Journal of Saffron Research
Vol. 3, No. 2, Fall & Winter, 2015-2016

نشریه پژوهش‌های زعفران
جلد ۳ شماره ۲ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

مطالعه روند تغییرات ترکیبات فنولی در طول دوره رشد زعفران با روش میکروفولین سیو کالتو

محمد حسینی[۱*]، علیرضا صادقیان[۲] و فاطمه برکاتی[۳]

۱- محقق ، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی
۲- استادیار پژوهشکده علوم و صنایع غذایی
۳- محقق ، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی
*- نویسنده مسئول: E-mail: m.hosseini@rifst.ac.ir

حسینی، م.، صادقیان، ع.، و برکاتی، ف.، ۱۳۹۴. مطالعه روند تغییرات ترکیبات فنولی در طول دوره رشد زعفران با روش میکروفولین سیو کالتو. نشریه پژوهش‌های زعفران. ۳(۲): ۱۶۲-۱۵۵.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۰۳

چکیده

ترکیبات فنولی در اندام‌های مختلف گیاه زعفران به ویژه بنه همبستگی منفی با عملکرد اقتصادی زعفران دارد، اما باعث بهبود ویژگی‌های کیفی این گیاه می‌شود. این طرح تحقیقاتی در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ با نمونه های گرفته شده از مزارع روستای آبرود در شهرستان تربت حیدریه انجام شد. در این تحقیق رابطه عملکرد اقتصادی گیاه زعفران با میزان ترکیبات فنولی در بنه‌ها و ریزوسفر بدست آمد. این تحقیق در مزارع سه ساله، پنج ساله و هفت ساله زعفران انجام شد. طرح آماری مورد استفاده بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در نظر گرفته شد. فاکتور اول زمان نمونه برداری در ۴ سطح و اندام های مورد مطالعه شامل پیاز و برگ های زعفران و از طرف دیگر مطالعه خاک اطراف پیاز زعفران بود. میزان تجمع ماده خشک، میزان نیتروژن ریزوسفر و ترکیبات فنولی بنه و برگ‌های زعفران با تکرارهای مختلف و با نمونه‌گیری-های تصادفی اندازه‌گیری و به کمک روش‌های آماری رابطه این ترکیبات شیمیایی با عملکرد اقتصادی زعفران در مزارع سنین مختلف زعفران تعیین شد. نتایج نشان داد که اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان ترکیبات فنولی برگ‌های گیاه زعفران تأثیر معنی‌داری نداشت، اما زمان نمونه‌برداری اثر معنی‌داری بر میزان نیتروژن برگ‌های گیاه زعفران داشت. زمان نمونه‌برداری بر وزن تر و وزن خشک برگ‌های گیاه زعفران اثر معنی‌داری داشت. سن مزرعه بر عملکرد اقتصادی زعفران، وزن تر و وزن خشک برگ‌ها اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل زمان نمونه برداری و سن مزرعه بر میزان نیتروژن برگ‌ها معنی‌دار بود. روابط بین میزان نیتروژن اندام‌های مختلف زعفران، میزان ماده خشک و ترکیبات فنولی آن کم و بیش مشابه گیاهان زراعی دیگر به وضوح ثابت شده است.

واژه‌های کلیدی: میزان فنول ها، میزان نیتروژن، میزان ماده خشک، پیاز زعفران.

مقدمه

ترکیبات فنولی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که دارای انواع ساختمان شیمیایی با ساختمان ساده تا پلی‌مولکول‌ها مانند فلاونوئیدها می‌باشند. ترکیبات فنولی که باعث بهبود کیفیت گیاهان زراعی و دارویی می‌شوند، اهمیت بسیار زیادی در جلوگیری و درمان انواع سرطان‌ها دارند (Huang et al., 2010; Teow et al., 2007; Cheynier, 2012).

