

تقدير مضادات الأكسدة في مستخلص بتلات وأسدية الزعفران *Crocus sativus* L.

لورين أحمد* د. رلى يعقوب** د. علي زياك***

الملخص

أجري هذا البحث في عام 2020-2021 في مركز البحوث العلمية الزراعية في طرطوس - عمريت. تناول هذا البحث تقدير كل من الفينولات والفلافونيدات في المستخلص الكحولي لبتلات وأسدية أزهار الزعفران باستخدام حمض الغاليك ومحلول روتين إضافة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصين باستخدام اختبار ديفينيل بيكريل هيدرازيل، وقد بينت النتائج تفوق مستخلص بتلات الزعفران معنوياً على مستخلص الأسدية في كمية الفينولات والفلافونيدات حيث بلغت (2.89-5.23) ملغ.غ⁻¹ بالترتيب، وبالتالي كانت القدرة على تثبيط الجذور الحرة في البتلات (60.9%) أعلى منها في الأسدية (34.18%) عند التركيز (0.5 ملغ.مل⁻¹) وكانت تتناسب طردياً مع زيادة تركيز المستخلصات.

الكلمات مفتاحية: زعفران، فينولات، بتلات، مضادات أكسدة.

* طالبة دكتوراه، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

** أستاذ مساعد، قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

*** باحث، قسم النباتات الطبية والعطرية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.

Antioxidant estimation of petals and stamens extracts of saffron, *Crocus sativus* L.

Lorin Ahmad* Dr.Roula Yacoub** Dr.Ali Zayak***

ABSTRACT

These investigations carried out in 2020-2021, at the Agricultural Scientific Research Center in Tartous - Amrit. This paper examined the determination of both phenols and flavonoids in the alcoholic extract of saffron petals and stamens using rutin and gallic acid solution, in addition to estimating the antioxidant efficacy of the extracts using the Diphenyl Becquerel Hydrazyl Test. The results showed that saffron petals extract significantly exceeded the stamens extract in the amount of phenols and flavonoids, reaching (5.23-2.89) mg.g⁻¹, respectively. Thus, the ability to inhibit free radicals was higher in petals (60.9%) than in stamens (34.18%) at concentration (0.5 mg. ml⁻¹) and it was directly proportional to the increase in concentration of extracts.

Key words: saffron, phenols, petal, antioxidants.

* PhD Student. Faculty of Agriculture, Field Crop Department, Damascus University.

** Associate Proff., Faculty of Agriculture, Field Crop Department, Damascus University.

*** Researcher., Horticulture Department, GCSAR.

المقدمة:

تتمحور فكرة مضادات الأكسدة حول قدرتها على التفاعل مع الجذور الحرة عبر إعطائها إلكترون أو أكثر وبالتالي تحييد دورها السلبي في عمليات الاستقلاب داخل الجسم (Shrififar وزملاؤه، 2007). لذلك من الضروري أن ندعم ماينتجه الجسم من مضادات الأكسدة من خلال تناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة الطبيعية مثل الفينولات والفلافونويدات الموجودة في بعض النباتات التي لها قدرة كبيرة على التخلص من الجذور الحرة وتتواجد هذه المركبات في مختلف أجزاء النبات كالثمار والأوراق والأزهار والجذور (Mathew و Abraham، 2006). بينت البحوث أن الجنس النباتي *Crocus* والذي ينتمي له الزعفران، يحتوي العديد من المركبات الفلافونويدية والجليكوزيدية والأنتوسيانينات (Gil وزملاؤه، 2002). يلعب النوع النباتي دوراً مهماً في كمية الفينولات والفلافونيدات حيث كانت أعلى قيمة في النوع *C. flavus* وبلغت بالترتيب (50-71 ميكروغرام.ملغ⁻¹) وأقل قيمة في النوع *C. biflorus* (20-32) ميكروغرام.ملغ⁻¹ (Acar وزملاؤه، 2010). يعد الزعفران (*Crocus sativus* L.) أحد أهم هذه النباتات وهو نبات مزهر معمر ينتمي للعائلة الزنبقية تحتوي كل زهرة زعفران على ست بتلات أرجوانية اللون تحيط بثلاثة مياسم قرمزية اللون وثلاث أسدية صفراء، تعد مياسم الزعفران هي الجزء الاقتصادي والمستخدم فقط من الأزهار حيث تستخدم كتابل أو ملون غذائي كما تدخل في الصناعات الغذائية والدوائية. وقد أكدت البحوث أن للزعفران تأثيرات فعالة مضادة لمرض السرطان، حيث يسهم في منع تشكل الأورام السرطانية، كما يُسبب تقلص وانكماش الأورام المتشكلة سابقاً (Mousavi وزملاؤه، 2008). ويستخدم الزعفران مضاداً للأكسدة، وله دوراً فعالاً في علاج حالات الاكتئاب (Shrififar وزملاؤه، 2007). ويسهم في علاج التهاب المفاصل (Singh وزملاؤه، 2002) وعلاج ضغط الدم وخفض الكوليسترول (Jones و Gainer، 1975) إضافة إلى تأثيره المسكن والمهدئ للأعصاب وتحسين الذاكرة نظراً لمحتواه المرتفع من الكاروتينات

