



مقاله پژوهشی

اثر حلال اتانول-آب بر استخراج کروسین به روش فراصوت از زعفران

مائده کرمی پور اصفهانی<sup>۱</sup>، محمد عابدی<sup>۲\*</sup> و ذاکر بحرینی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۷ خرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۸ اسفند ۱۳۹۴

کرمی پور اصفهانی، م.، عابدی، م.، بحرینی، ذ. ۱۴۰۰. اثر حلال اتانول-آب بر استخراج کروسین به روش فراصوت از زعفران. زراعت و فناوری زعفران، ۹(۳): ۲۸۵-۲۹۳.

چکیده

زعفران یکی از گیاهان داروئی مهم است که در قسمت‌های مختلف کشور و به ویژه در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی کشت شده و بواسطه قیمت آن یکی از اقلام مهم صادراتی ایران به‌شمار می‌رود. عصاره این گیاه به‌دلیل غنی بودن ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و به عنوان دارو در طب سنتی و نوین مورد استفاده قرار می‌گیرد. کروسین یکی کاروتنوئیدهای طبیعی موجود در زعفران است که اخیراً در فرمولاسیون داروهای ضد افسردگی استفاده شده است. با توجه به اهمیت مواد مؤثره موجود در عصاره زعفران و به‌خصوص کروسین، در این مقاله یک روش مناسب و کاربردی استخراج با حلال برای استخراج کروسین از زعفران مورد مطالعه قرار گرفته است. برای این منظور در نسبت‌های مختلف حجمی از حلال‌های آب-اتانول شامل ۱۰۰-۰، ۷۵-۲۵، ۵۰-۵۰، ۲۵-۷۵ و ۰-۱۰۰ استخراج مواد مؤثره و کروسین با استفاده از امواج فراصوت با فرکانس ۳۲ کیلو هرتز و در دمای محیط انجام شد. از روش اسپکتروفوتومتری فرابنفش مرئی در طول موج ۴۴۵ نانومتر برای اندازه‌گیری جذب کروسین و از روش آماری حداقل مربعات و به کمک منحنی تنظیم برای محاسبه غلظت کروسین در نمونه‌های استخراج شده استفاده شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده برای نسبت‌های مختلف حلال آب و اتانول و همین‌طور پایداری این محلول‌ها پس از زمان سه روز، آب و اتانول با نسبت حجمی ۵۰:۵۰ به عنوان حلال بهینه برای استخراج مواد مؤثره و کروسین از زعفران انتخاب شد.

**کلمات کلیدی:** پایداری عصاره زعفران، ترکیبات مؤثره زعفران، حلال آب-اتانول.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران، تهران، ایران.  
۲- دانشیار شیمی تجزیه، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران، تهران، ایران.  
۳- دانشیار شیمی آلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران، تهران، ایران.  
(نویسنده مسئول: mabedi50@yahoo.com)

## مقدمه

زعفران با نام علمی کروکاس ستیوس<sup>۱</sup>، گیاهی علفی، چند ساله و از خانواده زنبقیان<sup>۲</sup> یکی از ارزشمندترین رستنی‌ها است. منشا اصلی آن نواحی مختلف آسیا بوده، اما با توسعه پرورش آن امروزه در مناطق مختلف دنیا مثل اسپانیا، یونان، ایتالیا، هند، فرانسه، چین، ترکیه و ... یافت می‌شود (Alavizadeh & Hosseinzadeh, 2014). زعفران عرضه شده به بازار در واقع کلاله‌های خشک شده این گیاه می‌باشد. هر گل زعفران دارای سه کلاله بوده و حدود ۱۵۰۰۰۰ گل برای تولید ۱ کیلوگرم زعفران مورد نیاز است (Yilmaz et al., 2010). بر اساس آمارنامه کشاورزی سال ۱۳۹۸ وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیر کشت زعفران در ایران در سال ۱۳۹۸ بالغ بر ۱۲۰ هزار هکتار بوده است که بیش از ۱۰۷ هزار هکتار آن در دو استان خراسان رضوی (۹۱۳۵۲ هکتار) و خراسان جنوبی (۱۵۹۷۷ هکتار) کشت شده است و حدود ۴۳۹ تن زعفران از آن تولید شده است (Ebadzadeh et al, 2020).

عصاره این گیاه و به‌خصوص کروسین موجود در آن خواص ضد افسردگی و ضد اضطراب داشته و باعث تقویت حافظه می‌گردد. در مطالعات صورت گرفته، اثرات ضد التهاب و مسکن بودن عصاره آبی و اتانولی زعفران بررسی شده است. سافرانال موجود در این گیاه نیز دارای خاصیت ضد التهابی می‌باشد (Amin & Hosseinzadeh, 2012). زعفران در طب سنتی به عنوان کمک کننده به هضم غذا، کاهش دهنده التهابات لثه، آرام بخش اعصاب، ضد نفخ، خلط‌آور و اشتها آور شناخته می‌شود. در مطالعات دارویی امروزی نیز این گیاه دارای خواص ضد افسردگی و فعالیت‌های ضدتوموری زیادی است. اثرات جذب رادیکال، افزایش یادگیری، تقویت حافظه و افزایش انتشار

اکسیژن در بافت‌های مختلف به عنوان فواید دیگر زعفران گزارش شده است. از میان حدود ۱۵۰ ترکیب فرار و غیرفرار موجود در زعفران، کم تر از ۵۰ ترکیب تاکنون شناسایی شده‌اند (Alavizadeh & Hosseinzadeh, 2014).