کدمبی (Khadambi, 2007) کل ترکیبات فنولی و تانن‌های موجود در دانه واریته قرمز و سفید سورگوم را اندازه‌گیری کرده و گزارش نمودند که مقدار ترکیبات فنولی در واریته قرمز به مراتب بیشتر از واریته سفید می‌باشد. از روش اسپکتروسکوپی انعکاسی مادون قرمز نزدیک برای پیش‌گویی محتوی پلی‌فنول‌های محلول در آب و کل قابل استخراج در ماده گیاهی استفاده شده و نتایج رضایت‌بخشی بر اساس ضریب همبستگی حاصل گردیده است (Chrungoo et al., 1986). لچمن وهمکاران(Lachman et al., 2008) میزان کل ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در سیب‌زمینی زرد و ارغوانی رنگ تعیین کردند. ارقام ارغوانی رنگ فنول‌های بیشتری از ارقام زرد رنگ داشتند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز دو برابر ارقام زرد رنگ بود. نتایج تحقیق جوانمردی وهمکاران (Javanmardi et al., 2003) بر روی میزان کل ترکیبات فنولی در ریحان نشان داد که همبستگی مثبت مناسبی بین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و کل اسیدهای فنولیک وجود داشت.کرونگو و همکاران (Chrungoo et al., 1986) با بررسی تغییرات میزان کل ترکیبات فنولی در بنه‌های زعفران گزارش نمودند که تغییر موجود در این ترکیبات در طی توسعه جوانه احتمال نقش بازدارندگی این ترکیبات را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای آبرومند و دکول(Aberoumand &Deokule, 2008) بر روی طیفی از سبزیجات از نظر ترکیبات فنولی کار کردند که در کشور ایران و هند زیاد مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌توان از مارچوبه و خرفه در این تحقیق نام برد. پوست ساقه *Alstonia boonei* سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی می‌باشد. همچنین مواد معدنی مهم مانند کلسیم، فسفر، آهن، سدیم، پتاسیم و منیزیم نیز وجود دارند. آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، و گلیکوزیدهای کاردیاک و همچنین ویتامین مهم یعنی اسید آسکوربیک نیز مشاهده شده است (Akinmoladun et al., 2007). اثر کاهش نور بر رشد و ترکیبات فنولی درخت کاج و نهال‌های آن مطالعه شده است. بر این اساس، مشخص گردید که سایه باعث افزایش ترکیبات فنولی در درختان کاج شد (Giertych, 2001). طی مطالعه‌ای دیگر نیز مشخص شد که در صورت وجود آلاینده‌های اکسید نیتروژن غلظت کل ترکیبات فنولی کاهش یافت و همبستگی منفی بین غلظت کل ترکیبات فنولی و غلظت NO، NO_2 و دیگر NOxها وجود دارد. این تحقیق مشخص کرد که از ترکیبات فنولی در کاج *Pinus halepensis* می‌توان به عنوان شاخص‌های بیولوژیکی کیفیت هوا استفاده کرد (Ozyigit et al., 2007).

ترکیبات فنولی به عنوان گروهی از متابولیت‌های ثانویه فنولی نقش مهمی در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان نیز دارا می‌باشند و مدارک و شواهد حاصل از نتایج طرح‌های تحقیقاتی نشان می‌دهد که بسیاری از آنها در سلامت و بهداشت انسان اهمیت دارند. تحقیقات کمی در مورد اثر عملیات کشاورزی مختلف بر سطوح متابولیت‌های ثانویه گیاهی انجام شده است. نتایج تحقیقی روی تأثیر کشاورزی ارگانیک، پایدار و متداول بر محتوای ترکیبات فنولی و سه روش فرآوری بعد از برداشت شامل انجماد، انجماد خشک و با هوا خشک کردن نشان داد که کل ترکیبات فنولی در کشت ارگانیک و پایدار بیشتر بود و ترکیبات فنولی در انجماد خشک بیشتر از خشک کردن با هوا حفظ شد (Asami et al., 2003).