(Srivastava وزملاؤه، 2010). يُعدّ حوض البحر الأبيض المتوسط، وعلى وجه الخصوص، الحوض الشمالي الشرقي هو الموطن الأصلي للزعفران، كما تُعدّ كل من إيران، واليونان، والمغرب العربي، وإيطاليا، والهند من الدول الرئيسية المنتجة للنبات، لكن تعدّ إيران الدولة الأولى عالمياً من حيث الإنتاج والمساحة المزروعة (Orricelli وزملاؤه، 2019). بدأت تجربة زراعة الزعفران في سوريا عام 2007 في مركز جوسية الخراب في منطقة القصير بمحافظة حمص والتابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية وكانت تجربة ناجحة من حيث إنتاجية المياسم والكورمات، ويتم التعامل مع المنتج الرئيسي فقط في الأزهار وهو المياسم حيث تفصل بدقة ثم تجفف وتستخدم كتابل أما باقي أجزاء الزهرة كالبتلات والأسدية فإنها تُهدر دون فائدة. يصل إنتاج البتلات سنوياً في إيران إلى أكثر من 10000 طن (Kafi وزملاؤه، 2006). هذا وتحتوي بتلات وأسدية الزعفران على العناصر المعدنية كالصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم كما تحتوي على الكربوهيدرات والبروتين والدهون والألياف بنسب متفاوتة (Jadouli وزملاؤه، 2019). وبينت البحوث وجود المركبات الفينولية والفلافونويدات في مستخلص البتلات والأسدية وبالتالي فإنه يمكن الاستفادة منها كمصادر لمضادات الأكسدة الطبيعية في الصناعات الغذائية والدوائية بدلاً من إهمالها (Bagherzade وManzaritavakoli، 2016). بـين Afrazeh وزملاؤه (2014) أن لمستخلص بتلات الزعفران قدرة جيدة على تثبيط الجذور الحرة نظراً لاحتوائه على كميات جيدة من مركبات الفينول، وبالتالي فهي منبع لمضادات الأكسدة الطبيعية. تملك بتلات الزعفران رائحة عطرية وطعم مميز (Zargari، 1981) ويعود لون البتلات الأرجواني إلى وجود الأنتوسيانينات والفلافونويدات فيها وتلعب هذه المركبات الثانوية دوراً طبياً مهماً (Nickhah وزملاؤه، 2010)، حيث أن لمستخلص بتلات الزعفران دوراً في علاج الالتهاب (Hosseinzadeh وYounesi، 2002) وحالات الاكتئاب (Basti وزملاؤه، 2007) وخفض ضغط الدم (Fatehi وزملاؤه، 2003) وخفض الكوليسترول (Nijveldt وزملاؤه، 2001).

ونظراً لأن البتلات والأسدية في أزهار الزعفران هي منتجات ثانوية مهمة عادة رغم احتوائها على مضادات أكسدة، سيتم في هذا البحث تقدير مضادات الأكسدة في مستخلص بتلات وأسدية الزعفران من أجل توسيع الفائدة الطبية للزعفران.

