Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهاردهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸، صفحات ۷۶-۶۷

ارزیابی کیفیت بتا کاروتن استخراج شده از آزولا فیلیکوئیدس (*Azolla filiculoides*) تالاب انزلی به روش حلال آلی

مینا سیف زاده[۱]

۱- نویسنده مسئول: دانشجوی دکترا، مربی پژوهشی، پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران. پست الکترونیکی: m_seifzadeh_ld@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: در مورد تهیه بتا کاروتن از آزولا در خارج از کشور تحقیقاتی انجام شده است اما تاکنون در ایران پژوهشی در این زمینه صورت نگرفته است. این پژوهش با هدف تعیین مقدار، کیفیت و درصد خلوص بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولای تالاب انزلی در فصل پاییز و مقایسه آن با نوع سنتتیک انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای اجرای این پروژه یک تیمار شامل بتا کاروتن استخراج‌شده به روش حلال آلی از آزولای تالاب انزلی در فصل پاییز در نظر گرفته شد. تیمارها به مدت یک سال در دمای پنج درجه سلسیوس نگهداری شدند. از بتا کاروتن سنتتیک به‌عنوان شاهد استفاده شد. کیفیت تیمارها با استفاده از آزمایش‌های شیمیایی شامل تعیین مقدار و کیفیت بتا کاروتن، رنگ سنجی (هانترلپ)، درصد خلوص و ویتامین A به‌وسیله HPLC، مدت‌زمان ماندگاری و حلالیت بتا کاروتن طبیعی بررسی شد.

یافته‌ها: در نتایج آزمایش‌های شامل درصد خلوص، غلظت، رنگ سنجی، ترکیبات ویتامینه، حلالیت و مدت‌زمان ماندگاری در بتاکاروتن آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). طی مدت‌زمان ماندگاری این فاکتورها در تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایشات شیمیایی و همچنین مدت زمان ماندگاری نمونه آزمایشی می توان مطرح کرد که بتا کاروتن طبیعی استخراج شده از آزولا در فصل پاییز تا پایان مدت زمان ماندگاری در دمای یخچال کیفیت شیمیایی مطلوبی داشت.

نتیجه گیری: با توجه به وجود تفاوت معنی‌دار بین بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا در مقایسه با نوع سنتتیک از حیث خلوص، غلظت، رنگ سنجی و ویتامین A و عدم وجود تفاوت معنی دار در مدت‌زمان ماندگاری و با توجه به ارجحیت بتا کاروتن طبیعی استخراج‌شده از آزولا در مقایسه با نوع سنتتیک از حیث بهداشت مواد غذایی می‌توان کاربرد بتا کاروتن طبیعی تهیه‌شده از آزولا را به‌جای بتا کاروتن سنتتیک در صنعت غذایی پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: آزولا، رنگ‌دانه‌های طبیعی، بتا کاروتن، افزودنی غذایی، تالاب انزلی

• مقدمه

رنگدانه‌های غذایی را می‌توان به هر نوع رنگ یا ماده‌ای که سبب بهبود کیفیت و ظاهر غذاهای عمل‌آوری شده یا تازه می‌شود، اطلاق کرد. برخی از محققین نشان داده‌اند که مصرف‌کنندگان به رنگ مواد غذایی حساس بوده و رنگ با کیفیت و ویژگی‌های حسی رابطه‌ی مستقیم دارد (۲، ۱). 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 می‌باشد. ترکیبات رنگی طبیعی از منابع گیاهی مانند میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و ریشه‌های گیاهان استخراج می‌شود. این رنگ‌ها، رنگ‌های گیاهی نیز نامیده شده‌اند. مقدارزیادی از رنگ‌دانه‌های طبیعی به‌خصوص آنتوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل روزانه توسط انسان مصرف می شود. جذب این مواد از طریق مواد غذایی حائز اهمیت است. (۴، ۳).

رنگ‌های مصنوعی مواد رنگی هستند که درنتیجه سنتز مواد آلی به دست می‌آیند، دامنه کاربرد آن‌ها نامحدود بوده و

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

در صنایع مختلفی مانند غذایی و آرایشی و بهداشتی کاربرد دارند. افزودنی‌های غذایی از قبیل رنگ دهنده‌های طبیعی مواد مفیدی هستند که امروزه از آن‌ها به‌منظور بهبود کیفیت، ارتقاء ارزش تغذیه‌ای و رفع مشکلات تکنولوژیکی تولید مواد غذایی استفاده می‌شود. این افزودنی‌ها به دو گروه طبیعی و سنتتیک تقسیم می‌شوند. نظر به اهمیت روزافزون این ترکیبات و مصرف بالای رنگ‌های غذایی در واحدهای صنعتی جهان، تحقیقات زیادی در مورد استفاده از رنگ‌ها انجام شد. نتایج این تحقیقات نشان داد که رنگ‌های سنتتیک فاقد ارزش غذایی بوده و مجوز استفاده در غذای انسان را نداشته و عامل ایجاد اختلالاتی از قبیل آسم، کهیر، واکنش‌های آنافیلاکتیک، اختلال در خواب، ایجاد فشارخون، آلرژی، کاهش سطح ویتامین‌ها، سرطان‌زایی، اختلالات کبدی، تومورهای بدخیم، اختلال در فرایندهای مغزی مانند قدرت یادگیری و اختلال در به‌ویژه در کودکان و نوجوانان، کاهش ضریب هوشی کودکان و بروز پیش فعالی در کودکان هستند (۶، ۵). علاوه بر این، این رنگ‌ها سبب تجمع مواد سنتتیک در مواد غذایی، عوارض ناشی از انتقال آن به انسان و تأثیر آن بر سلامت انسان و تضعیف سیستم ایمنی می‌باشند. با توجه به مشکلات فراوان حاصل از مصرف رنگ‌های مصنوعی، اخیراً محدودیت‌های بسیاری از جانب سازمان‌های بین المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورداستفاده از این رنگ‌ها وضع‌شده است. لذا در سطح 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 تأثیرات مثبت آن‌ها بر سلامت عمومی به‌دفعات مورد تأیید قرار گرفته است (۸، ۷).

