero-Ortega, Heriberto., Pereda-Miranda, Rogelio., Riveron-Negrete, Leticia.,Hernandez Juan, M., Medecigo-Rios, Myra.,Castillo-Villanueva, Adriana., And Abdullaev Fikrat I., 2004. "Chemical Composition of Saffron (*Crocus sativus* L.) from Four Contries". *Acta Hort* 650, ISHS 2004

[5] Lozano, P., Castellar, M.R., Simancas, M.J., and Iborra, J.L., 1999. "Quantitative high-performance liquid chromatographic method to analyse commercial saffron (*Crocus sativus* L.) products". *Journal of Chromatography A*, 830, pp. 477-483.

[6] Caballaero-Ortega, Heriberto., Pereda-Miranda, Rogelio., and Fikrat I, Abdullaev., 2007. "HPLC quantification of major active components from 11different saffron (Crocus sativus L.) sources". *Food Chemistry,* 100, pp. 1126-1131.

www.SID.ir

Archive of SID

[6] Lozano, P., Castellar, M.R., Simancas, M.J., and Iborra, J.L., 1999. "Quantitative high-performance liquid chromatographic method to analyse commercial saffron (*Crocus sativus* L.) products". *Journal of Chromatography A*,830, pp. 477-483.

[7] Sujata, V., Ravishankar. G.A., and Venkataraman, V., 1992. "Method for analysis of the saffron metabolites crocin,crocetins, picrocrocin and safranal for the determination of quality of spice using thin-layer chromatography, high performance liquid chromatography and gas chromatography". *Journal of Chromatography*,624, pp. 497-502.

[8] Alonso, J.L., Salinas, M.R., Sanchez-Fernandez, M.A., and Garijo, J., 2001."Safranal content in Spanish saffron". *Food science and Technology International*. 7(3), pp. 225-229.

[9] Lozano, P., Delgado, D., Gomez, D., Rubio, M., and J.L. Iborra., 2000. "A non-destructive method to determine the safranal content of saffron (*Crocus sativus* L.) by supercritical carbon dioxide extraction combined with high-performance liquid chromatography and gas chromatography".*Biochemical and Biophysical Methods,*43, pp. 367-378.

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

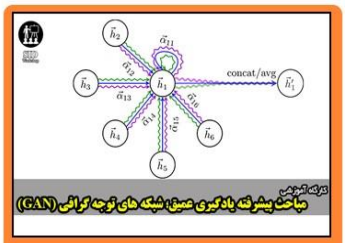
کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)

کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی