نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۸، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، ص. ۱۵-۹

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 8, No. 1, 2012, p. 9-15

نقش تیمار اتانولی و آنزیم پکتیناز بر راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات صنایع تبدیلی گوجه فرنگی

آزاده رنجبر[1*]- یحیی مقصودلو[2] – محمد قربانی[3]- علیرضا صادقی ماهونک[4]

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۲
تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۲۴

چکیده

لیکوپن کاروتنوئید عمده گوجه فرنگی و ترکیب رنگ دهنده و آنتی اکسیدان است که امروزه سعی در افزایش دستیابی به آن از طریق گوجه فرنگی و فرآورده های آن می باشد. در این تحقیق جهت استخراج لیکوپن از تیمار اتانولی ۹۴٪ در دمای ^{o}C ۶۰ به مدت ۵ ثانیه و تیمار آنزیمی پکتیناز غلظتهای ml/kg ۲ تا ۱۰ در زمانهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه و گرمخانه گذاری در دمای ^{o}C ۵۵ ، استفاده شد. تحت این شرایط غلظت لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین در تیمار با آنزیم به تنهایی ۲۷۹/۵۰۳ میلی گرم است در حالیکه در نمونه های تیمار شده با آنزیم و اتانول این مقدار برابر با ۱۶۰/۸۷ میلی گرم بود. راندمان استخراج لیکوپن از ۱۰۰ گرم نمونه نیز به ترتیب برابر با ۰/۱۱۳۶۰۹ و ۰/۰۸۹۴۷۸ میلی گرم بود. به طور کلی، در این تحقیق نشان داده شد که در مورد ضایعات صنعتی گوجه فرنگی، تیمار آنزیمی بدون تیمار اتانولی، برای افزایش میزان خلوص لیکوپن مناسب تر است.

واژه‌های کلیدی: خلوص لیکوپن، اولئورزین، ضایعات گوجه فرنگی، آنزیم پکتیناز، تیمار اتانولی

مقدمه[1]

داشتن رنگ مطلوب در فرآورده‌های مختلف غذایی از نظر مصرف‌کننده نشانه فرآیند مناسب تولید و کیفیت مطلوب محصول است. به همین دلیل استفاده از رنگدانه‌های سنتزی یا طبیعی در صنایع غذایی رواج دارد. اما امروزه به دلیل نگرانی‌ها از مصرف رنگهای سنتزی و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از منابع طبیعی رنگی، توجه به سمت استفاده از رنگدانه‌های طبیعی جلب شده است(Delgado-Vargas, F., and Paredes-López Andreeva, O, 2003؛ Socaciu, C, 2008). در این بین کاروتنوئیدها به دلیل پراکندگی وسیعشان در منابع حیوانی و گیاهی و همچنین داشتن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و زیست‌فعالی، کاربرد وسیعی در رنگ‌دهی به مواد غذایی دارند. از جمله کاروتنوئیدهایی که به عنوان رنگ‌دهنده مصرف بیشتری دارند، می توان به بتاکاروتن، لوتئین، زئازانتین و لیکوپن اشاره نمود (Socaciu, C, 2008).

در سالهای اخیر نشان داده شده است که در کنار قدرت خنثی کردن اکسیژن یگانه (Soni, J, 2003) و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی نسبت به بتاکاروتن (دو برابر بتاکاروتن) و آلفا توکوفرول (در برابر آلفاتوکوفرول) (Shi , J. *et al*., 1999؛ Sahlin , E. *et al*., 2004)، لیکوپن قادر به جلوگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی و انواع سرطان‌های ویژه از جمله پروستات، ریه و معده می‌باشد (Ausich, R. L., and Sanders, D. J, 1997). لذا حضور آن در رژیم غذایی مهم می‌باشد.

از جمله مهمترین منابع لیکوپن گوجه‌فرنگی است. لیکوپن در گوجه‌فرنگی رنگدانه غالب بوده و بسته به واریته ۹۸- ۶۵٪ وزنی کل کاروتنوئیدهای موجود در گوجه‌فرنگی را به خود اختصاص می‌دهد (Socaciu, C, 2008؛ Shi, J, 2001). امروزه به دلیل اهمیت مدیریت ضایعات در صنایع غذایی، توجه به سمت استفاده مجدد از ضایعات صنایع تبدیلی و افزایش ارزش افزوده آنها و استحصال ترکیبات اولیه برای سایر بخشهای صنایع غذایی رو به افزایش است. لذا با توجه به توضیحات داده شده، می‌توان به امکان استخراج

۱- دانشجوی دکتری تکنولوژی مواد غذایی دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: Email: aranjbar5264@gmail.com)
۲- دانشیار دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳و۴- استادیاران دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

رنگدانه بسیار با ارزش لیکوپن از پوست و ضایعات گوجه‌فرنگی و بهینه سازی روشهای موجود بر روی گوجه‌فرنگی های کاشته شده در اقلیم ایران پرداخت.