أهداف البحث:

يهدف البحث إلى:

- 1- تقدير محتوى المستخلص الإيتانولي لبتلات وأسدية الزعفران من الفينولات والفلافونيدات.
- 2- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لتراكيز مختلفة من المستخلص الإيتانولي لبتلات وأسدية الزعفران.

مواد البحث وطرائقه:

1- المادة النباتية:

تم الحصول على أزهار الزعفران في شهر تشرين الثاني 2020 من الكورمات المزروعة في مركز البحوث العلمية الزراعية في طرطوس في منطقة عمريت. جمعت الأزهار في ساعات الصباح الباكر ثم تم فصل البتلات والأسدية عن باقي الزهرة، تم التجفيف في الظل بالظروف الطبيعية، حيث درجة حرارة الهواء 20-25 درجة مئوية والرطوبة الجوية 30-40% لمدة 5-7 أيام ثم طحنت العينات لتحضير المستخلصات.

2- المواد والأجهزة المستخدمة:

- 1) الإيتانول 95%
- 2) كاشف فولين سيوكالتيو
- 3) محلول كربونات الصوديوم 7.5%
- 4) حمض الغاليك
- 5) محلول كلور الألمنيوم 2%
- 6) محلول روتين

(7) DPPH (ديفينيل بيكريل هيدرازيل)

(8) جهاز الامتصاص الضوئي

(9) ميزان حساس

3- تحضير المستخلص الإيتانولي للبتلات والأسدية:

تمت عملية الاستخلاص بالنقع وفق الطريقة الموصوفة من قبل Su وزملاؤه (2007) مع بعض التعديلات والتي تعتمد على أخذ 0.5 غ من العينة الجافة وإضافة 50 ميلي لتر من الإيتانول 95% وُخلط جيداً باستعمال المحرك المغناطيسي ثم حفظ لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المخبر، بعدها رشح المزيج بواسطة الشاش وأهمل الراسب. وضع الراشح في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 30 دقيقة، وكررت العملية ثلاث مرات لضمان التخلص من الرواسب ثم رشح باستعمال ورق ترشيح Whatman No. 1 وتم تبخير الراشح بالمبخر المفرغ الدوار بدرجة حرارة 35-40 درجة مئوية للتخلص من المذيب فحصلنا على مستخلص خام ووضع في عبوة معقمة وحفظت في الثلاجة على درجة 4 م لحين الاستعمال.

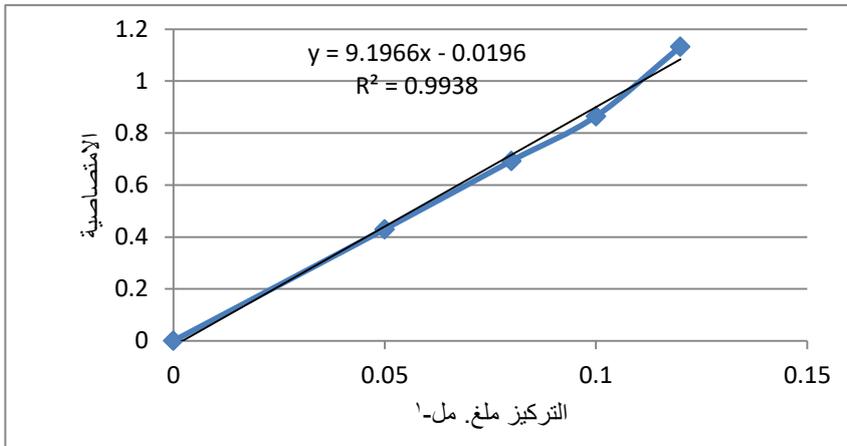
4- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر:

(1) المنحني القياسي لحمض الغاليك:

تم تحضير محاليل ممددة من حمض الغاليك بتراكيز تتراوح بين (0.05-0.2) ملغ. مل⁻¹ في أنابيب اختبار، ثم أخذ 0.5 مل من كل تركيز وأضيف لها 2.5 مل من كاشف فولين سيوكالتيو الممدد عشر مرات وأضيف 2 مل من محلول كربونات الصوديوم 7.5% ثم خلط جيداً وترك في الظلام في حرارة الغرفة وبعد ساعة أخذت القراءة بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر على طول الموجة 760 نانومتر (Quettier وزملاؤه، 2000).

انطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك رسم المنحني القياسي لامتصاصية

حمض الغاليك بدلالة التركيز شكل رقم (1).



الشكل رقم (1): منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

(2) التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات:

تم تحضير تركيز قدره 2 ملغ. مل⁻¹ من كل مستخلص، أخذ 0.5 ميلي ليتر من المستخلص وأضيف لها 2 ميلي ليتر من محلول كربونات الصوديوم 7.5% و2 ميلي ليتر من كاشف فولين سيوكالتيو الممدد عشر مرات وخلط جيداً وترك في الظلام في حرارة الغرفة وبعد ساعة أخذت القراءة بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر على طول الموجة 760 نانومتر (Quettier وزملاؤه، 2000).

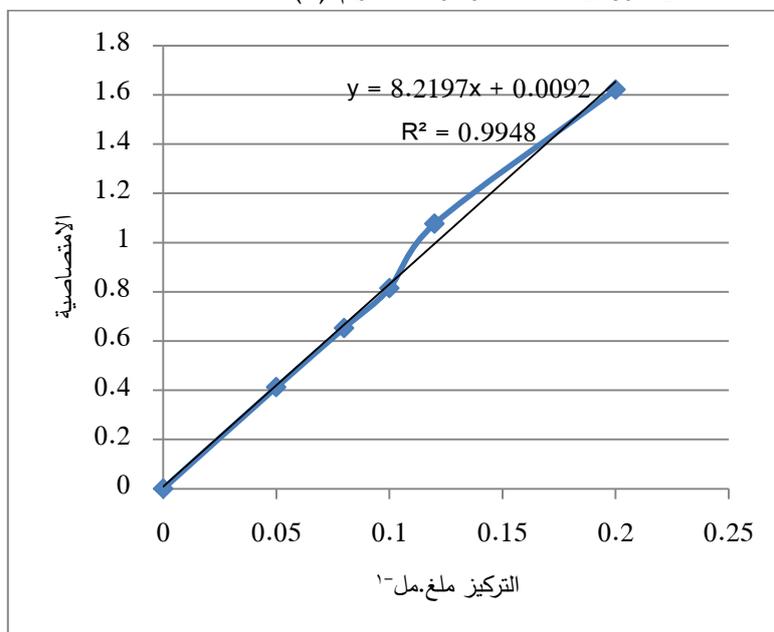
5- التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر:

(1) المنحنى القياسي لمحلول روتين:

تم تحضير محاليل ممددة من حمض الروتين بتركيز تتراوح بين (0.05-0.2) ملغ. مل⁻¹ في أنابيب اختبار، ثم أخذ 1 مل من كل تركيز وأضيف لها 1 مل كلور الألمنيوم 2% وخلط جيداً وبعد 40 دقيقة أخذت القراءة على طول الموجة 450 نانومتر

(2011, Stankovic).

انطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الروتين رسم المنحني القياسي لامتصاصية حمض الروتين بدلالة التركيز شكل رقم (2).



الشكل رقم (2) منحني الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الروتين

(2) التقدير الكمي للفلافونويدات في المستخلصات:

تم تحضير تركيز قدره 2 ملغ.مل⁻¹ من كل مستخلص، ثم أخذ 1 ميلي ليتر من المستخلص وأضيف له 1 مل كلور الألمنيوم 2% وخلط جيداً وبعد 40 دقيقة تم امتصاص العينة على طول الموجة 450 نانومتر (2011, Stankovic).

6- تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة باستخدام طريقة DPPH:

تم تحضير محلول DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil) في الكحول، وذلك بأخذ كتلة قدرها 2 ملغ من DPPH مذابة في 50 مل من الإيثانول 95%. ثم تم تحضير محاليل مخففة بتركيز مختلفة من المستخلص، أخذ من كل تركيز 1 مل وأضيف له 1 مل من DPPH في أنابيب زجاجية، تمت مجانسة المحلول وترك لمدة 30 دقيقة في الظلام، بعدها تم قراءة الامتصاصية بواسطة جهاز السبكتروفوتومتر على طول موجة 517 نانومتر (Hamood Al-Saeedi و Amzad Hossain، 2015).

وحسبت النسبة المئوية للقدرة على تثبيط الجذور الحرة من المعادلة التالية.

$$AA\% = (A_0 - A_1 / A_0) * 100$$

الامتصاصية لعينة الشاهد (DPPH) A_0

الامتصاصية لعينة المستخلص A_1

7- التحليل الإحصائي:

تم تحليل البيانات احصائياً باستخدام برنامج Costat 6.4، نفذت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) بثلاثة مكررات لكل معاملة وتم إجراء تحليل التباين ANOVA، وتم إجراء اختبار أقل فرق معنوي (LSD) لإيجاد الفروق المعنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية 0.05.

النتائج والمناقشة:

1- التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات في بتلات وأسدية الزعفران:

نلاحظ من الجدول (1) أن متوسط محتوى البتلات من الفينولات أعلى معنوياً من الأسدية بالترتيب (5.23 - 3.42) ملغ حمض الغاليك مكافئة لغرام من المادة الجافة، وكان

متوسط محتوى البتلات من الفلافونويدات أعلى معنوياً من الأسدية بالترتيب (1.47-2.89) ملغ.غ⁻¹.

الجدول(1) مقارنة متوسطات محتوى البتلات والأسدية من الفينولات والفلافونويدات

الجزء النباتي	متوسط كمية الفينولات ملغ.غ ⁻¹ مادة جافة	متوسط كمية الفلافونويدات ملغ.غ ⁻¹ مادة جافة
البتلات	^a 5.23	^a 2.89
الأسدية	^b 3.42	^b 1.47
LSD	1.42	1.25

نلاحظ من الجدول (1) أن ميزان الفينولات في مستخلص البتلات والأسدية أعلى من ميزان الفلافونويدات وهذا ينطبق مع ماتوصل إليه Manzaritavakoli و Bagherzade (2016) حيث بلغ ميزان الفينولات والفلافونويدات في البتلات (8.05 ملغ.غ⁻¹) و(4.73 ملغ.غ⁻¹) بالترتيب.

يعود الاختلاف في المحتوى الفينولي والفلافونويدي بين البتلات والأسدية إلى التوزيع غير المتجانس للمركبات الثانوية بين الأجزاء النباتية حيث تختلف حسب الدور الفيزيولوجي الذي يجب أن يؤديه كل عضو على مستوى النبات (Trabelsi وزملاؤه، 2012). فقد بينت دراسة للمقارنة بين بتلات وأوراق الزعفران من حيث محتواها من الفينولات والفلافونويدات تفوق البتلات معنوياً على الأوراق في محتواها من الفينولات (1.3-4.35 ملغ.غ⁻¹) والفلافونويدات (0.85-1.78 ملغ.غ⁻¹) بالترتيب (Tajik وزملاؤه، 2017).

بلغت كمية الفينولات في مستخلص البتلات الإيتانولي في هذا البحث (5.23 ملغ.غ⁻¹) وهو أعلى من الكمية المقدرة من قبل Kokkalou و Termentzi (2008) حيث بلغت (3.42 ملغ.غ⁻¹) في المستخلص الميثانولي ويعزى ذلك إلى الاختلاف في المذيب المستخدم، وهو أعلى أيضاً من مقدار الفينولات في بتلات الزعفران المزروع في المغرب حيث بلغت 1.38 ملغ.غ⁻¹ ويعزى ذلك لاستخدام حمض الكافيك بدلاً من حمض الغاليك. ولوحظ أن الكمية المقدرة في هذا البحث أقل من الكمية المقدرة من قبل Ahmadian و Niazmand

(2016) وبلغت (1380) ملغ.غ⁻¹ في مستخلص البتلات المحضر بطريقة الأمواج فوق الصوتية. حيث تلعب طريقة الاستخلاص دوراً مهماً في كمية الفينولات حيث أنها أعلى في الاستخراج بالأمواج فوق الصوتية مقارنة بطريقة النقع (Goli وزملاؤه، 2012).