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 جلبک‌ها و ریزسازوارهای فتوسنتز کننده یافت می‌شود. امروزه بتا کاروتن به‌عنوان یک رنگ طبیعی به‌طور وسیعی در فرآورده‌های غذایی، لوازم‌آرایشی، غذای دام و طیور مورداستفاده قرار می‌گیرد. به‌علاوه این ماده هم یک آنتی‌اکسیدان قوی بوده و هم به‌عنوان پیش ساز ویتامین A در انسان و حیوانات به کار می‌رود. تمایل به تولید بتا کاروتن به دلیل وجود خواص و فواید فراوان افزایش یافته است. بتا کاروتن طبیعی تجزیه‌پذیر بوده و در بسیاری از گیاهان ازجمله آزولا وجود دارد (۱۰، ۹).

آزولا یک ماده خام غنی از پروتئین، چربی، خاکستر، اسید آمینه، سلولز، نشاسته و هیدرات کربن بر اساس وزن خشک و غنی از لیزین است. آزولا به دلیل توقف اشتها و افزایش مصرف انرژی به عنوان غذای رژیمی محسوب شده است. این گیاه علاوه بر این که از پروتئین غنی بوده دارای چربی و کلسترول کمی بوده، برای غذای ورزشکاران و بدن سازان به عنوان منبع عالی برای کنترل و کاهش وزن است. آزولا دارای موادی است که به بالانس افزایش و کاهش قند در بدن کمک می کند. این گیاه به عنوان مکمل غذایی پروتئینی و رژیمی برای اقشار مختلف جامعه و در تمام سنین کاربرد دارد. پودر تهیه شده از آزولا به عنوان چاشنی غذایی در تهیه انواع غذاها در آشپزخانه ها نیز قابل استفاده است. علاوه بر این، ترکیب آزولا دارای ترکیب آنتی اکسیدانی بتا کاروتن می باشد. این خاصیت آزولا سبب می شود که این پودر علاوه بر جنبه غذایی و دارا بودن ارزش غذایی در صنعت غذایی ارزش دارویی نیز داشته باشد و در برنامه غذایی بیماران گنجانده شود (۱۱).

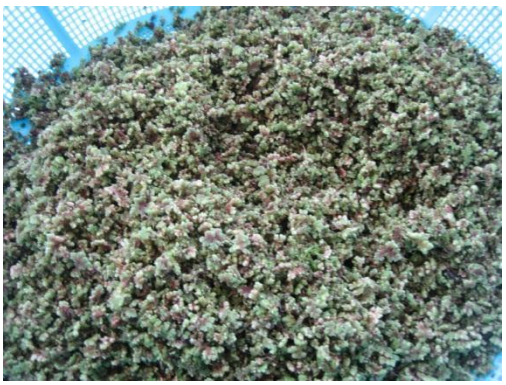
هدف از این پژوهش ارزیابی کیفیت شیمیایی و خلوص بتا کاروتن استخراج شده ازآزولا فیلیکوئیدس (*Azolla filiculoides*) تالاب انزلی به روش حلال آلی در فصل پاییز و مقایسه آن با نوع سنتتیک (شرکت سیگما آلدریچ) می باشد. رنگها ی سنتتیک در طبیعت وجود ندارند و از طریق سنتز ساخته می شوند. این رنگها بطور معمول از نظر شیمیایی خیلی خالص بوده و از نظر قدرت رنگ آمیزی نیز استاندارد شده اند.

• مواد و روش‌ها

نمونه برداری: نمونه‌برداری از آزولا فیلیکوئیدس (*Azolla filiculoides*) با استفاده از تور مخروطی و در غرب تالاب انزلی با مختصات جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه عرض شمالی و ۴۹ درجه ۲۵ دقیقه طول شرقی انجام شد. آزولا بعد از برداشت تصادفی از تالاب انزلی با آب شیرین جهت حذف اپی فیت ها، رسوب و مواد آلی شستشو شد. سپس قسمت‌های خوراکی آن جمع‌آوری‌شده و دوباره با آب بهداشتی شهر کاملاً شسته شد. سپس آزولا در آون و دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شد. از قسمت‌های خوراکی آزولا (ساقه و برگ) برای استخراج بتا کاروتن استفاده شد. میزان این قسمت‌ها در یک کیلوگرم آزولا اندازه‌گیری گردید. سپس این قسمت‌های خوراکی خشک‌شده و مقدار آزولای خشک به‌دست‌آمده از یک کیلوگرم آزولای تر نیز محاسبه شد. سپس با تنظیف خشک‌شده و برای استخراج بتا کاروتن مورد استفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019



