مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية ، المجلد ١٧، العدد (٢)، لسنة ٢٠٢١

College of Basic Education Researchers Journal

ISSN: 7452-1992 *Vol. (17), No.(2), (2021)*

تشخيص بعض الاحماض الدهنية ومركب Cucurbitacin في مستخلص زيت بعض اجزاء وكالس نبات القرع الجبلي* *Cucurbita maxima*

م. اسلام ياسر عبدالله **أ.م. د. عبدالله نجم النعيمي**

جامعة الموصل/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم علوم الحياة

(قدم للنشر في ٢٠٢١/٢/١ ، قبل للنشر في ٢٠٢١/٣/١٨)

الخلاصة:

استخلص زيت نبات القرع الجبلي*C.maxima* وقدرت نسب وجوده في الجذور وفي قطع الاوراق والسيقان تحت الفلقية وفي كالس هذه الاجزاء كنسبة مئوية، وتمكنت الدراسة من تشخيص الاحماض الدهنية Linolic acid, Oleic acid, Stearic acid, Palmitic acid ، فضلاً عن تشخيص ثلاث احماض دهنية جديدة وهيLauric acid, Arachidic acid, Myristic acid لأول مرة في هذا النبات فضلا عن التشخيص النوعي للمركب Cucurbitacin والتعرف على ايزومراته Cuc .L, Cuc B., Cuc E, Cuc I باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC).

الكلمات المفتاحية: القرع الجبلي، الاحماض الدهنية، مركب Cucurbitacin، الزيوت الثابتة

Abstract

The Present Study found out the extraction the oil of *Cucurbita maxima* and determination the ratio of it in seeds , leaves , hypocotyle stems and in callus of this parts like percentage.

This study singled out Fatty acids like palmitic acid , stearic acid, oleic acid, linoleic acid, and also singled out new three fatty acids like, Myristic acid, Arachidic acid and Lauric acid first time in this plant besides the qualitative diagnosis of cucurbitacin and defining it's isomers

(*)مستل من رسالة ماجستير الباحث الاول.

Cuc E, Cuc B ,Cuc I, and Cuc L by using thin layer chromatoghraphy (TLC).

Key words: Pumpkin–Fatty acids–Cucurbitacin –Fixed oil.

المقدمة:

ان واحدا من المنتجات الانموذجية للقرع هو زيته الذي ينتج بشكل تجاري في النمسا وهنكاريا وبلغاريا (Bahare et al,2019) لاحتواء بذور القرع على ٥٠-٥٤% من الزيت نصف الجاف Semidrying (العرقاوي ، 2009). ويعد زيت القرع احد انواع الزيوت الدهنية الثابتة Fixed Fatty acid (السيد وحسين ، 2010). ولقد اثبتت الدراسات ان زيت بذور القرع فعال وقوي كأي عقار مثل Indomethacin وان هذه الفعالية تعود الى ان البذور غنية بمضادات الاكسدة antioxidant وبعض المغذيات الصغيرة او امتلاكها مستويات عالية من فيتامين E (Venkateswarara, 2015) كما ان زيت بذور القرع يستخدم بشكل متداخل ومتوافق مع العقاقير المستخدمة لخفض الكولسترول ومفيد في علاج مشاكل المثانة وتضخم غدة البروستات الحميد Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) (عبدالرضا ، 2001)

ويمكن الحصول على الزيت من جميع الانواع الاتية *C.ficifolia, C.moschata, C.pepo,C.maxima* (Bannayan, 2017). يكون زيت القرع غامق اللون بسبب احتوائه على Chlorophyll, Carotenoids .

مصدر الاحماض الدهنية هو الزيوت والدهون وهي احماض كاربوكسيلية تتباين فيما بينها في عدد ذرات الكاربون ويوجد نوعان من الاحماض الدهنية في الزيوت والدهون وهما:

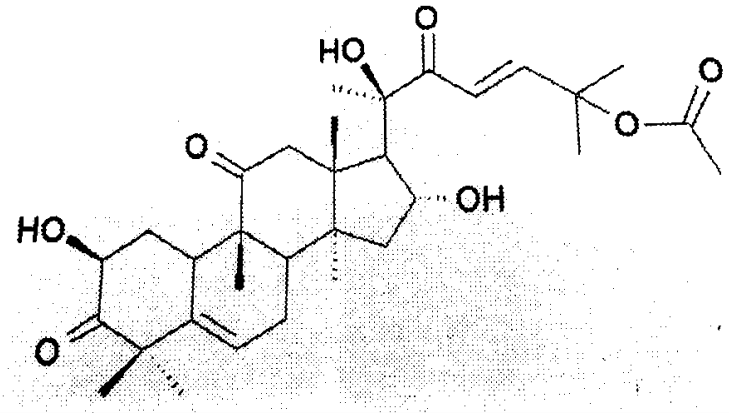
١. الاحماض الدهنية المشبعة Saturated Fatty Acids.