از مهمترین مواد موثره موجود در زعفران می‌توان به کروسین، پیکروکروسین و سافرانال اشاره کرد که به ترتیب عامل رنگ، طعم و عطر آن به حساب می‌آیند. در واقع کیفیت زعفران عمدتاً به مقدار این ترکیبات وابسته است.

بخش اعظم رنگدانه‌های زعفران از گروه کاروتنوئیدها است. مهم‌ترین عامل تشکیل دهنده رنگ زعفران ناشی از کروسین‌های کاروتنوئیدی سیس و ترانس می‌باشد. کروسین (C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub>)، استر گلیکوزیدی کروسستین (C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>) است. از کل کروسستین موجود در زعفران ۹۴٪ به صورت کروسین و ۶٪ به شکل کروسستین آزاد وجود دارد.

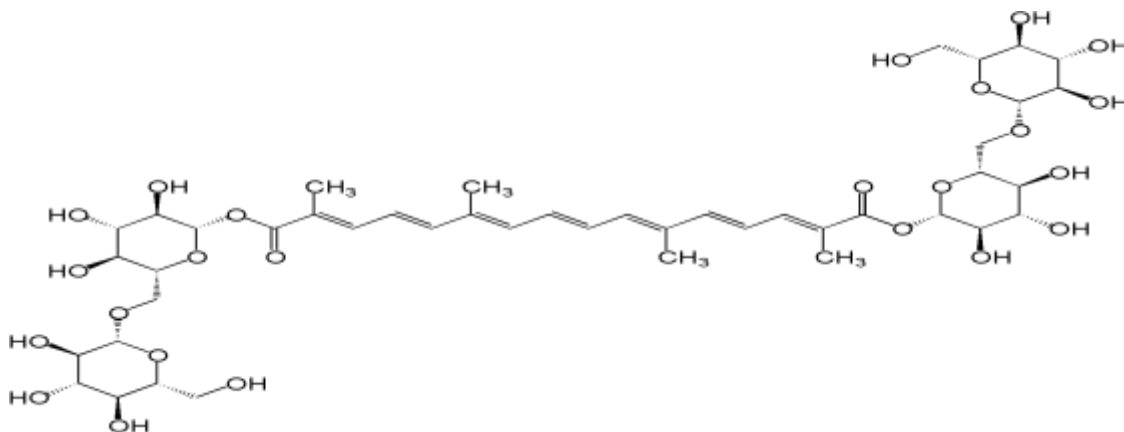
در شکل ۱ ساختار شیمیایی کروسین، نشان داده شده‌است (Lozano et al., 2000; Yasmin & Nehvi, 2013).

برای استفاده‌های غذایی و دارویی از گیاهان و مواد موثره‌ی آنها، عصاره آنها باید از بافت گیاه خارج گردد. برای این منظور از روش‌های مختلف استخراج به کمک حلال استفاده می‌گردد. برای دستیابی به عصاره با راندمان استخراج بالا از مخلوط حلال‌ها استفاده می‌گردد که با توجه به قطبی و غیرقطبی مواد موثره انتخاب می‌شوند. در مورد استخراج ترکیبات قطبی از آب، اتانول، متانول و یا مخلوط آنها و در مورد ترکیبات غیر قطبی از حلال‌های آلی هگزان، اتیل استات، اتر، کلروفرم و ... استفاده می‌گردد. بزرگترین مشکل استفاده از حلال‌های آلی سمی بودن آنها می‌باشد (Kulisic et al., 2004). معمولاً سالم‌ترین حلال‌ها آب، اتانول و مخلوط آنها می‌باشند، که به حلال‌های سبز معروف بوده و غالباً در کاربردهای غذایی، دارویی و بهداشتی - آرایشی از آنها استفاده می‌گردد. برای استخراج مواد موثره موجود در

۱- *Crocus sativus* L.

۲- Iridaceae

زعفران در مقیاس آزمایشگاهی تلاش‌های بسیار زیادی انجام شده و از حلال‌های مختلف به کمک روش‌های مختلف استخراج استفاده شده است.



شکل ۱- ساختار شیمیایی کروسین  
Figure 1- Chemical structure of Crocin.

مورد مناسب‌ترین حلال برای استخراج مواد موثره از زعفران، از محلول‌های با درصد حجمی متفاوت آب و اتانول به عنوان حلال سبز و دوست‌دار محیط زیست برای استخراج کروسین به روش فراصوت از زعفران استفاده شده و درصد آن بهینه شده است.