شکل ۱. آزولای پاک‌شده برای استخراج بتا کاروتن

برای اجرای این پروژه یک تیمار و یک شاهد در نظر گرفته شد. تیمار آزمایشی شامل بتا کاروتن استخراج‌شده از گونه وحشی آزولا بود. بتا کاروتن از آزولا به روش حلال آلی (۱۳، ۱۲) استخراج شد. ۱۰ گرم از آزولای خشک شده با ۴۰ میلی لیتراتانل صنعتی ۹۶٪ مخلوط شدند. مخلوط تهیه شده با استفاده از مخلوط کن به مدت ۳ دقیقه هموژنیزه شد. محلول هموژنیزه شده با استفاده از هیتر به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس مخلوط فوق تا دمای اتاق خنک شد. به مخلوط فوق مقدار ۵۰۰ ppm آسکوربات سدیم افزوده شد. طی مدت زمان ۳ ساعت در یک دستگاه سوکسله با حلال (۱۰۰ میلی لیتر پترولیوم اتر یا ۵۰ میلی لیتر N هگزان) بتا کاروتن استخراج شد. لایه ان هگزان جدا شده و لایه آبی با استفاده از ان هگزان یا پترولیوم اتر مجددا عصاره گیری شد. عصاره با سولفات سدیم خشک جهت حذف لایه آبی فیلتر شد. رنگدانه استخراج شده از آزولا در HPLC شناسایی شد. پیگمان با استفاده از فاز جامد روی ستون استیل بی رنگ ODS با سایز ذره ۵ میلی متر، طول ۲۵۰ میلی متر در I.D ۴ میلی متر خالص سازی شد. نمونه شسته شد و حلال جدا شد. بتا کاروتن به دست آمده در شیشه‌های رنگی و دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت یک سال جهت انجام آزمایشات و بررسی کیفیت نگهداری شد.

برای ارزیابی کیفیت عصاره نهایی درصد خلوص از آزمایش‌های HPLC (تزریق ۱ میلی‌لیتر از مایع فیلتر شده با استفاده از سرنگ میکرو لیتری به Reversed phase HPLC) (۱۴) با طول‌موج ۴۶۰ نانومتر، رنگ سنجی (میزان ماده رنگی) با استفاده از دستگاه هانتر لب مدل colorflex ساخت آمریکا، تعیین ترکیبات ویتامینه به روش HPLC (۱۵)، حلالیت و مقایسه زمان نگهداری عصاره به‌دست‌آمده بازمان نگهداری نمونه شاهد (۱۶) استفاده گردید.

شرایط کروماتوگرافی برنامه Perkin Elmer از HPLC شامل LC-1000 pump دارای ستون استیل بی‌رنگ ODS بر پایه سیلیکا (YMC-Triart C18) ، C18 پلیمری با سایز ذره ۵ میکرومتر متر، سایز سوراخ ۱۲۰ آنگستروم، تیمار شده با سیلانول، مقدار کربن ۲۰ درصد و طول ۲۵۰ میلی‌متر در I.D ۴ میلی‌متر استفاده شد. و به تعیین‌کننده 50 UV/VIS LC 2 متصل شده بود. شناسایی پیک‌ها توسط نرم‌افزار CSW32 برای سیستم HPLC (Shimadzu SCL-10Avp) انجام شد (۱۸، ۱۷). در این دستگاه برای اندازه‌گیری بتا کاروتن از فاز متحرک استونیتریل- متانول- اتیل استات (۸۸:۱۰:۲)، نسبت جریان ۱ میلی‌متر بر دقیقه و طول‌موج ۲۵۰ نانومتر استفاده شد.از رنگ بتا کاروتن سنتتیک استاندارد تهیه‌شده از شرکت سیگما آلدریچ (c9750) به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. بتا کاروتن سنتتیک پودر قرمز تیره تا قهوه ای، محلول در هگزان به نسبت ۱ میلی گرم به ازای یک میلی لیتر و در دی متیل سولفوکسید به نسبت ۳۰ میکروگرم به ازای هر میلی لیتر، بنزن، کلروفرم، سیکلوهگزان، غیر محلول در آب، نقطه اشتعال ۱۰۳ درجه سلسیوس، نقطه ذوب ۱۸۴ – ۱۷۶ درجه سلسیوس، حساس به حرارت، هوا و نور، عامل رنگی زرد برای مواد غذایی، آنتی اکسیدان و پیش نیاز ویتامین A است.

رنگ سنجی (میزان ماده رنگی) با استفاده از دستگاه هانتر لب مدل colorflex ساخت آمریکا: رنگ نمونه ها توسط دستگاه هانترلب تعیین شد. در این آزمون سه نمونه از هر تیمار در بازه زمانی مشخص مورد آزمایش رنگ سنجی قرار گرفتند. شدت رنگ ها با استفاده از پارامترهای هانتر بر حسب روشنایی (L)، قرمزی – سبزی (a) و زردی آبی (b) بیان شد.

تعیین درصد خلوص با استفاده از HPLC: مقدار ۱ میلی لیتر از نمونه‌های آزمایشی و شاهد به HPLC تزریق شد. بعد از به دست آمدن کروماتوگرام حاصل از آن ها با جایگزینی سطح زیر منحنی به دست آمده از هر تزریق در معادله کالیبراسیون رنگ بتاکاروتن غلظت رنگ در محلول تزریقی به دست آمد.

تعیین ترکیبات ویتامینه به روش HPLC: ۱۰ گرم نمونه برای استخراج ویتامین A استفاده شد. این مقدار نمونه در ۱۰۰ میلی لیتر اتانل حل شد. سپس محلول فوق صابونی شد. قبل از صابونی کردن آنتی اکسیدان آسکوربیک اسید به مقدار ۱ گرم استفاده شد. برای صابونی کردن از ۲۰ میلی لیتر محلول پتاسیم هیدروکسید ۶۰گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر برای صابونی کردن در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت زمان ۴۵ دقیقه استفاده شد. بعد از این مرحله مقدار مناسبی آب به

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

محلول صابونی شده به طوری که نسبت حلال به الکل ۱:۱ باشد، افزوده شد. رتینول از محلول صابونی شده به وسیله هگزان نرمال به عنوان حلال استخراج شد. عمل استخراج به تعداد ۳ دفعه در مقادیر ۱۰۰ میلی لیتری انجام شد. مواد استخراجی به دست آمده با ۱۰۰ میکرولیتر مخلوط اتانول به آب به نسبت ۹۵:۵ ترکیب شد. سپس جهت خنثی شدن ۴ بار با مقادیر مساوی آب مقطر شستشو داده شد. مواد استخراج شده با دستگاه تبخیر کننده چرخشی در فشار کم و دمای ۴۰ درجه سلسیوس تبخیر شد. مقادیر جزئی باقی مانده آب با ۰/۰۴ گرم سولفید سدیم خشک شد. باقی مانده با استفاده از فاز متحرک جهت تزریق به ستون HPLC حل شد. از هگزان نرمال باضافه ۲ پروپانول به نسبت حجمی ۹۸ به ۲ به عنوان فاز متحرک HPLC استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده با سرعت جریان ۲ میلی لیتر بر دقیقه و طول موج ۳۲۵ نانومتر به ستون تزریق شد.

