Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants, 1 (1): 65-75, (2022)

# Study of phytochemical contents and antioxidant properties of saffron harvested from four regions of Iran

**Mafakheri Sudabeh[1], Asghari Behvar[1*]**

[1]Associate Professor, Dept. of Horticultural Sciences Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

**ABSTRACT INFO**

**Research Paper**

**Received: 23 May 2022**

**Accepted: 30 Jan 2023**

**ABSTRACT**

Saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the most valuable medicinal plants that its stigma is used as a spice. In order to evaluate and compare the amounts of phenols, Flavonoids, polysaccharides, crocin and antioxidant properties of saffron harvested from four regions of Iran (Sarbisheh, Abyek, Dehgolan and Nodashah), random samples were prepared from these regions. The results showed that the heights content of total phenolic and flavonoid, 7.75 mg GAEs/g extract and 4.813 mg QEs/g extract, respectively, was recorded in the Sarbisheh sample. The maximum value of total polysaccharide was extracted from Sarbisheh sample (62.95 mg/g dry sample). The most amount of crocin was observed in Sarbisheh (186.13 mg/g dry sample) and Dehgolan (175.76 mg/g dry sample) saffron. The percentage inhibition of DPPH and OH increases with increasing concentration of the extract, so that, the highest DPPH and OH inhibitory percentage were recorded in Sarbisheh sample (81.19% and 74.28%, respectively) at the concentration of 2 mg/ml. It seems that difference between soil quality, climatic conditions of these four regions and the type of agricultural practices can affect the quality of saffron product.

***Key words:*** Crocin, Flavonoid content, Free radical, Phenolic content, Polysaccharide.

**How to cite this article**:
Mafakheri S, Asghari B. 2022. Study of phytochemical contents and antioxidant properties of saffron harvested from four regions of Iran. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 1 (1): 65-75. (In Farsi)
**DOI: 10.30479/ARMP.2023.17264.1001**

©The Author(s).
Publisher: Imam Khomeini International University
ARMP is an open access journal under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/BY/4.0/)

*Corresponding Author Email: **asghari@eng.ikiu.ac.ir**

نشریه پژوهش‌های پیشرفته در گیاهان دارویی، دوره اول، شماره ۱، زمستان ۱۴۰۱، ص ۷۵-۶۵

# مطالعه محتوای فیتوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی زعفران برداشت شده از چهار منطقه ایران

**سودابه مفاخری[۱]، بهور اصغری[۱*]**

[۱]دانشیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

**اطلاعات مقاله**

**علمی-پژوهشی**

**دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲**

**پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۰**

**چکیده**

**زعفران از باارزش‌ترین گیاهان دارویی است که از کلاله‌های آن به عنوان ادویه استفاده می‌شود. برای بررسی و مقایسه میزان فنل، فلاونوئید، پلی‌ساکاریدها، کروسین و خاصیت آنتی‌اکسیدانی زعفران چهار منطقه کشور (سربیشه، آبیک، دهگلان و نودشه)، نمونه‌های تصادفی از این مناطق تهیه شد. نتایج نشان داد محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی در نمونه سربیشه به ترتیب با مقادیر ۷٫۷۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک و ۴٫۸۱۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک، بیشترین مقدار بود. بیشترین مقدار پلی ساکارید در نمونه‌های سربیشه با مقدار ۶۲٫۹۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک استخراج شد. بالاترین مقدار کروسین از زعفران‌های سربیشه با ۱۸۶٫۱۳ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک و دهگلان با ۱۷۵٫۷۶ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک، استخراج گردید. با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار رادیکال‌های DPPH و OH افزایش یافت به طوری که بیشترین درصد بازدارندگی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در زعفران سربیشه (۸۱٫۱۹ درصد) دیده شد و بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد OH به مقدار ۷۴٫۲۸ درصد و از عصاره تهیه شده از زعفران سربیشه با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، مشاهده گردید. به نظر می‌رسد تفاوت بین کیفیت خاک و شرایط اقلیمی این چهار منطقه و نوع مراقبت‌های زراعی می‌تواند بر کیفیت زعفران تأثیرگذار باشد.**

**کلمات کلیدی: پلی‌ساکارید، رادیکال آزاد، کروسین، محتوای فلاونوئیدی، محتوای فنلی.**

**استناد به این مقاله**

Mafakheri S, Asghari B. 2022. Study of phytochemical contents and antioxidant properties of saffron harvested from four regions of Iran. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 1 (1): 65-75. (In Farsi)

**DOI: 10.30479/ARMP.2023.17264.1001**

حق‌مؤلف © نویسندگان
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

*نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **asghari@eng.ikiu.ac.ir**

**مقدمه**

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. گیاهی علفی و چند ساله از خانواده Iridaceae است. کلاله‌های سرخ رنگ خشک شده و معطر این گیاه به عنوان ادویه‌ای گران‌قیمت در ایجاد رنگ و عطری به یاد ماندنی در تهیه غذاها استفاده می‌شود. زعفران در طب سنتی به عنوان ماده‌ای آرامبخش اعصاب، شادی‌آور و تقویت‌کننده قلب کاربرد دارد. در طب نوین خواص آنتی اکسیدانی، ضد جهشی، پیشگیری‌کننده از آلزایمر و کاهنده درد، التهاب و فشار خون این گیاه، تأیید شده است (Lage and Cantrell, 2009; Vakili-ghartaval and Alizadeh salteh, 2016; Mousavi *et al.,* 2021). زعفران گیاه بومی ایران است و در حال حاضر در جنوب اروپا، چین، هند، افغانستان و بسیاری دیگر از کشورهای جهان در سطح وسیع کشت می‌شود. این گیاه از سال‌های دور و به طور گسترده در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی پرورش داده می‌شد و به تازگی در استان‌های اصفهان، فارس، کرمان، سمنان، لرستان، کردستان، کرمانشاه، قزوین، اردبیل و آذربایجان شرقی نیز کشت می‌شود.