### مواد و روش‌ها

#### مواد، واکنشگرها و دستگاه‌ها

پوشال زعفران مورد نیاز محصول مزارع قائنات استان خراسان جنوبی بود که از توزیع کنندگان و نمایندگان معتبر آن در تهران خریداری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استاندارد کروسین از شرکت فیتولب<sup>۱</sup> آلمان خریداری شد. اتانول ۹۶٪ از تولیدکنندگان داخلی مانند شرکت بیدستان قزوین و زکریای جهرم خریداری شد.

از دستگاه اسپکتروفتومتر فرا بنفش-مرئی (UV-Vis) پرکین المر مدل لامبدا ۳۵ شرکت پرکین المر آمریکا، برای اندازه‌گیری

برای مثال استخراج کروسین توسط آب مطابق روش ایزو ۳۶۳۲ (García-Rodríguez et al., 2014)، استخراج مواد موثره به کمک امواج فراصوت با استفاده از اتانول مطلق (Verma & Middha, 2010)، استخراج عصاره زعفران توسط دی‌اکسید کربن فوق بحرانی (Zougagh, 2006)، و دی‌اکسید کربن فوق بحرانی همراه با اصلاحگرهای متانول و آب (Nerome et al., 2016)، استخراج فراصوت تسریع شده همراه با روش میکرو استخراج امولسیون تسریع شده با استفاده از حلال‌های آب و کلروفرم (Chaharlangi et al., 2015) و استخراج کروسین به کمک پلیمر قالب مولکولی در محیط آبی (Mohajeri et al., 2010). در این روش‌ها بیشتر بر روی فرایند استخراج یا اندازه‌گیری اجزاء تشکیل دهنده در عصاره استخراج شده متمرکز شده‌اند و به بهینه‌سازی ترکیب درصد حجمی حلال آب و اتانول به عنوان یک فاکتور بسیار مهم در فراوری عصاره و استخراج و پایداری کروسین پرداخته‌اند.

بنابراین در این تحقیق با توجه به فقدان اطلاعات فنی در

۱- PhytoLab

2- Calibration curve

بود. جهت رسم منحنی کالیبراسیون به روش اسپکتروفتومتری ماورابنفش-مرئی، به ترتیب از نمونه غلیظ تهیه شده حجم‌های ۰/۵، ۱/۰، ۱/۲۵، ۱/۵، ۲/۰ و ۳/۰ میلی‌لیتر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد، که به ترتیب معادل ppm ۲/۵، ۵/۰، ۶/۲۵، ۷/۵، ۱۰/۰ و ۱۵/۰ بودند. جذب هریک از نمونه‌ها (عصاره‌ها) استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری ماورابنفش-مرئی در طول موج بیشینه کروسین (طول موج ۴۴۵ نانومتر) اندازه‌گیری شده و منحنی تنظیم رسم گردید. منحنی از دامنه‌ی خطی بسیار خوبی در محدوده غلظت ppm ۱۵/۰-۲/۵ کروسین برخوردار بود (معادله خط  $y = 0.1145x + 0.0141$  و  $R^2 = 0.9952$ ).

### نتایج و بحث

کروسین به عنوان یکی از مهمترین مواد موثره موجود در زعفران به خاطر داشتن خواص غذایی و دارویی از اهمیت بالایی برخوردار بوده و عامل رنگ و فام عصاره زعفران می‌باشد. در این تحقیق به منظور بررسی اثر حلال در استخراج آن از زعفران با توجه به رنگی بودن کروسین، از روش اسپکتروفتومتری فرا بنفش-مرئی استفاده گردید (ISO 3632-2, 2010). برای بدست آوردن طول موج بیشینه کروسین در حلال آب-اتانول طیف اسپکتروفتومتری کروسین استاندارد در ناحیه طول موجی ۷۰۰-۲۰۰ نانومتر در حلال آب-اتانول با درصد حجمی ۵۰:۵۰ بدست آمد، که در شکل ۲ نشان داده شده است، همان‌طور که دیده می‌شود، کروسین در ناحیه مرئی دارای دو طول موج بیشینه ۴۴۵ و ۴۶۹ نانومتر است که می‌توان برای اندازه‌گیری کمی از آنها استفاده کرد که به دلیل حساسیت بالاتر طول موج ۴۴۵ نانومتر در این تحقیق از این طول موج بیشینه استفاده شد.

