

## بررسی ویژگی‌های ضدآکسایشی بتاکاروتن استخراج شده از کدوحلوایی

مینا شاکری نیا<sup>۱</sup>، سید حسین حسینی قابوس<sup>\*۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

۲- استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۳/۲۸)

### چکیده

آرد کدوحلوایی به دلیل عطر و طعم مطلوب، بتاکاروتن بالا، ویتامین‌های محلول در آب و رنگ مناسب می‌تواند در انواع مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های ضدآکسایشی و مقاومت حرارتی بتاکاروتن استخراج شده از کدوحلوایی می‌باشد. بتاکاروتن توسط حلال‌های استون و پترولیوم اتر استخراج شد. فعالیت ضدآکسایشی بتاکاروتن با استفاده از آزمون‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاء کنندگی و رنسیمت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، کلیه غلظت‌های عصاره قادر به کند نمودن روند اکسیداسیون بوده و در بین تیمارها غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بیشترین اثر ضدآکسایشی را نسبت به غلظت‌های دیگر داشته و در مواردی قابلیت برابری را با ضدآکسایش ستزی BHT داشته است. کمترین قدرت احیاکنندگی آهن (III) (مریبوط به نمونه شاهد (۰/۳۱) و بیشترین قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) (مریبوط به غلظت BHT200) بود. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بتاکاروتن تفاوت معنی‌داری با ضدآکسایش ستزی BHT با غلظت ۲۰۰ نداشت که نشان از قدرت بالای بتاکاروتن در احیاکنندگی یون آهن (III) (P>0/05) می‌باشد. نتایج این تحقیق حاکی از مقاومت حرارتی بالای ترکیبات ضدآکسایشی بود. بنابراین بتاکاروتن استخراج شده از کدوحلوایی را می‌توان یک منبع ضدآکسایش طبیعی جهت جایگزینی با ضدآکسایشی ستزی معرفی کرد.

**کلید واژگان:** کدوحلوایی، بتاکاروتن، فعالیت ضدآکسایشی

\*مسئول مکاتبات: Hosseinighaboos@yahoo.com

## ۱- مقدمه

مهمنتری از کارتونیویدها می‌باشدند. و نقش مهمتری در سلامتی انسان‌ها دارند [۵].

روش‌های متعددی برای ارزیابی ویژگی‌های ضدآکسایشی وجود دارد که غالباً محققین برای اطمینان از صحت داده‌ها، از چندین روش به طور همزمان استفاده می‌نمایند. مهار رادیکال DPPH: روشی سریع و ساده است که استفاده گستره‌ای جهت تعیین و بررسی فعالیت ضدآکسایشی عصاره‌های گیاهی دارد. رادیکال DPPH یکی از معدود رادیکال‌های پایدار نیتروژن آلی چربی دوست است که به رنگ بنفش می‌باشد. در این روش به منظور بررسی پتانسیل ضدآکسایشی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد، میزان تغییرات چگالی نوری رادیکال DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر بررسی می‌شود [۶]. روش احیاکنندگی آهن<sup>۲</sup> (FRAP): این روش میزان ضدآکسایش در احیاء یون آهن را مشخص می‌نماید. در آزمون قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) ضمن احیای یون‌های آهن سه‌ظرفیتی و تبدیل کمپلکس فری سیانید به فرم فروس توسط ترکیبات ضدآکسایشی زرد رنگ محلول متناسب با قدرت احیاکنندگی هر یک از عصاره‌ها مورد بررسی به درجاتی از رنگ سبز - آبی تبدیل می‌شود. این فرایند با اندازه‌گیری تغییرات جذبی در طول موج ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتوفوتومتر تعیین می‌شود [۷, ۸].

کدوحلوایی به جنس *Cucurbita* از خانواده *Cucurbitaceae* تعلق دارد که در تمام کشورهای گرمسیری استوایی و نزدیک استوار رشد می‌کنند [۹] و بر اساس بافت و شکل ساقه‌اش گروه‌بندی می‌شوند [۱۰]. این میوه منبع خوبی از کاروتون، ویتامین‌های محلول در آب و اسیدهای آمینه می‌باشد که موجب نقش مهم کدوحلوایی در سلامتی انسان گردیده است. در واقع طیف وسیعی از مواد لیپوفیلیک (چربی‌دوست) چون کاروتونوئیدهای موجود در انواع کدوحلوایی می‌تواند به طور قابل توجهی به دریافت پیش ساز ویتامین A و مخصوصاً لوთین، یک کاروتونوئیدی با وظایف فیزیولوژیکی خاص، کمک نماید. رنگ زرد تا نارنجی گوشت کدوحلوایی از این گروه از مواد ناشی می‌شود [۱۱, ۱۲]. بررسی منابع حاکی از این است که تا کنون مطالعه‌ای در خصوص مقایسه‌ی فعالیت ضدآکسایشی عصاره بتاکاروتون استخراج شده با استفاده از حلal استون از کدوحلوایی با