لیکوپن را می توان در هندوانه، هلو، پاپایا، گاوا، گریپ فروت صورتی، هویج، فلفل و تعداد زیادی از میوه جات و سبزیجات قرمز یافت. اما مهمترین منبع لیکوپن، گوجه فرنگی و فرآورده های غذایی حاصل از آن است که مقدار لیکوپن در آنها بیش از ۶۰٪ کاروتنوئیدهای موجود را تشکیل می دهد(Jannat M., *et al*., 2007 ؛ Lavecchia, R., and Zuorro, A, 2008). لیکوپن به طور غالب در کلروپلاست بافت گیاه وجود دارد و بیوسنتز آن در گوجه فرنگی در طول فرآیند رسیدن انجام می شود که طی آن کلروپلاست به کروموپلاست تبدیل می شود (Lavecchia, R., and Zuorro, A, 2008). به دلیل پنهان بودن لیکوپن در درون ساختارهای غشایی کلروپلاست و دشواری حلال در نفوذ به بافت فشرده در پوست گوجه فرنگی و حل کردن رنگدانه لیکوپن، راندمان استخراج این رنگدانه از پوست گوجه فرنگی پایین است(Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan, 2006). به همین دلیل از آنجا که دیواره سلولی از سلولز و پکتین تشکیل شده است، می توان با استفاده از آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی از قبیل سلولاز و پکتیناز، احتمال استفاده از آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی به عنوان ابزاری برای افزایش بازیابی لیکوپن از پوست گوجه فرنگی را بررسی نمود. از طرفی طبق مطالعات Shi , J. و همکاران در سال ۲۰۰۱، پوست و لایه پریکارپ گوجه رسیده حاوی تقریباً ۸۰٪ از کل مقدار لیکوپن موجود در گوجه رسیده می باشد(Zuorro, A., and Lavecchia, R, 2008). به همین دلیل در این مطالعه تمرکز بر استخراج لیکوپن از پوست گوجه فرنگی می باشد. در این باره Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan. (۲۰۰۶) به بررسی تیمار آنزیمی با سلولاز و پکتیناز و دستیابی به غلظت بهینه این آنزیمها در استخراج لیکوپن از گوجه فرنگی، پوست و ضایعات آن پرداختند. آنها به این نتیجه رسیدند که استفاده از آنزیم پکتیناز برای گوجه فرنگی کامل و پوست، و استفاده از آنزیم سلولاز در استخراج لیکوپن از ضایعات مناسب تر است. به طوریکه آنزیم پکتیناز باعث افزایش راندمان استحصال لیکوپن به میزان ۲۰۶٪ (۱۱۰۴ میکروگرم در هر گرم نمونه) از پوست گوجه فرنگی می شود(Lavecchia, R., and Zuorro, A, 2008). همچنین Zuorro, A., and Lavecchia, R. (۲۰۰۸) از پیش تیمار آنزیمی سلولاز، پکتیناز و همی سلولاز برای افزایش راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه فرنگی استفاده کردند. آنها بعد از تیمار یک ساعته با آنزیمهای ذکرشده، عمل استخراج با هگزان:اتانول:استون از پوست خشک شده گوجه فرنگی را انجام داده و توانستند میزان ۴۴۰ میلی گرم لیکوپن را از ۱۰۰ میلی گرم نمونه استخراج نمایند(Shi , J. ,2001 ؛ Socaciu, C, 2008). بورتلیک و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ از یک مرحله شستشو با اتانول جوشان حاوی ۲۸٪ آب قبل از انجام استخراج لیکوپن از گوجه فرنگی استفاده نمودند (Sadler G., *et al*., 1990).

