

## بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی بتاکاروتن استخراج شده از کدو حلوایی

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

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاداسلامی، آزادشهر، ایران

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

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

### چکیده

آرد کدو حلوایی 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 ضداکسایشی و مقاومت حرارتی بتاکاروتن استخراج شده از کدو حلوایی می‌باشد. بتاکاروتن توسط حلال‌های استون و پترولیوم اتر استخراج شد. فعالیت ضداکسایشی 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 ضداکسایشی را نسبت به غلظت‌های دیگر داشته و در مواردی قابلیت برابری را با ضداکسایش سنتزی BHT داشته است. کمترین قدرت احیاء کنندگی آهن (III) مربوط به نمونه شاهد (۰/۳۱) و بیشترین قدرت احیاء کنندگی یون آهن (III) مربوط به غلظت BHT200 (۰/۹۴) بود. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بتاکاروتن تفاوت معنی‌داری با ضداکسایش سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ نداشت که نشان از قدرت بالای بتاکاروتن در احیاء کنندگی یون آهن (III) می‌باشد ( $P > 0/05$ ). نتایج این تحقیق حاکی از مقاومت حرارتی بالای ترکیبات ضداکسایشی بود. بنابراین بتاکاروتن استخراج شده از کدو حلوایی را می‌توان به عنوان یک منبع ضداکسایش طبیعی جهت جایگزینی با ضداکسایش سنتزی معرفی کرد.

کلید واژگان: کدو حلوایی، بتاکاروتن، فعالیت ضداکسایشی

\*مسئول مکاتبات: Hosseinighaboos@yahoo.com

## ۱- مقدمه

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

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

گزارش‌ها حاکی از آن است که کاروتنوئیدها به دلیل وجود تعداد زیاد پیوندهای دوگانه در ساختار شیمیایی خود، نقش ضداکسایشی قوی دارند که از طریق به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و یا خنثی کردن اکسیژن یگانه در فاز چربی اعمال می‌کنند. کاروتنوئیدهای هیدروکربنی (آلفاکاروتن، بتاکاروتن، لیکوپن)، گزانتوفیل‌های مونوهیدروکسی (بتا کریپتوزانتین)، و گزانتوفیل‌های دی هیدروکسی (لوتین و زئازانتین) انواع

مهمتری از کاروتنوئیدها می‌باشند. و نقش مهمتری در سلامتی انسان‌ها دارند [۵].

روش‌های متعددی برای ارزیابی ویژگی‌های ضداکسایشی وجود دارد که غالباً محققین برای اطمینان از صحت داده‌ها، از چندین روش به طور همزمان استفاده می‌نمایند. مهار رادیکال DPPH<sup>•</sup>: روشی سریع و ساده است که استفاده گسترده‌ای جهت تعیین و بررسی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهی دارد. رادیکال DPPH یکی از معدود رادیکال‌های پایدار نیتروژن آلی چربی‌دوست است که به رنگ بنفش می‌باشد. در این روش به منظور بررسی پتانسیل ضداکسایشی 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 ضداکسایش 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 ضداکسایشی 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 اسپکتوفتومتر تعیین می‌شود [۷، ۸].

کدو حلوایی به جنس *Cucurbita* از خانواده *Cucurbitaceae* تعلق دارد که در تمام کشورهای گرمسیری استوایی و نزدیک استوا رشد می‌کنند [۹] و بر اساس بافت و شکل ساقه‌اش گروه‌بندی می‌شوند [۱۰]. این میوه منبع خوبی از کاروتن، ویتامین‌های محلول در آب و اسیدهای آمینه می‌باشد که موجب نقش مهم کدو حلوایی در سلامتی انسان گردیده است. در واقع طیف وسیعی از مواد لیپوفیلیک (چربی‌دوست) چون کاروتنوئیدهای موجود در انواع کدو حلوایی می‌تواند به طور قابل توجهی به دریافت پیش ساز ویتامین A و مخصوصاً لوتین، یک کاروتنوئیدی با وظایف فیزیولوژیکی خاص، کمک نماید. رنگ زرد تا نارنجی گوشت کدو حلوایی از این گروه از مواد ناشی می‌شود [۱۱، ۱۲].

بررسی منابع حاکی از این است که تا کنون مطالعه‌ای در خصوص مقایسه‌ی فعالیت ضداکسایشی عصاره بتاکاروتنی استخراج شده با استفاده از حلال استون از کدو حلوایی با

1. Butylated hydroxyl anisole
2. Butylated hydroxyl toluene
3. Tetra-butyl hydroquinone
4. Propyl gallate

5. 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
6. Ferric ion reducing antioxidant power

### ۲-۳- محاسبه بازده استخراج

حلال موجود در عصاره‌ی اتانولی توسط دستگاه تبخیرکننده 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.