5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

6. Ferric ion reducing antioxidant power

اسیداسیون چربی‌های غیر اشباع به واسطه رادیکال‌های آزاد یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت مواد غذایی می‌باشد. با اسیداسیون آن‌ها نه تنها طعم و بوی ماده غذایی عوض می‌شود بلکه این روند موجب بدرنگ شدن ماده غذایی و نهایتاً فساد آن‌ها می‌شود [۱]. ضدآکسایش به موادی گفته می‌شوند که قادر به ایجاد تأخیر، کند کردن و حتی توقف فرایندهای اسیداسیون می‌باشند. این ترکیبات در غلاظت مشخص می‌توانند به نحو مطلوبی از تغییر رنگ و طعم مواد غذایی در نتیجه واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری نمایند [۱]. ضدآکسایش به دو گروه عمده طبیعی و سنتزی طبقه‌بندی می‌شوند. ضدآکسایش سنتزی عمدتاً ترکیبات فنولی هستند که مهم‌ترین آن‌ها شامل بوتیلات هیدروکسی آئیزول (BHA)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، تترابوتیل هیدروکینون (TBHQ) و پروپیل گالات (PG) هستند. که می‌توانند اسیداسیون چربی را در مواد غذایی کترول نمایند [۲, ۳]. امروزه تمایل مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی ضدآکسایشی مورد توجه محققین قرار گرفته است [۳].

میزان ترکیبات فنولی عصاره‌ی متابولی چند گیاه ایرانی در روش غرقابی بین ۲۴/۱ تا ۲۸۹/۵ میلی گرم در هر گرم عصاره گزارش شد. در بین نمونه‌ها بیشترین میزان ترکیبات فنولی و کمترین غلاظت مورد نیاز برای بازدارندگی (۰/۰۱۸ میلی گرم در هر میلی لیتر) و در نتیجه بالاترین فعالیت ضدآکسایشی مربوط به عصاره حاصل از *mellilotus officinalis* بوده و در قیاس با BHT این عصاره از نظر قدرت ضدآکسایشی برابر قوی‌تر بود [۴].

گزارش‌ها حاکی از آن است که کارتونیویدها به دلیل وجود تعداد زیاد پیوندهای دوگانه در ساختار شیمیایی خود، نقش ضدآکسایشی قوی دارند که از طریق به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و یا خشی کردن اکسیژن یگانه در فاز چربی اعمال می‌کنند. کارتونیویدهای هیدروکربنی (آلفاکاروتون، بتاکاروتون، لیکوپن)، گرانتوفیل های مونوهیدروکسی (بتا کریپتوزآنتین)، و گرانتوفیل های دی هیدروکسی (لوتین و زئازآنتین) انواع

1. Butylated hydroxyl anisole

2. Butylated hydroxyl toluene

3. Tetra-butyl hydroquinone

4. Propyl gallate

### ۳-۲- محاسبه بازده استخراج

حال م وجود در عصاره ای اتانولی توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان (Buchi مدل V-800 سوئیس) تبخیر شد، با محاسبه وزن اولیه و وزن نهایی آن، مقدار کل ماده خشک استخراج شده به صورت درصد (گرم به صد گرم نمونه خشک) محاسبه گردید.

### ۴-۲- تهیه غلظت های مختلف از بتاکاروتون استخراجی کدو حلوایی

۱/ ۰ گرم نمونه را برداشته و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر با استفاده از الكل ۷۰ درصد می رسانیم که به این محلول استاندارد گفته و بقیه غلظت ها از روی آن تهیه می شود (ppm<sup>۱۰۰۰</sup>). از این غلظت مقدار ۵ میلی لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی لیتر اتانول رسانده شد (غلظت ppm<sup>۵۰۰</sup>). از این غلظت ۳ میلی لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد (ppm<sup>۳۰۰</sup>). از این غلظت ۲ میلی لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد (غلظت ppm<sup>۲۰۰</sup>). و درنهایت از این غلظت ۱ میلی لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد (غلظت ppm<sup>۱۰۰</sup>).

