



نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)

جلد پنجم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۶

شماره صفحه: ۹۹-۹۰

شناسایی دو قند جدید در ضایعات زعفران با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی

قدسیه باقرزاده<sup>۱\*</sup> و مریم منظری توکلی<sup>۲</sup>

۱- استادیار گروه شیمی، دانشگاه بیرجند

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیتوشیمی، دانشگاه بیرجند

\* نویسنده مسئول: E-mail: bagherzadeh@birjand.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۱/۱۵

### چکیده

در طی چند دهه‌ی گذشته در بین جوامع بشری استفاده از گیاهان با کاربردهای مختلف از قبیل دارویی و صنعتی رشد روز افزونی داشته است. داروهای گیاهی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند که در این بین زعفران (*Crocus sativus* L.) در زمره مهم‌ترین داروهای گیاهی است. زعفران از گیاهان بومی و ارزشمند ایران است که نقش قابل توجهی در وضعیت اقتصادی و اجتماعی مناطق خراسان جنوبی و مرکزی پیدا کرده است. تنها قسمت مورد استفاده زعفران، کلاله و ناحیه‌ی انتهایی خامه گل می‌باشد و سایر قسمت‌ها به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود. در این پژوهش، بررسی فیتوشیمیایی ضایعات زعفران مورد بررسی قرار گرفت. ضایعات زعفران در آبان ماه از مزرعه‌ای واقع در حومه شهرستان بیرجند (32°24'06.7"N 59°16'53.5"E) جمع آوری و به فریزر با دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. استخراج عصاره از گلبرگ و پرچم گیاه زعفران با روش خیساندن و استفاده از امواج فرا صوت با سه حلال آب، اتانول و متانول انجام شد. در ادامه این بررسی حضور کربوهیدرات‌ها با چندین روش به اثبات رسید و شناسایی نوع کربوهیدرات‌های موجود در ضایعات زعفران با استفاده از کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی انجام گرفت. حضور دو قند D-آلوز و لوگلوکوسان با استفاده از GC-MS در ضایعات زعفران برای اولین بار به اثبات رسیدند.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، کربوهیدرات، D-آلوز، لوگلوکوسان.

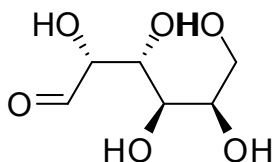
## مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی است از تیره‌ی زنبقیان، سرده زعفران که دارای خواص دارویی زیادی می‌باشد (Hosseinzadeh et al., 2007). این گیاه کوچک، چند ساله بوده و تا ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر رشد می‌کند. از وسط پیاز و یا قاعده ساقه، تعدادی برگ باریک و دراز خارج می‌شوند. از وسط برگ‌ها، ساقه گلدار خارج شده که به یک تا سه گل منتهی می‌شود. گل‌ها دارای شش گلبرگ بنفش رنگ هستند که ممکن است در بعضی واریته‌ها به رنگ گلی یا ارغوانی باشند. گل‌ها دارای سه پرچم و یک مادگی منتهی به کلاله سه شاخه به رنگ قرمز متمایل به نارنجی است. قسمت مورد استفاده این گیاه، ناحیه انتهایی خامه و کلاله آن است که تحت نام زعفران وارد بازار تجارت می‌شود (Esmaili et al., 2011; Acar et al., 2010; Marieschi et al., 2012).

تعدادی از ترکیبات غیر فرار همچون کارتئونید، زانتین، لیکوپن و کاروتن‌های آلفا و بتا از کلاله زعفران و فلاونول‌هایی نظیر کائمبرول<sup>۱</sup> و ایزورامنتین<sup>۲</sup> و آنتوسیانین‌هایی نظیر دلفینیدین<sup>۳</sup> و پتونیدین<sup>۴</sup> تاکنون از ضایعات زعفران جداسازی شده است (Champalal et al., 2011; Goupy et al., 2013).

کربوهیدرات‌ها دسته‌ای از ماکرومولکول‌های حیاتی می‌باشند که از نظر شیمیایی پلی هیدروکسی آلدئید و یا پلی هیدروکسی کتون محسوب می‌شوند. کربوهیدرات‌ها از اتم‌های کربن، هیدروژن و اکسیژن تشکیل شده‌اند و یکی از اعمال حیاتی آن‌ها در بدن به عنوان ماکرومولکول‌های ذخیره‌کننده انرژی است، اما علاوه بر آن نقش ساختاری، انتقال پیام و دفاعی را نیز به عهده دارند. کربوهیدرات‌ها سازنده مواد آلی روی زمین بوده و در تمامی اشکال حیات نقش چشم‌گیری دارند. شکل عمده‌ی بسیاری از قندها در محلول به صورت حلقوی است. حلقوی شدن قندها در طی یک واکنش درون مولکولی گروه کربوکسیل قند و بخش کربونیل آن صورت می‌پذیرد.