### ۲-۴- تهیه غلظت‌های مختلف از بتاکاروتن

#### استخراجی کدوخلوایی

۰/۱ گرم نمونه را برداشته و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با استفاده از الکل ۷۰ درصد می‌رسانیم که به این محلول استاندارد گفته و بقیه غلظت‌ها از روی آن تهیه می‌شود (۱۰۰۰ ppm). از این غلظت مقدار ۵ میلی‌لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر اتانول رسانده شد (غلظت ۵۰۰ ppm). از این غلظت ۳ میلی‌لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد (۳۰۰ ppm). از این غلظت ۲ میلی‌لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد (غلظت ۲۰۰ ppm). در نهایت از این غلظت ۱ میلی‌لیتر برداشته و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد (غلظت ۱۰۰ ppm).

### ۲-۵- بررسی فعالیت ضداکسایشی بتاکاروتن

#### استخراجی با آزمون‌های متفاوت

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

جهت تعیین فعالیت ضداکسایشی بتاکاروتن استخراجی از کدوخلوایی با استفاده از رادیکال DPPH طبق روش بیوس، یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH، به ۳ میلی‌لیتر از محلول متانولی عصاره در غلظت‌های مختلف (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ ppm) در یک لوله آزمایش اضافه و توسط شیکر لوله (IKA مدل 2/4-MTS 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 اسپکتوفتومتر (CECIL مدل Aquarius) قرائت و ثبت شد. برای شاهد به جای عصاره ۳ میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۷۰ درصد به ۱ میلی‌لیتر DPPH اضافه شد. همه اندازه‌گیری‌ها ۳ بار تکرار شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

ضداکسایشی سنتزی انجام نشده است. لذا در این پژوهش ویژگی‌های ضداکسایشی بتاکاروتن استخراجی از کدوخلوایی بررسی شده است.

### ۲- مواد و روش‌ها

#### ۲-۱- تهیه و آماده‌سازی کدوخلوایی

کدوخلوایی از میوه‌فروشی تهیه شد و بعد از پوست‌گیری و جدا کردن قسمت داخلی آن را به قطعات کوچک با قطر ۰/۵ سانتی‌متر خرد می‌کنیم و آن‌ها را در آن ۶۰ درجه (Memmert مدل UMB400 آلمان) قرار داده شد و بعد از خشک شدن آن‌ها را توسط آسیاب برقی (Moulinex مدل AR-1043 فرانسه) آسیاب کرده و تا زمان استفاده آن‌ها را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد 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 لایه‌ی نارنجی رنگ در سطح آن دهد. مایع روایی که حاوی بتاکاروتن و گزانتوفیل 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. دولاپی‌تری در بالا و استون در پایین تشکیل شد. لایه زیری که استون و آب بود جدا و لایه‌ی روایی که شامل پترولیوم اتر و بتاکاروتن و گزانتوفیل بود، نگه داشته شد. چندین بار این لایه با جریان ضعیف آب شستشو داده شد و آب زیری را خارج گردید. سپس به لایه‌ی پترولیوم اتر به اندازه حجم خودش متانول ۸۵ درصد اضافه گردید و دکانتور را خوب تکان داده شد که مقداری تولید گاز کند که با احتیاط گاز آن خارج گردید. کاروتن در پترولیوم اتر و گزانتوفیل در متانول باقی ماند. سپس توسط تبخیرکننده چرخان، حلال را در دمای حداکثر ۵۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد تا عصاره تغلیظ شود و سپس به آن اتانول ۹۵ درصد اضافه گردید تا در آن حل شود و داخل یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد 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. به‌طور 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 بتاکاروتن از کدوخلوبی به دست آمد نشان داد که با استفاده از ۱۰۰ گرم کدوی پودر شده ۰/۰۹ گرم بتاکاروتن 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 پیچیده‌ای 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 سه‌ظرفیتی و مهار رادیکال آزاد DPPH در مقایسه با ضداکسایش سنتزی BHT استفاده شد.

#### ۳-۲-۱- توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

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].

$$100 \times (AC-AS)/AC = \text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد}$$

در فرمول فوق AS و AC، به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند [۱۶، ۱۷].