زعفران حاوی بیش از ۱۵۰ ترکیب فرار و معطر است. سافرانال یکی از ترکیبات اصلی اسانس زعفران است که حدود ۶۰ درصد از ترکیبات فرار زعفران را تشکیل می‌دهد. سافرانال طی مراحل خشک شدن و انبار کردن کلاله از هیدرولیز شدن پیکروکروسین ($C_{16}H_{26}O_7$) حاصل می‌شود و منشأ عطر خوش زعفران است. مشتقات کروسین در سلول‌های این گیاه سنتز می‌شود و طی گلدهی، خشک شدن، انبار کردن و عصاره‌گیری، این ترکیبات به صورت طبیعی در سلول‌های کلاله تخریب می‌شود (Nanda and Madan, 2021). زعفران، حاوی تعداد زیادی ترکیبات غیر فرار از گروه کارتنوئیدها است که از آن جمله می‌توان به لیکوپن، آلفا و بتا کاروتن و زئازانتین اشاره کرد. رنگ طلایی و زرد–نارنجی زعفران در درجه اول از ترکیبی به نام آلفا–کروسین ناشی می‌شود. کروسین ($C_{44}H_{64}O_{24}$) یکی از چند کارتنوئید محدود موجود در طبیعت است که به آسانی در آب حل می‌شود. این محلولیت یکی از دلایل کاربرد وسیع آن به عنوان رنگ‌دهنده در مواد غذایی و دارویی نسبت به دیگر کاروتنوئیدها است (Baba *et al.,* 2015).

پلی‌ساکاریدها از ترکیبات باارزش دیگر کلاله زعفران هستند که به طور گسترده در ساختار موجودات زنده وجود دارند و یکی از اولین گروه‌های ترکیبات بیوشیمیایی هستند که وجودشان برای انجام فعالیت‌های حیاتی، ضروری است. بسیاری از گیاهان دارویی مورد استفاده در طب سنتی، حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی‌ساکاریدی هستند. تحقیقات درباره شناسایی پلی‌ساکاریدهای طبیعی در سال‌های اخیر افزایش یافته است و خواص جالب توجه این ترکیبات مانند خاصیت ضد توموری، تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن و آنتی‌اکسیدانی نیز از آنها گزارش شده است (Wang *et al.,* 2015; Ren *et al.,* 2014).

موجودات زنده، شبکه آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای را برای خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، که برای زندگی انسان مضر است، ایجاد کرده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها از ترکیبات مهم سیستم‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها و DNA در مقابل صدمات اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند و عملکرد آنها به کاهش آسیب و مرگ سلولی منجر می‌شود (Zarinkamar *et al.,* 2017). اکسیداسیون، فرایندی طبیعی و ضروری به منظور ایجاد انرژی مورد نیاز برای چرخه‌های حیاتی است. از سوی دیگر وجود رادیکال‌های آزاد بیش از حد، که از راه‌های گوناگونی مانند آلودگی‌های محیطی، فشارهای روانی، سموم شیمیایی، عفونت‌های قارچی و ویروسی، مصرف دخانیات و غیره ایجاد می‌شود، آسیب‌های جبران ناپذیری به بدن انسان وارد می‌کند (Hel and Schroder, 2018). برای کاهش آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون، بسیاری از محققان بر کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها تمرکز کرده‌اند (Hu *et al.,* 2010). در سال‌های اخیر تقاضا برای کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها در فراورده‌های غذایی رشد چشمگیری داشته است و به همین دلیل علاقه به شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی (به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی) در گیاهان مختلف رواج یافته است. ترکیبات فنلی که از گیاهان استخراج می‌شود، خواص چندگانه بیولوژیکی از جمله خاصیت ضد التهابی، ضد باکتریایی و مسلماً خاصیت آنتی اکسیدانتی برای خنثی سازی رادیکال‌های آزاد دارند (Goli *et al.,* 2012). با توجه به این نکات مطالعات مختلفی به منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌های اندام‌های مختلف گیاهان و تعیین محتوای فنلی آنها انجام شده است. در بین تحقیقاتی که در این باره روی گیاه زعفران انجام گرفته است، می‌توان به مطالعه‌ای اشاره کرد که درباره عصاره‌های مختلف (آبی و الکلی) گلبرگ و کلاله زعفران انجام شده است تا وجود ارتباط معنی‌دار را بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت بازدارندگی عصاره‌های این گیاه بر فعالیت رادیکال‌های آزاد تأیید نماید (Hosseinzadeh and Younesi, 2002). در مطالعه‌ای دیگر مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و محتوای فنلی اندام‌های مختلف زعفران نشان داد که کلاله زعفران بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را نسبت به دیگر اندام‌ها دارد (Zarinkamar *et al.,* 2017). گزارش‌هایی نیز در زمینه شناسایی ترکیبات فنلی و نقش آنها در خاصیت آنتی‌اکسیدانتی کلاله زعفران ارائه شده که از آن جمله می‌توان به مطالعه‌ای اشاره کرد که درباره ترکیب کروسین انجام شده است. محققین گزارش کردند که کروسین، خاصیت آنتی‌اکسیدانتی بسیار زیادی دارد؛ ولی مواد مؤثر و مکانیسم‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در زعفران هنوز به طور کامل مشخص نشده است (Bukhari *et al.,* 2018). با توجه به ارزش روزافزون زعفران و گسترش قابل توجه مناطق تولیدکننده این محصول در کشور، هدف از این تحقیق اندازه‌گیری کروسین و مقایسه میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و پلی‌ساکاریدی کل و نهایتاً اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانتی کلاله زعفران برداشت شده از چهار منطقه کشور شامل آبیک استان قزوین، دهگلان استان کردستان، نودشه استان کرمانشاه و سربیشه استان خراسان جنوبی است.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های زعفران در این تحقیق از مزارع سه ساله چهار منطقه تولید کننده زعفران در کشور تهیه شد. در فصل برداشت سال ۱۳۹۹، گل‌ها در فاصله زمانی ساعت ٦ تا ۸ صبح به صورت دستی چیده شد. کلاله‌ها از گل خارج، و به مدت ٦ روز در سایه خشک شد؛ سپس از هر منطقه نمونه‌ای ٤ گرمی از کلاله زعفران خشک تهیه، و برای عصاره‌گیری به آزمایشگاه منتقل گردید. اطلاعات جغرافیایی مزارع زعفران همکار در این تحقیق در جدول ۱ آمده است.