با توجه به مطالعات انجام شده، در حال حاضر متن انتشار یافته ای در مورد استفاده همزمان پکتیناز و اتانول در استخراج لیکوپن از ضایعات صنایع تبدیلی گوجه فرنگی موجود نمی باشد. علاوه بر این، با توجه به اینکه سطح ضایعات گوجه فرنگی بالاست و در مراحل برداشت ۵٪ و پس از برداشت ۱۵٪ از آن به صورت ضایعات در می آید، (شادان، ۱۳۸۵) و با توجه به اینکه بازدهی تولید در صنایع تبدیلی گوجه فرنگی در حدود ۹۰-۷۰ درصد است (مصباحی و همکاران، ۱۳۸۸) و حدود ۳۰٪ از گوجه فرنگی های وارد شده به صنایع تبدیلی در ایران به صورت ضایعات دور ریخته می شوند و مسئله دفع آنها برای کارخانجات دردسر ساز می باشد، در این مطالعه سعی شده است تا اثر شستشو با اتانول ۹۴٪ و تیمار آنزیمی در زمانهای مختلف قبل از انجام استخراج لیکوپن از گوجه فرنگی بر میزان حضور لیکوپن در اولئورزین استخراج شده از ضایعات گوجه فرنگی بررسی شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه از آنزیم پکتیناز Panzym BE شرکت Begrow ایتالیا استفاده شد. حلالهای به کار رفته نیز عبارت بودند از استون از ایران، اتانول از شرکت شیمیایی سینا فریمان، ایران و هگزان Scharlow کشور اسپانیا که خلوص آنها به ترتیب ۹۸، ۹۶ و ۹۸٪ بود.

تهیه ضایعات گوجه‌فرنگی و آماده‌سازی نمونه

نمونه‌برداری از ضایعات گوجه فرنگی، در طول یک فصل تولیدی کارخانه کامنوش واقع در تقی‌آباد استان گلستان در تابستان ۱۳۸۸ انجام‌شد. فاصله نمونه‌برداری‌ها یک هفته از آغاز تولید تا انتهای تولید بود. در هر نمونه‌برداری مقدار ۱۵- ۱۰ کیلوگرم ضایعات گوجه‌فرنگی تهیه می‌شد. بعد از هر نمونه‌برداری نمونه‌ها در فریزر $-18\ ^{o}C$ حداکثر به‌مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند تا مراحل بعد از نمونه برداری یعنی آنزیم‌زنی و پیش تیمار اتانولی و سپس خشک‌کردن روی آنها انجام شود. بعد از انجام پیش تیمارها و خشک کردن، نمونه‌های خشک شده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی درون پاکت کاغذی و در دمای $4\ ^{o}C$ نگهداری شدند. مدت زمان نگهداری در این دما تا زمان استخراج حداکثر ۴۸ ساعت بود.

ضایعات گوجه‌فرنگی از انتهای خط تولید جمع‌آوری شد. منظور از ضایعات کارخانجات رب گوجه فرنگی، مخلوط پوست، بذر و سایر قسمتهای گوجه فرنگی است که در انتهای خط باقی می ماند و در اینجا عمل استخراج بر روی پوستهای جدا شده از این تفاله انجام

شده است. برای جداکردن پوست ضایعات از بذر و سایر مواد همراه، از شناورسازی در آب و جمع‌آوری دستی پوست از سطح آب استفاده شد.

تعیین دامنه غلظت اثر آنزیم در ضایعات گوجه‌فرنگی

بر اساس نظر شرکت سازنده در دمای ^{o}C ۵۵، دارای غلظت بهینه ml/kg ۴۵–۲۵ و زمان اثر ۱ ساعت بود) به نمونه‌های پوست، ابتدا غلظت مناسب آنزیم برای آنها محاسبه شد. به‌این‌ترتیب که ابتدا غلظتهای ml/kg ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ از آنزیم به ۵ نمونه ۲ گرمی از پوست گوجه‌فرنگی اضافه‌شد. نحوه افزودن آنزیم به این ترتیب بود که مقادیر محاسبه شده از آنزیم مایع، در مقداری آب معادل با وزن نمونه‌ها حل و سپس به نمونه ها اضافه شد. بعد از این به‌ترتیب در زمانهای ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه از آنها نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها توسط کاغذصافی واتمن شماره ۲ صاف‌شده و به عصاره صاف شده به‌مقدار ۲:۱ (مایع صاف شده: مخلوط الکل– اسید کلریدریک) از الکل: اسید کلریدریک با نسبت ۵:۹۵ به آرامی اضافه‌شد. سپس به مدت ۵ دقیقه به عصاره‌ها فرصت داده‌شد(شرکت نووزایم، ایتالیا). طی این فاصله هاله پکتین در نمونه‌هایی که آنزیم بر پکتین اثر نگذاشته‌بود مشاهده‌شد. هاله پکتین در اثر اسیدکلریدریک و اتانول به‌صورت نامحلول بر روی مایع جدا شده قرار می گیرد و به‌راحتی با چشم قابل مشاهده است. اگر پکتین توسط آنزیم به‌صورت محلول تبدیل شده باشد این هاله بسیار ضعیف و حتی نامعلوم خواهد بود. زیرا پکتین در اثر آنزیم از حالت نامحلول به حالت محلول تبدیل می‌شود. اما مقدار مورد نظر بسیار بالاتر از حد مورد نیاز بود. زیرا در مدت زمان بسیار کمی تمام پکتین به صورت نامحلول در می‌آمد. این نشان می دهد که مقدار پکتین موجود درضایعات بسیار کم است و برای شکستن آن نیاز به مقدار زیاد آنزیم وجود ندارد. به همین دلیل از مقادیر کمتر آنزیم برای آنزیم‌زنی استفاده شد و در انتها غلظت‌های ml/kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ به‌عنوان دامنه غلظت برای استفاده از آنزیم به‌کار برده‌شد. از طرفی زمان گرمخانه‌گذاری نیز ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه انتخاب‌شد.