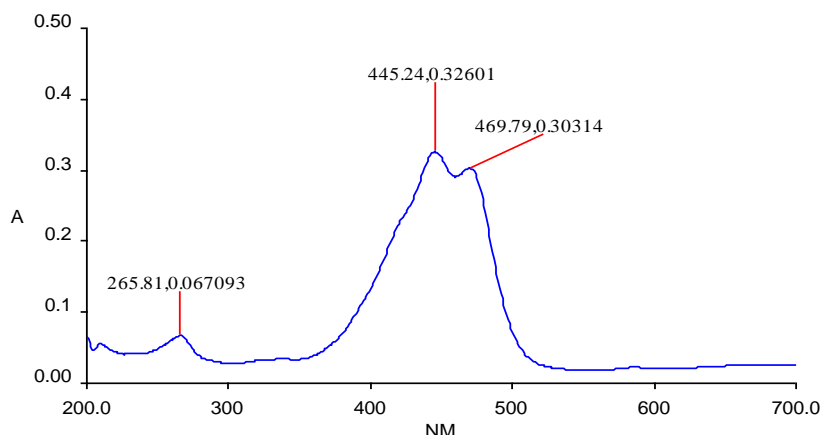
جذب محلول‌ها و اندازه‌گیری کروسین موجود در گیاه زعفران استفاده شد. از حمام اولتراسونیک شرکت الکس ماچین کشور ترکیه با فرکانس ۳۲ کیلوهرتز برای استخراج عصاره‌ها و از سایر تجهیزات و وسایل موجود در آزمایشگاه پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران مانند ترازو، آون، سانتریفیوژ و غیره استفاده شد.

### استخراج عصاره از زعفران

۵ لوله آزمایش مجزا تهیه شده و در هریک از آنها ۵ میلی‌گرم زعفران ساییده شده با مش کمتر از ۴۰ ریخته شد. به ترتیب در هریک از لوله‌ها ۱۰ میلی‌لیتر حلال آب-اتانول با درصدهای حجمی مختلف اتانول شامل ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد اضافه گردیده و جهت استخراج عصاره زعفران و مواد موثره به‌خصوص کروسین استفاده شد. هریک از نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفته، سپس به مدت ۱۰ دقیقه جهت کامل شدن فرایند استخراج در حمام فراصوت تحت امواج فراصوت با فرکانس ۳۲ کیلوهرتز قرار گرفت. پس از صاف کردن و رقیق‌سازی، جذب هریک از محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتری ماورابنفش مرئی در طول موج ۴۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر یک از آزمایشات ۳ بار تکرار گردید و نتایج گزارش شده میانگین آماری نتایج می‌باشد. از روش آماری حداقل مربعات و به کمک منحنی تنظیم برای محاسبه غلظت کروسین در نمونه‌های استخراج شده استفاده شد.

### اندازه‌گیری کروسین

به‌منظور اندازه‌گیری کروسین در عصاره‌های استخراج شده از منحنی تنظیم استفاده شد. برای رسم منحنی تنظیم مقدار ۲/۵ میلی‌گرم از نمونه استاندارد کروسین توزین و در بالن ۵۰ میلی‌لیتر توسط حلال آب-اتانول با درصد حجمی ۵۰:۵۰ به حجم رسانده شد. غلظت این نمونه استاندارد معادل ppm ۵۰



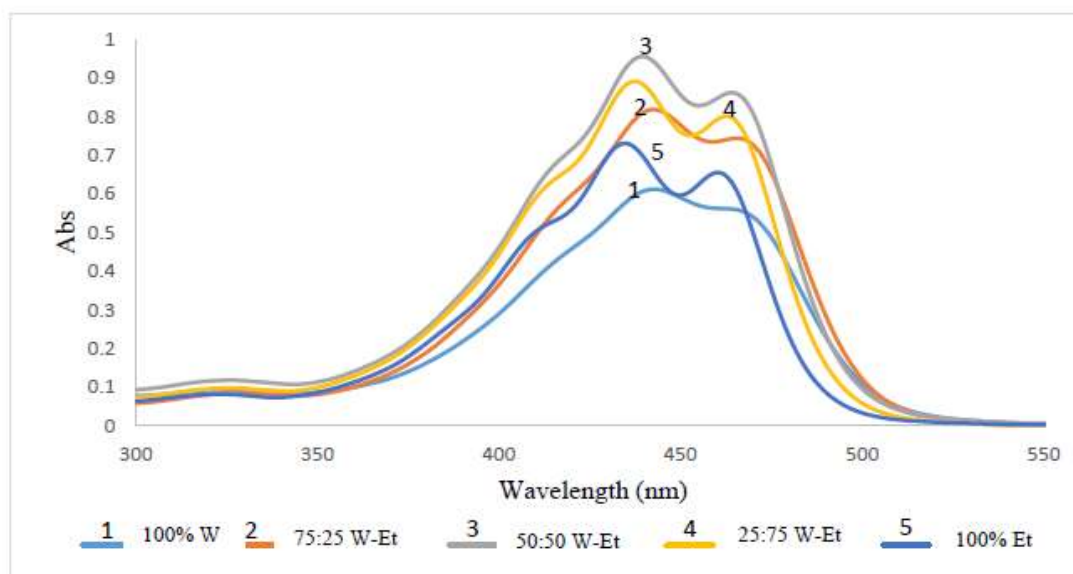
شکل ۲- طیف ماورابنفش-مرئی نمونه استاندارد (۲/۵ ppm) کروسین در ناحیه طول موج ۲۰۰-۷۰۰ نانومتر  
Figure 2- UV-Vis spectra of standard crocin sample (2.5 ppm) at 200-700 nm.