### اندازه‌گیری میزان محتوای فنل (TPC) و فلاونوئید کل (TFC)

در این روش از متانول ۸۰ درصد به عنوان حلال استخراجی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی استفاده شد. به این ترتیب که به ۰٫۱ گرم از نمونه خشک زعفران ۱۰ میلی‌لیتر حلال اضافه، و پس از ۱۰ ساعت تکان خوردن روی شیکر، عصاره به دست آمده صاف شد. برای تعیین محتوای فنل کل از روش فولین-سیکالتو استفاده شد (Asghari *et al.,* 2020). به این ترتیب که ۰٫۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی با ۲٫۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد حجمی-حجمی واکنشگر فولین-سیکالتو مخلوط شد و پس از اینکه به مدت ٦ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷٫۵ درصد کربنات سدیم (*w/v*) به آن اضافه شد. محلول به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی نگهداری، و در نهایت جذب محلول در ۷٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف ترکیب گالیک اسید رسم، و نتایج بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک بیان شده است.

محتوای فلاونوئید کل نمونه‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Bahadori *et al.,* 2016). به طور خلاصه ۰٫۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱ میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۵ درصد مخلوط شد؛ سپس ۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۰٫۵ مولار به نمونه اضافه شد. حجم کل با استفاده از آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه در ٤۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار محتوای فلاونوئیدی کل نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک گزارش شد.

### اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی نمونه‌ها

پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی نمونه‌های مورد بررسی از طریق اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروکسیل (OH) مورد ارزیابی قرار گرفت (Bahadori *et al.,* 2016; Asghari *et al.,* 2019). برای اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH حدود ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه با غلظت‌های متفاوت، با ۱۸۰ میکرولیتر از محلول DPPH با غلظت ۰٫۱ میلی‌مولار مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه، کاهش

**جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی مزارع نمونه زعفران**

| نام منطقه | استان | طول جغرافیایی | عرض جغرافیایی | ارتفاع از سطح دریا |
|---|---|---|---|---|
| سربیشه | خراسان جنوبی | ۵۹٫۸۰ | ۳۲٫۵۹ | ۱۸۲۱ |
| نودشه | کرمانشاه | ٤٦٫۲۵ | ۳۵٫۱۸ | ۱٤۸۹ |
| آبیک | قزوین | ۵۰٫۵۳ | ۳٦٫۰٤ | ۱۳۵۱ |
| دهگلان | کردستان | ٤۷٫٤۲ | ۳۵٫۲۸ | ۱۸۱۰ |

رنگ محلول در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول کنترل در این تست، تمامی واکنش‌گرهای ذکر شده را داراست و فقط به جای نمونه از متانول خالص استفاده شده است.

برای انجام تست به دام‌اندازی رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) ۰٫۲۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه با غلظت‌های متفاوت، ۰٫۱ میلی‌لیتر محلول ۱ میلی‌مولار EDTA، ۰٫۲۸ میلی‌لیتر از محلول داکسی ریبوز با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، ۰٫۴۱ میلی‌لیتر از بافر فسفات با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و pH معادل ۷٫۴، ۰٫۰۱ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار فریک کلراید و ۰٫۱ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید با هم مخلوط شد و پس از اضافه کردن ۰٫۱ میلی‌لیتر محلول ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. محلول کنترل نیز در شرایط مشابه و فقط با حذف فریک کلراید تهیه شد. در نهایت واکنش با اضافه کردن ۰٫۷۵ میلی‌لیتر محلول ۲٫۸ درصد *w/v* از تری کلرو استیک اسید و ۰٫۷۵ میلی‌لیتر از محلول تیوباربیتوریک اسید در سود (۱ درصد *w/v*) و قرار گرفتن در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه متوقف گردید. پس از سرد شدن مخلوط در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های DPPH و OH با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد:

$$Inhibition\ (\%) = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن:

Inhibition (%): درصد مهار رادیکال‌های آزاد

$A_{control}$: جذب محلول کنترل

$A_{sample}$: جذب محلول نمونه است.

**استخراج و تعیین مقدار پلی‌ساکارید نمونه‌های زعفران**

مقدار محتوای پلی‌ساکارید نمونه‌های زعفران با استفاده از روش رنگ‌سنجی فنل-سولفوریک اسید تعیین گردید. در این روش از ترکیب D-گلوکز به عنوان ماده استاندارد استفاده شد. روش گزارش شده توسط Li و همکاران (۲۰۱۱) با مقداری تغییر برای استخراج پلی‌ساکاریدها مورد استفاده قرار گرفت. در این فرایند ۰٫۱ گرم از نمونه زعفران با اضافه کردن ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ابتدا به مدت ٤ ساعت و پس از یک ساعت توقف به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد تحت رفلاکس قرار گرفت. عصاره آبی به دست آمده پس از تغلیظ با پنج برابر حجمی اتانول سرد مخلوط شد تا پلی ساکاریدها رسوب کند. این مخلوط به مدت ۱۲ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد، و در نهایت به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه تحت سانتریفوژ قرار گرفت. نهایتاً پلی‌ساکاریدها خشک و جمع‌آوری شد. رسوب به دست آمده در آب مقطر حل، و حجم نمونه به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول پلی‌ساکاریدی با ۱ میلی‌لیتر از محلول فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ مخلوط گردید. نمونه نهایی پس از اینکه به خوبی تکان داده شد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از سرد شدن میزان جذب محلول در ٤۹۰ نانومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از ترکیب D-گلوکز استفاده شد (Zhang *et al.,* 2019).

