

تولید رنگ و ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی از ضایعات گل زعفران

سودابه عین افشار^{۱*}

۱. استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، AREEO، مشهد، ایران. (نگارنده مسئول)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۲

صفحه ۲۵ تا ۳۳

چکیده

ضایعات گل زعفران شامل گلبرگ، پرچم و خامه بوده که در مرحله جداسازی کلاله از گل زعفران ایجاد می شوند، حاوی مقادیر قابل ملاحظه ای ترکیبات با ارزشی همچون ترکیبات رنگی طبیعی و آنتی اکسیدانی هستند اما در حال حاضر بلااستفاده بوده و تنها به مصرف خوراک دام می رسند یا در محیط زیست رها می شوند. چنانچه بتوان از این ضایعات محصولات جانبی با ارزش افزوده از جمله انواع رنگ های خوراکی طبیعی و یا ترکیبات نگهدارنده تهیه نمود، علاوه بر جلوگیری از آلودگی محیط زیست، مواد تولید شده دارای ارزش افزوده بالاتری خواهند بود. به این منظور ابتدا ضایعات گل زعفران جمع آوری و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شوند و در جای خشک و خنک نگهداری شوند. استخراج رنگدانه های طبیعی و ترکیبات آنتی اکسیدانی با استفاده از روش استخراج با حلال انجام می شود. نمونه و حلال به مدت ۲۴ ساعت همزده شود و سپس صاف و به روی صافی مجدداً حلال تازه اضافه شده و تا ۲۴ ساعت دیگر، هم زده شود. زیر صافی تحت خلا خشک و در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شوند. ترکیبات ضایعات گل زعفران بواسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات آنتوسیانینی و کاروتنوئیدی دارای مواد رنگی طبیعی و ترکیبات دارای قدرت آنتی اکسیدانی بالایی هستند که می توانند در مواد غذایی و دارویی به عنوان مواد رنگ دهنده یا آنتی اکسیدان های طبیعی کاربرد گسترده ای داشته باشند.

واژه های کلیدی: پرچم زعفران، خامه زعفران، گلبرگ زعفران، رنگ طبیعی، آنتی اکسیدان طبیعی

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: s.einafshar@areo.ir

مقدمه

در حال حاضر ایران با تولید ۳۳۶ تن زعفران، بیش از ۸۸/۸ درصد تولید جهانی زعفران را به عهده داشته و به عنوان بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده زعفران در جهان به شمار می آید (آمارنامه کشاورزی ۹۵-۱۳۹۴). درصد وزنی اجزای تشکیل دهنده گل تازه ۸۶/۴۲ درصد گلبرگ و کاسبرگ، ۵/۹۳۵ درصد پرچم و ۷/۶۴۵ درصد کلاله و خامه است (همتی، ۱۳۸۹) که طی جداسازی کلاله از گل زعفران، کلاله از سایر اجزا جدا شده خشک و به بازارهای داخلی و خارجی ارسال می گردد اما باقیمانده گل زعفران شامل کاسبرگ، گلبرگ، خامه و پرچم زعفران محصولات جانبی تولید زعفران هستند که در حدود ۱۹۴۴۴۵ تن کاسبرگ و گلبرگ، ۱۳۳۵۳/۷۵ تن پرچم حاصل می گردد. این مواد اگرچه حاوی مقادیر قابل ملاحظه ای ترکیبات با ارزش می باشند اما در حال حاضر بلااستفاده بوده و تنها به مصرف خوراک دام می رسند یا در محیط زیست رها می شوند.

چنانچه بتوان از این ضایعات محصولات جانبی با ارزش افزوده از جمله انواع رنگ های خوراکی طبیعی و یا ترکیبات نگهدارنده تهیه نمود، علاوه بر جلوگیری از آلودگی محیط زیست، مواد تولید شده دارای ارزش افزوده بالاتری خواهند بود.

یکی از خصوصیات کیفی مواد غذایی رنگ است که امروزه نقش مهمی در مقبولیت محصولات غذایی دارد. چنانچه محصول غذایی از رنگ مناسبی برخوردار نباشد با کاهش شدید تقاضا مواجه خواهند شد. سایر خصوصیات کیفی مانند عطر، طعم، بافت و غیره پارامترهایی هستند که پس از مصرف محصول غذایی و احياناً پس از یکبار خریدن و مصرف کردن آن مورد قضاوت قرار می گیرند (خانی پور و همکاران، ۱۳۸۷).