D- آلوژ<sup>۵</sup> یک مونوساکارید از خانواده آلدوهگروزها است (شکل ۱). این مونو ساکارید در طبیعت به ندرت یافت می‌شود و تا کنون فقط در چند گونه از جلبک‌های آب شیرین و بوته‌های گیاه آفریقایی *Protea rubropilosa* شناسایی شده است. این قند اپیمر گلوکز محسوب می‌گردد (Muneuchi et al., 2013; Liu et al., 2014).



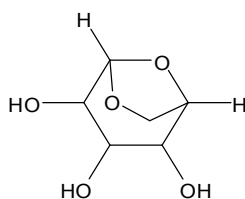
شکل ۱. ساختار شیمیایی D- آلوژ

Fig. 1. Chemical structure of D- Alose

قندهای کمیاب بخشی از ۵۰ مونوساکاریدی هستند که به مقدار اندک در جهان طبیعی یافت می‌شوند (Izumori, 2002).

مطالعه بر روی قندهای کمیاب به دلیل فقدان روش‌های مناسب برای تولید انبوه آن‌ها بسیار محدود بود، اما بعد از ارائه روش مناسب برای تولید صنعتی توسط Izumori (Izumori, 2006).

لوگلوکوسان<sup>۶</sup> یک ترکیب آلی با ساختار حلقوی شش کربنه است که از پیرولیز کربوهیدرات‌هایی مثل نشاسته و سلولز ایجاد می‌شود (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲. ساختار شیمیایی لوگلوکوسان

Fig. 2. Chemical structure of Levoglucosan

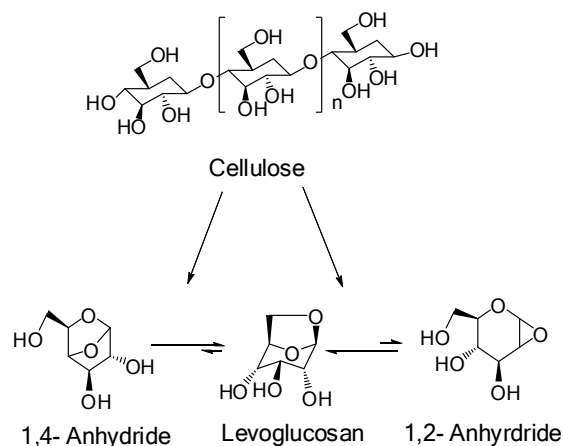
جمع‌آوری گردیدند. به منظور انجام آزمایشات، نمونه‌ها به فریزر با دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

**تست کیفی حضور کربوهیدرات‌ها:** به صورت جداگانه عصاره‌های متانولی و اتانولی و آبی از گلبزرگ و پرچم منجمد شده تهیه شدند به این ترتیب که به ۱۲ گرم از نمونه‌های منجمد شده، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر حلال اضافه کرده و به روش خیساندن<sup>۱</sup> و در زمان ۲۴ ساعت عصاره‌گیری انجام شد و برای اطمینان از آزاد شدن تمام ترکیبات به درون حلال، به مدت یک ساعت نمونه‌ها در معرض امواج التراسونیک قرار گرفتند (مشخصات دستگاه استفاده شده: BANDELIN SONOREX DIGITEC. Type: DT 255 H SN: 3240. (00065150.020 HF-Frequenz: 35 KHZ). سپس عصاره‌ها صاف شده و برای انجام تست‌های کیفی کربوهیدرات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از روش‌های زیر برای انجام تست کیفی کربوهیدرات‌ها استفاده شد. (Champalal et al., 2011; Erleiw et al., 2014; Karimi et al., 2010; Prior et al., 2005).

**تست مالیش<sup>۲</sup>:** سه قطره محلول آلفا نفتول، به دو میلی‌لیتر عصاره اضافه شد. سپس دو تا سه میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، به آرامی به لوله آزمایش محتوی عصاره و محلول آلفا نفتول اضافه شد، تشکیل حلقه‌ی بنفش رنگ نشان دهنده‌ی حضور قند در محلول است.