**تعیین محتوای کلی کروسین**

جهت استخراج ترکیبات کروسینی مطابق روشی که در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است (Chen *et al.,* 2008)، به ۰٫۱ گرم نمونه زعفران ٤۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد اضافه شد؛ سپس داخل یک ظرف یخ به مدت ۲۰ دقیقه تحت اولتراسونیک قرار گرفت و میزان جذب نمونه در طول موج ٤٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این آنالیز از استاندارد کروسین-۱ برای رسم منحنی کالیبراسیون و آنالیز کمی استفاده شد.

## نتایج و بحث

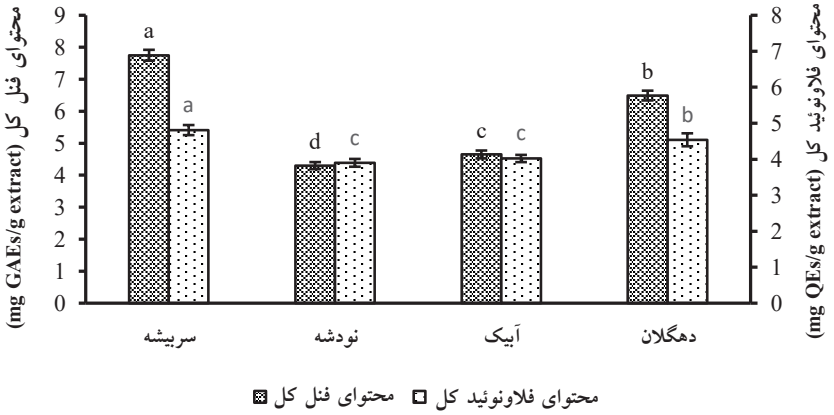
نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد که بین نمونه‌های زعفران چهار منطقه آزمایشی به لحاظ محتوای فنلی و فلاونوئیدی، مقدار پلی ساکارید کل و مقدار کروسین کل، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد.

همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، محتوای کل ترکیبات فنلی در نمونه زعفران سربیشه با مقدار ۷٫۷۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک، بیشترین مقدار بود. زعفران دهگلان با ٦٫٤۹ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک در جایگاه دوم قرار گرفت و زعفران نودشه با مقدار ٤٫۳۰ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک، کمترین محتوای فنل کل را داشت. میانگین محتوای فلاونوئید کل نمونه‌های آزمایشی نیز در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج، مقدار این ترکیبات نیز در زعفران سربیشه با ٤٫۸۱ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک در سطح a قرار گرفت و تفاوت معنی‌داری با دیگر نمونه‌ها نشان داد. نمونه دهگلان با ٤٫٥٤ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک

جدول ۲- آنالیز واریانس تأثیر منطقه بر صفات اندازه‌گیری شده در نمونه‌های زعفران

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | محتوای فنل کل | محتوای فلاونوئید کل | محتوای پلی ساکارید | کروسین کل |
| تیمار | ۳ | ۷٫۸۲۵** | ۰٫۵۵۶** | ۱۱۱٫۹۲۸** | ۳۵۲۶٫۹۶** |
| تکرار | ۲ | ۰٫۰۵۲٤ns | ۰٫۰۲۹۸ns | ۱٫۵۷۰ns | ٦٫۳۷۳ns |
| خطا | ٦ | ۰٫۰۰۹ | ۰٫۰۱٤٦ | ۲٫۰۳۱۲ | ٦٥٫۲٥۱ |
| C.V % | | ۱٫٦٤ | ۲٫۸۰ | ۲٫۵۷ | ۵٫۳۰ |

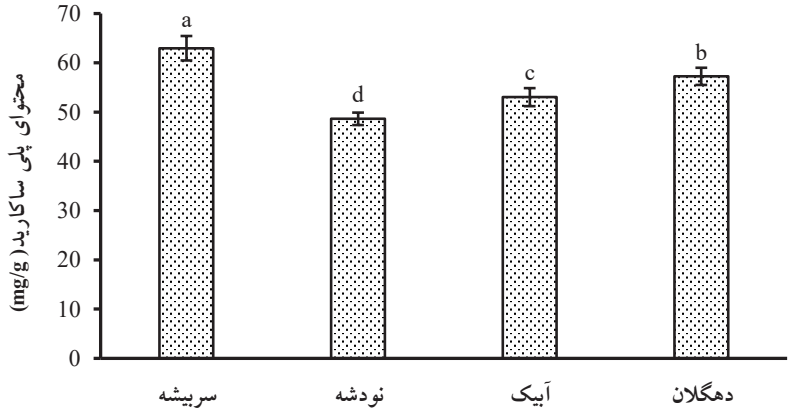
*، **و ns: به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌داری بودن




شکل ۱- محتوای فنل و فلاونوئید کل در نمونه‌های زعفران (ستون‌های دارای حروف متفاوت براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری هستند.)

در سطح b قرار گرفت. زعفران‌های نودشه و آبیک در این صفت تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند و در سطح c قرار گرفتند. مطالعات فراوانی درباره استخراج و شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در گیاهان دارویی و ادویه‌ها انجام شده است که مشخص می‌کند این گیاهان حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند که سبب ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی در آنها می‌شود (Rahaie *et al.*, 2012, Karimi *et al.*, 2010). خاصیت آنتی‌اکسیدانی زعفران نیز به دلیل وجود ترکیبات فنلی، سافرانال، کروسین، کروستین و کاروتن است. Sharifi و همکاران در سال ۲۰۱٦، زعفران‌های برداشت شده از هفت منطقه کشور را مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی از نمونه زعفران کرمان و به میزان بیش از ۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک استخراج گردید. با توجه به نتایج منتشر شده توسط Karimi و همکاران در سال ۲۰۱۰، بیشترین ترکیبات فنلی در زعفران کرمان (۱۷٫٤۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و کمترین آن در نمونه زعفران دولت‌آباد (۸٫۸۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) مشاهده گردید.