هذا وقد أظهرت الدراسات أن المحتوى الفينولي للزعفران يتأثر بعوامل مختلفة مثل جودة كورمة الزعفران، نوع التربة، ارتفاع المنطقة، عمر نبات الزعفران، الظروف المناخية وظروف التخزين والتعبئة وطريقة التجفيف والاستخلاص (Sharifi وزملاؤه، 2016).

2- تقدير القدرة على تثبيط الجذور الحرة في بتلات وأسدية الزعفران:

مقارنة متوسطات القدرة على تثبيط الجذور الحرة توضح أنها أعلى معنوياً في مستخلص البتلات مقارنة مع مستخلص الأسدية وتزداد معنوياً مع زيادة تركيز المستخلص حيث بلغت أعلى نسبة للتثبيط (60.97%) في مستخلص البتلات عند التركيز 0.5 ملغ.غ⁻¹ وبلغت أعلى نسبة للتثبيط (34.18%) في مستخلص الأسدية عند التركيز 0.5 ملغ.غ⁻¹ شكل رقم (3). إن الاختلاف في نسبة التثبيط بين أجزاء النبات تعود إلى اختلاف محتواها من الفينولات والفلافونيدات (Nan وزملاؤه، 2009). كما تم إثبات وجود ارتباطاً معنوياً بين نسبة مركبات الفينول وخاصة منع الجذور الحرة (Afrazeh وزملاؤه، 2014).

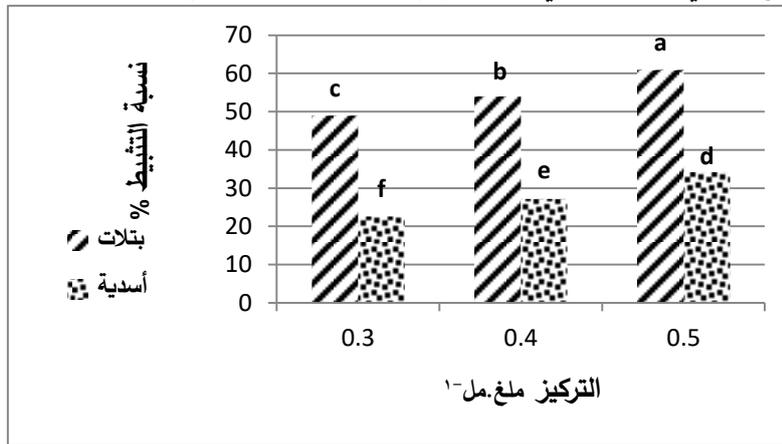
تفوق مستخلص البتلات على مستخلص الأسدية في نسبة تثبيط الجذور الحرة وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Tajik وزملاؤه (2017) حيث تفوق مستخلص بتلات الزعفران بنسبة تثبيط (61%) على مستخلص أوراق الزعفران بنسبة (41%) عند التركيز 500 ميكروغرام. مل⁻¹ بسبب ارتفاع المحتوى الفينولي في البتلات مقارنة بالأوراق.

بلغت نسبة تثبيط الجذور الحرة لمستخلص البتلات الإيتانولي في هذا البحث (60.97%) عند التركيز 0.5 ملغ.غ⁻¹ و(49.01%) عند التركيز 0.3 ملغ.غ⁻¹ وهي أعلى من النسبة المقدره من قبل Tajik وزملاؤه (2017) لمستخلص البتلات الميثانولي حيث بلغت بتركيز 500 ميكروغرام.مل⁻¹ (60%) وعند التركيز 300 ميكروغرام.مل⁻¹ (37%)

ويعزى ذلك إلى الإنخفاض في المحتوى الفينولي والفلافونويدي حيث بلغ بالترتيب (1.78-4.35) ملغ.غ⁻¹.