**تست بارفود<sup>۳</sup>:** یک میلی‌لیتر معرف بارفود به دو میلی‌لیتر عصاره اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری حرارت داده شد، سپس محتویات لوله سرد گردید. رسوب آجری تشکیل گردید که نشان دهنده حضور مونوساکارید در عصاره گیاهی می‌باشد.

**تست ید:** دو میلی‌لیتر محلول ید را به دو میلی‌لیتر عصاره اضافه کرده، تشکیل رسوب مایل به سیاه نشان دهنده‌ی حضور نشاسته است.



شکل ۳. مکانیزم پیرولیز سلولز و تبدیل آن به لوگلوکوسان

Fig. 3. The mechanism of pyrolysis of cellulose and its conversion into Levoglucosan

براساس گزارش شفییعی‌زاده و همکارانش، مولکول سلولز بدون کاهش جرم ابتدا به سلولز فعال تبدیل شده سپس سلولز فعال به واحدهای مونومری لوگلوکوسان و یا به زغال جامد تبدیل می‌شود (Shafizadeh et al., 1979).

لوگلوکوسان اغلب به عنوان یک ردیاب شیمیایی برای سوزاندن زیست توده‌ها (یکی از منابع عمده در میان انواع انرژی‌های نو است) و همچنین در مطالعات شیمیایی اتمسفر، و شناسایی ذرات معلق و پراکنده در جو از این قند استفاده می‌شود. از میان سایر ردیابهای موجود همچون پتاسیم، اگزالات و استونیتریل گازی، لوگلوکوسان با منطقه‌ای که در آن فرایند سوختن و یا آتش سوزی رخ داده است، ارتباط بیشتری دارد. چراکه به هنگام پیرولیز زیست توده‌هایی همچون چوب، مقدار زیادی لوگلوکوسان آزاد می‌شود (Aiken et al., 2010).

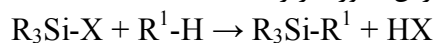
در این مطالعه، برخی از خواص فیتوشیمیایی ضایعات زعفران و شناسایی دو قند جدید در آن با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

**جمع آوری و آماده سازی گیاه:** ضایعات زعفران در آبان ماه سال ۱۳۹۳ از مزرعه‌ای واقع در ۷۵ کیلومتری جنوب بیرجند (32°24'06.7"N 59°16'53.5"E)

1 - Maceration  
2- Molisch  
3- Barfoed

سازی متداول برای غلبه بر این محدودیت است. سیلیله کردن با تبدیل گروه‌های فعال -OH، -NH یا -SH به مشتقات آلکیل سیلیل صورت می‌پذیرد. واکنش عمومی سیلیله کردن بصورت زیر است:



HMDS (هگزامتیل دی سیلان) و TMS (تری متیل سیلیل کلراید) دو عامل مهم برای سیلیله کردن هستند. البته امروزه عوامل سیلیله کننده خیلی مؤثرتری برای این فرآیند در دسترس هستند (Miller & Simon, 1979; Fang et al., 2006; Balázs et al., 2012).

### نتایج و بحث

آزمایش مالیش یک تست عمومی برای تشخیص وجود کربوهیدرات‌ها در یک محلول می‌باشد. اسید سولفوریک غلیظ باعث هیدرولیز اتصالات گلیکوزیدی (پیوند بین قندها) و تبدیل اولیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها به مونوساکارید می‌گردد. مونوساکاریدها نیز در حضور اسید سولفوریک غلیظ، آب از دست داده و به فورفورال و یا مشتقات آن تبدیل می‌شوند، و در حضور آلفا نفتول کمپلکس بنفش ایجاد می‌گردد (شکل ۴).

تست فهلینگ<sup>۱</sup>: ۲ میلی‌لیتر از عصاره گلبرگ زعفران با مقداری از اسید کلریدریک رقیق هیدرولیز گردید. سپس چند قطره معرف فهلینگ به آن اضافه شد. رسوب قرمز آجری تشکیل شده نشان دهنده حضور قند می‌باشد.

تست بندیکت<sup>۲</sup>: دو میلی‌لیتر عصاره را در یک لوله آزمایش ریخته سپس یک میلی‌لیتر معرف بندیکت به آن اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه درون بن ماری حرارت داده شدند. بعد از سرد شدن لوله رسوب قرمز آجری تشکیل شده، نشان دهنده حضور قندهای احیا کننده است (Sawant & Godghate, 2013).