از محلول‌های استاندارد برای کالیبراسیون محلول‌های HPLC استفاده شد. محلول ذخیره حاوی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر رتینول تمام ترانس در هگزان نرمال و محلول ذخیره ۱۳ سیس رتینول در اتانل مطلق حاوی ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر ۱۳ سیس رتینول تهیه شد. محلول استاندارد رتینول تمام ترانس در هگزان نرمال حاوی ۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر رتینول تمام ترانس بود. از ستون‌های تجزیه‌ای فاز نرمال شامل LiChrospher Si ۶۰(250mm×4mm;5µm برای کروماتوگرافی (فاز ثابت) استفاده شد. صافی با اندازه ۰/۴۵ میکرومتر برای صاف کردن محلول‌های نمونه و فازهای متحرک HPLC استفاده شد (۱۹).

حلالیت: برای بررسی حلالیت بتا کاروتن سنتتیک و آزمایشی از هگزان استفاده شد. ۰/۱ گرم از تیمارهای آزمایشی و شاهد در یک لیتر هگزان حل شدند.

تعیین ارزش غذایی آزولا: آزولای مورداستفاده برای تهیه بتاکاروتن از حیث ارزش غذایی شامل پروتئین به روش کجدال (۲۰)، چربی به روش هیدرولیزاسیدی (۲۱)، رطوبت به روش آون خشک(۲۲)، خاکستر به روش تعیین گراویمتریک (۲۳) و pH (۲۴) و پر اکسید به روش تیتراسیون (۲۵) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزولا قبل از استفاده برای استخراج رنگ از نظر تعیین وزن خشک بیوماس نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌های رنگ سنجی و شیمیایی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۷و آزمون T. test در سطح معناداری ۵٪ جهت مقایسه نمونه‌های آزمایشی با نمونه شاهد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین تغییرات فاکتورهای مورد بررسی طی مدت زمان نگهداری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۷ و آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه مورد بررسی قرار گرفتند.

• یافته‌ها

گیاه آزولا دارای ۲۲/۴۹ درصد پروتئین، ۱۸/۵۶ درصد رطوبت، ۳۱/۸۴ درصد چربی، ۲۳/۴۵ درصد خاکستر و ۸۸/۵۶ درصد وزن خشک است. بتاکاروتن طبیعی در هگزان نسبتاً محلول و نوع سنتتیک در هگزان کاملاً محلول بود.

فاکتورهای حلالیت، درصد خلوص، ویتامین A و مدت‌زمان ماندگاری در بتا کاروتن طبیعی در مقایسه با سنتتیک تفاوت معنی‌دار نشان دادند (P<۰/۰۵). این فاکتورها طی مدت‌زمان نگهداری به مدت یک سال در دمای ۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌دار نشان ندادند (P>۰/۰۵).

این فاکتورها طی مدت زمان نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌دار نشان ندادند (P>۰/۰۵).

جدول ۱. آنالیز بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا با روش حلال آلی در زمان‌های صفر، شش ماه و یک سال بعد از تولید در دمای ۵ درجه سلسیوس (Mean±SD)

شاخص								
	حلالیت در هگزان		درصد خلوص		بتا کاروتن(µg/100g)		ویتامینA(µg/100g)	
زمان نمونه‌برداری (ماه)	تیمار	شاهد	تیمار	شاهد	تیمار	شاهد	آزمایشی	شاهد
صفر	نسبتا محلولA	محلولB	۷۹/۵ Aa	۹۹Aa	۷۵۴۳Aa	۱۱۸۶۳ Ba	۱۰۸۹۶Aa	۱۱۸۶۳Ba
شش ماه	نسبتا محلولA	محلولB	۷۹/۵ Aa	۹۹Aa	۷۵۴۳Aa	۱۱۸۶۳ Ba	۱۰۸۹۶Aa	۱۰۸۹۶Ba
دوازده ماه	نسبتا محلولA	محلولB	۷۹/۵ Aa	۹۹Aa	۷۵۴۳Aa	۱۱۸۶۳ Ba	۱۰۸۹۶Aa	۱۰۸۹۶Ba

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

بر اساس جدول ۲ بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا ازنظر رنگی روشن بود. بتا کاروتن سنتتیک از نظر رنگی روشن بود. این فاکتور طی مدت‌زمان نگهداری به مدت یک سال در دمای ۵ درجه سلسیوس در نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵).

بر اساس این جدول فاکتورهای a و b در نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار ندارند (P>۰/۰۵) اما فاکتور l بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار نشان می-دهند(P<۰/۰۵). امادر هر دو نمونه این فاکتور روشن (l) بود و فاکتورهای a و b در مورد رنگ بتاکاروتن آزمایشی از دید مصرف‌کنندگان و صنایع غذایی قادر به ایجاد مشکل نیستند.

با توجه به داده‌های جدول ۲ افزایش اندکی در فاکتورهای قرمزی زردی و زردی آبی طی مدت زمان نگهداری در نمونه‌های آزمایشی و شاهد مشاهده شده است ولی این افزایش جزئی بوده و قادر به ایجاد تغییر در فاکتور روشنی نمونه نیست.