### ۵-۲- بررسی فعالیت ضد اکسایشی بتاکاروتون استخراجی با آزمون های متفاوت

#### ۱-۵-۲- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

جهت تعیین فعالیت ضد اکسایشی بتاکاروتون استخراجی از کدو حلوایی با استفاده از رادیکال DPPH طبق روش بیوس، یک میلی لیتر از محلول متابولیک یک میلی مولار DPPH به ۳ میلی لیتر از محلول متابولیک عصاره در غلظت های مختلف (۱۰۰، ۵۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰ ppm) در یک لوله آزمایش اضافه و توسط شیکر لوله IKA مدل 2/4-MTS ۲/4 آلمان) به شدت مخلوط شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط آزمایشگاه در تاریکی قرار داده و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر CECIL مدل (Aquarius) قرائت و ثبت شد. برای شاهد به جای عصاره ۳ میلی لیتر از محلول اتانولی ۷۰ درصد به ۱ میلی لیتر DPPH اضافه شد. همه اندازه گیری ها ۳ بار تکرار شد. درنهایت درصد مهار رادیکال های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

ضد اکسایشی سنتزی انجام نشده است. لذا در این پژوهش ویژگی های ضد اکسایشی بتاکاروتون استخراجی از کدو حلوایی بررسی شده است.

### ۲- مواد و روش ها

#### ۱-۲- تهیه و آماده سازی کدو حلوایی

کدو حلوایی از میوه فروشی تهیه شد و بعد از پرست گیری و جدا کردن قسمت داخلی آن را به قطعات کوچک با قطر ۰/۵ سانتی متر خرد می کنیم و آن ها را در آون ۶۰ درجه (Memmert مدل UMB400 آلمان) قرار داده شد و بعد از خشک شدن آن ها را توسط آسیاب برقی (Moulinex مدل AR-1043 فرانسه) آسیاب کرده و تا زمان استفاده آن ها را در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شد [۱۳].

#### ۲-۲- استخراج عصاره با روش حلال

به پودر کدو به نسبت ۳:۱ استون اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط مخلوط شد تا تشکیل یک لاشه نارنجی رنگ در سطح آن دهد. مایع رویی که حاوی بتاکاروتون و گرانتوفیل بود جدا و به داخل یک دکانتور منتقل شد. این کار دو بار تکرار شد. سپس به نسبت ۱:۱/۵ حجم استون به آن پترولیوم اتر (۱/۵ برابر استون) و مقداری آب اضافه شد. سپس دکانتور چند دقیقه تکان داده شد و سپس بر روی پایه گذاشته شد. دولایه ای اتری در بالا و استون در پایین تشکیل شد. لایه زیری که استون و آب بود جدا و لاشه رویی که شامل پترولیوم اتر و بتاکاروتون و گرانتوفیل بود، نگه داشته شد. چندین بار این لایه با جریان ضعیف آب شستشو داده شد و آب زیری را خارج گردید. سپس به لاشه پترولیوم اتر به اندازه حجم خودش متابول ۸۵ درصد اضافه گردید و دکانتور را خوب تکان داده شد که مقداری تولید گاز کند که با احتیاط گاز آن خارج گردید. کاروتون در پترولیوم اتر و گرانتوفیل در متابول باقی ماند. سپس توسط تبخیر کننده چرخان، حلال را در دمای حداقل ۵۰ درجه سانتی گراد جدا شد تا عصاره تغییظ شود و سپس به آن متابول ۹۵ درصد اضافه گردید تا در آن حل شود و داخل یخچال ۴ درجه سانتی گراد تا در زمان استفاده سالم باقی بماند [۱۴، ۱۵].

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- بازده استخراج

استخراج با حلال با توجه به کارایی، سهولت استفاده و کاربرد گسترده به یکی از رایج‌ترین روش‌های استخراج ترکیبات گیاهی تبدیل شده است. به طور کلی بازده استخراج به قطبیت حلال، زمان و دمای استخراج، نسبت نمونه به حلال و همچنین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه مورد آزمون بستگی دارد [۲۱، ۲۲]. طی نتایجی که از استخراج بتاکاروتون از کدوحلوایی به دست آمد نشان داد که با استفاده از ۱۰۰ گرم کدوی پودر شده ۰/۰۹ گرم بتاکاروتون به دست می‌آید و می‌توان گفت که بازده استخراج توسط حلال استون و پترولیوم اتر ۰/۰۹ درصد می‌باشد.