### تعیین نوع قندها در ضایعات زعفران با استفاده از

تکنیک GC-MS: در این قسمت از عصاره‌ی اتانولی استفاده شد. به منظور تهیه عصاره براساس روش تست کیفی عمل شد، سپس عصاره‌ها صاف و در دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و برای انجام آزمایشات تکمیلی به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

### استخراج و شناسایی قندها: به منظور استخراج

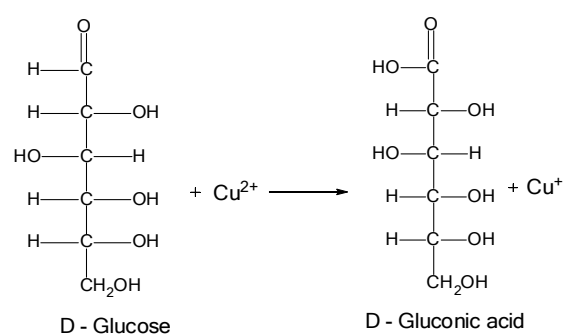
قندهای موجود در ضایعات زعفران از عصاره تهیه شده در مرحله قبل استفاده شد. حلال‌های مناسب برای استخراج قندها با روش TLC مورد بررسی قرار گرفتند و بهترین سیستم برای استخراج، سیستم شش حلاله‌ی اتیل استات، متانول، آب، فرمیک اسید، اسید استیک و تری کلرو استیک اسید (۴۰، ۱۴، ۱، ۴، ۲۰، ۲) به دست آمد. بعد از پیدا کردن نسبت حلال‌ها با روش TLC، به منظور به دست آوردن قندها به مقدار بیشتر از Plate های پوشیده شده با سیلیکاژل و تانک حلال استفاده شد. سپس جهت شناسایی قندها عصاره به دستگاه GC-MS تزریق گردید.

(Tran et al., 1991; Cheetham & Sirimanne, 1981)

آنالیز GC-MS: بسیاری از ترکیبات مانند کربوهیدرات‌ها، استروئیدها و ترکیبات فنلی بخاطر اندازه و قطبیتشان برای آنالیز مستقیم بوسیله کروماتوگرافی گازی مناسب نیستند. سیلیله کردن یک تکنیک مشتق

1- Fehling  
2- Benedict

وقتی نشاسته (کربوهیدرات) با محلول آبی آیودین<sup>۱</sup> واکنش می‌کند، کمپلکس آبی رنگی ایجاد می‌شود که مکانیزم آن به درستی مشخص نشده اما انتظار می‌رود آیودین درون مارپیچ ملکول آمیلوز به دام می‌افتد و یکسری انتقال بار بین آیودین و ملکول نشاسته صورت می‌گیرد و در نهایت رنگ آبی را در محلول پدید می‌آورد (Hollo & Szejtli, 1957). اساس تست فهلینگ (تارتارات مس) و بندیکت (سدیم سیترات، سدیم کربنات و سولفات مس) بر پایه‌ی خاصیت اکسید کننده‌گی یون مس (II) می‌باشد (شکل ۶).

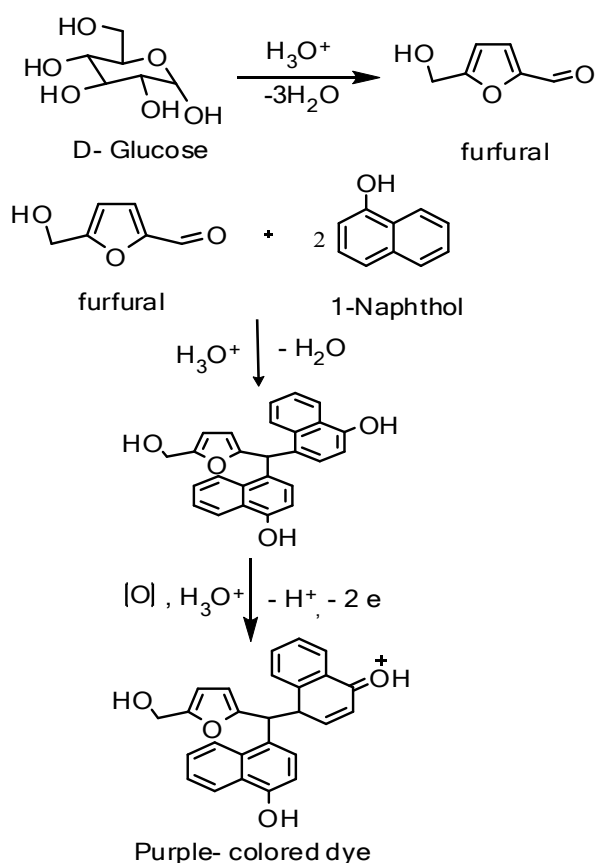


شکل ۶. مکانیزم تست بندیکت

Fig. 6. The mechanism of Benedict's test

نتایج شناسایی قندهای موجود در ضایعات زعفران با تکنیک کروماتوگرافی گازی-اسپکتروسکوپی جرمی:

با توجه به طیف‌های به دست آمده از تکنیک GC-MS (شکل ۷ و ۸) و قطعات جدا شده‌ی حاصل از آن (جدول ۱ و ۲) حضور دو قند D-آلوز و لوگلوکوسان در ضایعات زعفران به اثبات رسید.

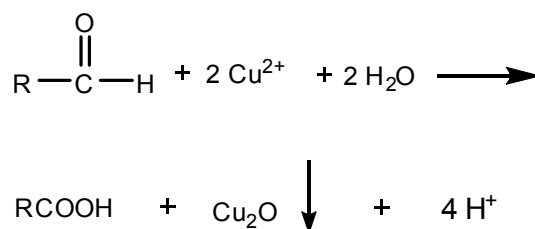


شکل ۴. مکانیزم تغییر رنگ کربوهیدرات‌ها در حضور

آلفا نفتول

Fig. 4. The mechanism of color change of carbohydrates at presence of alpha-naphthol

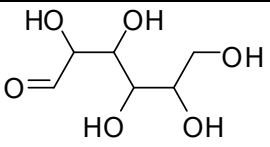
حضور فورفورال توسط دستگاه GC- MS هم اثبات شد. با انجام تست بارفورد رسوب قرمز آجری مربوط به ترکیب Cu<sub>2</sub>O می‌باشد که در اثر واکنش گروه آلدهید ملکول قند با یون مس (II) به وجود می‌آید چرا که یون مس (II) خاصیت اکسید کننده‌گی دارد و در اثر انجام واکنش به یون مس (I) تبدیل می‌شود (شکل ۵).



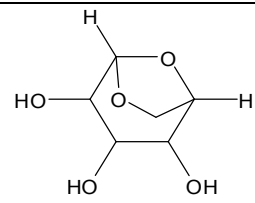
شکل ۵. مکانیزم تست بارفورد

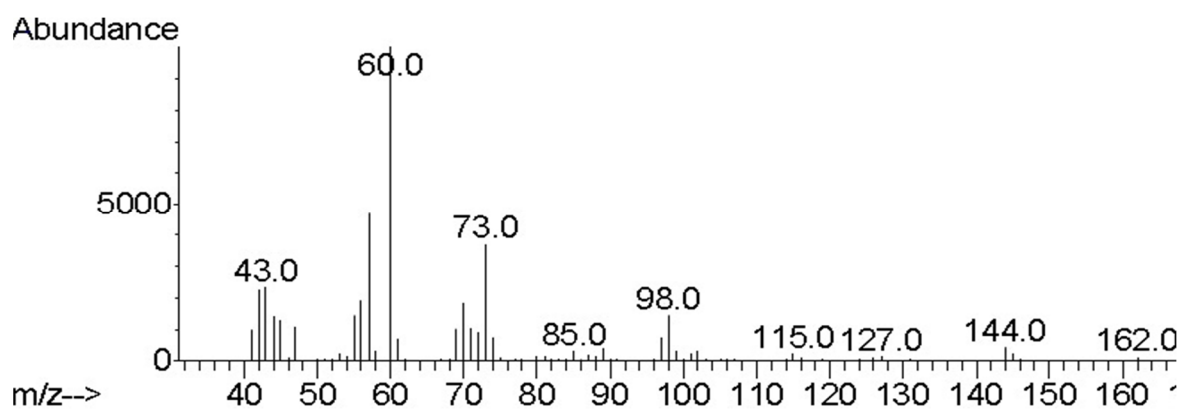
Fig. 5. The mechanism of Barford's test

جدول ۲. قطعات جدا شده در طیف جرمی D-آلوز  
Table 2. Separated parts of D- Alose GC-Mass spectrum

قطعه ایجاد کننده پیک Fragment	پیک Peak
	180
$\left[ \text{Fragment} \right]^+$	163
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	115
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	85
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	73
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	60
$\left[ \text{Fragment} \right]^+$	43