ترکیب درصد حجمی ۵۰٪ اتانول در آب حلال بهینه برای استخراج کروسین می‌باشد. بنابراین بهترین درصد حلال برای استخراج کروسین از زعفران ترکیب ۵۰ درصد حجمی اتانول-آب می‌باشد. اتانول خالص و آب بازده کمتر استخراج کروسین را به نمایش گذاشتند. آب خالص با ثابت دی الکتریک ۸۰/۱ قطبی‌ترین حلال است و قطبیت آن برای استخراج کروسین مناسب نیست. اتانول خالص با ثابت دی الکتریک ۲۴/۵ در مقایسه با آب قطبیت کمتری دارد و در مقایسه با آب خالص توانایی بیشتری برای استخراج کروسین که یک ترکیب آلی با قطبیت متوسط می‌باشد، دارد. اما ترکیب این دو حلال با نسبت حجمی مساوی از لحاظ قطبیت و نفوذپذیری بیشترین تناسب را با ترکیب کروسین داشته و حلالیت کروسین در این نسبت حلال بیشتر بوده و لذا کروسین با بهره‌ر استخراج بیشتری از بافت گیاهی خارج شده است.

شکل ۳ مقایسه طیف‌های اسپکتروفتومتری فرا بنفش - مرئی و جذب بیشینه نمونه‌های حاصل از استخراج عصاره از زعفران در ترکیب درصدهای حجمی ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد حلال آب-اتانول را نشان می‌دهد. واضح است که با افزایش مقدار اتانول در حلال استخراجی ساختار طیف از شکل

اثر امواج فراصوت بر استخراج مواد موثره از زعفران قبلا توسط کدخدایی و همتی کاخکی (Kadkhodae & Hemmati, 2006) مورد مطالعه قرار گرفته و بررسی شده است. آنها از امواج فراصوت با توان بالا در فرکانس ۳۰ kH و در دمای محیط برای استخراج استفاده کردند. نتایج نشان داد که امواج فراصوت به دلیل ایجاد حباب‌های پرنرژی و پدیده کاویتاسیون باعث بهبود فرایند استخراج شده و راندمان استخراج را افزایش می‌دهد. بنابراین با توجه به این یافته‌ها در این تحقیق تیز از امواج فراصوت با فرکانس ۳۲ kH در دمای محیط برای استخراج کروسین استفاده شد، تا اثر ترکیب درصدهای حجمی مخلوط آب-اتانول مطالعه گردد. الکل‌ها (اتانول و متانول) و مخلوط‌های آبی آنها متداول‌ترین حلال‌ها برای استخراج مواد موثره از بافت‌های گیاهی می‌باشند. برای بررسی تأثیر نوع حلال و ترکیب آن بر استخراج کروسین از پوشال‌های زعفران، آب و اتانول انتخاب و از ترکیب درصدهای حجمی مختلف آنها در محدوده ۰-۱۰۰٪ برای استخراج کروسین از زعفران به کمک امواج فراصوت استفاده شد. نتایج نشان داد (شکل ۳) که عملکرد استخراج کروسین با افزایش درصد اتانول در ترکیبات حلال تا ۵۰٪ افزایش و پس از آن کاهش می‌یابد. بنابراین، حلال با

کاملاً پهن به شکل دو شاخه تبدیل شده، علاوه بر آن طول موج‌های بیشینه به ناحیه طول موجی پایین‌تر جابجا شده است.



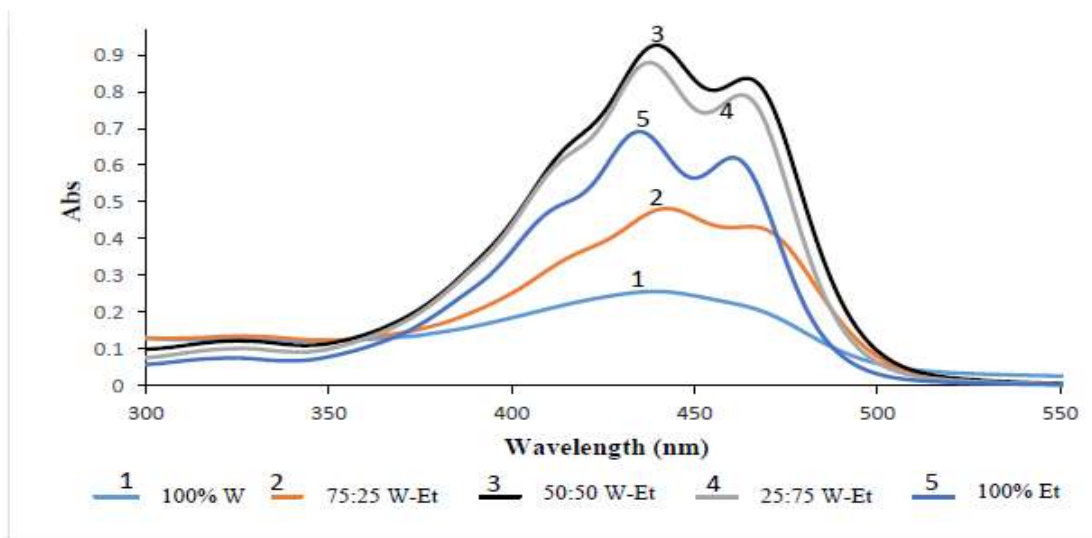
شکل ۳- طیف ماورابنفش-مرئی استخراج کروسین از زعفران در درصدهای مختلف مخلوط آب-اتانول  
Figure 3- UV-Vis spectra of extracted crocin from saffron at different percent of water-ethanol mixture.