با توجه به کاربرد گسترده رنگ ها در مواد غذایی و گزارش هایی از مضرات و خطرات انواع شیمیایی رنگ های خوراکی، استخراج و خالص سازی عصاره های رنگی از منابع طبیعی ارزان قیمت، مورد توجه قرار گرفته است. در راستای این هدف در این مقاله روش های تولید رنگ طبیعی و ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی از ضایعات گل زعفران طی مراحل ذیل مورد بررسی قرار گرفته است.

۱- تهیه اجزای گل زعفران:

در ابتدا مقدار لازم ضایعات گل زعفران (بقایای گل زعفران پس از جدا شدن کلاله یا اصطلاحاً پرکردن) تهیه و بخش های مختلف پرچم، خامه و گلبرگ (شکل ۱) از یکدیگر جدا شدند و به طور جداگانه با استفاده از آن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شدند. ضایعات گل زعفران الف) پرچم ب) خامه ج) گلبرگ (شکل ۱) خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب به پودر تبدیل و در بسته های نایلونی به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت، بسته بندی و در محل تاریک و خنک نگهداری شدند.



الف-



ب-



ج-

شکل ۱- ضایعات گل زعفران (الف) پرچم (ب) خامه (ج) گلبرگ

۲- استخراج عصاره های رنگی از اجزای گل :

ضایعات گل زعفران حاوی رنگدانه های محلول و نامحلول در چربی هستند لذا با استفاده از حلال مناسب می توان این دو نوع رنگدانه را جدا نمود.

استخراج آنتوسیانین ها

استخراج ترکیبات آنتوسیانینی موجود در گلبرگ، خامه و پرچم گل زعفران با استفاده از حلال (اتانول اسیدی) انجام شد. نمونه پودر شده و حلال به نسبت ۱ به ۵۰ با هم مخلوط شدند (روحانی و همکاران، ۱۳۹۴). حلال اتانول اسیدی از مخلوط اتانول ۷۰ و اسید کلریدریک ۱/۵ نرمال به نسبت ۸۵ به ۱۵ سی سی بدست آمد. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه با همزن مغناطیسی در دمای محیط هم زده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و با پمپ خلاء صاف شد (شکل ۲). رسوب حاصله تحت همان شرایط دوباره عصاره گیری شد. با قرار دادن عصاره در دمای ۵۰ تا ۵۵ درجه سلسیوس حلال حذف شد. همچنین به منظور حذف حلال و به حداقل رساندن آسیب به مواد موثره از دستگاه تبخیرکننده دوار در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تحت خلأ استفاده شد. پس از اینکه عصاره کاملاً خشک شد در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند.



شکل ۲: استخراج کاروتنوئیدهای محلول در آب و چربی

برای استخراج کاروتنوئیدهای محلول در چربی از حلال های غیر قطبی استفاده شد. برای استخراج رنگ از مخلوط سه حلال هگزان نرمال، پترولیوم اتر یا مخلوط حلال های هگزان نرمال، استون، اتانل به نسبت ۲:۱:۱ به نسبت ۱۰:۱ نمونه به حلال، استفاده شد. استخراج به مدت ۲ ساعت و در دمای محیط همراه با همزدن در تاریکی انجام شد. نمونه ها توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شدند، سپس به آنها به مقدار ۲۰ درصد حجم حلال مورد استفاده آب مقطر دیونیزه اضافه و نمونه ها به دو فاز آلی و آبی تقسیم شدند. فاز بالایی فاز غیر قطبی و حاوی کاروتنوئیدهای محلول در چربی و فاز پائینی فاز آبی و

حاوی کاروتنوئیدهای محلول در آب بود. حلال های کاروتنوئیدها توسط جریان هوا و یا توسط دستگاه تبخیر گردان تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سلسیوس حذف شدند و عصاره حاصله در ظروف تیره رنگ در مکانی سرد و خشک نگهداری شد (روحانی و همکاران، ۱۳۹۳).