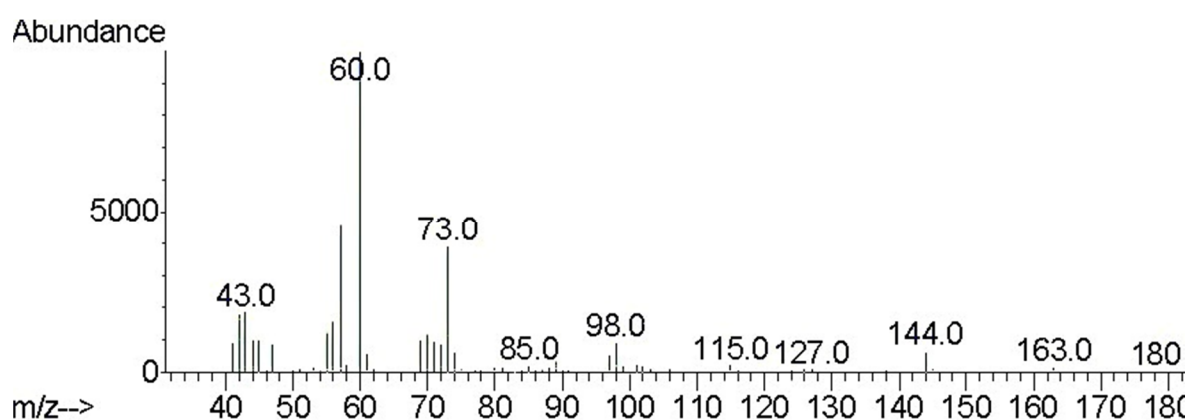
جدول ۱. قطعات جدا شده در طیف جرمی لوگلوکوسان  
Table 1. Separated parts of Levoglucosan GC-Mass spectrum

قطعه ایجاد کننده پیک Fragment	پیک Peak
	162
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	144
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	73
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	98
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	60
$\left[ \text{Fragment} \right]^{**}$	43



شکل ۷. طیف GC-Mass مربوط به لوگلوکوسان

Fig.7. GC-Mass spectrum of Levoglucosa



شکل ۸. طیف GC-Mass مربوط به D-آلوز

Fig. 8. GC-Mass spectrum of D- Alose

می‌گردد که نهایتاً سبب کاهش رشد آفت و بیماری در برنج می‌شود (Akihito et al., 2010). کریستوفر و همکارانش، در تحقیقی به بررسی میزان لوگلوکوسان در نمونه ادرار انسانی و حیوانی پرداختند، بدین منظور آن‌ها انسان و حیوان را در معرض گازهای حاصل از سوختن چوب و سایر سوخت‌ها قرار داده، و آنگاه میزان تأثیرپذیری این دو موجود را با استفاده از ردیاب لوگلوکوسان بررسی کردند (Christopher et al., 2009). از کاربردهای دیگر این قند میتوان از سنتز پلیمرهای کایرال مثل پلیمرهای گلوکز unhydrolysable یاد کرد (Simoneit et al., 1999).

آلوز از جمله قندهای کمیاب به شمار می‌رود هر چند که این قند در بافت‌های دسته‌ای از گیاهان یافت می‌گردد اما نقش و متابولیسم آن در گیاهان بدرستی شناخته نشده است (Jensen et al., 1981; Weckwerth et al., 1981). اما اخیراً محققین نشان دادند که این قند بر نحوه عملکرد هورمون جیبرلین در برنج تأثیرگذار می‌باشد (Ukumoto et al., 2011). در حیوانات این قند، اثر محافظتی بر صدمات کبدی دارد (Hossain et al., 2003).

تحقیقات Akihito و همکارانش تأثیر قند D-آلوز را بر روی یک نوع برنج آسیایی<sup>۱</sup> نشان می‌دهد که اگرچه این قند باعث کاهش رشد ریشه و ساقه می‌شود اما سبب تنظیم افزایشی پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی<sup>۲</sup>

1- *Oryza sativa*

2- Pathogenesis-related proteins

## نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی حدود ۷۰ هزار هکتار مزارع زعفران وجود دارد که بعد از جداسازی محصول زعفران گلبرگ آن دور انداخته می‌شود، جداسازی و شناسایی اجزای فعال در ضایعات زعفران امری مهم است. در این مطالعه حضور کربوهیدرات‌ها با روش‌های کیفی مختلف به اثبات رسید و دو قند D-آلوز و لوگلوکوسان برای اولین بار در ضایعات زعفران شناسایی شدند.

