# ارزیابی کیفیت بتا کاروتن استخراج شده از آزولا فیلیکوئیدس (*Azolla filiculoides*) تالاب انزلی به روش هیدرولیز قلیایی در فصل تابستان

مینا سیف زاده[1*]، علی اصغر خانی پور[1]، یزدان مرادی[2]

* m_seifzadeh_ld@yahoo.com

۱- پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران

۲-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۵

## چکیده

این پروژه با هدف تعیین مقدار، کیفیت، درصد خلوص، مقایسه با نوع سنتتیک و بررسی ارزش اقتصادی بتا کاروتن استخراج شده از آزولای تالاب انزلی انجام شد. برای اجرای این پروژه یک تیمار شامل بتا کاروتن استخراج شده به روش هیدرولیز قلیایی از آزولای تالاب انزلی در فصل تابستان سال ۱۳۹۳در نظر گرفته شد. تیمارها به مدت یک سال در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند. از بتا کاروتن سنتتیک به عنوان شاهد استفاده شد. کیفیت تیمارها با استفاده از آزمایشات شیمیایی شامل تعیین مقدار و کیفیت بتا کاروتن، رنگ سنجی (hunter lap)، درصد خلوص و ویتامین A به وسیله HPLC، مدت زمان ماندگاری وحلالیت بتا کاروتن طبیعی بررسی شد. در نتایج آزمایشات شامل درصد خلوص، غلظت، رنگ سنجی، ترکیبات ویتامینه، حلالیت و مدت زمان ماندگاری در بتا کاروتن آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد(P>۰/۰۵). طی مدت زمان ماندگاری این فاکتورها درتیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار نشان ندادند(p>۰/۰۵). بتا کاروتن طبیعی طی مدت زمان نگهداری به مدت یک سال در دمای ۵ درجه سلسیوس از کیفیت خوبی برخوردار بود. با توجه به عدم وجود تفاوت معنی دار بین بتا کاروتن استخراج شده از آزولا در مقایسه با نوع سنتتیک از حیث آزمایشات شیمیایی، خلوص، مدت زمان ماندگاری و ارجحیت بتا کاروتن طبیعی استخراج شده از آزولا در مقایسه با نوع سنتتیک از حیث ارزش اقتصادی می توان کاربرد بتا کاروتن طبیعی تهیه شده از آزولا را به جای بتا کاروتن سنتتیک در صنعت غذایی پیشنهاد کرد.

**کلمات کلیدی:** آزولا، رنگدانه های طبیعی، بتا کاروتن، افزودنی غذایی، تالاب انزلی

* نویسنده مسئول



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]

[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

## مقدمه

بتا کاروتن یک نوع ترکیب آلی آلکنی و رنگدانه طبیعی با طیف رنگی زرد تا قرمز است و در بسیاری از گیاهان سبز، برخی از جلبک ها و ریزسازوارهای فتوسنتز کننده یافت می شود. امروزه بتا کاروتن به عنوان یک رنگ طبیعی به طور وسیعی در فرآورده های غذایی، لوازم آرایشی، غذای دام و طیور مورد استفاده قرار می گیرد. به علاوه این ماده هم یک آنتی اکسیدان قوی بوده و هم به عنوان پیش ساز ویتامین A در انسان و حیوانات به کار می رود. وجود خواص و فواید فراوان علاقمندی زیادی جهت تولید صنعتی این ماده فراهم کرده است. این نوع بتا کاروتن تجزیه پذیر بوده و در بسیاری از گیاهان از جمله آزولا وجود دارد(MacDougall, 2002). افزودنی‌های غذایی از قبیل رنگ‌دهنده‌های طبیعی مواد مفیدی هستد که امروزه از آنها به منظور بهبود کیفیت، ارتقاء ارزش تغذیه‌ای و رفع مشکلات تکنولوژیکی تولید مواد غذایی استفاده می‌شود. رنگ غذایی یا افزودنی رنگ را می توان به عنوان هر نوع رنگ، رنگدانه یا ماده ای که سبب بهبود کیفیت و ظاهر غذاهای عمل آوری شده یا تازه می شود، تعریف کرد. تجربه ثابت نموده است که مصرف کنندگان به رنگ مواد غذایی حساس بوده و رنگ با کیفیت و ویژگی‌های حسی رابطه‌ی مستقیم دارد.(Stahl *et al*, 2008). با توجه به این که مصرف کننده ابتدا کیفیت هر نوع ماده غذایی را به وسیله‌ی رنگ آن ارزیابی می‌نماید، رنگ را می توان به عنوان فاکتوری که نشان دهنده کیفیت مواد غذایی بوده و کیفیت خوب و یا بد مواد غذایی را نشان می‌دهد، مطرح کرد. به موازات طعم و مزه، شکل و اندازه این فاکتور یکی از مهم‌ترین خصوصیات حسی مواد غذایی را تشکیل می‌دهد. بنابراین رنگ یکی از بهترین مشخصه‌های کیفی ماده‌ی غذایی بوده و در افزودنیهای مواد غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. ترکیبات رنگی طبیعی از منابع گیاهی مانند میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و ریشه‌های گیاهان استخراج می شود. این رنگها، رنگ های گیاهی نیز نامیده شده اند. ما در غذاهای روزانه مقادیر زیادی از رنگ‌دانه‌های طبیعی به خصوص آنتوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل را مصرف می‌کنیم. اما، جذب این مواد از طریق موادغذایی فرآوری شده با رنگ‌های طبیعی حائز اهمیت است. با توجه به امنیت و در دسترسی عموم رنگ های غذایی در مواد غیر غذایی مانند دارویی، لوازم آرایشی و دستگاههای پزشکی نیز استفاده می شوند( Branen *et al*, 2001; Hopkins, 2006; Mostafa & Ibrahim, 2012).