### ۳-۲- ویژگی ضداکسایشی عصاره‌ی استخراجی

فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی از طریق مکانیسم‌های متعددی مانند تجزیه پراکسید و مهار رادیکال‌های آزاد انجام می‌شود. از آنجا که عصاره‌های گیاهی مخلوط پیچیده‌های از ترکیباتی با خصوصیات شیمیایی، قطبیت و گروه‌های عملکردی متفاوت می‌باشند، نتایج مربوط به تعیین فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی ممکن است بسته به شرایط آزمون متفاوت باشند. به همین دلیل لازم است از چندین آزمون جهت تعیین دقیق میزان فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی استفاده شود [۲۳]. در این پژوهش از دو آزمون تعیین قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن سه‌ظرفی و مهار رادیکال آزاد DPPH در مقایسه با ضداکسایش سنتزی BHT استفاده شد.

### ۳-۱- توانایی مهار رادیکال آزاد

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، به عنوان یک آزمون معتبر و در عین حال ساده به طور گسترده جهت بررسی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمون می‌توان فعالیت ضداکسایشی تعداد زیادی نمونه را در طی مدت کوتاهی مورد ارزیابی قرار داد. علاوه بر این، حساسیت بالای رادیکال‌های DPPH امکان تعیین فعالیت ضد رادیکالی غلظت‌های پایین ترکیبات ضداکسایشی را نیز فراهم می‌نماید [۲۴].

$(AC-AS)/(AC \times 100)$  = درصد مهار رادیکال‌های آزاد در فرمول فوق AS و AC، به ترتیب جذب کتلرل و جذب نمونه می‌باشند [۱۶، ۱۷].

### ۲-۵-۲- اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی به روش قدرت احیاء کنندگی

توانایی عصاره‌ها برای احیا یون‌های آهن سه‌ظرفی با روش بیلدریم و همکاران (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت ۱۰۰-۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از هر عصاره در حلال استون تهیه شد. نمونه BHT هم تهیه گردید. ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره یا آنتی اکسیدان سنتزی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=6/6) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی: حجمی)، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۵۰ سانتریفوژ Sigma (مدل K3-18 آلمان) شدند. از محلول بالایی پس از سانتریفوژ ۲/۵ میلی‌لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و معرف کلرید آهن ۳ جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید [۱۸]. نمونه شاهد در شرایط مشابه و بدون استفاده از عصاره تهیه شد.

### ۶-۲- آزمون تعیین پایداری روغن سویا در برابر اکسیداسیون (پایداری اکسیداتیو) (روش رنسیمت)

تعیین پایداری اکسیداسیونی روغن‌ها به‌وسیله‌ی دستگاه رنسیمت (Metrohm سوئیس) اندازه‌گیری شد. زمان پایداری با استفاده از رنسیمت مدل metrohm برای ۲/۵ گرم نمونه روغن در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید [۱۹].

### ۷-۲- روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها با سه تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. نتایج به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار spss صورت گرفت و نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردیدند [۲۰].

IC50 در روش مهار رادیکال آزاد DPPH به غلظتی اطلاق می‌شود که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار می‌شوند. لذا هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان‌دهنده این واقعیت است که عصاره مورد نظر فعالیت ضدرادیکالی بیشتری دارد. مقایسه میانگین IC50 برای عصاره‌ی بتاکاروتون و ضداسایش سنتزی BHT در روش مهار رادیکال آزاد مقادیر IC50 (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌ها، و ضداسایش سنتزی BHT در جدول ۱ مشخص شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، بین تیمارهای حاوی ضداسایش طبیعی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P<0.05$ ).

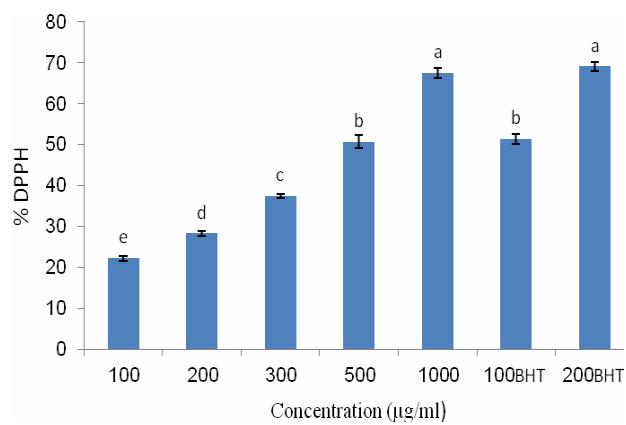
**Table 1** Comparison of the average of IC50 for different  $\beta$ -carotene extract and synthetic BHT antioxidant in free radical scavenging method