با توجه به جدول ۱ بتا کاروتن طبیعی از حیث فاکتورهای شیمیایی در مقایسه با نوع سنتتیک تفاوت معنی دار داشت و از کیفیت پایین‌تری برخوردار بود. اما بر اساس این که بتاکاروتن طبیعی از گیاه استخراج شده و فاقد ترکیبات مضر می‌باشد، کاهش خلوص آن و باقی ماندن بعضی از ترکیبات گیاهی در آن در مقایسه با نوع سنتتیک قادر به ایجاد مشکل در صنایع غذایی و برای مصرف کنندگان نمی باشد. همچنین با توجه به جدول ۲ نمونه آزمایشی از حیث ترکیبات رنگی همانند نوع سنتتیک روشن بود و بنابراین بر اساس این یافته و عدم دارا بودن اثرات مضر برای مصرف کنندگان می توان استنباط کرد که بتا کاروتن طبیعی از حیث کارآیی مانند نوع سنتتیک بوده و تفاوت معنی دار بین آن‌ها وجود ندارد.

• بحث

بر اساس جدول ۲ مقدار بتا کاروتن در تیمار آزمایشی ۹۹۳۵ µg/100g بود. وجود کاروتنوئیدها در آزولا را می توان به دلیل این که این ترکیب از ترکیبات وابسته به کلروفیل است و قرار گرفتن در معرض نور خورشید می‌تواند ساخته‌شدن بتاکاروتن را در گیاه تحریک کند، توجیه کرد. علاوه بر نور خورشید، رسیدن نور ماورای بنفش به گیاهان به دلیل پارگی لایه ازون نیز سبب تحریک ساخته‌شدن بتا کاروتن می‌شود (۲۶). سنتز بتا کاروتن در فصل پاییز به دلیل مناسب بودن دما (زیر ۳۰ درجه سلسیوس) برای با توجه به جدول ۱ با این که بتا کاروتن طبیعی از حیث فاکتوهای شیمیایی در مقایسه با نوع سنتتیک تفاوت معنی دار داشت و از کیفیت پایین‌تری برخوردار بود. اما بر اساس این که بتاکاروتن طبیعی از گیاه استخراج شده و فاقد ترکیبات مضر می باشد کاهش خلوص آن در مقایسه با نوع سنتتیک قادر به ایجاد مشکل در صنایع غذایی و برای مصرف کنندگان نمی باشد. همچنین با توجه به جدول ۲ از حیث ترکیبات رنگی همانند نوع سنتتیک در محدوده روشن قرار دارد و بنابراین بر اساس این یافته و عدم دارا بودن اثرات مضر برای مصرف کنندگان می توان استنباط کرد که بتا کاروتن طبیعی از حیث کارآیی مانند نوع سنتتیک بوده و تفاوت معنی دار بین آن ها وجود ندارد.

جدول۲. آزمایش رنگ سنجی بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا با روش حلال آلی در زمان‌های صفر، شش و دوازده ماه بعد از تولید (Mean±SD)

زمان نمونه برداری	طیف رنگی					
	تیمار			شاهد		
	L (روشنی)	a(قرمزی زردی)	b (زردی آبی)	L (روشنی)	a (قرمزی زردی)	b (زردی آبی)
صفر	۸۶/ ۳۵ Aa	۱/۲۴ Aa	۱/۱۷ Aa	۹۵/۷۵ Ba	۱/۰۵ Aa	۱/۱۱ A a
شش ماه بعد از تولید	۸۶/۳۳ Aa	۱/۵۲ Aa	۱/۳۱ Aa	۹۵/۲۴ Bb	۱/۲۷ Aa	۱/۲۹ Aa
دوازده ماه بعد از تولید	۸۶/۲۹ Aa	۱/۸۴ Ab	۱/۷۶ Ab	۹۴/۹۵ Bc	۱/۴۵ Aa	۱/۳۸ Aa