رنگهای مصنوعی مواد رنگی هستند که در نتیجه سنتز مواد آلی به دست می آیند و دامنه کاربرد آنها نا محدود بوده و در صنایع مختلفی مانند غذایی و غیره کاربرد دارند. با نظر به اهمیت روزافزون این ترکیبات و مصرف بالای افزودنی‌ها در واحدهای صنعتی جهان تحقیقات زیادی در مورد استفاده از این رنگ ها انجام شد. نتایج این تحقیقات نشان داد که رنگ های سنتتیک فاقد ارزش غذایی بوده و بسیاری از رنگهای مصنوعی از نظر مصرف در غذای انسان قابل قبول نبوده و عامل ایجاد کننده اختلالاتی ازقبیل آسم، کهیر، واکنش های آنافیلاکتیک، اختلال در خواب، ایجاد فشارخون، آلرژی، کاهش سطح ویتامین ها، سرطان زایی، اختلالات کبدی، تومور های بدخیم، اختلال در فرایند های مغزی مانند قدرت یادگیری و رفتار به ویژه در کودکان و نوجوانان، کاهش ضریب هوشی کودکان و بروز پیش فعالی در کودکان هستند (Rymbai *et al.*, 2008). علاوه بر این، این رنگ ها سبب تجمع مواد سنتتیک در مواد غذایی، عوارض ناشی از انتقال آن به انسان و تاثیر آن بر سلامت انسان و تضعیف سیستم ایمنی می باشند. با توجه به مشکلات فراوان حاصل از مصرف رنگ های مصنوعی، اخیراً محدودیت‌های بسیاری از جانب سازمان‌های بین المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورد استفاده از این رنگ‌ها وضع شده است. لذا درسطح جهانی مطالعه و جستجو برای یافتن پیگمان‌های طبیعی مناسب به‌عنوان رنگ افزودنی آغاز شد. پیگمان‌های طبیعی اثرات سوء ذکر شده برای رنگ‌های مصنوعی را نداشته و در تحقیقات مختلف تاثیرات مثبت آنها بر سلامت عمومی به دفعات مورد تائید قرار گرفته است( Caivano & Buera, 2012; Higuera-Ciapara *et al*., 2006 ).

قرار گرفتن در معرض نور خورشید منجر به تجمع نسخه هایی از پروتئین های متعلق به خانواده پروتئین های القاء پذیر تحت تاثیر نور بالا در سیانوباکتریها می



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

شود. علاوه بر سیانوباکتریها این پروتئین ها در گیاهان نیز وجود داشته و شامل پروتئین های متصل به کلروفیل a/b۱ گیاهی و پروتئین های اولیه القاء پذیر به نور هستند. با توجه به این که کاروتنوئیدها از ترکیبات وابسته به کلروفیل و این پروتئین ها هستند قرار گرفتن در معرض نور خورشید می تواند ساخته شدن این پروتئین ها و بتاکاروتن را در گیاه تحریک کند. علاوه بر نور خورشید رسیدن نور ماورای بنفش به گیاهان به دلیل پارگی لایه ازون نیز سبب تحریک ساخته شدن این پروتئین ها و بتا کاروتن می شود ( Schieber & Carle, 2005; Aberouma, 2011; .Agostiano *et al*., 2003).

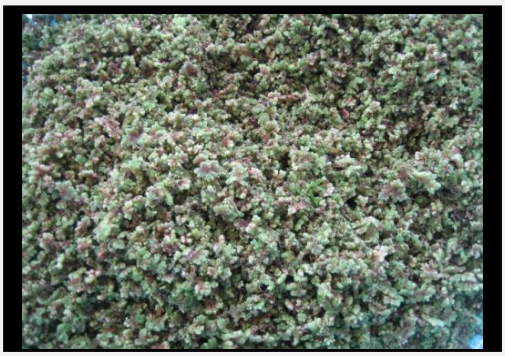
کاهش ساخته شدن بتا کاروتن در فصل تابستان به دلیل نامناسب بودن دما (بالای ۳۰ درجه سلسیوس) برای سنتز لیکوپن و نور خورشید می باشد (Prasanna *et al*., 2004; Hutchings, 2003). لیکوپن به عنوان پیش نیاز سنتز بتا کاروتن هست (Hackett *et al*, 2002). علاوه بر این تولید بتا کاروتن تحت تاثیر مراحل بلوغ برگ های گیاه بوده بطوریکه در فصل تابستان در برگ های بالغ مقدار سنتز بتا کاروتن بالا نمی باشد( Venugopal *et al*., 2006 ).

این پروژه با هدف تعیین مقدار، کیفیت، درصد خلوص رنگدانه، مقایسه با نوع طبیعی آن (sigma) و بررسی ارزش اقتصادی بتا کاروتن استخراج شده از آزولای تالاب انزلی انجام شد.

## روش تحقیق

**نمونه برداری:** این تحقیق در فصل تابستان ۱۳۹۳ اجرا شد. نمونه برداری از آزولا فیلیکوئیدس ( *Azolla filiculoides*) با استفاده از تور مخروطی و در غرب تالاب انزلی با مختصات جغرافیایی مختصات جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه ۲۵ دقیقه طول شرقی انجام شد.

**آماده سازی نمونه:** آزولا بعد از برداشت تصادفی از تالاب انزلی با آب شیرین جهت حذف اپی فیت ها، رسوب و مواد آلی شستشو شد. سپس قسمت های خوراکی آن جمع آوری شده و دوباره با آب بهداشتی شهر کاملا شسته شد. سپس آزولاتوسط آون و دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شد. از قسمت های خوراکی آزولا(ساقه و برگ) برای استخراج بتا کاروتن استفاده شد. میزان این قسمت ها در یک کیلوگرم آزولا اندازه گیری گردید. سپس این قسمت های خوراکی خشک شده و مقدار آزولای خشک به دست آمده از یک کیلوگرم آزولای تر در وزن خشک نیز محاسبه شد. سپس با تنظیف خشک شده و برای استخراج بتا کاروتن استفاده شد.



**شکل ۱: آزولای پاک شده برای استخراج بتا کاروتن**

**استخراج بتا کاروتن:** برای اجرای این پروژه یک تیمار و یک شاهد در نظر گرفته شد. تیمار آزمایشی شامل بتا کاروتن استخراج شده از گونه وحشی آزولا ( *Azolla filiculoides*) بود. بتا کاروتن از آزولا به روش هیدرولیز قلیایی (Hosotani, 2001) استخراج شد. پنج گرم از پودر خشک شده با ۲۵ میلی لیتر سود یک مولار مخلوط شد. مخلوط فوق با استفاده از هیتر هموژنه شد. بعد از خنک شدن آسکوربات سدیم به مقدار ۵۰۰ ppm به آن افزوده شد. سپس رنگدانه طی مدت زمان ۳ ساعت در یک دستگاه سوکسله با حلال ( ۱۰۰ میلی لیتر پترولیوم اتر و ان هگزان به نسبت ۵۰:۵۰) استخراج شد. رنگدانه به دست آمده با استفاده از فاز جامد روی ستون ODS خالص شد. سپس نمونه شسته شده و حلال ( ۱۰۰ میلی لیتر پترولیوم اتر و ان هگزان به نسبت ۵۰:۵۰)جدا شد. نمونه تهیه شده در شیشه های در پیچ دار ۲۵۰ میلی لیتری تیره رنگ به مدت یک سال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

برای ارزیابی کیفیت عصاره نهایی درصد خلوص از آزمایشات HPLC (تزریق ۱ میلی لیتر از مایع فیلتر شده



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

با استفاده از سرنگ میکرولیتری به Reversed HPLC phase ) (Khalil & Varananis, 1996) با طول موج ۴۶۰ نانومتر، رنگ سنجی (میزان ماده رنگی) با استفاده از دستگاه هانتر لب مدل colorflex ساخت آمریکا، تعیین ترکیبات ویتامینه به روش HPLC( AOAC 1960.941.15)، حلالیت و مقایسه زمان نگهداری عصاره به دست آمده با زمان نگهداری نمونه شاهد (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۰، ۱۳۹۲) استفاده گردید.