نوع حلال و ترکیب درصدهای مختلف آب-اتانول بر پایداری کروسین، عصاره‌ی حاوی کروسین استخراج شده از زعفران تحت شرایط فراصوت و در دمای محیط در زمان‌های مختلف نگهداری از زمان تهیه تا ۳ روز (۷۲ ساعت) بررسی شده و طیف عصاره حاصل در ناحیه فرابنفش-مرئی (UV-Vis) و از ۳۵۰ تا ۵۵۰ نانومتر بدست آمد. طیف حاصل پس از تهیه در شکل ۳ و پس از ۷۲ ساعت در شکل ۴ و مقایسه بیشینه جذب در طول موج ۴۴۵ نانومتر هریک از عصاره‌ها در نسبت‌های مختلف حلال پس از سه روز در شکل ۵ نشان داده شده‌است. نتایج بیانگر آن است که پایداری کروسین تابع نوع حلال (آب یا اتانول) و ترکیب درصد آنها بوده و با افزایش زمان پایداری کروسین محلول کاهش می‌یابد. از آنجائی که برای مصارف غذایی و دارویی لازم است که مواد موثره و کروسین به عنوان ماده رنگزا از پوشال استخراج شده و استفاده گردد، بنابراین چنانچه کروسین به مدت طولانی در فاز محلول نگهداری شود از کیفیت آن کاسته شده و

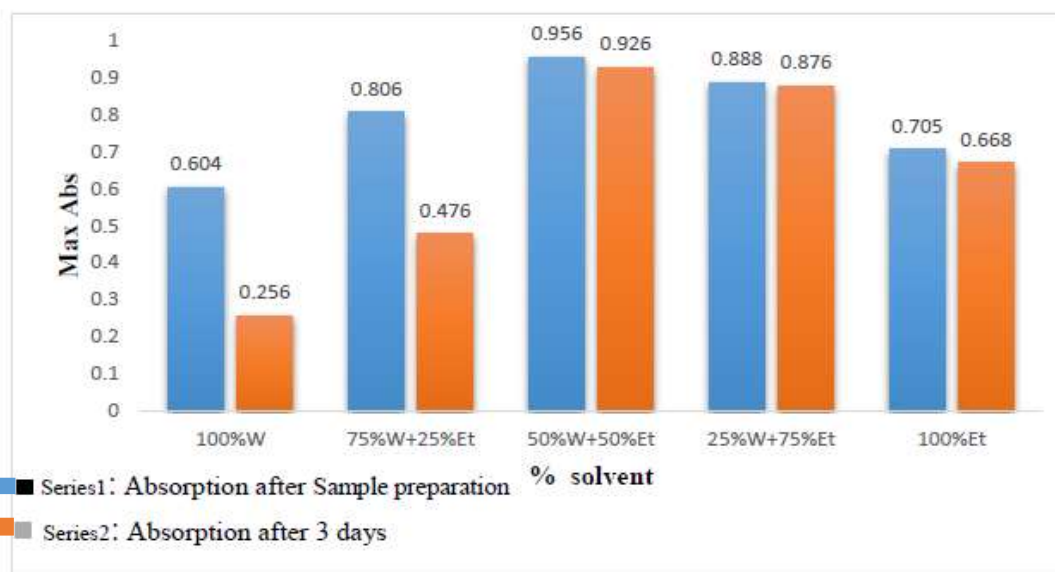
با توجه به شکل ۱ کروسین یک رنگدانه کاروتنوئیدی است و وجود پیوندهای دوگانه (پای غیراشباع) در ساختار آن واکنش پذیری آن را در حضور عوامل محیطی مانند نور، اکسیژن هوا و درجه حرارت و عوامل شیمیایی مانند نوع حلال افزایش داده (Rahaiee et al., 2015) و لذا این پیوندهای دوگانه اشباع شده و منجر به کاهش رنگ آن می‌گردد. بنابراین در فرآیند استخراج باید اثر این عوامل کاهش یافته و کروسین محافظت شود. کاهش زمان استخراج و استفاده از روش‌های استخراج کارا تر با راندمان بالا (مانند روش استخراج فراصوت) منجر به در معرض قرارگیری کمتر کروسین تحت عوامل محیطی شده و کیفیت عصاره حفظ می‌شود. اما ماهیت حلال و خواص فیزیکی و شیمیایی آن مانند قطبیت، فشار بخار، وجود گروه‌های عاملی خاص، گرانیوی و نفوذپذیری نه تنها بر حلالت کروسین تأثیر گذاشته بلکه بر راندمان استخراج و پایداری آن پس از استخراج نیز موثر است (Rezaei & Abedi, 2017). به منظور بررسی اثر

محلول ۵٪ اتانول در آب می باشد که با توجه به نمودار شکل ۵، پس از ۳ روز تنها ۳/۲ درصد از کیفیت آن کاسته شده است.