۱۰۰ گرم از نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی، به ۵ قسمت مساوی ۲۰ گرمی تقسیم‌شدند. به هرکدام از نمونه های ۲۰ گرمی، غلظتهای ml/kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز اضافه‌شد و در دمای ^{o}C ۵۵ گرمخانه گذاری‌شدند. به‌منظور بررسی اثر زمان اثر آنزیم بر میزان استخراج لیکوپن، نمونه‌ها با فواصل زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه از گرمخانه خارج و بعد از آن آنزیم در ^{o}C ۹۵ به مدت ۵ دقیقه منعقد شد (Shi, J, 2001). سپس نمونه‌های آنزیم‌زنی شده به دو قسمت تقسیم‌شدند. یک قسمت به‌عنوان تیمار بدون اتانول در نظرگرفته و خشک شدند و قسمت دوم به‌مدت ۵ ثانیه در اتانول ۹۴٪ در دمای ^{o}C ۶۰ قرارداده‌شده و بعد از آن خشک شدند. فرآیند خشک‌کردن تمامی نمونه‌ها در آون تحت دمای ^{o}C ۴۰ تا رسیدن به رطوبت ثابت انجام‌شد.

فرآیند استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

بعد از خشک‌کردن تمامی نمونه‌های ذکرشده، به مقدار ۲ گرم از هر نمونه تهیه و در ظروف شیشه‌ای کاملاً بسته که با فویل آلومینیومی جهت جلوگیری از ورود نور کاملاً پوشیده شده‌بودند، ریخته‌شد. عمل استخراج توسط حلال استون: اتانول: هگزان (۱: ۱: ۲) به نسبت ۱: ۱۰ به روش Sadler G., *et al.*, (۱۹۹۰) و Shi , J. (۱۹۹۹) در دمای ^{o}C ۳۰ به‌همراه هم‌زدن آرام و به‌مدت ۱۶ ساعت انجام‌شد (Shi , J. *et al.*, 1999 ؛Sadler G., *et al.*, 1990). به‌منظور جلوگیری از اکسیداسیون لیکوپن در طول استخراج،از w/w ٪۰/۰۵ BHT استفاده‌شد. بعد از گذشت ۱۶ ساعت، نمونه‌ها توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴ که توسط اتانول اشباع‌شده‌بودند، صاف‌شدند. سپس به آنها به مقدار ۲۰٪ حجم حلال مورد استفاده، آب مقطر دیونیزه اضافه‌شد و نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه به‌حال خود باقی‌ماندند تا به دو فاز آلی و آبی تقسیم‌شود. فاز بالایی فاز غیر قطبی و حاوی لیکوپن و فاز پایینی فاز آبی می‌باشد که دور ریخته شده و فاز بالایی جهت استحصال لیکوپن جداسازی می‌شود (Sadler G., *et al.*, 1990؛ Shi, J. 2001). حلال توسط جریان هوا از ماده استخراجی جداشد. یک نمونه شاهد (بدون تیمار آنزیمی) نیز به همین ترتیب استخراج شد تا تفاوت بین مقدار الئورزین و لیکوپن مقایسه‌شود.