٢. الاحماض الدهنية غير المشبعة Unsaturated Fatty Acids.

وان وجود المقطع anoic في نهاية اسم الحامض الدهني يشير الى كونه مشبعا وان هذه الشحوم القطبية ذات اهمية حيوية لاكمال تركيب اغشية الخلية التي تتحكم في خواص

الانكماش والنفوذ (كيمياء المنتجات الطبيعية ، 2011) وان وجود المقطع enoic في نهاية اسم الحامض الدهني يشير الى كون الحامض غير مشبع (Al–Bker et al , 2014) وان هذه الاحماض الدهنية تكون الجزء الاكبر من مكونات الزيت اذ تتجاوز نسبتها اكثر من ٩٠% من مكونات الزيت ، تعد مركبات Cucurbitacins مجموعة خاصة من التربينات الثلاثية وتتميز بفعاليتها المضادة للاورام antitumor وتوجد بشكل واسع ضمن نباتات العائلة القرعية *Cucurbitaceae* (Perez,2016) .

ولهذه المركبات عدة ايزومرات (متشابهات جزيئية) منها Cuc I, Cuc B, Cuc E, Cuc D, Cuc L ومعظم هذه المركبات تكون رباعية الحلقة وفيما يأتي الصيغة الجزيئية والتركيبية لـ CucB كمثال لأحدى هذه الايزومرات: اذ تكون صيغته الجزيئية $C_{32}H_{46}O_8$ أما الصيغة التركيبية له:



Kaushik et al, (2015)

مواد العمل وطرائقه:

- **استخلاص الزيت وتقدير نسب وجوده:**

قدرت نسب الزيت في عينات منتخبة (البذور، الاوراق، الاوراق الفلقية و السيقان تحت الفلقية) باستخدام جهاز الاستخلاص (Soxhlet) . اذ يؤخذ ١.٠ غم من العينات الجافة والمسحوقة والحاوية على المركب المرغوب داخل انبوبة مصنوعة من ورق ترشيح سميك والذي يوضع في الغرفة الرئيسية لجهاز السوكسليت ، ويركب هذا الجهاز في دورق يحتوي على مذيب الاستخلاص (الايثر البترولي) ثم يركب المكثف . يسخن المذيب لاعادة الاذابة ويدخل بخار المذيب في ذراع التقطير ثم يفيض الى الغرفة المحتوية على المادة الصلبة (العينة الجافة) المراد الاستخلاص منها ، يضمن المكثف تبريد أي بخار للمذيب حيث يقطر على الغرفة المحتوية على العينة . تمتلئ الغرفة ببطئ بالمذيب الدافئ وعندما تكاد ان تمتلئ غرفة السوكسليت فان الغرفة تفرغ تلقائيا بواسطة ذراع سيفون جانبية والمذيب يعود مرة أخرى الى دورق التقطير . تترك هذه الدورة لتتكرر عدة مرات وتترك لساعات . خلال كل دورة فان جزء من المركب (الزيت الثابت) يذوب في المذيب ،وبعد عدة دورات فان المركب يكون قد تركز في دورق التقطير . يزال المذيب بعد الاستخلاص باستخدام المبخر وبذلك نحصل على المكب المستخلص (الزيت) ويتبقى الجزء غير الذائب من المادة الصلبة في الانبوبة وعادة ما يتخلص منه ، ومن ثم يطبق القانون الاتي:

$$\text{النسبة المئوية للزيت} = \frac{\text{وزن الدورق مع العينة} - \text{وزن الدورق وهو فارغ}}{\text{وزن العينة الاصلية}} \times ١٠٠$$

علما ان العينات اخذت على شكل مسحوق بعد ان تم تجفيفها (William, 2007 and Gopalasatheeskumar, 2019).