رنگ آن کاهش می یابد. به منظور کاهش تجزیه رنگ کروستین در فاز محلول با استفاده از نتایج این تحقیق بهترین حلال



شکل ۴- طیف ماورابنفش-مرئی استخراج کروستین از زعفران در درصدهای مختلف مخلوط آب-اتانول پس از سه روز  
Figure 4- UV-Vis spectra of extracted crocin from saffron at different percent of water-ethanol mixture after 3 days.



شکل ۵- مقایسه جذب بیشینه نمونه های حاوی کروستین استخراج شده از زعفران در درصدهای مختلف مخلوط آب-اتانول پس از سه روز در طول موج ۴۴۵ نانومتر

Figure 5- The comparison of maximum absorption of extracted sample containing crocin from saffron at different percent of water-ethanol mixture after 3 days at wavelength of 445 nm.

اتانول می باشد. درصد حلال آب-اتانول با نسبت های ۵۰:۵۰ و ۷۵:۲۵ بیشینه پایداری را دارند. اما به دلیل بیشینه بودن جذب

باتوجه به داده های حاصل پایداری نمونه های استخراج شده توسط نسبت های مختلف حلال های آب و اتانول وابسته به مقدار

موثر بوده و تا ۵۰ درصد باعث افزایش راندمان استخراج کروسین می‌گردد. علاوه بر آن در این ترکیب درصد حلال، کروسین دارای بالاترین پایداری در مقایسه با سایر ترکیب درصد‌های حلال آب-اتانول بوده و پس از ۳ روز تنها ۳/۲ درصد از کیفیت رنگ آن کاسته می‌شود. این موضع در استخراج و تهیه کنسانتره عصاره زعفران و کروسین برای کاربردهای غذایی و دارویی حائز اهمیت بوده و می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از پایان‌نامه‌ی خانم مائده کرمی‌پور دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی تجزیه سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران می‌باشد. کلیه مراحل انجام این تحقیق در پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی این سازمان انجام شده و لذا از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران که این کار تحقیقاتی را مورد حمایت قرار داده است، تشکر و قدردانی می‌گردد.

در حلال با نسبت ۵۰:۵۰، این ترکیب درصد حلال به عنوان نسبت بهینه حلال انتخاب گردید. علاوه بر این مقدار کمتر حلال اتانول برای استخراج مواد موثره در مقیاس بالاتر از زعفران هم از نظر ایمنی و هم از لحاظ هزینه مناسب‌تر است.

### نتیجه‌گیری

زعفران یکی از گیاهان دارویی بومی ایران و استان خراسان جنوبی است که به علت داشتن مواد موثره ارزشمند (کروسین، سافرانا، پیکروکروسین و ...) دارای کاربردهای دارویی و غذایی می‌باشد. کروسین ماده رنگزای عصاره زعفران بوده که به علت تعلق داشتن به گروه کاروتنوئیدها و داشتن پیوندهای غیراشباع در مقابل عوامل محیطی ناپایدار بوده و در حین استخراج و پس از آن تجزیه می‌گردد. برای بررسی اثر حلال بر استخراج کروسین از غلظت‌های مختلف مخلوط آب و اتانول (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد حجمی) در حضور امواج فراصوت با فرکانس ۳۲ کیلوهرتز استفاده شد. نتایج نشان داد که ترکیب درصد حلال آب-اتانول بر فرایند استخراج کروسین از زعفران

### منابع

- Alavizadeh, S.H., and Hosseinzadeh, H. 2014. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: A comprehensive review. *Food Chemical and Toxicology* 64: 65-80.
- Amin, B., and Hosseinzadeh, H. 2012. Evaluation of aqueous and ethanolic extracts of saffron, *Crocus sativus* L., and its constituents, safranal and crocin in allodynia and hyperalgesia induced by chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats. *Fitoterapia* 83: 888-895.
- Chaharlangi, M., Parastar, H., and Malekpour, A. 2015. Analysis of bioactive constituents of saffron using ultrasonic assisted emulsification microextraction combined with high-performance liquid chromatography with diode array detector: a chemometric study. *RSC Advances* 5 (33): 26246-26254.
- Ebadzadeh, H. M., Ahmadi, K., Mohammadi Nia, Sh., Abbas Taghani, R., Abbasi, M. Yari, Sh. 2020. Keshavarsi Statistics of year 2019, Part 2. (In Persian). Available at Web site <https://www.maj.ir/Dorsapax/userfiles/Sub65/amarnamehj2-1398-site.pdf> (verified 3 June 2021).
- García-Rodríguez, M.V., Serrano-Díaz, J., Tarantilis, P.A., López-Córcoles, H., Carmona, M., and Alonso, G.L. 2014. Determination of saffron quality by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and*