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

در فصل پاییز دمای هوا زیر ۳۰ درجه سلسیوس است که برای سنتز لیکوپن مناسب می‌باشد (۲۷). لیکوپن به‌عنوان پیش‌نیاز سنتز بتا کاروتن می باشد (۲۸). مقدار بتا کاروتن تهیه‌شده از آزولا در مقایسه با نتایج به‌دست‌آمده توسط Lejeune و همکاران در سال ۲۰۰۰ (۲۹) کاهش نشان داد. Lejeune و همکاران در سال ۲۰۰۰ محدوده‌ای از ۲۰۶ تا ۶۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم در وزن خشک بتا کاروتن را از آزولا در شرایط پرورشی (خواب و گلخانه‌ای) گزارش کردند. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد که به دلیل خشک‌کردن آزولا در مدت‌زمان طولانی‌تری در مقایسه با تحقیق حاضر می‌باشد (۲۹). استفاده از تیمار حرارتی برای خشک‌کردن آزولا در مقایسه با آزولای تر به دلیل تاثیر آن بر تخریب آنزیم‌های ماده غذایی، تسهیل در آزاد شدن و حلالیت کاروتنوئیدها منجر به افزایش دسترسی به این ترکیب می‌شود. بنابراین کاربرد تیمار حرارتی ملایم بر کاهش مقدار آزولا مؤثر نمی‌باشد. در دمای پایین استفاده شده برای خشک‌کردن مانند۵۰ درجه سلسیوس اکثر کاروتنوئیدها پایدار بوده و ایزومریزاسیون بتاکاروتن طی پروسه خشک‌کردن اتفاق نمی‌افتد (۳۱، ۳۰). همچنین هموژناسیون استفاده‌شده برای استخراج بتاکاروتن نیز سبب افزایش دسترسی به بتا کاروتن می‌شود (۳۳، ۳۲). اما استفاده از حلال آلی به طور کامل سبب هیدرولیز و تخریب ماتریکس بافت‌های گیاهی، حذف دیواره و غشای سلولی و درنتیجه آزاد شدن بتاکاروتن نمی‌شود (۳۵، ۳۴). مقدار بتا کاروتن در تحقیق حاضر در مقایسه با تحقیق انجام شده توسط Razavi و همکاران در سال ۲۰۰۴(۳۶) مطابقت داشت. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط Zare و kiani Rrad در سال ۲۰۰۴ (۳۷) 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 به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری بتا کاروتن در این تحقیق با نتایج به‌دست‌آمده توسط Venugopal و همکاران در سال ۲۰۰۶ (۳۸) از *Azolla anabaena* مطابقت نداشت که دلیل آن نوع حلال، استفاده از سیکل‌های نوری و قند برای پرورش آزولا می‌تواند باشد. نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری بتا کاروتن در این تحقیق با نتایج به‌دست‌آمده توسط Bayegan و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۳۹) از جلبک دونالیلا سالینا نیز مطابقت ندارد که به دلیل زمان کشت جلبک و استفاده از ترکیبات تنش‌زا برای افزایش تولید بتا کاروتن توسط جلبک می‌باشد. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط Moghadassi و همکاران در سال ۲۰۱۱ (۴۰) مطابقت ندارد که دلیل آن کاربرد استرس شوری برای پرورش جلبک، نوع ماده اولیه برای استخراج بتا کاروتن و نیز تأثیر روش استخراج می‌باشد. مقدار بتا کاروتن در آزولا فیلیکوئیدس در مقایسه با گونه‌های دیگر آزولای پرورش‌یافته در سایر نقاط دنیا تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$) که دلیل آن ژنو تایپ، تغییرات آب و هوایی، شرایط رشد و مراحل بلوغ برگ‌های گیاه آزولا می‌باشد (۴۱). Razavi و همکاران در سال ۲۰۰۴ برای استخراج کاروتنوئیدها از مخمر *Sporobolomyces ruberrimus H110* نتایج مشابهی را در مقایسه با تحقیق حاضر گزارش نکردند که می‌توان آن را به دلیل عدم تأثیر یکسان روش سایشی در مقایسه با حلال آلی برای استخراج بتا کاروتن دانست .

بر اساس جداول ۲ و ۳ درصد خلوص، غلظت رنگ و حلالیت در تیمار عمل‌آوری شده با حلال آلی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان دادند ($P<۰/۰۵$). که به دلیل حالت فیزیکی، عدم حذف لیپیدها و رنگ‌دانه‌های جانبی مانند کلروفیل در بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا بود (۴۳، ۴۲). عدم حذف کامل دیواره سلولی و تخریب بافت‌های گیاهی نیز بر آزاد شدن کامل بتاکاروتن از بافت‌های گیاهی مؤثر می‌باشد. عدم آزاد شدن کامل بتاکاروتن از بافت‌های گیاهی سبب کاهش غلظت بتاکاروتن شده که درنهایت منجر به کاهش درصد رنگ سنجی توسط هانتر لپ شد. طی مدت‌زمان ماندگاری یک‌ساله در دمای ۵ درجه سلسیوس این فاکتورها بین تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند ($P۰/۰۵$). مراحل عمل‌آوری سبب ناپایداری میکرو نوترینت-های ماده غذایی نشده و نمی‌توانند در مقدار بتاکاروتن طی مدت‌زمان ماندگاری در دمای ۵ درجه سلسیوس تغییر ایجاد کنند. علاوه بر این نگهداری در شیشه‌های تیره‌رنگ، عدم وجود اکسیژن، استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان برای عمل‌آوری و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی بتا کاروتن از عوامل مؤثر در پایداری این ترکیب طی مدت‌زمان نگهداری می‌باشند (۴۴). مقدار رطوبت متوسط موجود در پودر آزولا علیرغم این‌که برای واکنش‌های غیر آنزیماتیک قهوه‌ای شدن مناسب بوده نمی‌تواند سبب اکسیداسیون کاروتنوئیدها شود. عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در نمونه آزمایشی طی مدت‌زمان ماندگاری را می‌توان به کاربرد آنتی‌اکسیدان در مراحل عمل آوری بتا کاروتن و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی بتا کاروتن ارتباط داد.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج به‌دست‌آمده توسط Venugopal و همکاران در سال ۲۰۰۶ از *Azolla anabaena* مطابقت ندارد. شاید دلیل این اختلاف تأثیر سیکل‌های ذوب و انجماد و استفاده از استن ۸۵٪ برای استخراج بتا کاروتن در مقایسه با حلال آلی مانند پترولیوم اتر و ان هگزان باشد.

بر اساس جدول ۴ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ویتامین A در تیمار آزمایشی از غلظت بالایی برخوردار نبود. این فاکتور در مقایسه با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط Mercandate و Amaya در سال ۱۹۹۰ (۴۵) مطابقت دارد. رنگ‌دانه طبیعی بتا کاروتن صرفاً از حیث قابلیت تبدیل به ویتامین A دارای ارزش غذایی می‌باشد. مقدار ویتامین A در بتا کاروتن استخراج‌شده از آزولا به دلیل غلظت و افزایش مقدار کاروتنوئیدها می باشد و با توجه به این‌که در تیمار حلال آلی دیواره سلول کاملا هضم نشده و بتا کاروتن آزاد نمی شود و همچنین با در نظر گرفتن این نکته که در اثر شکستن بتاکاروتن دو مولکول ویتامین A تولید می‌شود و ۱۰۰ درصد بتا کاروتن قابلیت تبدیل به ویتامین A را دارد و کاهش آزاد شدن بتا کاروتن در حلال آلی می توان کاهش مقدار بتا کاروتن در تیمار آزمایشی در مقایسه با شاهد را توجیه کرد (۴۶، ۴۵).

