اولین همایش ملی گیاهان دارویی، کارآفرینی و تجاری سازی

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه جیرفت

۱۹ و ۲۰ آبان ۱۴۰۰
MPEC 2021
1st National Conference on Medicinal Plants, Entrepreneurship and Commercialization
10-11th Nov 2021, University of Jiroft

بررسی پروفایل متابولیکی کلاله گیاه زعفران(*Crocus sativus* L.)
(مطالعه موردی: استان‌های خراسان و گلستان)

فاطمه یونسیان[1*]، مرتضی غلامی[2]، محمد رضا طاهری[2]

۱. کارشناسی ارشد فیتوشیمی ، گروه شیمی ، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه گلستان

۲. استادیار ، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه گلستان

*-r.younesian74@gmail.com

چکیده

زعفران از با ارزش‌ترین گیاهان دارویی که در سطح وسیعی از کشور ایران کشت می‌شود و در جهان به عنوان گران قیمت‌ترین ادویه و طلای سرخ مشهور است. تاکنون مطالعات زیادی درباره خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه زعفران انجام شده اما در مورد تعیین پروفایل متابولیکی این گیاه با توجه به شرایط متنوع آب و هوایی مناطق مختلف ایران مطالعات و پژوهش‌های اندکی دردسترس می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی متابولومیکس کلاله گیاه زعفران جمع آوری شده از ۱۰ منطقه استان خراسان و گلستان توسط دستگاه HPLC می‌باشد. که با تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از HPLC می‌توان به شباهت متابولیت‌های کلاله دو استان از همدیگر پی برد اما با توجه به نقشه گرمایی غلظت بیشتری از متابولیت‌ها در نمونه‌های استان گلستان موجود می‌باشد.

مقدمه

فرآورده‌های ثانویه به‌جز مسیر بیوسنتزی پیچیده‌ای که برای تولید دارند، دارای ساختار پیچیده نیز هستند و همین امر مطالعه آن‌ها را با کندی مواجه کرده است به دلیل ناشناخته بودن و پیچیدگی ساختمان اغلب آن‌ها، تولید این ترکیبات به صورت مصنوعی، مشکل و هزینه‌بر است. متابولومیکس یکی از علوم در حال توسعه در این زمینه است. با این حال متابولومیکس نیازمند پیشرفت روش‌هایی برای پوشش دادن هرچه بیشتر متابولوم استخراج شده، نوآوری در اندازه گیری مقدار متابولیت ها در سلول ، ایجاد پایگاه داده های معتبر و مخصوص در هر رشته می‌باشد(Roessner et al.,2011). یکی از روش‌های آنالیز در متابولومیکس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا که در اواخر دهه ۱۹۶۰ و اوایل دهه ۱۹۷۰ گسترش یافته است. مزیت اصلی آن نسبت به کروماتوگرافی گازی این است که نیازی نیست آنالیت‌ها فرار باشند.). زعفران یک گونه گیاهی عقیم از خانواده زنبقیان می‌باشد، کلاله خشک شده این گیاه سالهاست که مورد توجه می‌باشد(Goli et al.,2012). این گیاه عمدتا در اسپانیا و ایران و در مقیاس کمتر در کشورهایی مانند یونان، آذربایجان کشت می‌شود.بیشترین تولید جهانی زعفران مربوط به کشور ایران است(Haghighi et al.,2007). در نتیجه بر آن شدیم که نمونه های زعفران دو استان ایران را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر در مهر ماه سال ۱۳۹۹ با جمع آوری گل های زعفران از استان های گلستان(مناطق کیارام ، وامنان ، زیارت ، صفی آباد ، ویرو (رامیان)) و خراسان(نیشابور ، تربت حیدریه ، قائنات ، بجستان و طبس) آغاز گردید.

آماده سازی نمونه‌های گیاهی:کلاله و خامه گل‌های جمع آوری شده کاملا از هم جدا شده و به منظور جلوگیری از خرابی و کپک زدن نمونه‌های گیاهی، در سایه و در دمای اتاق خشک گردیدند.

آماده سازی عصاره گیاهی:برای آنالیز نمونه های کلاله و خامه از هر نمونه میزان ۱ میلی گرم را وزن نموده و توسط سمپلر ۱۰۰۰ میکرو لیتر (۱ میلی لیتر) آب دیونیزه به آن اضافه نموده و ۱۵ دقیقه در اولترا سونیک قرار داده تا عصاره گیری انجام شود. پس از انجام عصاره گیری میکروتیوپ را در سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه قرار داده تا مواد گیاهی ته نشین شود و سپس با فیلتر سرسرنگی ۴۵/۰ میکرون صاف تا محلول شفافی حاصل شود.