**فرکشن:** شرایط کروماتوگرافی برنامه Perkin Elmer از HPLC شامل LC-1000 pump دارای ستون استیل بی رنگ ODS بر پایه سیلیکا(YMC-Triart C18)، C18 پلیمریک با سایز ذره ۵ میکرومتر متر، ساز سوراخ ۱۲۰ آنگستروم، تیمار شده با سیلانول، مقدار کربن ۲۰ درصد و طول ۲۵۰ میلی متر در I.D ۴ میلی متر استفاده شد. و به تعیین کننده LC 250 UV/VIS متصل شده بود. شناسایی پیک ها و توسط نرم افزار CSW32 برای سیستم HPLC ( Shimadzu SCL-10Avp) انجام شد (Muller, 1998; Hui *et al*., 2006). در این دستگاه برای اندازه گیری بتا کاروتن از فاز متحرک استونیتریل- متانول- اتیل استات (۲:۱۰:۸۸)، نسبت جریان ۱ میلی متر بر دقیقه و طول موج ۲۵۰ نانومتر استفاده شد.

از رنگ بتا کاروتن سنتتیک استاندارد تهیه شده از شرکت سیگما آلدریچ به عنوان نمونه شاهد استفاده شد.

**روش تهیه محلول استاندارد ۳ میکروگرم/میلی لیتر بتا کاروتن :** با استاده از یک ترازوی ۰/۰۱ میلی گرم شش میلی گرم از ماده بتا کاروتن در یک فلاسک ۱۰۰ میلی لیتری با ۲۰ میلی لیتر تتراهیدروفوران در حمام اولتراسونیک برای حدود ۳۰ ثانیه قرار داده شد. با تتراهیدروفوران به حجم رسانده شد (۶۰ میکروگرم/میلی لیتر). ۵ میلی لیتر از این محلول ذخیره استاندارد به دو تا فلاسک ۱۰۰ میلی لیتری انتقال داده شد(محلول اندازه گیری استاندارد). در یکی از فلاسک ها توسط سیکلوهگزان به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر تتراهیدروفوران به فلاسک دیگر افزوده شده و با اتانل به حجم رسانده شد(محلول کار استاندارد). محلول استاندارد کار به سیستم HPLC تزریق شد. جذب محلول استاندارد اندازه گیری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۵۶ نانومتر قرائت شد. شناسایی پیک ها و توسط نرم افزار CSW32 برای سیستم HPLC انجام شد (Muller, 1998; Hui *et al*., 2006).

**اندازه گیری ترکیبات ویتامینه(A) به روش HPLC:**
برای تهیه محلول ذخیره رتینول تمام ترانس ۵۰ میلی گرم رتینول تمام ترانس را در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری با حلال اتانول تا خط نشانه به حجم رسانده شد. این محلول حاوی ۰/۵mg/ml رتینول تمام ترانس هست. برای تهیه محلول استاندارد ۵ میلی لیتر از محلول استاندارد در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری با حلال اتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از این محلول در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری با حلال اتانول تا خط نشانه به حجم رسانده شد. این محلول حاوی۲/۵ µg/ml رتینول تمام ترانس هست. محلول استاندارد رتینول تمام ترانس با سل کوارتز و مسیر نوری ۱ سانتی متر و طول موج ۳۲۵ نانومتر قرائت شد.

۵گرم از نمونه مورد آزمون با استفاده از ۵۰ میلی لیتر متانول و ۵ میلی لیتر از محلول ۵۰g/100ml از هیدروکسید پتاسیم در دمای ۸۰ درجه سلسیوس و به مدت زمان ۴۵ دقیقه صابونی شد. به منظور جلوگیری از تشکیل امولسیون مقدار مناسبی آب به نمونه صابونی شده افزوده شد. به طوری که نسبت الکل به اب در نمونه صابونی شده ۱:۱ شد. رتینول از محلول صابونی شده به وسیله حلال دی اتیل اتر استخراج شد. مواد استخراجی چهار بار با ۱۵۰ میلی لیتر آب جهت خنثی شدن شسته شد. مواد استخراجی خنثی شده با استفاده از دستگا تبخیر چرخشی در فشار کم و دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس تبخیر شد. مقادیر جرئی آب به وسیله خشک کردن با سولفات سدیم حذف شد.

باقی مانده را با استفاده از فاز متحرک هگزان نرمال باضافه ۲ پروپانل به نسبت های ۹۸:۲ به منظور حصول غلظت مناسب برای تزریق به ستون HPLC مجددا حل شد. ستون HPLC شامل LiChrospher Si60 (5µm) در ابعاد ۲۵۰ در ۴ میلی متر بود. سرعت جریان ۲ میلی



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

متر/دقیقه، حجم تزریق ۵۰ میکرولینر، طول موج ۳۲۵ نانومتر بود. فاز ثابت Merck LiChrosorbSi 60, 5 µm و ابعاد ستون ۲۵۰ در ۴ میلی متر بود.

**تعیین ارزش غذایی آزولا:** آزولای مورد استفاده برای تهیه بتاکاروتن از حیث ارزش غذایی شامل پروتئین (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۴، ۱۳۷۲)، چربی (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۲، ۱۳۸۲)، رطوبت (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۵ ،۱۳۵۰)، خاکستر (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴، ۱۳۸۱ ) و pH (استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸، ۱۳۸۶و استاندارد ملی ایران شماره ۴۱۲۴، ۱۳۷۶) و پراکسید ( استاندارد ملی ایران شماره ۴۹۳، ۱۳۸۳) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزولا قبل از استفاده برای استخراج رنگ از نظر تعیین وزن خشک بیوماس نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. .