مقایسه میانگین مقدار پلی ساکارید کل نمونه‌های آزمایشی در شکل ۲ آمده است. بیشترین مقدار پلی ساکارید کل در نمونه‌های سربیشه با مقدار ٦۲٫۹۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک استخراج گردید. به ترتیب نمونه‌های دهگلان (۵۷٫۲۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک)، آبیک (۵۳٫۰۳ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک) و نودشه (٤۸٫٦۳ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک) در رده‌های بعدی قرار گرفتند. پلی‌ساکاریدها به صورت گسترده در همه گیاهان به عنوان ترکیبات فعال زیستی تولید می‌شوند؛ اما پلی‌ساکاریدهای زعفران توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. در مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام شد، محتوای پلی‌ساکارید کل زعفران تولید شده در هفت منطقه مختلف دنیا بررسی، و مشخص شد که

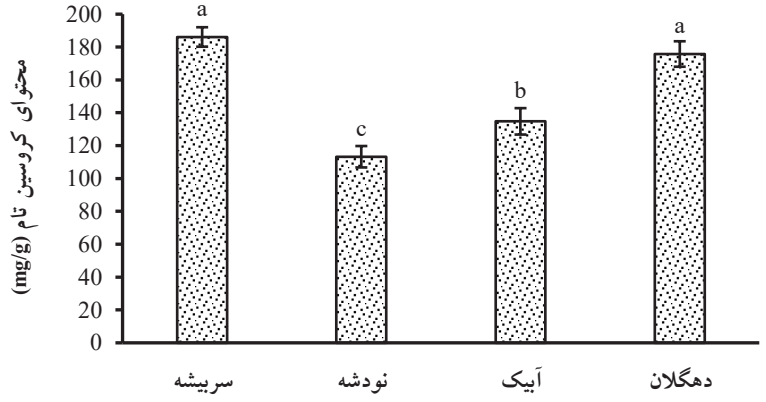



**شکل ۲- محتوای پلی‌ساکاریدی کل در نمونه‌های زعفران (ستون‌های دارای حروف متفاوت براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری هستند.)**

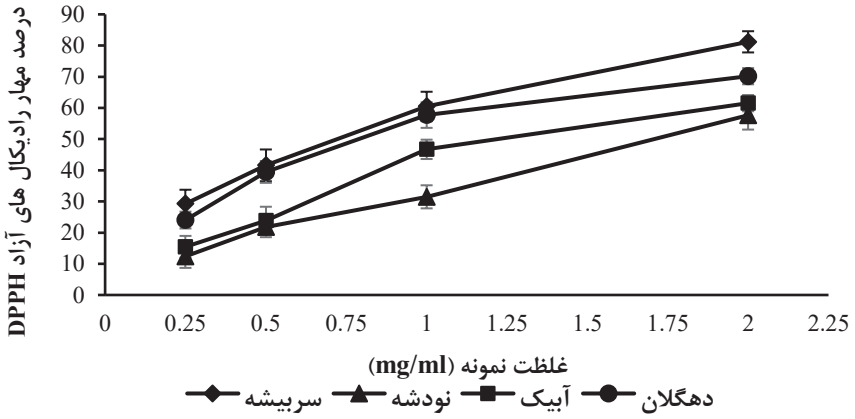
تفاوت معنی‌داری بین مقدار پلی‌ساکارید نمونه‌های این مناطق وجود دارد. در این پژوهش، گستره مقدار پلی‌ساکارید نمونه‌ها بین ۵۲٫۶۵ تا ۶۷٫۱۸ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک گزارش شده است (Zhang *et al.,* 2019). میانگین مقدار پلی‌ساکارید کلاله زعفران به طور قابل توجهی بیشتر از مقدار پلی‌ساکارید بسیاری از گیاهان دارویی است که این می‌تواند از عوامل تأثیرگذار در توانایی آنتی‌اکسیدانتی کم نظیر زعفران باشد. پژوهش‌های زیادی تأثیر چشم‌گیر زیستی و دارویی پلی‌ساکاریدها را به اثبات رسانده است. Sun و همکاران، گزارش کرده‌اند که پلی‌ساکارید BBP3-1 میوه بلوبری، تأثیر واضح و معنی‌داری بر از بین رفتن سلول‌های تومور سرطانی در موش داشته است (Sun *et al.,* 2015). محققان به این نتیجه رسیدند که دو پلی‌ساکارید محلول در آب گیلاس، تأثیر معنی‌داری بر افزایش بیان mRNA مربوط به سیستم ایمنی نشان دادند (Cao *et al.,* 2018). بر اساس مطالعات، پلی‌ساکاریدها می‌توانند به طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در موش‌های مسن را از طریق افزایش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بهبود بخشند (Fan *et al.,* 2017). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که تیمار موش‌ها با پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از چای به طور معنی‌داری آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون را کاهش می‌دهد (Yang *et al.,* 2012). با توجه به این مطالب، شناسایی و کاربرد پلی‌ساکاریدها در گیاهان مختلف بسیار ارزشمند است.