کل میزان ترکیبات فنولی می‌تواند به عنوان شاخصی سودمند برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیب‌زمینی شیرین عمل کند (Robles et al., 2003). طی تحقیقی مقدار ترکیبات فنولی در ریز نمونه‌های ریشه، محور زیر لپه‌ها، لپه‌ها و برگ‌ها در پنبه تعیین شدند و به عبارتی محیط‌های کشت بافت پنبه که بتوان حداکثر میزان تولید ترکیبات فنولی در بافت‌های مختلف به دست آورد، مورد مطالعه قرار گرفت (Lachman et al., 2008). بلنسکی وهمکاران (Blainsky et al., 2013) با استفاده از روش فولین سیو کالتو میزان ترکیبات فنولی را در گیاه دارویی *Limonium brasiliense* L. اندازه‌گیری کرده و نتایج معتبری بدست آوردند. لستر وهمکاران(et al., 2012

Lester) به کمک روش فولین سیو کالتو ترکیبات فنولی توت فرنگی را اندازه‌گیری کردند.
بیجو و همکاران (Biju et al., 2014) همبستگی خطی قوی بین مقادیر ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در تعدادی از گیاهان دارویی منطقه کرالا بدست آوردند. روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی فولین سیو کالتو بود.
لازم به ذکر است که برای اولین مرتبه این طرح تحقیقاتی بر روی زعفران با هدف تعیین مقدار ترکیبات فنولی در اندام‌های گیاه زعفران و خاک ریزوسفر بنه انجام شد و ارتباط این ترکیبات با مقدار ماده خشک و نیتروژن برگ‌ها و بنه‌ها نیز مشخص گردید تا بتوان وضعیت ترکیبات ترکیبات فنولی را که نقش بسیار مهمی در کیفیت زعفران دارند به درستی نشان داد.

مواد و روش‌ها

آزمایشات مربوطه در چهار دوره زمانی صورت گرفت:
دوره اول) مهرماه ۱۳۸۷، دوره دوم) بهمن ماه ۱۳۸۷، دوره سوم) اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ و دوره چهارم) در تیرماه ۱۳۸۸ صورت پذیرفت.
مهر ماه ۱۳۸۷: دوازده نمونه بنه (چهار نمونه مزرعه سه، پنج و هفت ساله) و ۱۲ نمونه خاک ریزوسفر (چهار نمونه مزرعه سه، پنج و هفت ساله) بود.
بهمن ماه ۱۳۸۷: دوازده نمونه بنه، ۱۲ نمونه برگ و ۱۲ نمونه خاک ریزوسفر مربوط به سه سن مزرعه بود.
فروردین ماه ۱۳۸۸: دوازده نمونه بنه، ۱۲ نمونه برگ و ۱۲ نمونه خاک که مربوط به سه سن مزرعه بود.
تیر ماه ۱۳۸۸: دوازده نمونه بنه زعفران و نمونه خاک ریزوسفر که مربوط به سه سن مزرعه بود.
اندازه‌گیری ترکیبات فنولی: ابتدا محلول‌های استوک اسیدگالیک و سدیم کربنات به دقت تهیه شدند. سپس در مرحله بعدی محلول‌های کالیبراسیون از محلول‌های استوک اسیدگالیک مطابق دستورالعمل تهیه شد. محلول‌های تهیه شده در تاریکی نگهداری شدند. از طرف دیگر، مطابق دستور کار نمونه‌های بنه پودر شده آماده‌سازی و محلول‌های تهیه شده جهت طیف‌سنجی آماده گردید.
دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر تنظیم شده و جذب محلول‌های کالیبراسیون را در این طول موج قرائت کرده و منحنی کالیبراسیون محلول‌های استاندارد ترسیم شد.
با توجه به اینکه دستور کار فوق برای اولین مرتبه مورد آزمایش قرار می‌گرفت، این آزمون‌ها در چند نوبت تکرار شدند تا در نهایت، نتایج مطلوبی حاصل شود. بدین‌ترتیب، ابتدا نمونه‌های کالیبراسیون طیف‌سنجی و منحنی کالیبراسیون آن ترسیم گردید. سپس نمونه‌های بنه آماده شده، طیف سنجی و نتایج در جدول مربوطه ثبت شدند.
در زیر روش انجام آزمون تعیین مقدار ترکیبات فنولی مطابق دستور کار موجود بیان شده است (Waterhouse, 2012):
شرح مراحل آزمایشگاهی مقدار ترکیبات فنولی در نمونه‌های بنه، برگ و خاک گیاه زعفران به روش اسپکتروفتومتری مطابق دستور کار واترهاوس
(Waterhouse، 2012 ; In:Singleton et al., 1999) صورت گرفت. همان‌طور که در مراحل قبل بیان شد، نمونه‌های بنه، برگ و خاک پس از طی مراحل خشک شدن، الک و توزین شده تا جهت آزمون‌های بعدی آماده شدند.