۳- استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی

به منظور استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی از روش استخراج با حلال استفاده شد. به این منظور، نمونه با اتانول ۸۰ درصد به نسبت چهار برابر وزن نمونه به مدت ۴۸ ساعت همزده شد. پس از ۲۴ ساعت اول مخلوط صاف شده و روی صافی مجدداً اتانول اضافه شد و همزدن تا ۲۴ ساعت دیگر ادامه یافت. زیر صافی ها با یکدیگر مخلوط شده و حلال با استفاده از دستگاه تبخیر گردان و آون تحت خلا حذف و عصاره حاصل در ظروف تیره رنگ در مکانی سرد و خشک نگهداری شدند (روحانی و همکاران، ۱۳۹۴).

۱- محاسبه بازده استخراج

راندمان استحصال زعفران از تقسیم وزن کلاله های خشک شده زعفران بر وزن کلاله های تر اولیه ضرب در ۱۰۰ بدست آمد.

از تقسیم وزن عصاره خشک بر وزن ماده اولیه مقدار کل ماده خشک عصاره استخراج شده محاسبه و به صورت درصد بیان شد (خانی پور و همکاران، ۱۳۸۶).

۲- اندازه گیری میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل

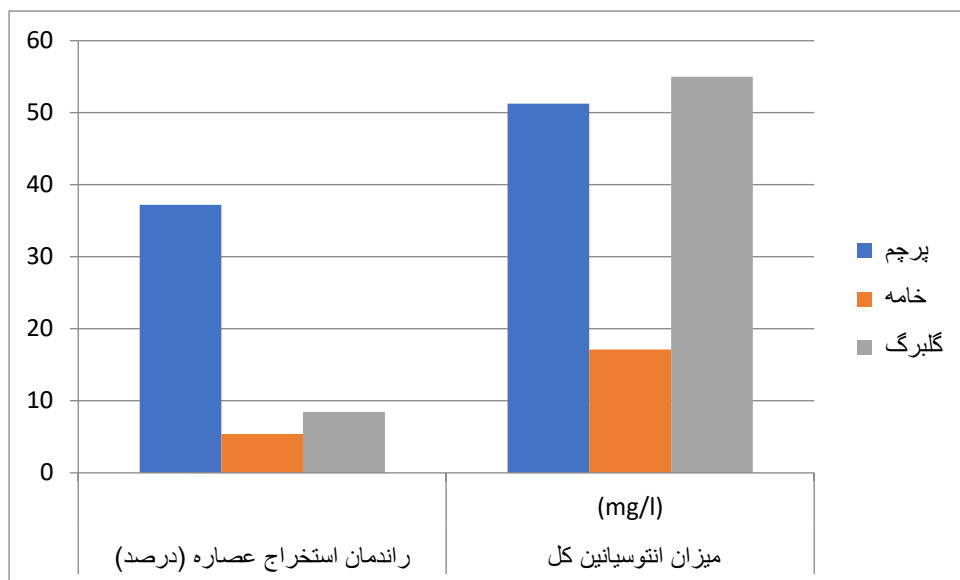
اندازه گیری آنتوسیانین به روش pH افتراقی مطابق روش گیستی و رلاستاد، (۲۰۰۱) انجام گرفت. به این منظور از دو بافر با $\text{pH} = 1$ (KCL-HCL) و ۴/۵ (استات سدیم) استفاده شد. نمونه با بافرها به حجم رسیدند سپس در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب را یکبار با بافر ۱ و بار دیگر با بافر ۲ قرائت شدند.

۵- اندازه گیری میزان ترکیبات کاروتنوئیدی کل

نمونه های خشک شده ابتدا به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شد، سپس طیف جذبی آنها توسط اسپکتروفتومتر در محدوده طول موج ۳۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر تهیه و در طول موج ماکزیمم جذب، میزان جذب هر یک از نمونه ها قرائت شد.

نتیجه گیری کلی

شکل ۱ راندمان استخراج و میزان آنتوسیانینهای کل موجود در ضایعات زعفران را نشان می دهد.



جدول ۱ مقدار ترکیبات رنگی و آنتی اکسیدانی موجود در ضایعات گل زعفران را نشان می‌دهد.
جدول ۱: راندمان استخراج، مقدار ترکیبات رنگی و آنتی اکسیدانی موجود در ضایعات گل زعفران

ضایعات گل زعفران	میزان کاروتنوئیدهای محلول در آب (mg/l)	میزان کاروتنوئیدهای محلول در چربی (mg/l)	قدرت آنتی اکسیدانی (IC ₅₀) (mg/L)
پرچم	۶/۲۸۵ b	۳/۶۰۷	۵۱۵/۸ b
خامه	۲/۸۷c	-	۷۴۱/۷ a
گلبرگ	۵۱/۷a	-	۵۴/۵ c

در هر ستون اعداد دارای حروف یکسان با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند ($P < 0.05$).