Treatment	IC50 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
The ethanol extract	594.24 $\pm$ 12.23
BHT	99.52 $\pm$ 3.52

### ۲-۲-۳- قدرت احیاکنندگی یون آهن III

در این پژوهش، قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) توسط غلظت‌های مختلف عصاره استخراجی از کدو‌حلوایی (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ پی‌پی‌ام) به عنوان شاخصی از فعالیت ضداسایشی عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۲). گستره‌ی غلظت عصاره‌ی مورد استفاده در این آزمون ۱۰۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود و نتایج با قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) و ضداسایش سنتزی BHT مقایسه گردید. نتایج آنالیز آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه قدرت احیاء کنندگی یون آهن (III) غلظت‌های مختلف عصاره و ضداسایش سنتزی BHT را نشان می‌دهد که بین تیمارهای مختلف غلظت عصاره‌ی کدو‌حلوایی و ضداسایش سنتزی BHT اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P<0.05$ ). کمترین قدرت احیاکنندگی آهن (III) مربوط به نمونه شاهد (۰/۳۱) و بیشترین قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) مربوط به غلظت ۲۰۰ BHT200 (۰/۹۴) بود. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بتاکاروتون تفاوت معنی‌داری با ضداسایش سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ نداشت که نشان از قدرت بالای بتاکاروتون در احیاکنندگی یون آهن (III) می‌باشد ( $P>0.05$ ).

در این پژوهش گستره‌ی غلظت مورد آزمون ۱۰۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بر اساس نتایج آنالیز آماری تجزیه واریانس توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره کدو‌حلوایی نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P<0.05$ ). طبق نتایج گزارش شده در شکل ۱، میزان فعالیت گیرندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش میزان غلظت عصاره افزایش می‌یابد. به طوری که بالاترین درصد به دام اندازی رادیکال آزاد در غلظت BHT200 میلی‌گرم در لیتر ضداسایش سنتزی می‌باشد. در این تحقیق درصد مهار رادیکال DPPH برای BHT نیز برآورد شد که میزان فعالیت گیرندگی رادیکال‌های آزاد BHT200 عصاره کدو‌حلوایی در غلظت ۱۰۰۰ از ضداسایش سنتزی تفاوت معنی‌داری ندارد ( $P>0.05$ ) و نشان‌دهنده قدرت ضداسایشی بالای این عصاره می‌باشد.



**Fig 1** The mean comparison of inhibition of free radical DPPH at different concentrations of the pumpkin extract and synthetic BHT antioxidant; the same letters in each bar represent no significant difference in the level of 5%.

نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات دیگر مطابقت دارد رضایی ارمی (۱۳۹۰) درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره برگ گرد و واریته‌ی تویسرکانی را مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره درصد مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش می‌یابد. برخی از محققان گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می‌یابد [۲۸-۲۵].

داشته باشد، هرچه این غلظت کمتر باشد بیانگر فعالیت ضدآکسایشی بالاتر است. به طورکلی روش احیاء آهن (III) به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون دهی نیز به کار می‌رود [۲۵]. مقادیر IC<sub>50</sub> (میکروگرم در میلیلیتر) عصاره و ضدآکسایش سنتزی BHT در جدول ۲ مشخص شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، بین عصاره BHT استخراجی از کدو‌حلوایی و ضدآکسایش سنتزی BHT اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P<0.05$ ).

**Table 2** Comparison of the average of IC<sub>50</sub> for different  $\beta$ -carotene extract and synthetic BHT antioxidant in ferric to ferrous ion reduction power method

Treatment	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
The ethanol extract	99.20 $\pm$ 4.21
BHT	23.56 $\pm$ 1.84