#### ۲-۵-۲- اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی به روش

##### قدرت احیاء کنندگی

توانایی عصاره‌ها برای احیاء یون‌های آهن سه‌ظرفیتی 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 آنتی‌اکسیدان 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.

#### ۲-۶- آزمون تعیین پایداری روغن سویا در

##### برابر اکسیداسیون (پایداری اکسیداتیو) (روش

##### رنسیمت)

تعیین پایداری اکسیداسیونی روغن‌ها به وسیله‌ی 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 [19].

#### ۲-۷- 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 ضد رادیکالی بیشتری دارد. مقایسه میانگین IC50 برای عصاره‌ی بتاکاروتن و ضد اکسایش سنتزی BHT در روش مهار رادیکال آزاد مقادیر IC50 (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره‌ها، و ضد اکسایش سنتزی BHT در جدول ۱ مشخص شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، بین تیمارهای حاوی ضد اکسایش طبیعی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

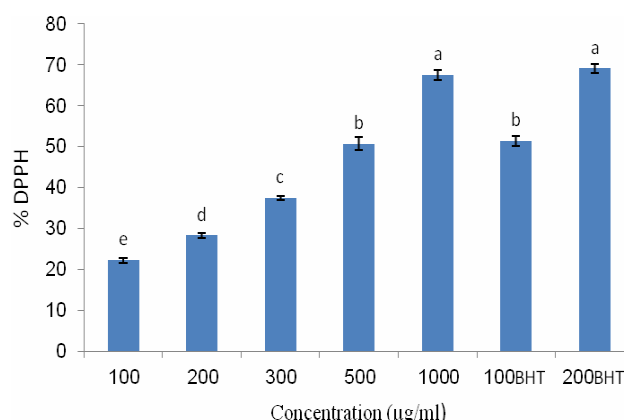
**Table 1** Comparison of the average of IC50 for different  $\beta$ -carotene extract and synthetic BHT antioxidant in free radical scavenging method

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

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

در این پژوهش، قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) توسط غلظت‌های مختلف عصاره استخراجی از کدو حلوایی (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به عنوان شاخصی از فعالیت ضد اکسایشی عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۲). گستره‌ی غلظت عصاره‌ی مورد استفاده در این آزمون ۱۰۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود و نتایج با قدرت احیاکنندگی یون آهن (III) و ضد اکسایش سنتزی BHT مقایسه گردید. نتایج آنالیز آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه قدرت احیاء کنندگی یون آهن (III) غلظت‌های مختلف عصاره و ضد اکسایش سنتزی BHT را نشان می‌دهد که بین تیمارهای مختلف غلظت عصاره‌ی کدو حلوایی و ضد اکسایش 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 BHT200 (۰/۹۴) بود. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بتاکاروتن تفاوت معنی‌داری با ضد اکسایش سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ نداشت که نشان از قدرت بالای بتاکاروتن در احیاکنندگی یون آهن (III) می‌باشد ( $P > 0.05$ ).

در این پژوهش گستره‌ی غلظت مورد آزمون ۱۰۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بر اساس نتایج آنالیز آماری تجزیه واریانس توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره کدو حلوایی 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 ضد اکسایش سنتزی می‌باشد. در این تحقیق درصد مهار رادیکال DPPH برای BHT نیز برآورد شد که میزان فعالیت گیرندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌ی کدو حلوایی در غلظت ۱۰۰۰ از ضد اکسایش سنتزی تفاوت معنی‌داری ندارد ( $P > 0.05$ ) و نشان‌دهنده قدرت ضد اکسایشی 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 گردو واریته ی توپسرکانی 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 [۲۵-۲۸].

داشته باشد، هرچه این غلظت کمتر باشد بیانگر فعالیت ضداکسایشی بالاتر است. به‌طورکلی روش احیاء آهن (III) به عنوان معیاری برای قابلیت الکترون دهی نیز به کار می‌رود [۲۵]. مقادیر IC50 (میکروگرم در میلی‌لیتر) عصاره و ضداکسایش سنتزی BHT در جدول ۲ مشخص شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، بین عصاره استخراجی از کدوخلوبی و ضداکسایش سنتزی BHT اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ).