- **فصل الاحماض الدهنية بعملية الصوبنة Saponification:**

فصلت الاحماض الدهنية من زيت القرع وذلك باذابة ٠.٥ غم منه في ١٠٠ مل من محلول KOH ٧.٥ مولاري واضيف المزيج الى [ماء: ميثانول] وبنسبة حجمية مقدارها [٣:٢] ثم اجريت بعد ذلك عملية التصعيد الحراري لمدة ٩٠ دقيقة بدرجة حرارة ١٠٠°م بواسطة حمام مائي بعد ذلك يبرد المحلول وتجري عليه عملية تحميض بواسطة حامض الهيدروكلوريك (٢٠%) لحين وصول الدالة الحامضية الى ٢.٠ بعدها يؤخذ المحلول ويضاف له ٢٥ مل من الايثر ويوضع في قمع الفصل ويرج جيدا مدة ٥ دقائق ويترك، بعدها تظهر طبقتين المائية في الاسفل والعضوية في الاعلى تؤخذ الطبقة المائية مرة اخرى ويضاف لها ٢٥ مل من الايثر وتجري العملية السابقة نفسها في قمع الفصل، بعدها تؤخذ الطبقة العضوية (العليا) وتجمع مع الطبقة العضوية الاولى ثم تبخر قليلا لأجل تركيزها (Proano et al , 2015).

- **استخدام تقنية Thin Layer Chromatography (TLC) في التشخيص النوعي:**

استخدم لوح زجاجي جاهز مغطى بمادة سليكا جيل بسمك ٠.١ – ٠.٢٥ ملم وبابعاد ٢٠ × ٢٠ سم التي قطعت الى ١٠ ألواح، وضعت قطره من مستخلص الايثر المحضر مسبقا على احد طرفي اللوح بهيئة بقع Spots على امتداد خط البداية باستخدام انابيب شعرية وبعد جفافها وضع اللوح في الحاوية الخاصة به (Tank) بصورة عمودية. بحيث تكون النهاية المحملة بالعينة في الأسفل ملامسة لمحلول الفصل المكون من [ايثانول: كلوروفورم] بنسبة حجمية [٩:١] الموجود في الحاوية وغطيت بالغطاء الخاص بها وتركت بدرجة حرارة المختبر لحين صعود محلول الفصل الى اعلى النهاية الاخرى من اللوح (الى حد لا يقل عن ١٣ سم) ثم رفع اللوح (TLC) وترك ليجف في الهواء وقد تم اظهار البقع عن طريق رش اللوح بحامض الكبريتيك بتركيز ٤٠% وتركها في الفرن تحت درجة ٦٠°م وعلى وفق معدل سرعة الجريان Rate of Flow وذلك بقياس المسافة التي قطعتها كل بقعة من نقطة البداية الى النقطة التي توقفت عندها على المسافة التي قطعها المذيب وفق المعادلة الآتية:

$$\text{سرعة الجريان (Rf)} = \frac{\text{المسافة التي قطعتها العينة (الانموذج)}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب}}$$

ولكل بقعة معزولة على انفراد ومقارنتها بمعدل سرعة الجريان للاحماض الدهنية القياسية المتوفرة لدينا (الهيتي ، 2008 و Al-Bker et al ,2014) وكان التركيز في هذه الدراسة على الاحماض الدهنية الاتية:

الاحماض الدهنية	معدل سرعة الجريان R_f
Myristic acid	٠.٢٥
Arachidic acid	٠.٣٢
Linoleic acid	٠.٣٧
Palmitic acid	٠.٤٣
Stearic acid	٠.٥٦
Oleic acid	٠.٦٠
Lauric acid	٠.٦٨

- **التشخيص النوعي لمركب Cucurbitacin:**

شخصت ٤ ايزومرات (متشابهات جزيئية) من المركب Cucurbitacin باستخدام تقنية (TLC) وبأخذ بقعة من زيت البذور كما ذكر في الفقرة السابقة واستخدام محلول الفصل [ميثانول: كلوروفورم] بنسبة حجمية [٥:٩٥] وبعد ان اكتمل صعود محلول الفصل للحد المعين جفف اللوح في الهواء بعدها تم تظهير البقع باستخدام بلورات اليود اذ وضع اللوح في اناء خاص

بذلك ووضع معه قليل من اليود الممزوج مع قطرات من الايثانول الى ان ظهرت البقع. ثم حسبت معدلات سرعة الجريان R_f و قورنت مع معدل سرعة الجريان المتوفرة والمعروفة للمركب (Al-Bker et al ,2014) .