محاسبه مقدار اولئورزین

مقدار اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی بر اساس تفریق وزن لوله حاوی اولئورزین بعد از خشک‌شدن حلال، از وزن خالی همان لوله محاسبه‌شد.

محاسبه مقدار لیکوپن

روش استاندارد محاسبه لیکوپن، استفاده از اسپکتروفتومتر می باشد (Soni, J, 2003؛ Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan, 2006). جذب لیکوپن در هگزان دارای سه پیک در ^{nm}۴۴۵، ^{nm}۴۷۲، ^{nm}۵۰۳ می باشد که به منظور حداقل کردن دخالت سایر کاروتنوئیدها و اندازه گیری مقدار کل لیکوپن تمام ترانس، اندازه گیری در طول موج ^{nm}۵۰۳ (λ_{Max}) در حلال هگزان انجام شد (Choudhary, T.J. *et al.*, 2008؛ Soni, J, 2003). مقدار لیکوپن تمام ترانس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS PG Instruments Ltd ،T80) طبق فرمول زیر برحسب mg و با استفاده از ضریب خاموشی ویژه ($E_{1cm}^{1\%}$) محاسبه شد

(Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan, 2006):

$$\text{Lycopene (mg)} = A \times dil \times ml \times 10 / E_{1cm}^{1\%} \quad (۱)$$

که در آن A جذب محلول در کووت ۱ سانتی متر؛ dil فاکتور رقیق سازی؛ ml حجم نهایی نمونه؛ و $E_{1cm}^{1\%}$ ضریب خاموشی ویژه برای لیکوپن در هگزان و معادل ۳۴۵۰ می باشد (Lu,C,H., *et al.*, 2009).

تعیین راندمان استخراج لیکوپن

راندمان استخراج لیکوپن بر اساس فرمول زیر برحسب میلی‌گرم از ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه‌شد.

$$\text{Yield (mg/100g)} = [(C \times V)/M] \times 100 \quad (۱)$$

C= مقدار لیکوپن استخراج شده (mg)

V= حجم اولئورزین استخراج شده (g)

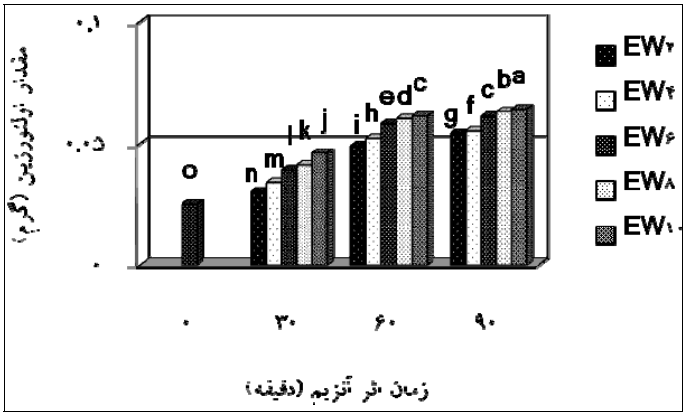
M = وزن نمونه پوست یا ضایعات خشک‌شده گوجه‌فرنگی

تجزیه و تحلیل آماری

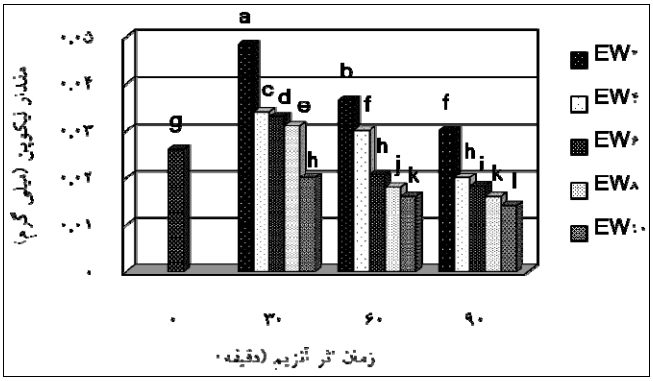
نمونه‌برداری به‌صورت طرح کاملاً تصادفی انجام و داده‌ها توسط SAS و SPSS به‌صورت طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند و برای بررسی بهترین ترکیب و آزمون‌های مقایسات زوجی از LSD و Duncan استفاده شد. تمام تیمارها در سه تکرار و رسم گراف‌ها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