شکل ۱ و جدول ۱ نشان می‌دهد راندمان استخراج عصاره از ضایعات گل زعفران در حدود ۳۷ تا ۴۸ درصد ماده خشک بود (جدول ۱) و در بین ضایعات گل زعفران، گلبرگ با ۴۸/۸ درصد دارای بیشترین راندمان استخراج بود.

جدول ۱ نشان می‌دهد آنتوسیانین‌های موجود در ضایعات گل زعفران، در حدود ۱۵/۱۷ تا ۹۹۸/۵ میلی گرم در هر لیتر می‌باشد بیشترین مقدار آن در گلبرگ (۹۹۸/۵ میلی گرم در لیتر) و کمترین مقدار آن در خامه گل زعفران (۱۵/۱۷ میلیگرم در لیتر) می‌باشد. آنتوسیانین‌ها بزرگترین گروه رنگدانه‌های محلول در آب در قلمرو گیاهان هستند و به دسته‌ای از مولکول‌ها به نام فلاونوئیدها تعلق دارند. بهترین منابع آنتوسیانین‌ها عبارتند از خانواده توت‌ها مانند: بلوبری - کرانبری - بلک‌بری - تمشک و گیاهانی نظیر: انگور موسکادین - کلم قرمز - برنج سیاه - پوست بادمجان. آن‌ها مسئول ایجاد رنگ در بسیاری از گل‌ها، میوه‌ها و بری‌ها هستند و می‌توانند به عنوان رنگ‌های طبیعی در سیستم‌های غذایی مورد استفاده قرار

گیرند. مقدار آنتوسیانین ها در این مواد در حدود ۵۰ تا میلی گرم در لیتر ۱۲۰۰ است (کیم و همکاران، ۲۰۰۵). مقدار این ماده در گلبرگ زعفران با بسیاری از منابع یاد شده قابل رقابت بوده لذا گلبرگ زعفران منبعی ارزان قیمت و فراوان از این ماده ارزشمند محسوب می گردد.

ضایعات گل زعفران حاوی مقادیر نسبتا بالایی از انواع کاروتنوئیدهای محلول در آب و چربی نیز می باشند (جدول ۱). کاروتنوئیدها دسته‌ای از رنگدانه‌ها به رنگ های زرد، نارنجی و قرمز هستند که در جذب نور در گیاهان نقش بسیار مهمی دارند. از کاروتنوئیدهای مشهور می توان به بتاکاروتن، آلفا کاروتن، لیکوپن، لوتین و گزانتوفیل اشاره کرد که اغلب آن ها محلول در چربی هستند و کروسین (رنگدانه زعفران) تنها کاروتنوئید محلول در آب می باشد جدول ۱ نشان میدهد ضایعات گل زعفران حاوی این رنگدانه نیز میباشند. در میان ضایعات گل زعفران گلبرگ زعفران با ۵۱/۷ میلی گرم بر لیتر حاوی بیشترین مقدار کاروتنوئیدهای محلول در آب بود و پس از آن پرچم گل زعفران در مقایسه با خامه گل زعفران مقدار بیشتری از این ماده را دارا بود (جدول ۱). اما از میان ضایعات گل زعفران، پرچم گل زعفران با ۳/۶ میلی گرم در لیتر تنها منبع کاروتنوئیدهای محلول در چربی می باشد.

جدول ۱ نشان میدهد مقدار IC_{50} گلبرگ زعفران کمترین مقدار بود و این موضوع نشانگر بیشتر بودن قدرت آنتی اکسیدانی آن می باشد. هر چه میزان IC_{50} کمتر باشد اثر آنتی اکسیدانی بیشتر است زیرا قدرت مهار اکسایش را با غلظت کمتری انجام می دهد. از آنجایی که میزان آنتوسیانین ها در گلبرگ زعفران زیاد است لذا بالاتر بودن قدرت آنتی اکسیدانی آن توجیه می گردد زیرا ارتباط مستقیمی بین میزان آنتوسیانین ها و قدرت آنتی اکسیدانی وجود دارد (رایس ایوند و همکاران، ۱۹۹۶، ملترم و همکاران، ۲۰۱۳).