- **النتائج والمناقشة:**
- **تقدير نسب الزيت المستخلص في بذور القرع الجبلي *Cucurbita maxima* وفي اوراقه والسيقان تحت الفلقية.**

اظهرت نتائج الجدول (١) ان معدل النسبة المئوية لزيت البذور كان ٦٨% وفي قطع الاوراق الناتجة من البادرات كان معدل النسبة المئوية ٥٤.٦٦% وفي قطع السيقان تحت الفلقية الناتجة من البادرات كان معدل النسبة المئوية للزيت فيها ٣٠.٣٣ وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصل اليه (Applequist et al., 2006).

اذ ذكروا ان بذور القرع غنية بالزيت النباتي وخاصة النوع *Cucurbita moschata* ثم النوع *Cucurbita argyrosperma* المعروف بـ *C.mixta*.

وهذه النتائج تتوافق كذلك مع ما ذكره (Gossell et al, 2011) في ان نبات القرع وخاصة بذوره غنية بنسب الزيت العالية.

الجدول (١):

نسب الزيت في البذور والاوراق والسيقان تحت الفلقية لنبات القرع الجبلي *C.maxima*.

مصدر الزيت	نسب الزيت % *
البذور	٦٨

الاوراق	٥٤.٦٦
السيقان تحت الفلقية	٣٠.٣٣

***معدل ثلاث مكررات / معاملة**

- **تقدير نسب الزيت في كالس الاوراق وكالس الاوراق الفلقية وكالس السيقان تحت الفلقية لنبات القرع الجبلي *Cucurbita maxima*.**

اظهرت نتائج الجدول (٢) ان معدل النسبة المئوية لزيت كالس الاوراق وكالس الاوراق الفلقية وكالس السيقان تحت الفلقية كان ٢٥.٦٦، ٣٢، ٣١.٦٦ على التوالي وبالنظر للتطور الحاصل في مجال التقنيات الحياتية وتطبيقاتها في الزراعة النسيجية اصبح الهدف من الحصول على مزارع الكالس هو لتحقيق مقاصد عدة منها النواتج الايضية المختلفة ذات الاهمية الصناعية وخاصة الدوائية وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل اليه ، وغالبا تكون نقاوة هذه المركبات اعلى مما هي عليه في النبات الأم (محمد ، 2014 و Venkateswarara , 2015) .

الجدول (٢):

نسب الزيت في كالس الاوراق والاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية لنبات القرع الجبلي *Cucurbita maxima*:

مصدر الزيت	نسب الزيت % *

كالس الاوراق	٢٥.٦٦
كالس الاوراق الفلقية	٣٢
كالس السيقان تحت الفلقية	٣١.٦٦

*** معدل ثلاث مكررات / معاملة.**

- **التشخيص النوعي للاحماض الدهنية المفصولة من زيت نبات القرع الجبلي *Cucurbita maxima***

اظهرت نتائج الجدول ٣ والشكل (١) على التوالي وجود الاحماض الدهنية السبعة Myristic acid, Arachidic acid, Linoleic acid, Palmitic acid, Stearic acid, , Oleic acid, Lauric acid، في زيوت العينات المدروسة (البذور والاجزاء النباتية والكالس) مع تباين وجودها بين ما هو مطابق ومقارب لمعدلات سرعة الجريان R_f للاحماض الدهنية القياسية.

وقد تماثلت نتائج التشخيص النوعي لسبعة احماض دهنية معزولة من الزيت المستخلص من القرع الجبلي مع نتائج بعض الدراسات على هذا النبات ، كذلك عزلت انواع من الاحماض الدهنية من اربعة انواع من القرع وهي *C.ficifolia, C.moschata, C.Pepo, C.maxima*، وتؤكد عدة دراسات على ان زيت نبات القرع يحتوي على مستويات مرتفعة من الاحماض الدهنية غير المشبعة ويمكن تخزين الزيت بحالة جيدة وثابتة ، وان لهذه الزيوت محتوى بما مجموعه 73.1- 80.5% من الاحماض الدهنية غير المشبعة . على الرغم من ان المستوى المرتفع من حامض Linolic acid يجعل زيت بذور القرع عرضة للاكسدة الا انه قد يكون لهذا الحامض الدهني تأثيرات فسيولوجية ضد الإصابة بامراض القلب التاجية (Stevenson et al , 2007) .