تزریق به دستگاه HPLC:عصاره حاصله به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا که مجهز به ستون ۵میکرون ODS، ۶/۴×۲۵۰ میلی متر و آشکار ساز PDA بود تزریق گردید.فاز متحرک ترکیبی از آب (A) و استونیتریل (B) با روش شویش گرادیانی(شیبی) A ۹۰٪ برای ۵ دقیقه و تا A ۲۰٪ تا ۴۰ دقیقه می‌باشد.

جهت افزایش دقت ، عصاره گیری از هر نمونه در ۳ تکرار انجام پذیرفت.

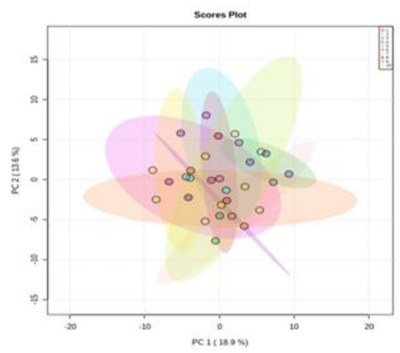
جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصله از نرم افزارهای Metaboanalyst انجام پذیرفت.

نتایج و تحلیل

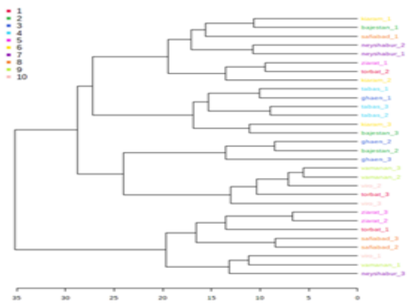
خوشه بندی سلسله مراتبی نمونه های کلاله : نتایج به صورت کلی نشان دهنده دو دسته تقریبا نامتمایز می‌باشد. و نمی‌توان تفاوت زیادی در بین نمونه های دو استان قائل شد.

نقشه گرمایی داده های مربوط به کلاله:تقریبا در سمت چپ نمودار که مناطق ویرو ، وامنان ، صفی آباد و زیارت وجود دارد غلظت بیشتری از متابولیت ها نشان داده می‌شود. همچنین کلاله منطقه کیارام از لحاظ غلظت و شباهت در طبقه نمونه های استان خراسان وجود دارد.

آنالیز مولفه های اصلی متابولیت های کلاله:دسته بندی داده‌ها بر اساس مولفه‌های اصلی کلاله های جمع آوری شده از استان های خراسان و گلستان نشان دهنده پراکندگی نسبتا کم در هر مولفه می-باشد که در مجموع متابولیت ها ۳۲/۵٪ پراکندگی را نشان داده اند.



PCA-score plot متابولیت های کلاله



نمودار خوشه بندی سلسله مراتبی

نتیجه گیری

. از آن جایی که HPLCیکی از بهترین روش های جداسازی و شناسایی ترکیبات زیستی است. در مطالعه حاضر سعی بر آن شد تا اجزای متابولیکی نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف دو استان خراسان و گلستان بررسی و متابولیت های اصلی آن جهت تعیین کیفیت توسط دستگاه HPLC انجام گیرد. با توجه به تجزیه و تحلیل نتایج حاصله ر می‌توان استنباط نمود که از لحاظ پروفایل متابولیکی کلاله زعفران، فرق چندانی بین نمونه های مورد آزمایش احساس نمی‌شود و کیفیت تقریبا یکسانی از لحاظ شباهت متابولیکی در بین مناطق مورد آزمایش وجود داشته است.

در تحقیقی نیز سلمانی‌بجستانی و همکاران(۱۳۹۳) بیان نمودند که 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 مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به اینکه ایران بزرگترین تولید کننده این محصول گرانبها است، لذا توجه به کیفیت این محصول و آنالیز آن با استفاده از روش‌های پیشرفته امری ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

سلمانی بجستانی ، ا . افتخاری ، ز . ژیانی اصغرزاده ، م . فیضی ، ج . (۱۳۹۳). کاربرد کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در اندازه گیری متابولیت‌های زعفران . اولین همایش ملی میان وعده‌های غذایی . مشهد

#Goli, S.A.H., Mokhtari, F. and Rahimmalek, M., (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (Crocus sativus L.) petal. *Journal of Agricultural Science*, *4*(10), p.175.

Haghighi, B., Feizy, J. and Kakhki, A.H., (2007). LC determination of adulterated saffron prepared by adding styles colored with some natural colorants. *Chromatographia*, *66*(5), pp.325-332.

#Roessner, U., Nahid, A., Chapman, B., Hunter, A. and Bellgard, M., (2011). Metabolomics–the combination of analytical biochemistry, biology, and informatics. Academic Press.