ضایعات گل زعفران بواسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات آنتوسیانینی، کاروتنوئیدی و فنلی دارای مواد رنگی طبیعی و ترکیبات دارای قدرت آنتی اکسیدانی بالایی هستند که می توانند در مواد غذایی و دارویی به عنوان مواد رنگ دهنده یا آنتی اکسیدان های طبیعی کاربرد گسترده ای داشته باشند. و با توجه به غنی بودن پوشش گیاهی شمال شرق کشور و با در نظر گرفتن اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان های سنتزی و رنگ های سنتتیک و با در نظر گرفتن خواص دارویی و مغذی متعدد گرده، می توان زمینه استفاده از آن را به عنوان یک منبع رنگی و آنتی اکسیدانی جدید در صنایع غذایی و دارویی فراهم نمود.

توصیه های ترویجی:

- ۱- ضایعات گل زعفران موادی باارزش، حاوی مواد رنگی و ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی قابل استخراج هستند.
- ۲- سه نوع رنگدانه، آنتوسیانین، کاروتنوئید محلول در آب و کاروتنوئید محلول در چربی از ضایعات گل زعفران استخراج می گردد.
- ۳- با استفاده از سیستم حلال مناسب هر یک از رنگدانه ها و ترکیبات آنتی اکسیدانی را می توان از ضایعات گل زعفران استخراج نمود.
- ۴- حلال مناسب برای استخراج آنتوسیانین ها اتانول اسیدی (اتانول ۷۰ و اسید کلریدریک ۱/۵ نرمال به نسبت ۸۵ به ۱۵ میلی لیتر) و به نسبت ۱ گرم نمونه در مقابل ۱۰ میلی لیتر حلال است.
- ۵- حلال مناسب برای استخراج کاروتنوئیدها از مخلوط سه حلال n-هگزان، پترولیوم اتر و مخلوط حلال های ان-هگزان، استون، اتانل به نسبت ۱:۱:۲ به نسبت یک گرم نمونه به ۱۰ میلی لیتر حلال، استفاده می شود.
- ۶- نمونه و حلال ها به مدت ۲ ساعت با هم زن مخلوط و سپس صاف می شوند. و زیر صافی تحت خلا خشک می شود. عصاره های حاصل در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شوند.
- ۷- برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از اتانول ۸۰ درصد، به نسبت ۵ برابر وزن نمونه استفاده شود.
- ۸- نمونه و حلال به مدت ۲۴ ساعت همزده می شود و سپس صاف و به روی صافی مجددا حلال تازه اضافه شده و تا ۲۴ ساعت دیگر، هم زده می شود. زیر صافی تحت خلا خشک و در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری می شوند.

منابع

خانی پور، ا.، کرامت، ج.، و شکرانی، ر. ۱۳۸۶. تعیین شرایط بهینه استخراج کاروتنوئیدهای گوجه فرنگی، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال یازدهم، شماره چهارم (ب). ۲۸۹-۲۹۶.
روحانی، ر.، عین افشار، س.، احمدزاده قویدل، ر. ۱۳۹۴. استخراج ترکیبات رنگی و آنتی اکسیدانی پرچم گل زعفران با کمک امواج فراصوت. نشریه علوم و فناوری غذایی (۲)، ۱۱، ۱۶۱-۱۷۰.
همتی کاخکی، ع.، ۱۳۸۹، بهینه سازی عوامل موثر بر تولید رنگ خوراکی از گلبرگ زعفران، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، مرکز خراسان.

Giusti, M. monica and Wrolstad Ronald E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-VIS Spectroscopy, Current Portocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc.

Kim, D.; Heo, H.J.; Kim, Y.J.; Yang, H.S.; Lee, C.Y. 2005. Sweet and Sour Cherry Phenolics and Their Protective Effects on Neuronal Cells. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9921-9927.

Meltem, T.; Seref, T.; Ufuk, D.; Mehmet, O. 2013 Effects of various pressing programs and yields on the antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content and colour of pomegranate juices. *Food Chem.*, 138, 1810-1818.

Rice-Evans, A.C.; Miller, N.J.; Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933-956.

Siger, A., Nogala-kalucka, M., and Lampart-Szczapa, E. 2007. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J of Food Lipids.* 15:137-149.