الجدول (٣)

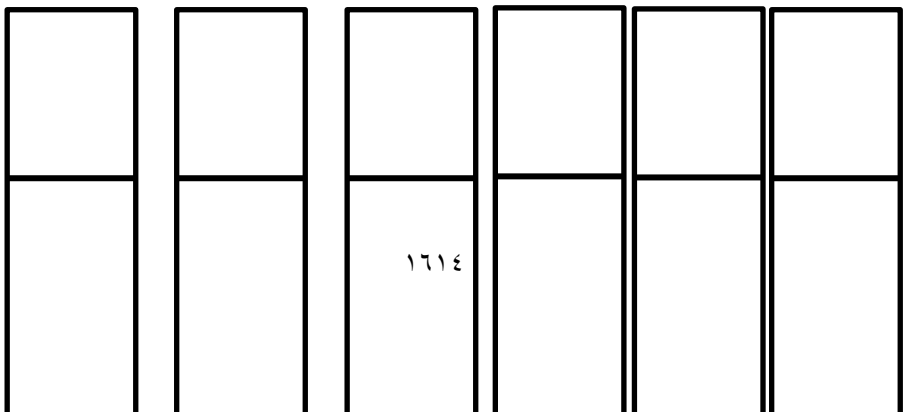
معدل سرعة الجريان R_f للاحماض الدهنية المفصولة من زيت بذور القرع الجبلي والاوراق والسيقان تحت الفلقية وكالس الاوراق والاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية.

مصدر الاحماض الدهنية	معدل سرعة الجريان R_f للاحماض الدهنية المفصولة *						
	Myristic acid	Arachidic acid	Linoleic acid	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Lauric acid
زيت البذور	٠.٢٠	٠.٣٣	٠.٣٧	٠.٤٤	٠.٥٣	٠.٦٠	٠.٦٧
زيت الاوراق	٠.٢٨	٠.٣١	٠.٣٨	٠.٤٣	٠.٥٤	٠.٦٥	٠.٦٨
زيت السيقان تحت الفلقية	٠.٢٦	٠.٣١	٠.٣٦	٠.٤٠	٠.٥٦	٠.٦٠	٠.٦٩
زيت كالس الاوراق	٠.٢٥	٠.٣٠	٠.٤٠	٠.٤٥	٠.٥٦	٠.٦٢	٠.٧١
زيت كالس الاوراق الفلقية	٠.٢٣	٠.٣٣	٠.٣٧	٠.٤٣	٠.٥٥	٠.٦١	٠.٦٨
زيت كالس السيقان تحت الفلقية	٠.٢٥	٠.٣٣	٠.٣٦	٠.٤٥	٠.٥٥	٠.٥٩	٠.٦٦
قيم الاحماض الدهنية القياسية	٠.٢٥	٠.٣٢	٠.٣٧	٠.٤٣	٠.٥٦	٠.٦٠	٠.٦٨