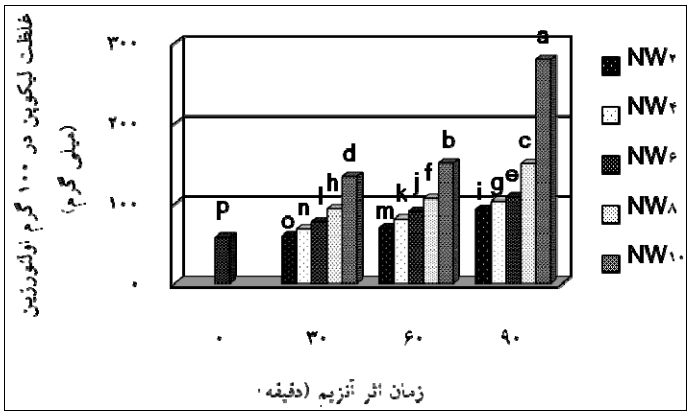
در نمودار ۱ روند بالارونده استخراج اولئورزین از ضایعات گوجه‌فرنگی که با آنزیم و اتانول تیمار شده‌بودند، نمایش داده‌می‌شود. همانطور که گفته شد این روند با افزایش غلظت و زمان اثر آنزیم افزایش می‌یابد تا اینکه در غلظت ۱۰ ml/kg و زمان اثر ۹۰ دقیقه به بیشترین مقدار خود یعنی ۰/۶۴ گرم از ۲ گرم نمونه می‌رسد.



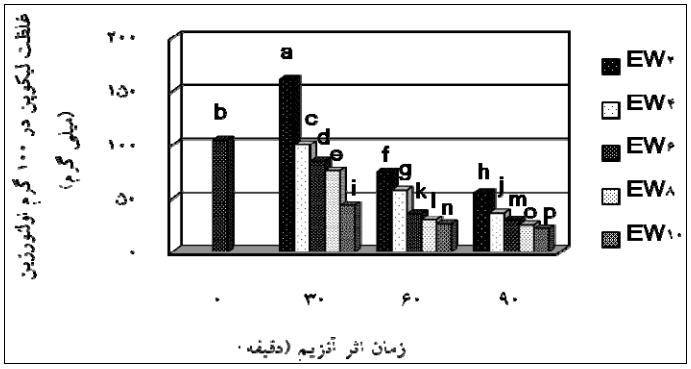
شکل۱- مقدار اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظت‌های مختلف آنزیم و تیمار اتانولی، (EW2، EW4، EW6، EW8، EW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند و سپس تیمار اتانولی روی آنها انجام شده است).



شکل ۲- مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار شده با غلظت‌های مختلف آنزیم و تیمار اتانولی(میلی‌گرم)، (EW2، EW4، EW6، EW8، EW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند و سپس تیمار اتانولی روی آنها انجام شده است).



شکل۳- غلظت لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظتهای مختلف آنزیم (میلی‌گرم/ ۱۰۰گرم اولئورزین)، (NW2، NW4، NW6، NW8، NW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند).



شکل٤- غلظت لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظت‌های مختلف آنزیم و تیمار اتانولی (میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین)، (EW2، EW4، EW6، EW8، EW10: نمونه‌های ضایعات گوجه فرنگی که به ترتیب با غلظتهای ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند و سپس تیمار اتانولی روی آنها انجام شده است).

جدول۱- راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم(میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم نمونه)

مقدار آنزیم (ml/kg) / زمان اثر آنزیم (دقیقه)	۲	۴	۶	۸	۱۰
۰	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}
۳۰	۰/۰۸۰۲۶۱^{m}	۰/۰۸۸۶۹۶^{j}	۰/۰۸۵۸۲۶^{l}	۰/۰۹۹^{e}	۰/۱۰۶۹۵۷^{c}
۶۰	۰/۰۸۶۹۵۷^{k}	۰/۰۹۲۸۷^{i}	۰/۰۹۵۵۱۴^{f}	۰/۰۹۳۴۹۶^{g}	۰/۰۷۶۸۷^{n}
۹۰	۰/۰۹۳۱۹۳^{h}	۰/۰۹۹۵۷۴^{d}	۰/۱۰۹۵۶۵^{b}	۰/۱۱۳۶۰۹^{a}	۰/۰۶۱۶۳^{o}

جدول۲- راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم و اتانول(میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم نمونه)