داده های به دست آمده از آزمایشات رنگ سنجی و شیمیایی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون T. test جهت مقایسه نمونه های آزمایشی با یکدیگر و نمونه شاهد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین تغییرات فاکتورهای مورد بررسی طی مدت زمان نگهداری با استفاده از همین نرم افزار و آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه مورد بررسی قرار گرفتند.

## نتایج

بر اساس جدول ۱ میانگین آنالیز ارزش غذایی آزولای تالاب انزلی در فصل تابستان شامل پروتئین۲۳/۴۹±۱/۱۲ درصد، رطوبت ۲/۱۵ ±۳۲/۸۴ درصد، چربی۹۶ /۱±۱۹/۵۲ درصد، خاکستر ۲۴/۸۹±۲/۳۷ درصد و وزن خشک ۸۹/۷۳±۱/۷۶ درصد است.

**جدول ۱: نتایج ارزش غذایی آزولای تالاب انزلی در فصل تابستان(درصد) (Mean±SD)**

**Table 1: Results of nutritional vlalue of Anzali wetland Azolla in the summer (percent)) Mean±SD**

| شاخص نمونه | پروتئین | رطوبت | چربی | خاکستر | وزن خشک |
|---|---|---|---|---|---|
| آزولا قبل از عمل آوری | ۲۳/۴۹±۱/۱۲ | ۳۲/۸۴± ۲/۱۵ | ۱۹/۵۲±۱/ ۹۶ | ۲۴/۸۹±۲/۳۷ | ۸۹/۷۳±۱/۷۶ |

بتاکاروتن طبیعی و سنتتیک در آب کاملا محلول بودند. در تیمار آزمایشی تغییرات فاکتور خلوص از فازهای صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید طی مدت زمان نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۹۸/۹۴±۲/۴۵، ۹۸/۹۴±۱/۶۴ و ۹۸/۹۴±۲/۶۴ درصد و در تیمار شاهد تغییرات این فاکتور به ترتیب شامل ۹۹±۲/۵، ۹۹±۱/۶۷ و ۹۹±۲/۶۷ درصد بودند.

تغییرات مقدار بتا کاروتن در تیمار آزمایشی از فازهای صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید طی مدت زمان نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس به ترتیب شامل ۹۹۳۵±۲/۴۵، ۹۹۳۵±۲/۱۴ و ۹۹۳۵±۱/۴۹ µg/100g بود. تغییرات این فاکتور در تیمار شاهد به ترتیب شامل ۱۱۸۶۳±۲/۶۷، ۱۱۸۶۳±۱/۸۹ و ۱۱۸۶۳±۱/۶۵ µg/100g بود.

بتا کاروتن در نمونه آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد.



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

**جدول ۲: آنالیز بتا کاروتن استخراج شده از آزولا با روش هیدرولیز قلیایی در زمان های صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید طی مدت زمان نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس(Mean±SD)**

**Tale 2: Analysis of beta-carotene extracted from Azolla using alkaline hydrolysis in the times of zero, six months and one year after production during storage period at °C 5 (Mean±SD)**

| شاخص | حلالیت | | درصد خلوص | | بتا کاروتن(µg/100g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمار | آزمایشی | شاهد | آزمایشی | شاهد | آزمایشی | شاهد |
| زمان نمونه برداری | | | | | | |
| زمان صفر | کامل | کامل | ۹۸/۹۴±۲/۴۵ | ۹۹±۲/۵ | ۹۹۳۵±۲/۴۵ | ۱۱۸۶۳±۲/۶۷ |
| شش ماه بعد از تولید | کامل | کامل | ۹۸/۹۴±۱/۶۴ | ۹۹±۱/۶۷ | ۹۹۳۵±۲/۱۴ | ۱۱۸۶۳±۱/۸۹ |
| یک سال بعد از تولید | کامل | کامل | ۹۸/۹۴±۲/۶۴ | ۹۹±۲/۶۷ | ۹۹۳۵±۱/۴۹ | ۱۱۸۶۳±۱/۶۵ |

فاکتورهای حلالیت، درصد خلوص و مدت زمان ماندگاری در بتا کاروتن طبیعی در مقایسه با سنتتیک تفاوت معنی دار نشان ندادند(p>۰/۰۵). این فاکتورها طی مدت زمان نگهداری به مدت یک سال در دمای ۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی دار نشان ندادند(p>۰/۰۵).

بتا کاروتن استخراج شده از آزولا از نظر رنگی روشن (محدوده L) بود. تغییرات فاکتور رنگ این تیمار در طیف L طی مدت زمان نگهداری از فازهای صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید به ترتیب شامل ۹۵/۴±۲/۱۲، ۹۵/۱۵±۱/۱۹ و ۹۴/۹۸±۱/۱۷ بود. در طیف A (قرمزی – زردی) طی مدت زمان نگهداری ۱/۸۴±۱/۱۵، ۱/۱۲ ±۱/۳۷ و ۱/۷۸±۱/۷۵ بود. در طیف B (زردی– آبی) تغییرات این فاکتور طی مدت زمان نگهداری به ترتیب شامل ۱/۵۴±۱/۳۴، ۱/۲۵±۱/۴۵ و ۱/۱۵±۱/۶۷ بود.

بتا کاروتن سنتتیک از نظر رنگی روشن (محدوده L) بود. تغییرات فاکتور رنگ این تیمار در طیف L طی مدت زمان نگهداری از فازهای صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید به ترتیب شامل ۱/۹۷±۹۵/۷۵، ۱/۵۳ ±۹۵/۲۴ و ۲/۶۵±۹۴/۹۵ بود. در طیف A (قرمزی– زردی) طی مدت زمان نگهداری ۱/۵۹±۱/۰۵، ۱/۴۳ ±۱۱/۲۷ و ۱/۶۹±۱/۴۵ بود. در طیف B (زردی– آبی) تغییرات این فاکتور طی مدت زمان نگهداری به ترتیب شامل ۱/۱۸±۱/۱۱، ۱/۲۱±۱/۲۹ و ۱/۱۲±۱/۳۸ بود.