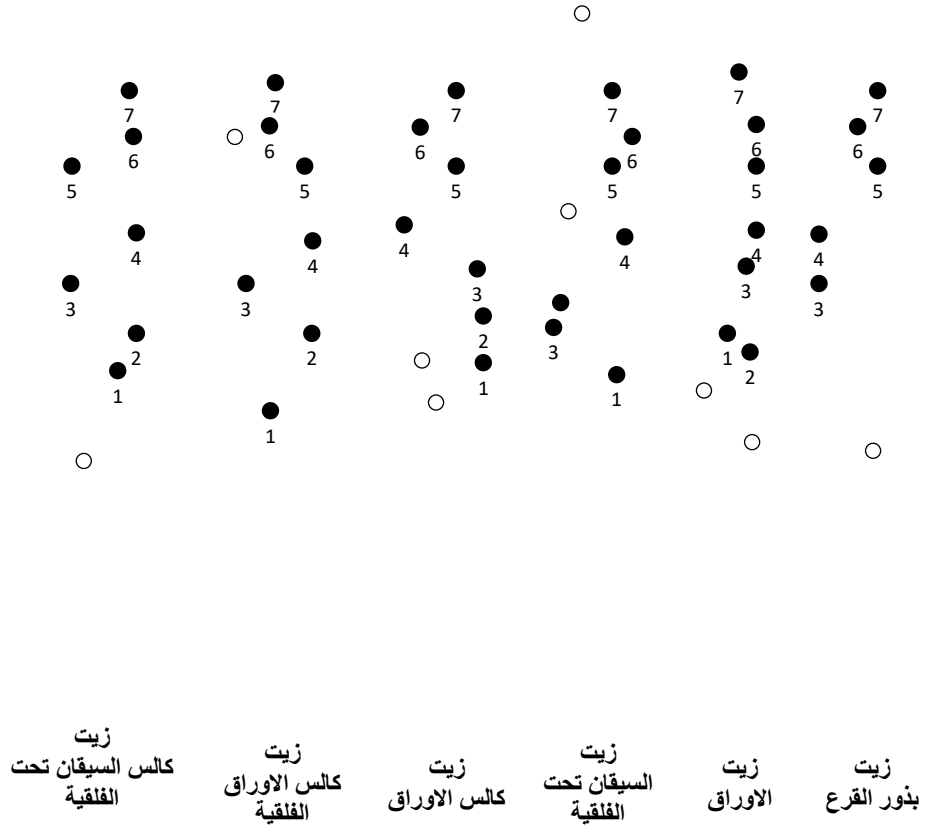
*معدل ثلاث مكررات / معاملة

الشكل (١)

معدل سرعة الجريان R_f للاحماض الدهنية المفصولة من زيت بذور القرع الجبلي والاوراق والسيقان تحت الفلقية وكالس الاوراق والاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية.



ISSN: 7452-1992 *Vol. (17), No.(2), (2021)*



وفق التسلسل الاتي:

1- Myristic acid

2- Arachidic acid

3- Linoleic acid

4- Plamitic acid

5- Stearic acid

6- Oleic acid

7- Lauric acid

* ● تمثل موقع الحامض الدهني حسب تسلسله.

* ○ تمثل بقع مجهولة لم يتم التعرف عليها

وقد اظهر التشخيص النوعي في هذه الدراسة عدداً من البقع Spots التي لم يتم تشخيصها والتعرف عليها لعدم توفر معلومات كافية عن معدلات سرعة جريانها أو العينات القياسية الخاصة بها.

- **التشخيص النوعي لمركب Cucurbitacin**

إستناداً الى نتائج الجدول (٤) والشكل (٢) فقد تم تشخيص اربعة ايزومرات (الاشباه الجزيئية) للمركب Cucurbitacin وهي Cuc L, Cuc I, Cuc B, Cuc E في زيت بذور القرع ولوحظ ان معدل سرعة الجريان R_f البالغ ٠.٨٠ مطابق لمعدل سرعة الجريان القياسية لمركب Cuc E كما ان معدل سرعة الجريان ٠.٧٥ مقارب لمعدل سرعة الجريان القياسية لمركب Cuc B والبالغ ٠.٧٧ في حين ظهر معدل سرعة الجريان ٠.٧٣ مقارب لمعدل سرعة الجريان القياسية لمركب Cuc I والبالغ ٠.٧٢ اما معدل سرعة الجريان البالغة قيمتها ٠.٥٢ فقد كان مقاربا لمعدل سرعة الجريان القياسية لمركب Cuc L الذي بلغ ٠.٥٩.

الجدول (٤)

معدل سرعة الجريان R_f لايزومرات المركب Cucurbitacin المفصولة من زيت بذور القرع الجبلي *C.maxima*

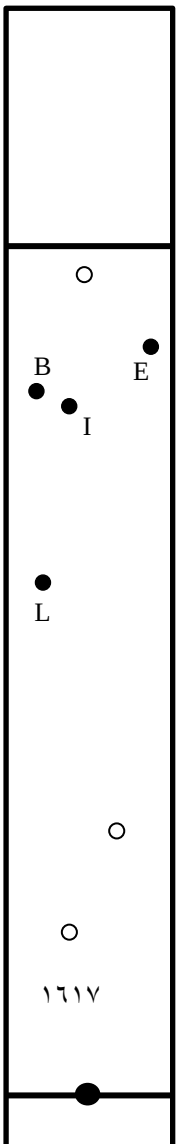
مصدر المركب	معدل سرعة الجريان R_f للايزومرات المفصولة *					
	CucE	CucB	CucI	CucL	CucD	CucE glycosid

زيت بذور القرع	٠.٨٠	٠.٧٥	٠.٧٣	٠.٥٢	* *	* *
معدل سرعة الجريان القياسية	٠.٨٠	٠.٧٧	٠.٧٢	٠.٥٩	٠.٧٠	٠.٢٧

* معدل سرعة الجريان في المذيب [ميثانول: كلوروفورم، 95:5 v/v] وبمعدل ثلاث مكررات / معاملة .