تهیه استوک سدیم کربنات

۲۰۰ گرم سدیم کربنات بی‌آب در ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و به نقطه جوش رسانیده شد. پس از سرد شدن محلول، مقداری بلور کربنات سدیم به آن اضافه شد تا در محلول اشباع کریستال‌های بلور نمک کربنات سدیم تشکیل شود. پس از گذشت ۲۴ ساعت محلول توسط کاغذ صافی، صاف نموده و محلول زیر صافی را با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانیده شد.

تهیه محلول استوک اسیدگالیک

۰/۵ گرم اسیدگالیک خشک در ۱۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک خالص حل نموده و محلول با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی-لیتر رسانیده شد. این محلول استوک را می‌توان به مدت دو هفته در یخچال نگهداری کرد. بعد از هر مرحله باقیمانده محلول استوک اسیدگالیک دور ریخته شد. از محلول استوک تهیه شده جهت تهیه محلول‌های کالیبراسیون به شرح زیر استفاده شد. در شش بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری به طور جداگانه

به ترتیب محلول‌هایی با غلظت‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌لیتر از استوک اسید گالیک ریخته شد که هر کدام دارای غلظت‌های فنول صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم اسید گالیک در لیتر بودند. سپس با پیپت میکرولیتر از هر محلول کالیبراسیون به مقدار ۲۰ میکرولیتر طبق دستور کار داخل کوورت‌های (لوله‌ها) جداگانه ریخته شد.

اندازه‌گیری نیتروژن

برای تعیین مقدار نیتروژن در نمونه‌های خاک اطراف ریشه و بنه و برگ زعفران مقرر گردید به دو روش هضم کجلدال و تیتراسیون و همچنین روش هضم کجلدال و طیف‌سنجی انجام گیرد (Nelson & Sommers, 1973).

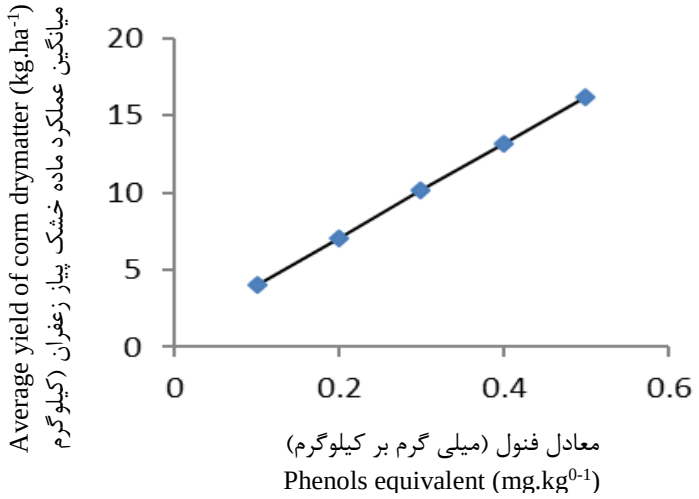
ابتدا داده ها تست نرمال بودن آنها توسط نرم افزار Minitab انجام شد و پس از حصول از نرمال بودن داده ها تجزیه و تحلیل آماری داده ها توسط نرم افزار SAS بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی صورت گرفت.