**جدول ۳: نتایج آزمایش رنگ سنجی بتا کاروتن استخراج شده از آزولا با روش هیدرولیز قلیایی در زمان های صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید (Mean±SD)**

**Table 3: Results of color measurement of beta-carotene extracted from Azolla using alkaline hydrolysis in the times of zero, six months and one year after production (Mean±SD)**

| نمونه | بتا کاروتن استخراج شده از آزولا | | | شاهد | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| طیف رنگی | L(روشنی) | A (قرمزی بزی) | B (زردی آبی) | L(روشنی) | A (قرمزی بزی) | B (زردی آبی) |
| زمان صفر | ۹۵/۴±۲/۱۲ | ۱/۱۵±۱/۸۴ | ۱/۳۴±۱/۵۴ | ۹۵/۷۵±۱/۹۷ | ۱/۰۵±۱/۵۹ | ۱/۱۱±۱/۱۸ |
| شش ماه | ۹۵/۱۵±۱/۱۹ | ۱/۳۷±۱/۱۲ | ۱/۴۵±۱/۲۵ | ۹۵/۲۴±۱/۵۳ | ۱/۲۷±۱/۴۳ | ۱/۲۹±۱/۲۱ |
| یک سال | ۹۴/۹۸±۱/۱۷ | ۱/۷۵±۱/۷۸ | ۱/۶۷±۱/۱۵ | ۹۴/۹۵±۲/۶۵ | ۱/۴۵±۱/۶۹ | ۱/۳۸±۱/۱۲ |

این فاکتورها طی مدت زمان نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی دار نشان ندادند. مقدار ویتامین A در بتا کاروتن استخراج شده از آزولا طی مدت زمان نگهداری از فازهای صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید۱۱۸۵۰ µg/100g بود. مقدار ویتامین A در بتاکاروتن سنتتیک طی مدت زمان نگهداری از فازهای



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید۱۱۸۶۳ µg/100g بود.

**جدول ۴: آنالیز ارزش غذایی بتا کاروتن استخراج شده از آزولا به روش هیدرولیز قلیایی در فصل تابستان(Mean±SD)**

**Table 4: Analysis of the nutritional value of beta carotene extracted of Azolla to alkaline hydrolysis method in summer (Mean ± SD)**

| فاکتور تیمار | ترکیبات ویتامینه (µg/100g) | |
|---|---|---|
| | آزمایشی | شاهد |
| زمان صفر | ۱۱۸۵۰±۱/۹۲ | ۱۱۸۶۳±۲/۷۶ |
| شش ماه بعد از تولید | ۱۱۸۵۰±۲/۲۳ | ۱۱۸۶۳±۱/۹۶ |
| یک سال بعد از تولید | ۱۱۸۵۰±۱/۵۴ | ۱۱۸۶۳±۱/۷۵ |

ترکیبات ویتامینه (ارزش غذایی) در بتا کاروتن طبیعی در مقایسه با سنتتیک تفاوت معنی دار نشان نداد(p>۰/۰۵). این فاکتور طی مدت زمان نگهداری به مدت یک سال در دمای ۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی دار نشان ندادند(p>۰/۰۵).

## بحث

رنگدانه طبیعی بتا کاروتن صرفا از حیث قابلیت تبدیل به ویتامین A دارای ارزش غذایی می باشد. بر اساس جدول ۴ نتایج حاصل از اندازه گیری ویتامین A در تیمار آزمایشی از غلظت بالایی برخوردار بود. این فاکتور در مقایسه با نمونه شاهد تفاوت معنی دار نشان نداد(p>۰/۰۵). در نتایج این آزمایش در تیمار آزمایشی در مقایسه با شاهد طی مدت زمان نگهداری تفاوت معنی دار مشاهده نشد(p<۰/۰۵). نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط Mercandate & Amaya در سال ۱۹۹۰ مطابقت دارد. مقدار ویتامین A در بتا کاروتن استخراج شده از آزولا تحت تاثیر غلظت و افزایش مقدار کاروتنوئیدها و با توجه به این که در اثر شکستن بتاکاروتن دو مولکول ویتامین A تولید می شود و ۱۰۰ درصد بتا کاروتن قابلیت تبدیل به ویتامین A را دارد (Miller *et al.*, 2013; Alcaíno *et al.*, 2008; Dentuto *et al.*, 2007)، افزایش مقادیر و غلظت بتاکاروتن در تیمار هیدرولیز قلیایی منجر به افزایش ترکیبات ویتامینه در این تیمار شد (AOAC., 941.15, 1960). عدم وجود تفاوت معنی دار در مقدار این ویتامین طی مدت زمان نگهداری تحت تاثیر شرایط نگهداری در دمای پائین و استفاده از ظروف تیره رنگ برای بسته بندی بتا کاروتن می باشد (Chawla, 2002).

بر اساس جدول ۲ مقدار بتا کاروتن در تیمار آزمایشی ۹۹۳۵ µg/100g بود. مقدار بتا کاروتن تهیه شده از آزولا در مقایسه با نتایج به دست آمده توسط Lejeune و همکاران در سال ۲۰۰۰ کاهش نشان داد که تحت تاثیر استفاده از تیمار حرارتی برای خشک کردن آزولا در مقایسه با آزولای تر و همچنین شرایط مختلف پرورش آزولا می باشد مقدار بتا کاروتن در تحقیق حاضر در مقایسه با تحقیق انجام شده توسط رضوی و همکاران در سال ۱۳۸۴ مطابقت داشت. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط زارع و کیانی راد در سال ۱۳۸۳ مطابقت دارد که به دلیل شرایط هوادهی یکسان و نقش هوا برای تولید بتا کاروتن در آزولای وحشی و رشد یافته در شرایط هوای آزاد و کپک *Blakeslea trispora* رشد کرده در شرایط هوادهی زیاد بود. نتایج به دست آمده از اندازه گیری بتا کاروتن در این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط Venugopal و همکاران در سال ۲۰۰۶ از *Azolla anabaena* مطابقت نداشت که به دلیل استفاده از ترکیبات قندی برای پرورش آزولا بود. نتایج به دست آمده از اندازه گیری بتا کاروتن در این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط بایگان و همکاران در سال ۱۳۸۸ از جلبک دونالیلا سالینا نیز مطابقت ندارد که تحت تاثیر استفاده از ترکیبات تنش زا برای افزایش تولید بتا کاروتن توسط جلبک می باشد. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط مقدسی در سال ۱۳۹۰ مطابقت ندارد که تحت تاثیر کاربرد استرس شوری بر تولید بتا کاروتن می باشد.

کاربرد تیمار حرارتی ملایم استفاده شده برای خشک کردن آزولا سبب تخریب آنزیم های ماده غذایی، تسهیل در آزاد شدن و حلالیت کاروتنوئیدها شده و در نهایت منجر به افزایش دسترسی به این ترکیب می شود.