لوحظ زيادة القدرة على تثبيط الجذور الحرة مع زيادة تركيز المستخلص وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Jadouali وزملاؤه (2018) حيث ازدادت نسبة تثبيط الجذور الحرة لمستخلص البتلات من 10% عند التركيز 50 ميكروغرام.مل⁻¹ إلى 22% عند التركيز 200 ميكروغرام.مل⁻¹.

لوحظ أن نسبة تثبيط الجذور الحرة (60.97%) عند التركيز 0.5 ملغ.غ⁻¹ أقل من نسبة التثبيط المقدر من قبل Goli وزملاؤه (2012) حيث بلغت (91%) عند نفس التركيز. ويعزى ذلك إلى كفاءة طريقة حمض اللينوليك المتبعة في تقدير نسبة تثبيط الجذور الحرة. هذا وتختلف نسبة تثبيط الجذور الحرة حسب المحتوى الفينولي والفلافونويدي، الظروف البيئية، النوع النباتي والجزء النباتي المستخدم (Tajik وزملاؤه، 2017).



الشكل رقم (3) نسبة تثبيط الجذور الحرة في مستخلص بتلات وأسدية الزعفران

قيمة LSD=3.34

الاستنتاجات:

1- تفوق مستخلص بتلات الزعفران على مستخلص الأسدية بمحتواه من الفينولات والفلافونيدات والقدرة على تثبيط الجذور الحرة.

2- يحتوي مستخلص البتلات على كمية جيدة من الفينولات بلغت (5.23) ملغ.غ⁻¹ والتي أظهرت قدرة عالية على تثبيط الجذور الحرة بنسبة 60.97% عند التركيز 0.5 ملغ.غ⁻¹

التوصيات:

يوصى بجمع بتلات الزعفران المنتجة وتجفيفها وحفظها للاستفادة منها كمضاد أكسدة طبيعي في الصناعات الغذائية والدوائية بدلاً من رميها، ويوصى بمتابعة البحث وتحضير مستخلصات مختلفة بمذيبات وتراكيز وطرق أخرى ومقارنتها للحصول على أفضل محتوى من مضادات الأكسدة.

المراجع

- Acar, G., MercanDogan, N., Emin Duru, M., Kivrak, I. 2010. Phenolic profiles, antimicrobial and antioxidant activity of the various extracts of Crocus species in Anatolia. *Afr. J. Microbiol.* 4 (11): 1154-1161.
- Afrazeh, Z., Boland, M., Khorshidi, M., and Mohammadi Nafchi, A. 2014. Evaluation of antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts (methanol, ethanol) saffron petals. *Saffron Agronomy & Technology.* 2(3): 231-236.
- Bagherzade, G., and Manzaritavakoli, M. 2016. Qualitative and Quantitative Investigation of Phytochemical Factors of Wastage of Crocus Sativus L. and Determination of Anthocyanin Content using Ultrasound Waves. *Journal of Saffron Research.* 4(2): 149-158.
- Basti, A.A., Moshiri, E., Noorbala, A.A., Jamshidi, A.H., Abbasi, S.H., and Akhondzadeh, S. 2007. Comparison of petal of Crocus sativus L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: a pilot double-blind randomized trial. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 31(2): 439-442.
- Fatehi, M., Rashidabady, T., Fatehi-Hassanabad, Z. 2003. Effects of Crocus sativus petals' extract on rat blood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J. Ethnopharmacol.* 84(2):199-203.
- Gainer, J.L., and Jones, J.R. 1975. The use of crocetin in experimental atherosclerosis. *Experientia.* 31: 548 - 549.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., and Kader, A.A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50: 4976-4982.