مقدار آنزیم (ml/kg) / زمان اثر آنزیم (دقیقه)	۲	۴	۶	۸	۱۰
۰	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}
۳۰	۰/۰۷۲۳۹۱^{d}	۰/۰۵۷۸^{h}	۰/۰۶۴۳۵^{e}	۰/۰۶۳۶۳۹^{f}	۰/۰۴۶^{o}
۶۰	۰/۰۸۹۴۷۸^{a}	۰/۰۷۸^{c}	۰/۰۶۰۰۱۷^{g}	۰/۰۵۴^{k}	۰/۰۴۸۸^{m}
۹۰	۰/۰۸۱^{b}	۰/۰۵۵^{j}	۰/۰۵۵۶۹۶^{i}	۰/۰۵۰۴^{l}	۰/۰۴۴۸^{n}

در نمودار ۲ روند استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم و اتانول نشان داده‌می‌شود. در این نمودار دیده می‌شود که به عکس روند استخراج اولئورزین، با افزایش غلظت و زمان اثر آنزیم روند استخراج لیکوپن پایین‌رونده‌است. بیشترین مقدار لیکوپن در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۳۰ دقیقه و به مقدار ۰/۰۴۸ میلی‌گرم به‌دست می‌آید.

در شکل ۳ غلظت لیکوپن در وزن معین ۱۰۰ گرم اولئورزین نشان‌داده‌می‌شود. طبق این شکل بیشترین مقدار لیکوپن در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ دقیقه و به مقدار ۵۰/۲۷۹ میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد.

غلظت لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین در شکل ۴ نشان‌داده‌می‌شود. همان‌طور که در این شکل دیده‌می‌شود، این روند نیز همانند استخراج لیکوپن پایین‌رونده است. بیشترین مقدار لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین، در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۳۰ دقیقه و به‌مقدار ۱۶۰/۸۶۹ میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد.

در جدول ۱ راندمان استخراج لیکوپن از ۱۰۰ گرم ضایعات خشک‌شده گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم پکتیناز نشان‌داده‌می‌شود. در این جدول می توان مشاهده‌کرد که بیشترین راندمان در غلظت ml/kg ۸ و زمان اثر ۹۰ دقیقه به مقدار ۰/۱۱۳۶۰۹ میلی‌گرم به دست آمد.

راندمان استخراج لیکوپن از ۱۰۰ گرم نمونه خشک‌شده ضایعات گوجه‌فرنگی که با آنزیم و اتانول تیمار شده‌بود، در جدول ۲ نشان‌داده‌می‌شود. طبق این جدول بیشترین راندمان را می‌توان در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۶۰ دقیقه، به میزان ۰/۰۸۹۴۷۸ میلی‌گرم به دست‌آورد.

همانگونه که می توان مشاهده نمود، تیمار آنزیمی قابلیت استخراج لیکوپن از پوست گوجه فرنگی را به شکل بارزی افزایش می دهد ($P< ۰/۰۱$). این افزایش در مقدار اولئورزین به دلیل تجزیه پکتین توسط آنزیم پکتیناز است. اما با افزایش مقدار اولئورزین، مقدار لیکوپن کاهش می یابد و از مقدار ۰/۰۴۸ میلی گرم در غلظت ml/kg ۲ زمان ۳۰ دقیقه، به ۰/۰۱۴ میلی گرم در غلظت ml/kg ۱۰ زمان ۹۰ دقیقه می رسد که حتی از نمونه شاهد نیز کمتر است. دلیل این پدیده را می توان ناشی از ناپایدار شدن لیکوپن با افزایش زمان استخراج دانست. زیرا در اثر افزایش زمان ماندگاری در آنزیم زنی، احتمال تبدیل فرم تمام ترانس لیکوپن به ایزومر سیس و اکسید شدن آن افزایش می‌یابد(Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan, 2006؛ Socaciu, C, 2008) و از آنجا که در اندازه گیریها فرم تمام ترانس مورد نظر می باشد، این کاهش در روند نمودار مربوط به مقدار لیکوپن توجیه پذیر است (Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan, 2006؛ Socaciu, C, 2008). از طرفی مقدار استخراج اولئورزین نیز با افزودن آنزیم نسبت به نمونه شاهد در تمامی تیمارها افزایش یافته است که این افزایش با افزایش مقدار و زمان اثر آنزیم نسبت مستقیم دارد.