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

هموژناسیون استفاده شده برای استخراج بتاکاروتن نیز سبب افزایش دسترسی به بتا کاروتن می شود( *et al.*, Yamini 2001; Negi & Roy, 2000). علاوه بر این، استفاده از مواد قلیایی سبب هیدرولیز و تخریب ماتریکس بافت های گیاهی، حذف دیواره و غشای سلولی و در نتیجه آزاد شدن بتاکاروتن می شود ( Cosma *et al*, Agte, 2000; Chromatogr, 2003; 2008). این اعمال استفاده شده برای عمل آوری سبب ناپایداری میکرونوترینت های ماده غذایی نشده و نمی توانند در مقدار بتاکاروتن طی مدت زمان ماندگاری در دمای ۵ درجه سلسیوس تغییر ایجاد کنند. علاوه بر این نگهداری در شیشه های تیره رنگ، عدم وجود اکسیژن و استفاده از مواد آنتی اکسیدان برای عمل آوری نیز از عوامل موثر در پایداری بتاکاروتن طی مدت زمان نگهداری می باشند(Amaya, 2001). مقدار رطوبت متوسط موجود در پودر آزولا علیرغم این که برای واکنش های غیر آنزیماتیک قهوه ای شدن مناسب بوده می تواند سبب حفاظت کاروتنوئیدها از اکسیداسیون لیپیدها شود. در دمای پائین استفاده شده برای خشک کردن مانند۵۰ درجه سلسیوس اکثر کاروتنوئیدها پایدار بوده و ایزومریزاسیون بتاکاروتن طی پروسه خشک کردن اتفاق نمی افتد(Anjum *et al*, 2008; Çinar, 2005).

بر اساس جداول ۲ و ۳ درصد خلوص، غلظت رنگ و حلالیت در تیمار عمل آوری شده با هیدرولیز قلیایی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی دار نشان ندادند ($p>۰/۰۵$) . طی مدت زمان ماندگاری یک ساله در دمای ۵ درجه سلسیوس این فاکتورها بین تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار نشان ندادند($p<۰/۰۵$). که تحت تاثیر حالت فیزیکی، حذف لیپیدها و رنگدانه های جانبی مانند کلروفیل در بتا کاروتن استخراج شده از آزولا به دلیل استفاده از ترکیبات قلیایی بود ( Chawla, 2002; Bendich, 2004; Dentuto *et al*., 2007; Alcaíno *et al*., 2008). حذف کامل دیواره سلولی و تخریب بافت های گیاهی نیز بر آزاد شدن کامل بتاکاروتن از بافت های گیاهی موثر می باشد. آزاد شدن کامل بتاکاروتن از بافت های گیاهی سبب افزایش غلظت بتاکاروتن شده که در نهایت منجر به افزایش درصد رنگ سنجی توسط هانترلپ شد. عدم مشاهده تفاوت معنی دار در نمونه آزمایشی طی مدت زمان ماندگاری را می توان به کاربرد آنتی اکسیدان در ترکیب این بتا کاروتن و نیز خاصیت آنتی اکسیدانی بتا کاروتن ارتباط داد. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط Venugopal و همکاران در سال ۲۰۰۶ از *Azolla anabaena* مطابقت ندارد که به دلیل تاثیر سیکل های ذوب و انجماد و استفاده از استن ۸۵٪ برای استخراج بتا کاروتن در مقایسه با هیدرولیز قلیایی برای شکستن دیواره سلولی و آزاد شدن رنگدانه و استفاده از حلال های آلی مانند پترولیوم اتر و ان هگزان می باشد.

مقدار بتا کاروتن در آزولا فیلیکوئیدس در مقایسه با گونه های دیگر آزولای پرورش یافته در سایر نقاط دنیا تفاوت معنی دار نشان داد ($p<۰/۰۵$) که تحت تاثیر ژنوتایپ، تغییرات آب و هوایی، شرایط رشد و مراحل بلوغ برگ های گیاه آزولا می باشد (Anguelova & Warthesen, 2000).

زارع و کیانی راد در سال ۱۳۸۳ استخراج مقدار برابر بتاکاروتن را از کپک *Blakeslea trispora* در مقایسه با تحقیق حاضر گزارش کردند که تحت تاثیر کاربرد هوای زیاد برای رشد کپک در مقایسه با شرایط رشد آزولا در هوای محیط بود.

رضوی و همکاران در سال ۱۳۸۴ برای استخراج کاروتنوئیدها از مخمر *Sporobolomyces ruberrimus H110* نتایج مشابهی را در مقایسه با تحقیق حاضر گزارش کردند که می توان آن را به دلیل تاثیر یکسان روش سایشی در مقایسه با ترکیبات قلیایی برای استخراج بتا کاروتن دانست.

بایگان و همکاران در سال ۱۳۸۸ مقدار بیشتری از بتاکاروتن را هنگام استخراج از جلبک دونالینا سالینا در مقایسه با تحقیق حاضر گزارش کردند که تحت تاثیر زمان کشت جلبک و استفاده از ترکیبات تنش زا بود.

مقدسی و همکاران در سال ۱۳۹۰ مقدار بیشتری از بتا کاروتن را از عصاره اتانولی جلبک دونالیلا سالینا گزارش کردند که به دلیل کاربرد استرس شوری برای پرورش جلبک، نوع ماده اولیه برای استخراج بتا کاروتن و نیز تاثیر روش استخراج می باشد.



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

Lejeune و همکاران در سال ۲۰۰۰ محدوده ای از ۲۰۶ تا ۶۱۹ mg/kg در وزن خشک بتا کاروتن را از آزولا در شرایط پرورشی (خواب و گلخانه ای) گزارش کردند. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد که به دلیل خشک کردن آزولا در مدت زمان طولانی تری در مقایسه با تحقیق حاضر می باشد.

Venugopal و همکاران در سال ۲۰۰۶ استخراج مقدار بیشتری بتا کاروتن از *Azolla anabaena* را در مقایسه با تحقیق حاضر گزارش کردند که تحت تاثیر نوع حلال، استفاده از سیکل های نوری و قند برای پرورش آزولا بود.

با توجه به عدم وجود تفاوت معنی دار بین مقدار بتا کاروتن استخراج شده از آزولا و بتا کاروتن سنتتیک از حیث آزمایشات شیمیایی، خلوص و مدت زمان ماندگاری و همچنین ارجحیت بتا کاروتن استخراج شده به روش هیدرولیز قلیایی از آزولا در مقایسه با بتا کاروتن سنتتیک از حیث ارزش اقتصادی می توان کاربرد بتا کاروتن طبیعی تهیه شده از آزولا را به جای بتا کاروتن سنتتیک در صنعت غذایی پیشنهاد کرد.