* * لم يتم التشخيص.

الشكل ٢: معدل سرعة الجريان R_f لايزومرات المركب Cucurbitacin المفصولة من زيت بذور القرع الجبلي *C.maxima*



على الرغم من التقدم الكبير والمهم في حقل انتاج المواد العضوية الكيميائية فالنباتات بقت المصدر الاساسي لـ ٢٥% من الوصفات الطبية وتجهيز المواد الخام ، وبما في ذلك مركب Cucurbitacin ذو الفعالية الطبية المهمة الذي تم تشخيصه في هذه الدراسة مع ايزومراته وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت اليه دراسة (Abdalbasit and Ismail,2017) .

المصادر

أولا: المصادر العربية :

السيد، عبدالباسط محمد وحسين ، عبدالتواب عبدالله (2010).الموسوعة الام للعلاج بالنباتات والاعشاب الطبية . القاهرة . الفا للنشر والتوزيع . الطبعة الرابعة ، ص 442 .

عبدالرضا، علوان (2001).النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب.مركز عبادي للنشر والتوزيع. العراق . بغداد . الطبعة الأولى .

العرقاوي، نبيل (2009) . موسوعة النباتات الطبية المصورة .اتحاد الناشرين السوريين . الطبعة الأولى .

كيمياء المنتجات الطبيعية (2011) . موسوعة العلوم العربية .Arab Science Pedia .

محمد ، ساجد عودة (2014) .مقدمة ونبذة تأريخية عن النباتات الطبية والعطرية . رئيس وحدة النباتات الطبية والعطرية . قسم البستنة وهندسة الحدائق . العراق . بغداد .

الهيتي ،إسماعيل خليل (2008) .التطبيقات العملية في التحاليل الكيميائية الألية وطرائق الفصل. جامعة الانبار . الطبعة الأولى .

ثانيا: المصادر الأجنبية :

Abdalbasit.A and Ismail.H.(2017).Cucumis prophetarum Globe Cucumber or Wild Cucumber.Unconventional Oil seeds and Oil Sources 95-98.

Al-Bker.R;Al-Salih.H;and Al-Abachi.F.(2014).Investigate about some of fatty acids in callus culture of Corylus avellana L. induced by phenylalanine(phe).

Applequist, W.L.; Vula. B.A; Schaneberg, B.T.; Wang, Y. H. and Khan, I.A. (2006). Comparative fatty acid content of seed of four Cucubita Species grown in a common (Shared) Garden. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 606-611.

Bahare.S;Javad.Sh and Esra.C.(2019).Cucurbita plants from growth to industry :Application Sciences (9):3387.

Bannayan .M.(2017).Growth Analysis of Pumpkin (Cucurbita pepo L.) Under Various Management Practices and Temperature Regimes.Agriculture Researches Tecnology (11):555-801.

Gopalasatheeskumar,K.(2019).Significant Role of Soxhlet Extraction Process Phytochemical Research,Mintage journal of Pharmaceutical and Medical Sciences,43-47.

Gossell-W, Hyde. C, and Hunter. T, (2011). Improvement in HDL cholesterol in Postmenopausal women Supplemented with Pumpkin seed oil. Pilot study. Journal climacteric , 14 (5), P; 558-564.

Kaushik.U, Aeri. V and Mir. S. R., (2015) Cucurbitacins- An insight in to Medicinal Leads from nature. Pharmacogn Rev. Jan- Jun. 9 (17): 12-18.

Perez .G.(2016).Review of Cucurbita pepo (pumpkin).its phytochemistry and pharmacology .Medical chemistry .6:12-21.

Proano.F;Stuart.J;Bertha.C;Flores.L;Magaly.H;Yolaine.M;and Lucia.S.(2015).Evaluation ofthree saponification methods on types of fat as protection against bovine ruminal degradation.Cuban Journal of Agricultural Science:49(1).

Stevenson.D;Eller.F;Wang.L;Jane.J;Wang.T;Inglett.G.(2007).Oil and tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars Journal of Agricultural and Food Chemistry 55:4005-4013

Venkateswarara .B.(2015).Invitro antioxidant activity studies on leaves of Cucurbita maxima .Andhra University.

William,B.(2007).The Origin of the Soxhlet Extractor.Journal of Chemical Education 84(12):1913.