بر اساس جدول ۴ مقدار ویتامین A در تیمارهای آزمایشی و شاهد طی مدت‌زمان نگهداری تفاوت معنی‌دار نشان نداد(P<۰/۰۵). عدم وجود تفاوت معنی‌دار در مقدار این ویتامین طی مدت‌زمان نگهداری به دلیل شرایط نگهداری در دمای پائین و استفاده از ظروف تیره‌رنگ برای بسته‌بندی بتا کاروتن می‌باشد (۴۷).

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایشات بین بتاکاروتن سنتتیک و بتاکاروتن تهیه شده از آزولا به روش حلال آلی تفاوت معنی دار وجود داشت. بتا کاروتن سنتتیک از حیث آزمایش‌های شیمیایی و خلوص از کیفیت بهتری برخوردار بود. اما با توجه به این که بتاکاروتن تهیه شده از آزولا طبیعی بوده و از نقطه نظر بهداشت مواد غذایی فاقد هر گونه عوارض جانبی برای انسان است این ترکیب را می‌توان به جای بتاکاروتن سنتتیک در فرآوری مواد غذایی و صنعت غذایی جایگزین کرد.

• References

1 . MacDougall DB, editors. 2002. Color in Food: Improving Quality. 1 Ed. India: Wood head Publishing 2002. P. 50-65.

2 . Stahl U, Donalies UEB, Nevoigt E, editors. Food Biotechnology. 1 Ed. America: Springer 2008. P. 316 - 365.

3 - Branen AL, Davidson M, Seppo Salminen P, Thorngate J, editors. Food Additives. 1 Ed. England: Taylor and Francis . 2001. P. 534 – 545.

4 . Hopkins WG, editors. 1 Ed. 2006. Plant Biotechnology. America: Infobase Publishing. 2006. P 54-76.

5 . Mostafa EM, Ibrahim MM. HPLC analysis of non – enzymatic antioxidants in *Azolla caroliniana* (pteridopsida) subjected to UV-B. Acad J Bio Sci 2012; 3:19-30.

6 . Rymbai H, Sharma RR, Srivastav M. Biocolorants and its implications in Health and Food Industry - A Review. Int J Pharm Technol Res. 2011; 3: 2228 – 2244.

7 . Caivano JL, Buera MDP. Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects. England: CRC Press. 2012. P. 315 - 317.

8. Higuera-Ciapara I, Félix-Valenzuela L, Goycoolea FM. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. Crit Rev Food Sci Nutr 2006; 46:*185–196.*

9. Aberoumand AA. Review Article on Edible Pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. World J Dairy and Food Sci 2011; 6: 71-78

10. Schieber A, Carle R. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological,analytical, and nutritional implications, Trends Food Sci Technol 2005; 16: 416–422.

11. Agostiano A, Catucci L, Cosma P, Fini P. Aggregation processes and photophysical properties of chlorophy l in aqueous solutions modulated by the presence of cyclodextrins. Phys Chem Chem Phys 2003; 5: 2122–813.

12. Mijeong LJ, Zahn M, Trinh T, Jia Q, Wenwen MA. Headspace Gas Chromatography–Flame Ionization Detector Method for Organic Solvent. J AOAC Int 2006; 89: 1475 – 1482.

13. Durn JL, Turnbell JD, Robinson SA. Comparison of solvent regimes for the extraction of photosynthetic pigments from leaves of plants. Func Plant Biol 2004; 31: 195 -202.

14. Khalil I.A, Varananis FR. Carotiniod extraction and analysis by reversed phase HPLC system. Sarhad J Agric. 1996; 105: 15-21.

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

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

16. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Allowed Edible Add- Edible Colors - List and General Features. ISRI no 740. 1 Ed, Karaj: ISIRI; 2013(In persion).

17. Hui BD, Li J, Pei LP, Zhang LX, Zhang Y, Hu YX. Separation and Identification of β-Carotene Geometrical Isomers by C30-HPLC-PDA, Food Sci 2006; 27: 252–255.

18. Muller H. The determination of the beta-carotene content in selected vegetables and fruits by HPLC and photodiode array detection. J Food Nutr 1997; 2: 88-94.

19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Food stuffs, determination of vitamin A by high performance liquid chromatography. Part 1 – Measurement of all trans retinol and 13 cis retinol test method. ISIRI no. 13394 – 1. 1 st, Karaj: ISIRI; 2014(In persion).

20 . Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Animal feeding stuffs - Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content – Part 1: Keldahl method Measurement of total protein in meat and its products. ISIRI No. 10703-1. 1 st, Karaj: ISIRI; 2008 (In persion).

21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and its products – Determine total amount of fat - test method. ISIRI no. 742. 2ndt, Karaj: ISIRI; 2003(In persion).

22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and its products – moisture measurments. ISIRi no. 5625. 1 st, Karaj: ISIRI; 2001(In persion).

23. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and its products – Determine total amount of ash - test method. ISIRI No. 744. 1 st, Karaj: ISIRI; 2002 (In persion).

24 . Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and its products – pH measurments. ISIRI no. 1028. 1 st, Karaj: ISIRI; 2007(In persion).

25. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Sampling and testing methods for oils and fats. ISIRI no. 493. 1 st, Karaj: ISIRI; 2004 (In persion).