## منابع


**استاندارد ملی ایران شماره ۴۹۳.، ۱۳۸۳.** نمونه برداری و روش های آزمون روغن ها و چربی ها. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۰، ۱۳۹۲.** افزودنی های خوراکی مجاز – رنگ های خوراکی – فهرست و ویژگی های عمومی. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۲، ۱۳۸۲.** گوشت و فرآورده های آن – تعیین چربی تام – روش آزمون. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴، ۱۳۸۱.** گوشت و فرآورده های آن – تعیین مقدار خاکستر کل – روش آزمون. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۵، ۱۳۵۰.** گوشت و فرآورده های آن – اندازه گیری رطوبت. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۴، ۱۳۷۲.** اندازه گیری پروتئین تام در گوشت و فرآورده های آن. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸، ۱۳۸۶.** گوشت و فرآورده های آن – اندازه گیری pH. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۱-۶۲۶۳، ۱۳۹۵.** مایعات شفاف رنگ سنجی به وسیله مقیاس رنگ گاردنر- قسمت ۲ روش اسپکتروفتومتری. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۱- ۱۳۳۹۴، ۱۳۹۳.** مواد غذایی -اندازه گیری ویتامین A به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) قسمت ۱- اندازه گیری رتینول تمام ترانس و ۱۳-سیس رتینول-روش آزمون. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**استاندارد ملی ایران شماره ۲- ۱۳۳۹۴، ۱۳۸۹.** مواد غذایی - اندازه گیری ویتامین A به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- قسمت ۲- اندازه-گیری بتا-کاروتن- روش آزمون چاپ ۱. وسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

**بایگان. ع.، راسخ، ف. و راسخی، ن.، ۱۳۸۸.** فناوری تولید و استخراج کاروتنوئید از موجودات زنده. همایش ملی یافته های نوین شیمی در صنعت و پزشکی. شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری.

۱۲ - **رضوی، س.ه.، رضایی، ک. و مارک، ایوان.، ۱۳۸۴.** مقایسه روشهای استخراج پیگمان (کاروتنوئید) از مخمر *Sporobolomyces ruberrimus H* ۱۱۰. پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران۴۲-۳۳ :(۲)۱.

۱۳ - **زارع، د. و کیانی راد، م.، ۱۳۸۳.** مقایسه تولید بتاکاروتن توسط کپک در فرمانتورهای (*Blakeslea trispora*) پانزده لیتری همزن دار و




[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

هفتاد و پنج لیتری ایرلیفت. پژوهش و سازندگی شماره ۶۴. صفحات۲- ۷.

۱۴ – **مقدسی، ز.، امتیازجو، م.، ربانی، م.، امتیازجو، م.، لبیبی، ف.، آذرگشب، ا. و مصفا، ن.، ۱۳۹۰**. پتانسیل تولید بتاکاروتن از دونالیلا سالینا دریاچه شاهی تحت استرس های شوری. شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهرجلد ۵ شماره ۲. پیاپی ۱۸. صفحات ۹۳ – ۱۰۰.

**Aberoumand, A., 2011**. A Review Article on Edible Pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. World Journal of Dairy & Food Sciences 6: 71-78. DOI**:** 10.12691/ajfn-4-3-4

**Agostiano, A., Catucci, L., Cosma, P. and Fini, P., 2003**. Aggregation processes and photophysical properties of chlorophy l l a in aqueous solutions modulated by the presence of cyclodextrins. Physical Chemistry Chemical Physics. 5: 2122–813. DOI: 10.1039/B211903J

**Agte, V.V., Tarwadi, K.V., Mengale, S. and Chiplonkar, S.A., 2000**. Potential of traditionally green leafy vegetables as natural sources for supplementation of eight micronutrients in vegetarian diets. Journal Chromatogr. 13: 885-891. doi:10.1006/jfca.2000.0942

**Alcaíno, A., Barahona, S., Carmona, M., Lozano, C., Marcoleta, A., Iklitschek, M., Sepúlveda, D., Baeza, M. and Cifuentes, V., 2008.** Cloning of the cytochrome p450 reductase *(crtR) gene and its* involvement in the astaxanthin biosynthesis of *Xanthophyllomyces Dendrorhous. BMC Microbiology.* 8: 1 – 13. DOI: 10.1186/1471-2180-8-169

**Amaya, R., 2001**. The effect of processing and storage on carotenoids content of vegetables. Journal Food Science. 7: 2005-5802.

**Anguelova, T. and Warthesen, Y., 2000**. Degradation of lycopene, α-carotene and β-carotene during lipid peroxidation. Journal of Food Science. 65: 71-75. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15958.x

**Anjum, F., Barkat, A.K., Noreen, N., Tariq, M. and Faisal, S., 2008**. Effect of Boiling and Storage on Beta-Carotene Content of Different. Vegetables Pakistan journal life social science. 6: 63-67.

**Association Of Official Analytical Chemists., 1960**. Vitamin A in foods in which carotenes have been added as a source of vitamin A. spectrophotometric method. Maryland, USA.

**Bendich, A., 2004.** What have we learned about the "biological actions of beta-carotene"? Journal Nutrition. 134: 225-230.

**Branen, A.L., Davidson, M., Seppo Salminen, P. and Thorngate, J., 2001**. Food Additives. Taylor & Francis. 952P.

**Caivano, J.L. and Buera, M.D.P., 2012**. Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects. CRC Press. 478P.

**Chawla, H.S., 2002**. Introduction to Plant Biotechnology. Plant Biotecnology Publishers. 562P.



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

**Chromatogr, B.J., 2003**. Improved simultaneous determination method of beta-carotene and retinol with saponification in human serum and rat liver. Analytical Technology Biomedicne Life Scence. 1: 305-13. DOI: 10.1016/S1570-0232(03)00233-2

**Çinar, I., 2004**. Carotenoid pigment losses of freeze dried plant samples under different storage conditions. Food Science. and Technology. 37: 363–367. doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.006

**Cosma, P., Fini, P., Rochira, S., Catucci, L., Castagnolo, M. and Agostiano, A., 2008**. Phototoxicit y and cytotoxicity of chlorophyl l a/cyc lodextrins complexes on Jurkat cells. Bio electrochemistry. 74: 58-64. DOI: 10.1016/j.

**Dentuto, P.L., Catucci, L., Cosma, P., Fini, P., Agostiano, A. and Hackbarth, S., 2007.** Cyclodextrin/chlorophyl l a complexes as supramolecular photosensitizers. Bioelectrochemistry. 70:39-43. doi.org/10.1016/j.