نتایج و بحث

در جدول ۱ مقایسه میانگین‌های صفات مورد اندازه‌گیری در بنه زعفران شامل مقدار ترکیبات فنولی بنه، مقدار نیتروژن بنه، عملکرد اقتصادی، وزن تر و وزن خشک بنه نشان داده شده است. در زمان‌های اول و دوم نمونه‌برداری مقدار ترکیبات فنولی بیشتر از زمان‌های سوم و چهارم نمونه‌برداری بود. در مورد مقدار نیتروژن، بیشتر میزان نیتروژن در نمونه‌برداری اول حاصل شد و با نمونه‌برداری‌های بعدی میزان نیتروژن کاهش پیدا کرد.

وزن تر و وزن خشک بنه‌ها تحت تأثیر زمان نمونه‌برداری قرار نگرفت و در مورد سن مزرعه تفاوت معنی‌داری از نظر میزان ترکیبات فنولی بنه‌ها مشاهده نشد، اما با افزایش سن مزارع به تدریج روندی کاهشی نشان داد. در مورد وزن تر و وزن خشک بنه‌ها سن مزرعه اثر معنی‌داری نداشت. اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و سن مزرعه بر مقدار ترکیبات فنولی بنه‌ها، مقدار نیتروژن بنه‌ها، وزن تر و وزن خشک بنه‌ها در سن پنجم بیشترین میزان نیتروژن بنه‌ها را دارا بود و سن هفتم کمترین میزان برای سن هفتم بدست آمد. عملکرد اقتصادی زعفران با افزایش سن بعضی موارد معنی‌دار و در بعضی موارد معنی‌دار نبوده است. سنه و همکاران (Sene et al., 2001) و لوو و همکاران (Lu et al., 2008) رابطه بسیار قوی بین مقدار ماده خشک و میزان فنول‌های سورگوم و برنج گزارش کردند.

در شکل ۱ ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی بنه زعفران با عملکرد ماده خشک بنه نشان داده شده است