#### ۴-۳- ارزیابی زمان پایداری اکسیداتیو توسط

##### آزمون رنسیمت<sup>۱</sup>

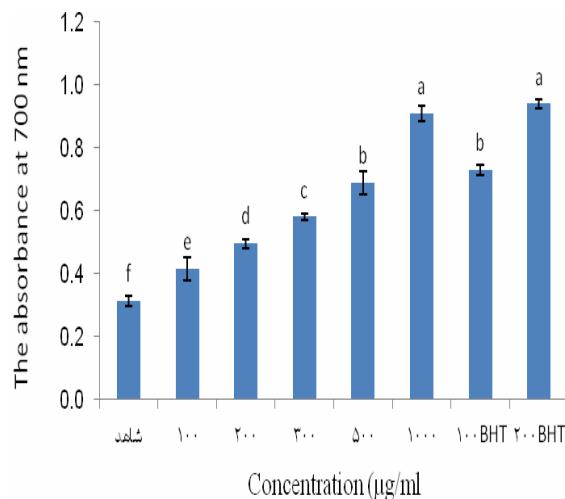
آزمون رنسیمت بر اساس تغییرات ضریب هدایتی آب دیونیزه پس از جمع‌آوری اسیدهای آلی فرار تولیدشده در مرحله نهایی فرایند اکسیداسیون تسریع شده در روغن، استوار است [۲۹، ۳۰]. عصاره‌های حاصل از حلال در پنج سطح ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به همراه ضدآکسایش سنتزی BTH در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد توسط آزمون رنسیمت مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۳ مقادیر زمان پایداری اکسیداتیوی تیمارهای مختلف را در پنج سطح ۱۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۳۰۰، ۱۰۰، پی‌پی‌ام را نشان می‌دهد که با توجه به آن می‌توان گفت که ضدآکسایش سنتزی در هر دو سطح پایداری اکسیداتیوی بالاتری نسبت به عصاره‌ی بتاکاروتون داشت. روند پایداری اکسیداتیوی غلظت‌ها به ترتیب زیر می‌باشد (شکل ۳):

ضدآکسایش سنتزی BTH200 > ضدآکسایش سنتزی BHT100 > غلظت ۱۰۰ > غلظت ۵۰۰ > غلظت ۳۰۰ > غلظت ۲۰۰ > غلظت ۱۰۰ > شاهد

1. Rancimat

اهدای الکترون یکی از مکانیسم‌های مهمی است که ترکیبات فنولی از طریق آن با تبدیل رادیکال‌های آزاد به فرم‌های غیر رادیکالی، باعث پایان دادن به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی می‌شوند. علاوه بر این، ترکیبات فنولی با اهدای الکترون به ترکیبات ضدآکسایشی اکسید شده مجدداً آنها را به فرم‌های فعال تبدیل می‌کنند [۲۱]. به همین دلیل افزایش غلظت ترکیبات فنولی در هر یک از عصاره‌ها قدرت احیای یون‌های آهن سه‌ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی افزایش می‌باید.

عربشاهی و عروج (۲۰۰۷)، میزان ترکیبات فنولی و ویژگی‌های ضدآکسایشی عصاره برگ شاه توت استخراجی توسط حلال‌های مختلف مانند مтанول، استون و آب را با آزمون‌های مهار رادیکال DPPH، ظرفیت ضدآکسایشی کل و آزمون قدرت احیاکنندگی مورد بررسی قرار دادند. عصاره مtanولی بالاترین میزان ترکیبات فنولی و همچنین بالاترین قدرت ضدآکسایشی را در کلیه آزمون‌های انجام شده به خود اختصاص داده است.



**Fig 2** Comparison of the average of reducing power of different concentrations of extracts and synthetic BHT antioxidant; the same letters in each bar represent no significant difference in the level of 5%.

#### ۴-۳- مقایسه میانگین IC<sub>50</sub> برای عصاره اتانولی و BHT در روش احیاکنندگی آهن

در روش قدرت احیاکنندگی، IC<sub>50</sub> به غلظتی از عصاره‌ها گفته می‌شود که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵

**Table 3** The oxidative stability time of soybean oil containing different concentrations of extracts and synthetic BHT antioxidant at the rancimat test

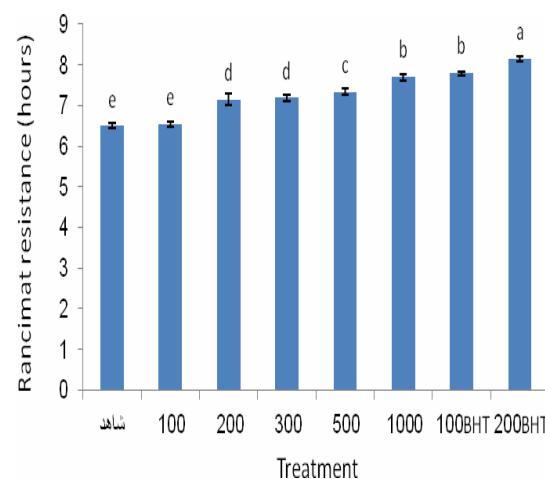
Treatment	Witness	100 ppm	200 ppm	300 ppm	500 ppm	1000 ppm	BHT 100	BHT 200
Rancimat resistance (%)	65±0.06 <sup>e</sup>	654±0.07 <sup>e</sup>	7.15±0.15 <sup>d</sup>	7.19±0.08 <sup>d</sup>	7.34±0.09 <sup>c</sup>	7.7±0.08 <sup>b</sup>	7.79±0.05 <sup>b</sup>	8.15±0.06 <sup>a</sup>

وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی و احیاکنندگی آنها افزایش می‌یابد. به همین ترتیب می‌توان کدوحلوایی را به عنوان منبعی گیاهی که دارای اثر ضد اکسایشی است معرفی نمود و این اثر را می‌توان به ترکیبات زیست فعال موجود در آن مخصوصاً بتاکاروتون دانست.

## ۵- منابع

- [1] Pokorný, J., Korczak, J. 2001. Preparation of natural antioxidants, Antioxidants in food: practical application. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. 311-341.
- [2] Podśdek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review, LWT-Food Science and Technology. 40, 1-11.
- [3] Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M. A., Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*, Plant Foods for Human Nutrition. 63, 183-188.
- [4] Pourmorad, F., Hosseiniemehr, S., Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, African journal of biotechnology. 5.
- [5] Terao, J. 1989. Antioxidant activity of  $\beta$ -carotene-related carotenoids in solution, Lipids. 24, 659-661.
- [6] Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile, Food Chemistry. 89, 27-36.
- [7] Zhou, K., Yu, L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation, LWT-Food Science and Technology. 37, 717-721.
- [8] Nor, F. M., Mohamed, S., Idris, N. A., Ismail, R. 2008. Antioxidative properties of *Pandanus amaryllifolius* leaf extracts in accelerated oxidation and deep frying studies, Food Chemistry. 110, 319-327.

زمان مورد نیاز جهت یک افزایش ناگهانی در ضربیب هدایتی که به علت تشکیل اسیدهای فرار رخ می‌دهد غالباً به عنوان شاخص پایداری اکسیداتیو تعیین می‌شود و مقیاسی تعریف شده جهت مقایسه پایداری روغن و چربی‌ها محسوب می‌شود. مطالعات انجام شده در این زمینه نشان دهنده این امر می‌باشد که همبستگی بالایی بین نتایج حاصل از آزمون رنسیمت و سایر روش‌های تحلیلی وجود دارد [۳۲, ۳۱]. شدت جریان هوا، وزن روغن و درجه حرارت پارامترهای مهم در این آزمون بوده که تأثیرات بارزی نیز در تعیین شاخص پایداری اکسیداتیو روغن دارند [۳۳].



**Fig 3** The oxidative stability time of soybean oil; the same letters in each bar represent no significant difference in the level of 5%.

## ۴- نتیجه گیری

هدف از این پژوهش، استخراج بتاکاروتون کدوحلوایی (*C.moschata*) توسط حلال و بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی بود. نتایج آنالیز واریانس ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی کدوحلوایی توسط آزمون‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی و رنسیمت نشان داد. غلظت عصاره‌ها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت ضد رادیکالی و ضد اکسایشی دارند. نتایج حاکی از آن بود که توانایی عصاره‌ها