- Food Chemistry 62: 8068-8074.
- ISO 3632-2. 2010. Saffron (*Crocus sativus* L.), part 2 test methods. The International Organisation for Standardisation (First Edition). Switzerland. www.iso.ch/iso.
- Kadkhodae, R., and Hemmati-Kakhki, A. 2006. Ultrasonic extraction of active compounds from saffron. In II International Symposium on Saffron Biology and Technology 739: 417-425.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., and Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chemistry 85: 633-640.
- Lozano, P., Delgado, D., Gomez, D., Rubio, M., and Iborra, J.L. 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. Journal of Biochemical and Biophysical Methods 43 (1-3): 367-378.
- Mohajeri, S.A., Hosseinzadeh, H., Keyhanfar, F., and Aghamohammadian, J. 2010. Extraction of crocin from saffron (*Crocus sativus*) using molecularly imprinted polymer solid-phase extraction. Journal of Separation Science 33 (15): 2302-2309.
- Nerome, H., Ito, M., Machmudah, S., Kanda, H., and Goto, M. 2016. Extraction of phytochemicals from saffron by supercritical carbon dioxide with water and methanol as entrainer. The Journal of Supercritical Fluids 107: 377-383.
- Rahaiee, S., Shojaosadati, S.A., Hashemi, M., Moini, S., and Razavi, S.H. 2015. Improvement of crocin stability by biodegradable nanoparticles of chitosan-alginate. International Journal of Biological Macromolecules 79: 423-432.
- Rezaei, E., and Abedi, M. 2017. Efficient Ultrasound-assisted extraction of cichoric acid from Echinacea purpurea root. Pharmaceutical Chemistry Journal 51 (6): 471-475.
- Verma, R.S., and Middha, D. 2010. Analysis of Saffron (*Crocus sativus* L. Stigma) Components by LC-MS-MS. Chromatographia 71 (1-2): 117-123.
- Yasmin, S., and Nehvi, F.A. 2013. Saffron as a valuable spice: A comprehensive review, African Journal of Agricultural Research 8 (3): 234-242.
- Yilmaz, A., Nyberg, N.T., Mølgaard, P., Asili, J., and Jaroszewski, J.W. 2010. 1H NMR metabolic fingerprinting of saffron extracts. Metabolomics 6 (4): 511-517.
- Zougagh, M., Ríos, A., and Valcárcel, M. 2006. Determination of total safranal by in situ acid hydrolysis in supercritical fluid media: Application to the quality control of commercial saffron. Analytica Chimica Acta 578 (2): 117-121.

## The Effect of Ethanol –Water Mixture on Ultrasonic Extraction of Crocin from Saffron

*Maede Karamipour Esfahani<sup>1</sup>, Mohammad Abedi<sup>2\*</sup> and Zaker Bahreini<sup>3</sup>*

**Submitted:** 27 February 2016

**Accepted:** 7 June 2021

Karamipour Esfahani, M., Abedi, M., and Bahreini, Z. 2021. The Effect of Ethanol –Water Mixture on Ultrasonic Extraction of Crocin from Saffron. *Saffron Agronomy & Technology*, 9(3): 285-293.

### Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is an important medicinal plant cultivated in different parts of Iran especially Razavi and South Khorasan provinces and because of its high price considered as one of the important Iranian products for export. Saffron extract is a rich source of phyto-chemicals with antioxidant properties and used in traditional and modern medicine. Crocin is one of the natural carotenoid in saffron extract which recently has been used in pharmaceutical formulations for treatment of depression. In regard to significance of phyto-chemicals and bioactive compounds in saffron extract and specially crocin, in this study, a convenient and practical solvent extraction method has been evaluated for extraction of crocin and bioactive compounds from saffron. For this purpose, at different ethanol-water volume ratios 0-100, 25-75, 50-50, 75-25 and 100-0, the ultrasonic extraction of bioactive compounds and crocin has been achieved. UV-Vis spectra at  $\lambda_{max}$  of 445 nm was used for absorbance measurements and least square curve fitting applied for determination of crocin concentrations in extracted samples. The results obtained at different ethanol-water volume ratios and the stability of the solutions was studied after three days. Ethanol-water with composition of 50:50 (v/v) was selected as the optimum ratio for the extraction of crocin from saffron.

**Keywords:** Crocin extraction, Saffron active ingredients, Stability of saffron extract, Water-ethanol composition

---

1 - Student of Analytical Chemistry, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

2 - Associated Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

3 - Associated Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran.

(\*-Corresponding author. Email: mabedi50@yahoo.com)

Doi: 10.22048/jsat.2021.49280.1146