## تشکر و قدردانی

مراتب تقدیر و تشکر خود و همکاران را از گروه شیمی دانشگاه بیرجند و گروه پژوهشی زعفران این دانشگاه جناب آقای دکتر بهدانی، که با حمایت‌های معنوی و مادی خویش امکان انجام این پژوهش را فراهم کردند اعلام می‌دارد.

## منابع

- Acar, G., MercanDogan, N., EminDuru, M., Kivrak, I., 2010. Phenolic profiles, antimicrobial and antioxidant activity of the various extracts of Crocus species in Anatolia. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4 (11), 1154-1161.
- Aiken, A.C., De Foy, B., Wiedinmyer, C., Decarlo, P.F., Ulbrich, I.M., Wehrli, M.N., Szidat, S., Prevot, A.S.H., 2010. Mexico city aerosol analysis during MILAGRO using high resolution aerosol mass spectrometry at the urban supersite (T0) – Part 2: Analysis of the biomass burning contribution and the non-fossil carbon fraction. *Atmos. Chem. Phys.* 10 (12), 5315–5341.
- Akihito, K., Kenji, G., Yumiko, Y.K., Masaru, S., Takeshi, F., Kouhei, O., Shigeyuki, T., Ken, I., Keiji, T., Yutaka, I., Yasuomi, T., Yoko, N., Kazuya, A., 2010. A Rare Sugar, D-Allose, Confers Resistance to Rice Bacterial Blight with Upregulation of Defense-Related Genes in *Oryza sativa*. *APS.100* (1), 85-90.
- Balázs, A., Tóth, M., Blazics, B., Szarka, S., Ficsor, E., Ficzek, G., Lemberkovics, E., Blázovics, A., 2012. Investigation of dietary important components in selected red fleshed apples by GC–MS and LC–MS. *Fitoterapia.* 83 (8), 1-8.
- Champalal, k.d., Nilakshi, N., Vijay, G.R., 2011. Detailed profile of *Crocus sativus*. *International. Int J Pharm. Bio. Sci.* 2 (1), 530-540.
- Chari, V.M., Grayer-Barkmeijer, R.J., Harborne, J.B., Österdahl, B.G., 1981. An acylated allose-containing 8 hydroxyflavone glycoside from *Veronica filiformis*. *Phytochemistry* 20, 7809–7814.
- Cheetham, N.W.H., Sirimanne, P., 1981. High-performance liquid chromatographic separation of carbohydrate oligomers. *J. Chromatogr. A.* 207 (3), 439-444.
- Christopher, T.M., Megan, A.B., Christopher P.P., Forrest, J., Curtis, W.N., Tony, J.W., 2009. Urinary Levoglucosan as a Biomarker of Wood Smoke Exposure: Observations in a Mouse Model and in Children. *Environ Health Perspect.* 117 (1), 74-79.
- Erleiw, W., Yongguang, Y., Caina, X., jingbo, L., 2014. Isolation of high-purity anthocyanin mixtures and monomers from blueberries using combined chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A.* 1327, 39-48.
- Esmaili, N., Ebrahimzadeh, H., Abdi, K., Safarian, S., 2011. Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study. *Pharmacogn Mag.* 7(25), 74-80.
- Fang, Z., Zhang, M., Wang, L., Caisun, J., 2006. Identification of Anthocyanin in Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) by HPLC-DAD-ESIMS and GC. *J Food Drug Anal.* 14 (4), 368-372.
- Goupy, P., AbertVian, M., Chemat, F., Caris-Veyrat, C., 2013. Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra-performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. *J. Ind Crops Prod.* 44, 496– 510.
- Hollo, J., Szejtli, J., 1957. The mechanism of starch-iodine reaction. *Period. Polytech., Mech. Eng.* 2, 141-145.
- Hossain, MA., Izuishi, K., Maeta, H., 2003. Protective effects of D-allose against ischemia reperfusion injury of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 10, 218–225.
- Hosseinzadeh, H., Motamedshariaty, V., Hadizadeh, F., 2007. Antidepressant effect of kaempferol, a constituent of saffron (*Crocus sativus*) prtal, in mice and rats. *Pharmacologyonline.* 2, 367-370.