درباره مقدار کروسین کل نمونه‌ها نیز همانگونه که در شکل ۳ مشخص است، بالاترین مقدار کروسین از زعفران‌های سربیشه با ۱۸۶٫۱۳ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک و دهگلان با ۱۷۵٫۷۶ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک، استخراج گردید. نمونه زعفران نودشه با مقدار ۱۱۳٫۲۵ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک، کمترین مقدار کروسین را داشت. در مطالعه‌ای که توسط Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام شد، میزان کروسین زعفران هفت کشور مختلف بررسی، و گزارش شد که زعفران ایران از لحاظ مقدار کروسین در رده دوم قرار دارد. گزارش شده است که میزان کروسین در زعفران‌های ارتفاعات ایتالیا بین ۲۸٫۱ تا ۳۷٫۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود در حالی که در نمونه‌های برداشت شده از اسپانیا، موراکو و یونان بین ۸۰٫۵۹ تا ۲۳۰٫۳۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود (Manzo *et al.,* 2015). در مطالعه‌ای دیگر مقدار کروسین بسیار بالایی (بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) از نمونه زعفران‌های ایران و ایتالیا استخراج گردید (Masi *et al.,* 2016). بررسی مقدار کروسین در دو نمونه پودر زعفران خریداری شده از موراکو مشخص کرد که مقدار این ترکیب بین ۳۶ تا ۳۷ درصد است. این تفاوت قابل توجه در میزان کروسین گزارش شده در مقاله‌های مختلف، ممکن است به علت تفاوت روش استخراج ترکیب، استفاده از استانداردهای متفاوت در اندازه‌گیری و یا عوامل دیگری مانند شرایط اقلیمی محل تولید، ترکیبات خاک و... باشد؛ چرا که مسلماً شرایط محیطی می‌تواند تأثیر بسیار واضحی بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بگذارد (Zhang *et al.,* 2019).

بررسی فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH یکی از روش‌های تعیین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی است. در این روش، رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH در اثر آنتی‌اکسیدان‌های عصاره، خنثی و بی‌رنگ می‌شود. بنابراین درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود است. همانگونه که در شکل ٤ مشاهده




**شکل ۳- محتوای کروسین کل در نمونه‌های زعفران (ستون‌های دارای حروف متفاوت براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری هستند.)**




**شکل ٤- درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در نمونه‌های زعفران**

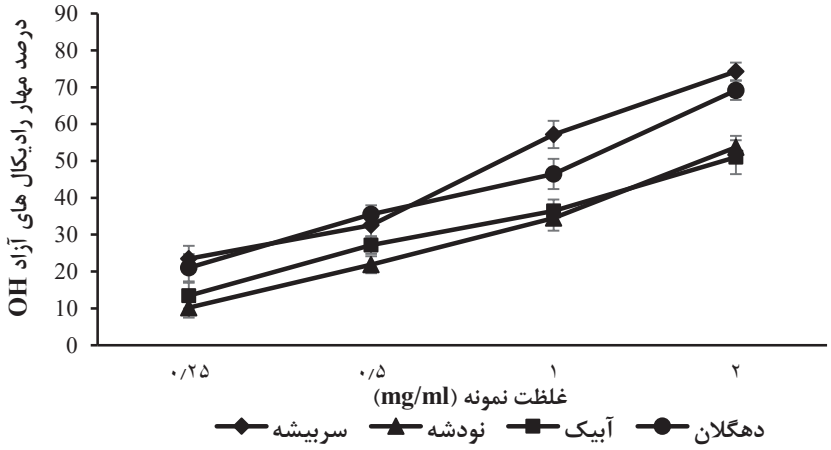
می‌شود با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت به طوری که بیشترین درصد بازدارندگی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره و در زعفران سربیشه (۸۱٫۱۹ درصد) دیده شد و به ترتیب، نمونه‌های دهگلان (۷۰٫۱۷ درصد)، آبیک (٦١٫٥٢ درصد) و نودشه (٥٧٫٦٥ درصد) در رده‌های بعدی قرار گرفتند. هر چهار نمونه مهار قابل توجهی در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH نشان دادند و درصد مهار، متناسب با غلظت عصاره‌ها بود. محاسبه $IC_{50}$ یعنی غلظتی از نمونه که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را از بین ببرد برای نمونه‌های مورد بررسی مؤید قدرت بالاتر زعفران سربیشه در حذف رادیکال‌های آزاد DPPH بود. همانگونه که در جدول ۳ نشان داده شده است زعفران سربیشه با $IC_{50}$ معادل ۰٫۸۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بالاترین توانایی ضدرادیکالی است و این در حالی است که زعفران دهگلان با $IC_{50}$ معادل

**جدول ۳- $IC_{50}$ محاسبه شده برای نمونه‌های زعفران برای مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و OH (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)**

| | سربیشه | دهگلان | آبیک | نودشه |
|---|---|---|---|---|
| DPPH | ۰٫۸۳ | ۱٫۰۲ | ۱٫٤٤ | ۱٫۷۰ |
| OH | ۲٫۷۸ | ۲٫۹۵ | ۳٫۹۷ | ۳٫۸۹ |

۱٫۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این حیث در رتبه دوم قرار دارد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی زعفران توسط Chen و همکاران در سال ۲۰۰۸ و Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز گزارش شده است که کاملاً با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

با توجه به نمودار رسم شده در شکل ۵، مشخص شد که به شکل مشابه با افزایش غلظت عصاره اتانولی زعفران، درصد مهار رادیکال‌های آزاد OH نیز افزایش یافت به طوری که بیشترین