- different solvents on antioxidant activity in oxidative stability of sunflower oil.
- [20] Salehi, F., Kashaninejad, M., Akbari, E., Sobhani, S. M., Asadi, F. 2016. Potential of Sponge Cake Making using Infrared–Hot Air Dried Carrot, *Journal of texture studies*. 47, 34-39.
- [21] Zou, Q., Opara, L. U., McKibbin, R. 2006. A CFD modeling system for airflow and heat transfer in ventilated packaging for fresh foods: I. Initial analysis and development of mathematical models, *Journal of Food Engineering*. 77, 1037-1047.
- [22] Dai, J., Mumper, R. J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*. 15, 7313-7352.
- [23] Musa, K. H., Abdullah, A., Kuswandi, B., Hidayat, M. A. 2013. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity, *Food Chemistry*. 141, 4102-4106.
- [24] Moreno, S. C. 2002. Methods used to evaluate free radical scavenging activity in food and biological system, *Food Sci Tech Int*. 8, 122.
- [25] Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves, *Food Chemistry*. 102, 1233-1240.
- [26] Alothman, M., Bhat, R., Karim, A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents, *Food Chemistry*. 115, 785-788.
- [27] Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves, *Food and Chemical Toxicology*. 49, 2689-2696.
- [28] Liu, Q., Yao, H. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts, *Food Chemistry*. 102, 732-737.
- [29] Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., Valenzuela, A. 1996. Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73, 1033-1037.
- [30] García-Moreno, P. J., Pérez-Gálvez, R., Guadix, A., Guadix, E. M. 2013. Influence of the parameters of the Rancimat test on the [9] Saeleaw, M., Schleining, G. Composition, physicochemical and morphological characterization of pumpkin flour. in: Proceeding of the 11th International Congress on Engineering and Food, 2011, pp. 10-13.
- [10] Rakcejeva, T., Galoburda, R., Cude, L., Strautniece, E. 2011. Use of dried pumpkins in wheat bread production, *Procedia Food Science*. 1, 441-447.
- [11] Tamer, C. E., Incedayi, B., YÖNEL, S., Yonak, S., ÇOPUR, Ö. U. 2010. Evaluation of several quality criteria of low calorie pumpkin dessert, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 38, 76.
- [12] Guiné, R. P., Barroca, M. J. 2011. Effect of drying on the textural attributes of bell pepper and pumpkin, *Drying Technology*. 29, 1911-1919.
- [13] Ghaboos, S. H. H., Ardabili, S. M. S., Kashaninejad, M., Asadi, G., Aalami, M. 2016. Combined infrared-vacuum drying of pumpkin slices, *Journal of food science and technology*. 1-9.
- [14] Wingqvist, A. 2011. Extraction, Isolation and Purification of  $\beta$ -carotene.
- [15] Mustafa, A., Trevino, L. M., Turner, C. 2012. Pressurized hot ethanol extraction of carotenoids from carrot by-products, *Molecules*. 17, 1809-1818.
- [16] Pereira, R. P., Fachinetto, R., de Souza Prestes, A., Puntel, R. L., da Silva, G. N. S., Heinzmann, B. M., Boschetti, T. K., Athayde, M. L., Bürger, M. E., Morel, A. F. 2009. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*, *Neurochemical Research*. 34, 973-983.
- [17] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40, 945-948.
- [18] Yildirim, A., Mavi, A., Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 4083-4089.
- [19] Ghaderi, G. M., Alami, M., Sadeghi, M. A., Azizi, M., Ghorbani, M. 2012. Effects of phenolic compounds extraction from acorn fruit's (*quercus branti* var *persica* lindl.) with

- determination of oxidative stability in canola oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 80, 59-63.
- [33] Farhoosh, R. 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 84, 205-209.
- determination of the oxidative stability index of cod liver oil, *LWT-Food Science and Technology*. 51, 303-308.
- [31] Coppin, E. A., Pike, O. A. 2001. Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78, 13-18.
- [32] Broadbent, C. J., Pike, O. A. 2003. Oil stability index correlated with sensory

## Investigation of the antioxidant properties of $\beta$ -carotene extracted from pumpkin

Shakeri nia, M. <sup>1</sup>, Hosseini Ghaboos, S. H. <sup>2\*</sup>

1. Graduated MSc Student, Department of Food Science and Engineering, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr , Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr , Iran

(Received: 2016/09/11 Accepted: 2017/06/18)

Pumpkin flour for desirable flavor, high  $\beta$ -carotene, water soluble vitamins and appropriate color can be used in a variety of foods. The aim of this study was to evaluate the antioxidant properties and thermal resistance of  $\beta$ -carotene extracted from pumpkin.  $\beta$ -carotene was extracted by the acetone and petroleum ether solvents. Antioxidant activity of  $\beta$ -carotene was studied using three methods of free radical scavenging test DPPH, reducing power and rancimat. The results showed that all doses of extract could slow the oxidation process and between all treatments concentration of 1000 ppm showed highest antioxidant extracts rather than other concentrations and in some cases, had equal potency with the synthetic BHT antioxidant. The lowest reducing power of iron (III) was for control samples (0.31) and the highest reducing power of iron ions (III) corresponded to the BHT200 concentration (0.94). The concentration of 1000 ppm  $\beta$ -carotene extract was not significantly different from synthetic BHT antioxidant at a concentration of 200 that illustrate the strength of  $\beta$ -carotene extracts in reducing iron (III) ions ( $P>0/05$ ). The results of this study were showed the high heat resistance of antioxidant compounds. Thus, the extracted  $\beta$ -carotene from pumpkin can be introduced as a source of natural antioxidants to replace synthetic antioxidants.

**Keywords:** Antioxidant activity,  $\beta$ -carotene, pumpkin.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: Hosseinighaboos@yahoo.com