**Table 2** Comparison of the average of IC50 for different  $\beta$ -carotene extract and synthetic BHT antioxidant in ferric to ferrous ion reduction power method

Treatment	IC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )
The ethanol extract	99.20 $\pm$ 4.21
BHT	23.56 $\pm$ 1.84

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

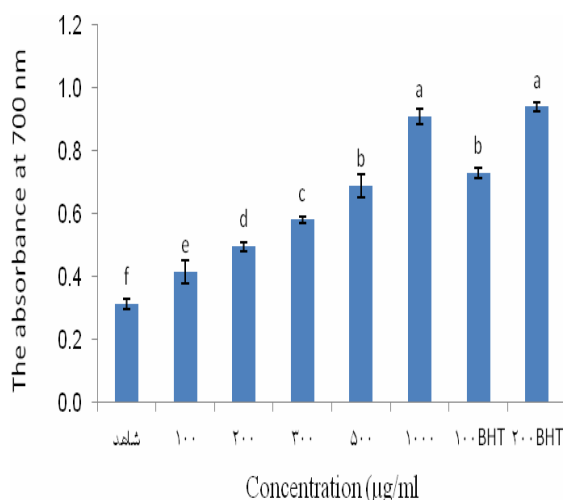
#### آزمون رنسیمت<sup>۱</sup>

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، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به همراه ضداکسایش سنتزی BHT در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد توسط آزمون رنسیمت مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۳ مقادیر زمان پایداری اکسیداتیو تیمارهای مختلف را در پنج سطح ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام را نشان می‌دهد که با توجه به آن می‌توان گفت که ضداکسایش سنتزی در هر دو سطح پایداری اکسیداتیو بالاتری نسبت به عصاره بتاکاروتن داشت. روند پایداری اکسیداتیو غلظت‌ها به ترتیب زیر می‌باشد (شکل ۳):

ضداکسایش سنتزی BHT200 < ضداکسایش سنتزی BHT100 < غلظت ۱۰۰۰ < غلظت ۵۰۰ < غلظت ۳۰۰ < غلظت ۲۰۰ < غلظت ۱۰۰ شاهد

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 ضداکسایشی 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 می‌یابد.

عربشاهی و عروج (۲۰۰۷)، میزان ترکیبات فنولی و ویژگی‌های ضداکسایشی عصاره برگ شاه توت استخراجی توسط حلال‌های مختلف مانند متانول، استون و آب را با آزمون‌های مهار رادیکال DPPH، ظرفیت ضداکسایشی کل و آزمون قدرت احیاکنندگی مورد بررسی قرار دادند. عصاره متانولی بالاترین میزان ترکیبات فنولی و همچنین بالاترین قدرت ضداکسایشی 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%.

### ۳-۳- مقایسه میانگین IC50 برای عصاره

#### اتانولی و BHT در روش احیاکنندگی آهن

در روش قدرت احیاکنندگی، IC50 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

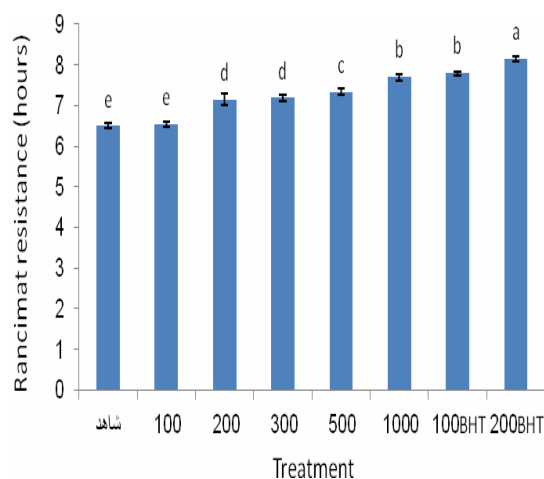
Treatment	Witness	100 ppm	200 ppm	300 ppm	500 ppm	1000 ppm	BHT 100	BHT 200
Rancimat resistance (%)	65±006 <sup>e</sup>	654±007 <sup>e</sup>	7.15±0.15 <sup>d</sup>	7.19±0.08 <sup>d</sup>	7.34±0.09 <sup>c</sup>	7.7±0.08 <sup>b</sup>	7.79±0.05 <sup>b</sup>	8.15±0.06 <sup>a</sup>

وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی و احیاکنندگی آن‌ها افزایش می‌یابد. به همین ترتیب می‌توان کدوخلوایی 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 بتاکاروتن 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] Podsędek, 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., Hosseinimehr, 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 ضریب 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 نشان‌دهنده این امر می‌باشد که همبستگی بالایی بین نتایج حاصل از آزمون رنسیمت و سایر روش‌های تحلیلی وجود دارد [۳۱، ۳۲]. 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 بتاکاروتن کدوخلوایی (*C.moschata*) توسط حلال و بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی بود. نتایج آنالیز واریانس ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی کدوخلوایی 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., Fachineto, 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