- Izumori, K., 2002. Bioproduction strategies for rare hexose sugars. *Naturwissenschaften*. 89, 120-124.
- Izumori, K., 2006. Izumoring: a strategy for bioproduction of all hexoses. *J. Biotechnol.* 124, 717-722.
- Jensen, S.R., Mikkelsen, C.B., Nielsen, B.J., 1981. Iridoid mono- and di-glycosides in *Mentzelia*. *Phytochemistry*. 20, 71-83.
- Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R. Z.E., Jaafar, H., 2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. Stigma Phenolic and Flavonoid Compounds and Its Antioxidant Activity. *J. Molecules*. 15, 6244-6256.
- Liu, Y., Nakamura, T., Toyoshima, T., Shinomiya, A., Tamiya, T., Tokuda, M.F., Keep, R., Itano, T., 2014. The effects of D-allose on transient ischemic neuronal death and analysis of its mechanism. *Brain Res. Bull.* 109, 127-131.
- Marieschi, M., Torelli, A., Bruni, A., 2012. Quality Control of Saffron (*Crocus sativus*L.): Development of SCAR Markers for the Detection of Plant Adulterants Used as Bulking Agents. *J. Agric. Food Chem.* 60, 10998-11004.
- Miiller, M.D., Simon, W., 1979. The Identification of Anthocyanins by Pyrolysis Mass Spectrometry and Pyrolysis-GC/MS. *Microchim Acta*. 72 (5), 389-396.
- Muneuchi, G., Hossain, A., Yamaguchi, F., Ueno, M., Tanaka, Y., Suzuki, Sh., Tokuda, M., 2013. The rare sugar D-allose has a reducing effect against ischemia-reperfusion injury on the rat abdominal skin island flap model. *J Surg Res*. 183, 976-981.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 53(8), 3101-3113.
- Sawant, R.S., Godghate, A.G., 2013. Qualitative phytochemical screening of rhizomes of *curcuma longa* linn. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2 (9), 634 - 641.
- Shafizadeh, F., Sakai, Y., Bradbury, A.G.W., 1979. A kinetic model for pyrolysis of cellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* 23 (11), 3271-3280.
- Simoneit, B.R.T., Schauer, J.J., Nolte, C.G., Oros, D.R., Elias, V.O., Fraser, M.P., Rogge, W.F., Cass, G.R., 1999. Levoglucosan, a tracer for cellulose in biomass burning and atmospheric particles *Atmos. Environ.* 33, 173-182.
- Tran, A., Park, S., Lisi, P., 1991. Separation of carbohydrate-mediated microheterogeneity of recombinant human erythropoietin by free solution capillary electrophoresis: Effects of pH, buffer type and organic additives. *J. Chromatogr. A.* 542, 459-471.
- Ukumoto, T., Kano, A., Ohtani, K., Yamasaki-Kokudo, Y., Kim, B.G., Hosotani, K., Saito, M., Shirakawa, C., Tajima, S., Izumori, K., Ohara, T., Shigematsu, Y., Tanaka, K., Ishida, Y., Nishizawa, Y., Tada, Y., Ichimura, K., Gomi, K., Akimitsu, K., 2011. Rare sugar D-allose suppresses gibberellin signaling through hexokinase-dependent pathway in *Oryza sativa* L. *Planta* 234, 1083-1095.
- Weckwerth, W., Loureiro, M.E., Wenzel, K., Fiehn, O., 2004. Differential metabolic networks unravel the effects of silent plant phenotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 101.



## Identification of two new sugars in wastages of *Crocus sativus* L. using GC-MS

Ghodsieh Bagherzade\*<sup>1</sup> and Maryam Manzari tavakoli<sup>2</sup>

1- Assistant Professor of Chemistry, University of Birjand.

2- Phytochemistry Student, University of Birjand

\*Corresponding Author E-mail: ghbagherzade@birjand.ac.ir

Received 4 October 2015; Accepted 3 April 2016

### Abstract

During the past few decades in the world, using plants with various applications such as pharmaceutical and industrial are growing. Herbal medicines are used to treat a variety of diseases in which the saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the most important herbal medicines. Saffron is one of the native and valuable plants of Iran that has a significant role in the economic and social conditions of southern and central Khorasan province. Stigmas are the only part of saffron that are used and other parts are discarded as wastage. In this study, we investigated the phytochemical study of wastage of saffron. The wastage of saffron was collected from a farm near Birjand (32°24'06.7"N 59°16'53.5"E) in November and then were transferred to the freezer set at -15 ° C. In this study, the extract of petal and stamen was obtained from saffron waste using methods of maceration and ultrasonic with water, ethanol and methanol as solvent, and at the end of this study, the presence of carbohydrates were proved with several methods and the type of carbohydrates in saffron's wastage was determined using GC- MS methods. The presence of D- Allose and Levoglucosan were provided with GC-MS analyses for the first time.

**Key words:** Anthocyanin, Carbohydrate, D- Allose, Levoglucosan