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

27. Hutchings JB editor. Food color and appearance. Gaithersburg: Aspen Publishers 2003. P 245 - 265.

28. Hackett M, Lee J, Schwartz S. Thermal Stability and Isomerization of Lycopene in Tomato Oleoresins from Different Varieties. J Food Sci 2002; 69: 536-54132 -

29. Lejeune A, Peng J, Boulenge ELe, Larondelle Y, Hove CV. Carotene content of Azolla and its variations during drying and storage treatments. Anim feed sci technol 2000; 84:293 – 301.

30. Anjum F, Barkat AK, Noreen N, Tariq M, Faisal S. Effect of Boiling and Storage on Beta-Carotene Content of Different. Pak j life soc sci 2008; 6:63-67.

31. Çinar I. Carotenoid pigment losses of freeze dried plant samples under different storage conditions. Food Sci Technol 2004; 37: 363 – 367.

32. Yamini C, Ranjana N, Chaturvedi Y, Nagar R. Levels of beta-carotene and effects of processing on selected fruits and vegetables of the arid zone of India. J Food Sci 2001; 56: 27-132.

33. Negi P, Roy S. Effect of drying condition on quality of green leaves during long term storage . Food Res Int 2000; 34: 283-287.

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

35. Chromatogr BJ. Improved simultaneous determination method of beta-carotene and retinol with saponification in human serum and rat liver. Analy Technol Biomed Life Sci 2003; 1:305-13.

36. Razavi H, Rezaei K, Ivan M. Comparison of pigment (carotenoid) extraction methods from Sporobolomyces ruberrimus H110. Researches on Food Science and Technology of Iran 2004; 1(2): 33 – 42(Abstarct in English).

37. Zare D, kiani Rrad M. Comparison of Beta-Carotene Production by Mildew in a Touring (Blakeslea trispora) Touring Fifteen-liter Mixer and Seventy-Five-Airlift. Res Const 2004; 64: 2 - 7(Abstarct in English).

38. Venugopal V, Prasanna P, Sood A, Jaiswal P, Kaushik BD. Stimulation of pigment accumulation in Anabaena azollae strains: effect of light intensity and sugars. Folia Microbial 2006; l51. 50 – 56.

39. Bayegan E, Racekh F, Racekhi N. Production and extraction of carotenoids from living organisms. National Conference on New Findings of Chemistry in Industry and Medicine. Islamic Azad University, Shahreari Branch; 2009(In English).

40. Moghadassi A, Emtiazjoo M, Rabanie M, Emtiazjoo M, Azargashb E, Mosaffa N. Potential βcarotene production from Dunaliella salina of Shahe Lake under salinity stress J Fish, Islamic Azad Univ, Azadshahr Branch. 2001; 5(2): 93 – 100 (Abstarct in English).

41. Anguelova T, Warthesen Y. Degradation of lycopene, α-carotene and β-carotene during lipid peroxidation J Food Sci. 2000; 65: 71-75.

42. Alcaíno A, Barahona S, Carmona M, Lozano C, Marcoleta A, iklitschek M, et al. Cloning of the cytochrome p450 reductase *(crtR) gene and its* involvement in the astaxanthin biosynthesis of *Xanthophyllomyces Dendrorhous.* BMC Microbiol. 2008; 8 : 1 – 13.

43. Bendich A. What have we learned about the biological actions of beta-carotene. J Nutr 2004; 134: 225-230.

www.SID.ir

44. Amaya R. The effect of processing and storage on carotenoids content of vegetables. J Food Sci. 2001; 7: 2005-5802.

45. Mercandate A, Amaya R. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables. J Food Sci. 1990; 25: 213-219.

46. Dentuto PL, Catucci L, Cosma P, Fini P, Agostiano A, Hackbarth S. Cyclodextrin/chlorophyl l a complexes as supramolecular photosensitizers Bioelectrochem. 2007; 70:39-43.

47. Chawla HS. Introduction to Plant Biotechnology. England; Science Publishers. 2002. P. 234 - 345.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

www.SID.ir

Evaluation of the Quality of Beta-Carotene Derived from *Azolla Filiculoides* in the Anzali Wetland Using the Organic Solutions Method in Autumn

*Seifzadeh M**

**Corresponding author: Ph. D student, Scientific Bord , Inland Water Aquaculture Research center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extention Organization (AREEO), Anzali, Iran.*
Email: m_seifzadeh_ld@yahoo.com

Received 22 Jan, 2018 **Accepted 3 May, 2018**

Background and Objectives: Beta-carotene was prepared from Azolla by Lejeune et al. (2000). Beta carotene production from *Azolla filiculoides* in the Anzali wetland has not been investigated in Iran so far. The present project was aimed at determining the content, quality, and purity of β-carotene extracted from *Azolla filiculoides* in the Anzali Wetland, and comparing it with synthetic β-carotene.

Material and Methods: One treatment had β-carotene derived from *Azolla filiculoides* in the Anzali Wetland through the organic solutions method in the Autumn of 2014. The treatments were kept at 5 °C for one year. Synthetic β-carotene was used as the control. The quality of the treatments was assessed by the measurement of the content and quality of β-carotene, colorimetry using the Hunter-LAB method, determination of the purity and vitamin A employing HPLC, estimation of the dwell-time duration at 5 °C, and measurement of the solubility of β-carotene in water.

Results: The results of the tests regarding the purity, concentration, colorimetric, vitamin compounds, dwell time, and solubility in the experimental β-carotene, compared with those in the control, revealed significant difference ($p<0.05$). Moreover, the factors showed no significant difference between the control and experimental treatments during the dwell time ($p>0.05$). According to the achieved results from chemical tests and the shelf life of the test samples, the natural β-carotene had a desirable chemical quality during the storage period at 5 °C for one year.

Conclusions: Since there was a 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 as the natural β-carotene derived from *Azolla filiculoides* takes precedence over the synthetic one in terms of the food hygiene, 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

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 8:40 +0430 on Wednesday June 12th 2019

www.SID.ir