**شکل ۵- درصد مهار رادیکال‌های آزاد OH در نمونه‌های زعفران**

درصد مهار رادیکال‌های آزاد OH به مقدار ۷٤٫۲۸ درصد و از عصاره زعفران سربیشه با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید. زعفران دهگلان با ٦۹٫۱۵ درصد، نودشه با ۵۳٫۷ درصد و آبیک با ۵۱٫۰۲ درصد در رده‌های بعدی قرار داشتند. همانگونه که در جدول ۳ نیز آمده است $IC_{50}$ مربوط به مهار رادیکال‌های آزاد OH برای زعفران سربیشه در مقایسه با دیگر نمونه‌ها کمترین مقدار است (۲٫۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، که نشان‌دهنده بالاتر بودن قدرت حذف رادیکال‌های آزاد برای این نمونه در مقایسه با دیگر نمونه‌ها است. رادیکال‌های آزاد مانند هیدروکسیل (OH) سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن و آزادسازی کلسیم از ذخایر سلولی می‌شود. این مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر، توسط واکنش‌های زنجیره‌ای شیمیایی مانند پراکسیداسیون لیپیدی یا با تشکیل ترکیباتی در DNA می‌توانند در ساختار غشا، رشد، جهش و مرگ سلول‌ها و نیز ایجاد سرطان تأثیرگذار باشند (Finkel *et al.,* 2000). گزارش‌های مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی زعفران توسط سنجش OH محدود است. عصاره‌های زعفران در مقایسه با روش DPPH، فعالیت مهار رادیکال آزاد OH را به میزان پایین‌تری نشان دادند. این نتیجه به احتمال زیاد به دلیل تفاوت در مکانیسم‌های معمول برای سنجش OH و DPPH و یا مربوط به اثر مهار خاص عصاره‌های استفاده شده است. بر اساس تحقیقات، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد OH توسط ترکیبات شیمیایی، ممکن است به علت هماهنگی با یون‌های فلزی مانند $Cu^{2+}$ و $Fe^{2+}$ باشد (Qi *et al.*, 2005). در پژوهشی Serrano-D′*ıaz* و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که گل‌ها، پرچم‌ها، کلاله و گلبرگ‌های زعفران، اثر محافظتی قابل توجهی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو داکسی‌ریبوز نشان می‌دهند. نتایج گزارش شده توسط Zhang و همکاران (۲۰۱۹) نیز با تحقیق حاضر تشابه دارد. به طور کلی می‌توان اعلام کرد که زعفران ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالایی دارد و می‌تواند به عنوان مهار کننده رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار گیرد.

بررسی نمونه‌های زعفران هفت شهرستان در استان خراسان رضوی نشان داد که علی‌رغم شباهت در نوع محتویات متابولیکی آنها تفاوت‌های معنی‌داری بین مقدار برخی ازمتابولیت‌ها وجود دارد و این در حالی است که مناطق مورد مطالعه به لحاظ جغرافیایی نزدیک به هم بودند. این محققان پیشنهاد کردند که با توجه به مقدار ترکیبات مؤثر در زعفران تولید شده در هر منطقه، می‌توان کاربردهای متفاوتی از جمله دارویی، آرایشی- بهداشتی، غذایی و... برای آنها در نظر گرفت (Mousavi *et al.,* 2021). آنچه مسلم است اینکه ترکیب شیمیایی خاک و شرایط آب و هوایی منطقه کشت، می‌تواند بر کیفیت زعفران تولید شده تأثیر معنی‌دار داشته باشد (Lage and Cantrell, 2009). گزارش شده است که اسیدیته خاک (Gresta *et al.,* 2008) و دمای هوا (Behdani and Fallahi, 2015) می‌توانند بر عملکرد و کیفیت کلاله زعفران تأثیرگذار باشند. مطالعه‌ای درباره بررسی اثر ارتفاع از سطح دریا بر کمیت و کیفیت زعفران، تأثیر معنی‌دار آن را بر میزان کروسین کل، نشان داده است (Lage and Cantrell, 2009). در مجموع به نظر می‌رسد علاوه بر تفاوت کیفیت خاک و شرایط اقلیمی این چهار منطقه، نوع مراقبت‌های زراعی نیز می‌تواند بر کیفیت کلاله زعفران تأثیرگذار باشد.

## نتیجه‌گیری

زعفران‌های برداشت شده از چهار منطقه مختلف کشور، تفاوت

قابل توجهی از نظر میزان پلی‌ساکاریدها و کروسین کل و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند. بر اساس نتایج، نمونه زعفران پرورش یافته در منطقه سربیشه استان خراسان جنوبی با دارا بودن بالاترین مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، پلی‌ساکاریدی و کروسینی و همچنین پتانسیل قوی‌تر آنتی‌اکسیدانتی، کیفیت بیشتری دارد. وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر متابولیت‌های ثانویه در کلاله زعفران مناطق مختلف، اهمیت فاکتورهای محیطی از جمله ارتفاع از سطح دریا، دمای هوا، تفاوت در شدت تابش آفتاب و... در تولید زعفران را مشخص می‌کند. از سوی دیگر با توجه به کاربردهای متنوع کلاله زعفران در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی-بهداشتی و... می‌توان محصول برداشت شده از هر منطقه را با توجه به ترکیبات مؤثر آن محصول، گروه‌بندی، و به بازار هدف عرضه کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که زعفران می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به روش‌های مختلف از جمله استفاده به عنوان ادویه در رژیم غذایی روزانه و یا به صورت داروهای مکمل غذایی، مورد استفاده قرار گیرد. در مجموع انجام تحقیق‌های بیشتر در زمینه استخراج و شناسایی مواد مؤثر موجود در زعفران‌های مناطق مختلف کشور و همچنین بررسی خواص بیولوژیکی دیگر آنها ضروری به نظر می‌رسد.

## References


Asghari B, Mafakheri S, Zarrabi MM, Erdem SA, Orhan IE, Bahadori MB. 2019. Therapeutic target enzymes inhibitory potential, antioxidant activity, and rosmarinic acid content of *Echium amoenum*. South African Journal of Botany 120: 191-197.

Asghari B, Mafakheri S, Zengin G, Dinparast L, Bahadori MB. 2020. In-depth study of phytochemical composition, antioxidant activity, enzyme inhibitory and antiproliferative properties of *Achillea filipendulina*: a good candidate for designing biologically-active food products. Journal of Food Measurement and Characterization 14: 2196-2208.