شکل ۱- رابطه بین مقدار ترکیبات فنولی و ماده خشک بنه زعفران

Fig. 1- Relation of phenolic compounds to dry matter of saffron corm

جدول ۱ـ مقایسه میانگین‌های صفات مورد اندازه‌گیری در بنه زعفران

Table 1- Mean comparisons of measured traits in saffron corm

نوع اثر Effect	صفات Traits	فنول (میلی گرم برکیلوگرم) Phenols ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن کجلدال (میلی گرم بر کیلوگرم) Kjehldal N ($mg.kg^{-1}$)	عملکرد (کیلوگرم بر هکتار) Yield ($kg.ha^{-1}$)	وزن تر (کیلوگرم بر هکتار) Fresh W ($kg.ha^{-1}$)	وزن خشک (کیلوگرم بر هکتار) Dry W ($kg.ha^{-1}$)
زمان نمونه‌برداری Sampling time	T_1	3.132 $_{a*}$	1.599 $_a$	-	24978 $_a$	15307 $_a$
	T_2	3.166 $_a$	0.848 $_b$	-	29629 $_a$	11944 $_a$
	T_3	0.238 $_b$	0.811 $_b$	-	32274 $_a$	13632 $_a$
	T_4	0.286 $_b$	0.061 $_c$	-	21084 $_a$	10019 $_a$
سن مزرعه Field age	Y_1	1.361 $_a$	0.858 $_{ab}$	13.18 $_a$	24801 $_a$	10752 $_a$
	Y_2	1.783 $_a$	0.881 $_a$	4.42 $_a$	32957 $_a$	14772 $_a$
	Y_3	1.703 $_a$	0.751 $_b$	1.77 $_a$	23215 $_a$	12653 $_a$
زمان نمونه‌برداری× سن مزرعه Sampling time×field age	Y_1 T_1	3.211 $_a$	1.771 $_a$	13.178 $_a$	12938 $_c$	5521.87 $_c$
	Y_1 T_2	2.713 $_{ab}$	0.745 $_{ab}$		34532.5 $_b$	15678.12 $_b$
	Y_1 T_3	0.210 $_b$	0.849 $_{ab}$		29050.62 $_{bc}$	11351.5 $_{bc}$
	Y_1 T_4	0.389 $_b$	0.066 $_b$		22639.37 $_{bc}$	10456.87 $_{bc}$
	Y_2 T_1	2.846 $_{ab}$	1.526 $_a$	4.416 $_b$	27435.62 $_{bc}$	15219.37 $_{bc}$
	Y_2 T_2	3.894 $_a$	1.008 $_a$		28173.75 $_{bc}$	9811.87 $_{bc}$
	Y_2 T_3	0.162 $_b$	0.919 $_{ab}$		5596.87 $_a$	24202.5 $_a$
	Y_2 T_4	0.229 $_b$	0.073 $_b$		20633.12 $_{bc}$	9852.5 $_{bc}$
	Y_3 T_1	3.339 $_a$	1.501 $_a$	1.766 $_c$	34514.37 $_b$	25179.27 $_b$
	Y_3 T_2	2.892 $_{ab}$	0.792 $_{ab}$		36180.62 $_b$	10341.25 $_b$
	Y_3 T_3	0.343 $_b$	20.666 $_a$		12174.37 $_c$	5341.87 $_c$
	Y_3 T_4	0.240 $_b$	0.045 $_b$		19990.00 $_{bc}$	9748.75 $_{bc}$

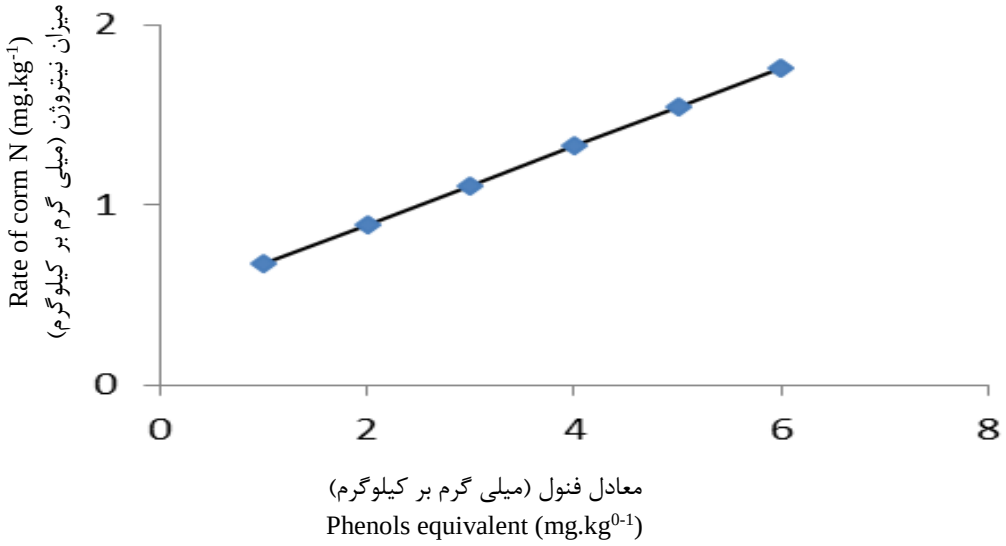
سه ساله (Y_1)، پنج ساله (Y_2)، هفت ساله (Y_3)، مهر ماه (T_1)، بهمن ماه (T_2) و فرودین ماه (T_3)، تیرماه (T_4)

Y_1:Three years old, Y_2: Five years old, Y_3: Seven years old, T_1: Early Oct., T2: Early Feb., T3: Early April,T4: Early July.