**Hackett, M., Lee, J. and Schwartz, S., 2002**. Thermal Stability and Isomerization of Lycopene in Tomato Oleoresins from Different Varieties. Journal Food Science. 69: 536-541. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb13647.x

**Higuera-Ciapara, I., Félix-Valenzuela, L. and Goycoolea, F.M., 2006.** Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. Critical Review Food Science Nutrition**.** 46: 185–196. DOI: 10.1080/10408690590957188

**Hopkins, W.G., 2006.** Plant Biotechnology. Infobase Publishing. 153P.

**Hosotani, K., Kitagawa, M., Granado, F., Olmedilla, B., Gilmantines, E. and Blando, I., 2001**. A fast reliable and low cost saponification protocol for analysis of carotenoeids in vegetables. Journal Food Composision and Analysisl. 14: 479 – 489. DOI: 10.1006/jfca.2001.0989

**Hui, B.D., Li, J., Pei, L.P., Zhang, L.X., Zhang, Y. and Hu**, **Y.X., 2006**. Separation and Identification of β-Carotene Geometrical Isomers by C30-HPLC-PDA, Food Science (Chin). 27: 252–255.

**Hutchings, J.B., 2003**. Food color and appearance. Gaithersburg, Md. : Aspen Publishers. 610 P.

**Khalil, I.A. and Varananis, F.R., 1996**. Carotiniod extraction and analysis by reversed phase HPLC system. Sarhad Journal Agriculture. 105: 15-21.

**Lejeune, A., Peng, J., Boulenge, E.Le., Larondelle, Y. and Hove, C.V., 2000**. Carotene content of Azolla and its variations during drying and storage treatments. Animal feed science and technology. 84: 293–301. do:10.1016/S0377-8401(00)00129-2

**MacDougall, D.B., 2002**. Colour in Food: Improving Quality. Woodhead Publishing. 378P.

**Mercandate, A. and Amaya, R., 1990**. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

leafy vegetables. Journal Food Science. 25: 213-219. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb01077.x

**Miller, J.K., Travis Harrison, M., Andrea, A.D., Endsley, A.N., Yin, F., Kodukula, K. and Watson, D.S., 2013.** B- Carotene Biosynthesis in Probiotic Bacteria. Probiotics & Antimicrobial Protectection. 5: 69–80. DOI: 10.1007/s12602-013-9133-3.

**Muller, H., 1997**. The determination of the beta-carotene content in selected vegetables and fruits by HPLC and photodiode array detection. Journal Food Nutriton. 2: 88-94. DOI: 10.1007/s002170050042

**Mostafa, E.M. and Ibrahim, M.M., 2012**. HPLC analysis of non–enzymatic antioxidants in *Azolla caroliniana* (pteridopsida) subjected to UV-B. Academic Journal Biology Science. 3: 19-30.

**Negi, P. and Roy, S., 2000**. Effect of drying condition on quality of green leaves during long term storage . Food Reseach International. 34: 283-287. doi:10.1016/S0963-9969(00)00165-4

**Prasanna, R., Pabby, A. and Singh, P.K., 2004.** Effect of glucose and light/dark environment on pigmentation profiles in *Calothrix elenkeni*. Folia Microbial.49: 26 -30. doi:10.1007/BF02931641

**Rymbai, H., Sharma, R.R. and Srivastav, M., 2011**. Biocolorants and its implications in Health and Food Industry - A Review. International Journal of Pharmaceutical Technology Research. 3: 2228 – 2244.

**Schieber, A. and Carle, R., 2005**. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological,analytical, and nutritional implications, Trendsin Food Science & Technology. 16: 416–422. doi:10.1016/j.tifs.2005.03.018

**Stahl, U., Donalies, U.E.B. and Nevoigt, E., 2008**. Food Biotechnology. Springer. pp: 316 -365.

**Venugopal, V., Prasanna, P., Sood, A., Jaiswal, P. and Kaushik, B.D., 2006 .** Stimulation of pigment accumulation in Anabaena azollae strains: effect of light intensity and sugars. Folia Microbial. 51: 50 – 56. DOI: 10.1007/BF02931450

**Yamini, C., Ranjana, N., Chaturvedi, Y. and Nagar, R., 2001.** Levels of beta-carotene and effects of processing on selected fruits and vegetables of the arid zone of India. Journal Food Science. 56: 27-132. DOI: 10.1023/A:1011174400658



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

# The evaluation of the quality of beta-carotene derived from *Azolla Filiculoides* in the Anzali Wetland using the alkaline hydrolysis method in summer

Seifzadeh M.[1]*; Khanipour A.A.[1]; Morady Y.[2]

* m_seifzadeh_ld@yahoo.com

1-National Inland Water Aquaculture Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extention Organization (AREEO), Anzali, Iran.
2–Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extention Organization (AREEO), Tehran, Iran

[ Downloaded from isfj.ir on 2025-08-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.5.14.2 ]

[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110316 ]

## Abstract

The present project was aimed at determining the content, quality, and purity of β-carotene extracted from *Azolla filiculoides* in the Anzali Wetland, comparing it with synthetic β-carotene, and measuring its economic value. One treatment had β-carotene derived from *Azolla filiculoides* in the Anzali Wetland through the alkaline hydrolysis method in the summer of 2014. Treatments were kept at 4 °C for one year. Synthetic β-carotene was used as the control. The quality of the treatments was assessed by applying some chemical tests, including the measurement of the content and quality of β-carotene, colorimetry using the Hunter-LAB method, determination of the purity and vitamin A employing high-performance liquid chromatography (HPLC), estimation of the dwell-time duration at 5 °C, and measurement of the solubility of β-carotene in water. The results of the tests regarding the purity, concentration, colorimetry, vitamin compounds, dwell time, and solubility in the experimental β-carotene, compared with those in the control, revealed no significant difference ($p>0.05$). Moreover, the factors showed no significant difference between the control and experimental treatments during the dwell time ($p>0.05$). The natural β-carotene had a good quality during the storage period at 5 °C for one year. Since there was no significant difference between the β-carotene derived from *Azolla filiculoides* and the synthetic one in terms of the chemical tests, purity, and dwell time, and since the natural β-carotene derived from *Azolla filiculoides* takes precedence over the synthetic one in terms of the economic value, it is recommended that natural β-carotene extracted from *Azolla filiculoides* be substituted for synthetic β-carotene in the food industry.

**Keywords:** *Azoula*, Natural pigment, β-carotene, Food additive, Anzali Wetland

*Corresponding author