Baba SA, Malik AH, Wani ZA, Mohiuddin T, Shah Z, Abbas N, Ashraf N. 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. South African Journal of Botany 99: 80-87.

Bahadori MB, Valizadeh H, Asghari B, Dinparast L, Bahadori S, Moridi Farimani M. 2016. Biological activities of *Salvia santolinifolia* Boiss. A multifunctional medicinal plant. Current Bioactive Compounds 12 (4): 297-305.

Behdani MA, Fallahi HR. 2015. Saffron technical knowledge based on research approaches. University of Birjand Press, Birjand.

Bukhari SI, Manzoor M, Dhar MK. 2018. A comprehensive review of the pharmacological potential of *Crocus sativus* and its bioactive apocarotenoids. Biomedicine & Pharmacotherapy 98: 733-745.

Cao J, Tang D, Wang Y, Li X, Hong L, Sun C. 2018. Characteristics and immune-enhancing activity of pectic polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium*). Food Chemistry 254: 47-54.

Chen Y, Zhang H, Tian X, Zhao C, Cai L, Liu Y, Jia L, Yin HX, 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 (3): 484-492.

Fan J, Feng H, Yu Y, Sun M, Liu Y, Li T, Sun X, Liu S, Sun M. 2017. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum*. Carbohydrate Polymers 157: 629-636.

Finkel T, Holbrook NJ. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 408 (6809): 239-247.

Goli S, Mokhtari F, Rahimmalek M. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) Petals. Journal of Agricultural Science 4: 175-189.

Gresta F, Lombardo GM, Siracusa L, Ruberto G. 2008. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. Agronomy for Sustainable Development 28: 95-112.

Hel V, Schröder K. 2018. Redox control in cancer development and progression. Molecular Aspects of Medicine 63: 88-98.

Hosseinzadeh H, Younesi HM. 2002. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. BMC Pharmacology 2 (1): 1-8.

Hu T, Liu D, Chen Y, Wu J, Wang S. 2010. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Undaria pinnitafida in vitro*. International Journal of Biological Macromolecules 46 (2): 193-198.

Karimi E, Oskoueian E, Hendra R, Jaafar HZ2010 .. Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. Molecules 15 (9): 6244-6256.

Lage M, Cantrell Ch. 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.

Li J, Fan L, Ding S. 2011. Isolation, purification and structure of a new water-soluble polysaccharide from *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao. Carbohydrate Polymers 83 (2): 477-482.

Manzo A, Panseri S, Bertoni D, Giorgi A. 2015. Economic and qualitative traits of Italian alps saffron. Journal of Mountain

Sun X, Liu N, Wu Z, Feng Y, Meng X. 2015. Anti-tumor activity of a polysaccharide from blueberry. Molecules 20: 3841-3853.

Vakili-ghartavol M, Alizadeh Salteh S. 2016. Comparison between metabolites and antioxidant activity of saffron (*Crocus sativus* L.) from Kashmar and Marand regions. Saffron Agronomy and Technology 4: 215-224. (In Farsi)

Mousavi SM, Khoshkam M, Feizi J. 2021. Comparison of metabolic profile of different saffron samples from the Khorasan Razavi province based on their geographical origin using gas chromatography-mass spectroscopy techniques (GC-MS). Saffron Agronomy and Technology 9 (2): 177-191. (In Farsi)

Wang RJ, Wang S, Xia YJ, Tu MW, Zhang LJ, Wang YM. 2015. Antitumor effect and immune regulation activities of a purified polysaccharide extracted from *Juglans regia*. International Journal of Biology and Macromolecules 72: 771-775.

Yang J, Chen B, Gu Y. 2012. Pharmacological evaluation of tea polysaccharides with antioxidant activity in gastric cancer mice. Carbohydrate Polymers 90: 943-947.

Zarinkamar F, tajik S., Niknam V. 2017. Evaluation of antioxidant activity and phenolic content from saffron organs (*Crocus sativus* L.). Modares Journal of Biotechnology 8 (2): 160-170.

Zhang A, Shen, Y, Gen M, Hong X, Shao Q, Chen Y, Zheng B. 2019. Polysaccharide and crocin contents, and antioxidant activity of saffron from different origins. Industrial Crops and Products 133: 111-117.

Science 12 (6): 1542-1550.

Masi E, Taiti C, Heimler D, Vignolini P, Romani A, Mancuso S. 2016. PTR-TOF-MS and HPLC analysis in the characterization of saffron (*Crocus sativus* L.) from Italy and Iran. Food Chemistry 192: 75-81.

Nanda S, Madan K. 2021. The role of safranal and saffron stigma extracts in oxidative stress, diseases and photoaging: A systematic review. Heliyon 7 (2): 117-131.

Qi H, Zhang Q, Zhao T, Chen R, Zhang H, Niu X, Li Z. 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) *in vitro*. International Journal of Biological Macromolecules 37 (4): 195-199.

Rahaie S, Gharibzahedi SM, Razavi SH, Jafari SM. 2014. Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. Journal of Food Science and Technology 51 (11): 2896-906.

Ren D, Zhao Y, Nie Y, Lu X, Sun Y, Yang X. 2014. Chemical composition of *Pleurotus eryngii* polysaccharides and their inhibitory effects on high-fructose diet induced insulin resistance and oxidative stress in mice. Food & Function 5 (10): 2609-2620.

Serrano-D´ıaz J, Sánchez AM, Maggi L, Mart´ınez-Tomé M, Garc´ıa-Diz L, Murci, MA, Alonso GL. 2012. Increasing the applications of *Crocus sativus* flowers as natural antioxidants. Journal of Food Science 77: 1162-1168.

Sharifi N, Hojjatoleslamy M, Jafari M. 2016. Study of qualitative characteristics of saffron cultivated in different regions of Iran. Journal of Herbal Drugs 6 (4): 235-240.