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

Means having the same letters in each column are not significant at 1% level with Duncn's test.

بدین‌ترتیب، با افزایش ماده خشک زعفران مقدار ترکیبات فنولی آن نیز افزایش یافته است و همبستگی نسبتاً قوی بین این دو متغیر می‌باشد (r^2=٪۵۵/۵) که تحقیقات گذشته نیز این ادعا را تأیید می‌کند (Sene et al., 2001; Lu et al., 2008).



شکل ۲- رابطه بین مقدار ترکیبات فنولی با مقدار نیتروژن بنه زعفران
Fig. 2- Relation of phenols to nitrogen rates of saffron corm

در شکل ۲ رابطه بین مقدار نیتروژن با مقدار ترکیبات فنولی در بنه زعفران نشان داده می‌شود (r^2=٪۴۵/۵).سنه و همکاران(Sene et al., ۲۰۰۱) نیز اظهار داشتند که در سورگوم با افزایش مصرف نیتروژن مقدار ترکیبات فنولی در گیاه زیاد شده است.

نتیجه گیری

امروزه از فاکتورهای کیفی مهم در مطالعه ویژگی های گیاهان زراعی و گیاهان دارویی، اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی و رابطه آن با سایر فاکتورهای کیفی و کمی گیاهان مورد مطالعه می باشد. زعفران نیز از این امر مستثنی نبوده و از تحقیقات ضروری، تاثیر شرایط محیطی بر تجمع ترکیبات فنولی و رابطه آن با گل آوری و عملکرد زعفران می باشد. تجمع و افزایش ترکیبات فنولی در گیاه زعفران باعث افزایش گل آوری و عملکرد زعفران می شود که مطالعه عوامل موثر بر تجمع این ترکیبات ضروری بنظر می رسد.

منابع

Aberoumand, A., Deokule, S.S., 2008. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pak. J. Nut. 7(4), 582-585.

Akinmoladun, A.C., Ibukun, E.O., Afor, E., Akinrinlola, B.L., Onibon, T.R., Akinboboye, A.O., Obuotor, E.M., Farombi, E.O., 2007. Chemical constituents and antioxidant activity of Alstonia boonei. Afr. J. Biotechnol. 6(10), 1197-1201.

Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E., 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. J. Agric. Food Chem. 51, 1237-1241.

Biju, J., Suleiman, C.T., Satheesh, G., Reddy, V.R.K., 2014. Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 6(1), 406-408.

Blainsky, A., Lopes, G.C., Palazzo de Mello, J.C., 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteau method for the determination of the total phenolic content from *Liminium brasiliense* L. Moecules. 18, 6852-6862.

Cheynier, V., 2012. Phenolic componds: from plants tofoods. Phytochem. Rev.11, 153-197.

Chrungoo, N.K., Koul, K.K., Farooq, S., 1986. Phenolic compounds in corms of saffron Crocus (*Crocus sativus* L.) during bud development. Plant Physiol. Biochem. 13(2), 781-81.

Couteaux, M.M., Sarmiento, L., Herve, D., Acevedo, D., 2005..Determination of water-soluble and total extractable polyphenolics in biomass, necromass and decomposing plant material using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). Soil Biol. Biochem. 37, 795-799.

Giertych, M.J., 2001. The influence of shade on phenolic compounds in Scots pine. Dendro Biol. 46, 21-26.

Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Zhong, Y., 2010. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for concer prevention. Nutr. Carer. 62(1), 1-20.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chem. 83, 547-550.

Khadambi, T.N., 2007. Extraction of phenolic compounds and quantification of the total phenol and condensed tannin content of bran fraction of condensed tannin and condensed tannin- free *Sorghum* varieties. University of Pretoria.

Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Pivec V., Dvořák P. 2008. The influence of flesh colour and growing locality on polyphenolic content and antioxidant activity in potatoes. Scientia Horticulturae, 117: 109–114.

Lester, G.E., Lewers, K.S., Medina, M.B., Saftner, R.A., 2012.Comparative analysis of strawberry total phenolics via Fast Blue BB vs. Folin-Cio calteau: Assay interference by ascorbic acid. J. Food Compos. Annal. 27(1), 102-107.

Lu, G., Tang, L., Chu, Y., Zhou, W., Su, H., Liu, Z., Yi, Z., 2008. Effects of nitrogen levels on the changes of phenol and flavonoid contents under rice monocropping and intercropping system. J. Plant Nutr. Fertil. 14(16), 1064-1069.

Ozyigit, I.I., Kahraman, M.V., Ercan, O., 2007. Relation between explant age, total phenols and regeneration respone in tissue cultured cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Afr. J. Biotec. 6(1), 003-008.

Robles, C., Greff, S., Pasqualini, V., Garzino, S., Bousquet-Melou, A., Fernandez, C., Korboulewsky, N., Bonin, G., 2003. Phenols and flavonoids in aleppo pine needles as bioindicators of air pollution. J. Environ. Qual. 32, 2265-2271.

Sene, M., Dove, T., Gallet, C., 2001. Relationships between biomass, and phenolic production in grain *Sorghum* grown under different condition. Agron. J. 93, 49-54.

Teow, C.C., Troung, V.D., Mc Feeters, R.F., Thompson, R.L., Pecota, K.V., Yencho, G.C., 2007. Antioxidant activities, phenolic and β-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. Food Chem. 103, 829-838.

Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. 1999 . Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology , 299, 152-178. In:Waterhouse, A., 2012. Folin micro method for total phenol in wine. Dep. Viticulture and Enology. University of California, Davis.

Study on trends in phenolic compounds during saffron plant growth by Folin Cio Calteau Micro method

Mohammad Hosseini[1*], Alireza Sadeghian[2] and Fatemeh Barakati [3]

1- Researcher, Department of Food Biotechnology,Research Institute of Food Science & Technology(RIFST), Mashhad, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Food processing, Research Institute of Food Science & Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

3- Researcher, Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science & Technology(RIFST), Mashhad, Iran.

*- Corresponding author E-mail: m.hosseini@rifst.ac.ir

Hosseini, M., Sadeghian, A.R., and Barakati, F., 2015. Study on trends in phenolic compounds during saffron plant growth by Folin Cio Calteau Micro method. Journal of Saffron Research. 3(2): 155-162.

Submitted: 04-09-2014
Accepted: 25-08-2015

Abstract

Phenolic compounds in different organs of saffron plant specially corm has negative correlation with economical yield, but causes improvememt of qualitative characters.This research was conducted in 2008 and 2009 by sampling from saffron farms of Abrood village in TorbateHeydarieh .In this research relation of economical yield obtained with phenolic compounds of corms and rhizosphere. Ages of fields were 3, 5 and 7 years.The statistical procedure was factorial experiment as RCBD.Firs factor was times of sampling in four levels and second one was saffron organs including leaves and corms and its rhizosphere. Rates of dry matter accumulation, nitrogen rate of rhizosphere, corms and leaves and rate of phenolic compounds of rhizosphere, corms and leaves of saffeon with different replications and random samplings were assessed. By application of statistical procedures and their interaction were calculated. Results showed that effect of time of sampling was not significant on leaf phenolic compounds, but time of sampling was significant on nitrogen rate of leaves and on fresh and dry weight of leaves. Fieldm age had significant effect of economical yield and on fresh and dry weight of leaves. Relations between nitrogen, phenolic compounds and dry matter content of saffron are similar to other important crops.

Keywords: Rate of phenolics,nitrogen rate,dry matter content,saffron corm.