- Goli, S.A.H., Mokhtari, F., and Rahimmalek, M. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. *J Agric Sci.* 4:175–181.
- Hamood Al-Saeedi, A., and Amzad Hossain, M. 2015. Total phenols, total flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds crude extracts of pigeon pea traditionally used in Oman for the treatment of several chronic diseases. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 5 (4): 316–321.
- Hosseinzadeh, H., and Younesi, H.M. 2002. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.* 2(1):1-8.
- Jadouali, S.M., Atifi, H., Bouzoubaâ, Z., Majourhat, K., Gharby, S., Achemchem, F., Elmoslih, A., Laknifli, A., and Mamouni, R. 2018. Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan *Crocus sativus* L petals and leaves. *Journal of Materials and*
- Jadouali, S.M., Atifi, H., Mamouni, R., Majourhat, K., Bouzoubaâ, Z., Laknifli, A., and Faouzi, A. 2019. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan *crocus sativus* L. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 18 : 476–480.
- Kafi, M., Kakhki, A. H., and Karbasi, A. 2006. Saffron (*crocus sativus* L.) Production and Processing: Historical Background, Economy, Acreage, production, yield and uses. Science Publisher, Enfield. p.39-57.
- Mathew, S., and Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food and Chemical Toxicology.* 44: 198-206.
- Mousavi, SH., Afshari, JT., & Brook, A. 2008. Study of Cytotoxic Effects of Saffron in MCF-7 Cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 4(4): 261-268.

- Nan, Wu., Kuang, Fu., Yu-Jie, Fu., Yuan-Gang, Zu., Fang-Rong. Chang, Yung-Husan, Chen., Xiao-Lei, Liu., Yu, Kong., Wei, Liu., and Cheng-Bo,Gu.2009. Antioxidant Activities of Extracts and Main Components of Pigeonpea [*Cajanus cajan*(L.)Millsp.] Leaves. *Molecules*. 14(3): 1032-1043.
- Niazmand, R., and Ahmadian-Kouchaksaraie, Z.2016. Extraction of effective compounds of saffron petals with the help of ultrasound waves and optimization of its extraction conditions. *Journal of New Food Technologies*.13: 121-135.
- Nickhah, E., Khayami, M., Heydari, R. 2010. Effect of some chemicals on stability of anthocyanins from blackberry (*Morusnigra*).25 (1), 32-43.
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74(4):418-425.
- Orricelli, T., Avan, RYJ., Lbertini, IA., Enanzoni, EV., and Osseinzadeh, RH. 2019. Morphological And Molecular Characterization Of Italian , Iranian And Spanish Saffron (*Crocus sativus* L .). *Accessions*. 17:1875–1887.
- Quettier, D., Gressier, B. Vasseur., J. Dine., T.Brunet., C. Luyckx., M. Cayin., J. Bailleul, F.,Troin, F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* 72(1-2): 35-42.
- Sharifi, N, Hojjatoleslami,M. and Jafari, M.,. 2016. Study of qualitative characteristics of saffron cultivated in different regions of Iran. *Journal of Herbal Drugs*.6(4):235-240.
- Shrififar, F., Moshafi, M.H.,and Mansouri, S.H. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zatariamultiflora* Boiss. *Food Control*. 18: 800-805.

- Singh, R. P., Murthy, K. N. C., and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:81-86.
- Srivastava, R., Ahmed, H., Dixit, RK., Dharamveer, Saraf, S. A. 2010. *Crocus sativus* L.: A comprehensive review. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8):200-208.
- Stankovic, M.S. 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J. Sci*. 33: 63-72.
- Su, L., Yin, J.J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., and Yu, L. 2007. Total phenolic contents chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*. 100: 990-7.
- Tajik, S., Zarinkamar, F., and Niknam, V. 2017. Evaluation of antioxidant activity and determination of phenolic content of saffron organs. *Biotechnology of Tarbiat Modarres University*. 8(3):127-138.
- Termentzi, A., & Kokkalou, E. 2008. LC-DAD-MS (ESI+) analysis and antioxidant capacity of *crocus sativus* petal extracts. *Planta Medica*. 74: 573-581.
- Trabelsi, N., Falleh, H., Jallali, I., Ben Daly, A., Hajlaoui, H., Smaoui, A., Abdely, C and Ksouri, R. 2012. Variation of phenolic composition and biological activities in *Limoniastrum monopetalum* L. organs. *Acta Physiol Plant*. 34:87-96.
- Zargari, A. 1981. *Medicinal Plants*. University of Tehran Publication. 574 p.