با توجه به نوسان در مقدار اولئورزین و لیکوپن استخراجی در دماها و زمانهای مختلف، برای مقایسه بهتر، مقدار لیکوپن استخراج شده از ۱۰۰ گرم نمونه از هریک از تیمارها مورد محاسبه قرار گرفت که در جداول ۱ و ۲ نشان داده می شود. در صورت مقایسه تیمار اتانولی و بدون اتانول، می توان مشاهده کرد که بیشترین راندمان استخراج لیکوپن درتیمار آنزیمی و اتانولی از ۱۰۰ گرم نمونه، در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۳۰ دقیقه و به مقدار ۰/۰۸۹۴۷۸ میلی‌گرم است در حالیکه بیشترین راندمان در نمونه های تیمار نشده با اتانول برابر ۰/۱۱۳۶۰۹ میلی گرم از هر ۱۰۰ گرم نمونه است که در غلظت ml/kg۸ و زمان اثر ۹۰ دقیقه به دست می آید. مشاهده می شود که هرچند بورتلیک و همکاران معتقدند کاربرد یک تا دو مرحله شستشو با اتانول در پوست گوجه فرنگی به دلیل حذف ناخالصی هایی از قبیل زانتوفیل ها و کاروتنوئیدهای قطبی، می تواند به افزایش خلوص لیکوپن در اولئورزین کمک نماید(Sadler G., *et al*., 1990)، اما این نظریه در مورد ضایعات صادق نیست و در مجموع استفاده از تیمار اتانولی در استخراج لیکوپن از ضایعات نمی تواند باعث افزایش حضور لیکوپن در اولئورزین استحصالی شود. دلیل این پدیده شاید ناپایدار شدن لیکوپن طی فرآیند تولید رب و بالارفتن شانس ایزومریزاسیون طی فرآیند تولید و سپس شستشو با اتانول باشد (رنجبر و همکاران، ۲۰۱۰).

نتیجه گیری

با انجام این تحقیق این امکان به وجود آمد تا میزان آنزیم مصرفی و زمان بهینه اثر آن بر بیشترین استخراج اولئورزین و لیکوپن بر روی ضایعات صنایع تبدیلی بررسی شود. به طوریکه در مقایسه با موارد انجام شده توسط Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan. (۲۰۰۶)که میزان ۴-۰/۵ w/w ٪ آنزیم پکتیناز با زمان اثر ۱۵ دقیقه را برای استخراج به کار برده و توانستند به میزان ۲۰۶٪ لیکوپن استخراج نمایند، در این تحقیق با استفاده از مقادیر کمتر آنزیم، بازدهی تا ۲۳۶٪ یعنی به میزان ۰/۱۱۳۶۰۹ mg/ از هر ۱۰۰ گرم نمونه لیکوپن به دست آمد که همانطور که اشاره شد بیشترین مقدار لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین، در غلظت ml/kg ۸۲ و زمان اثر ۹۰ دقیقه بود.

به طور کلی در این پژوهش نشان داده شد که برای افزایش راندمان استخراج لیکوپن تیمار آنزیمی به تنهایی کافی است و نیازی به استفاده از تیمار اتانولی وجود ندارد. به این ترتیب می توان نتیجه

گرفت که امکان صنعتی شدن استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه فرنگی به وسیله تیمار آنزیمی پکتیناز، با توجه به کیفیت گوجه فرنگی های کاشته شده در ایران و حجم مصرف آن در صنایع تبدیلی و ضایعات به جامانده از این صنایع، می تواند مورد توجه قرار بگیرد.

تشکر و قدردانی

در این جا لازم است که از عوامل و کارکنان کارخانه کامنوش کمال سپاس و قدردانی به دلیل کمکهای بی‌دریغشان به جا آورده شود.

منابع

رنجبر، آ. مقصودلو، ی. قربانی، م. صادقی ماهونک، ع. ۱۳۸۹. بهینه سازی استخراج لیکوپن از پوست و ضایعات گوجه فرنگی. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. پایان نامه کارشناسی ارشد.

شادان، ع. ۱۳۸۵. بررسی ابعاد اقتصادی ضایعات محصولات کشاورزی در ایران. گزارش پژوهشی موسسه پژوهش‌های برنامه ریزی و اقتصاد کشاورزی.

مصباحی، غ.، عباسی، ا.، جمالیان، ج.، فرحناکی، ع. ۱۳۸۸. افزودن پوست و دانه گوجه‌فرنگی به سس کچاپ به‌منظور بهبود ارزش غذایی و خصوصیات رئولوژیک آن. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال سیزدهم. شماره ۴۷ (الف). بهار ۱۳۸۸. ۸۲-۶۹.

Ausich, R. L., and Sanders, D. J. 1997. Process for the isolation and purification of lycopene crystals. United States Patent 5858700.

Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan. 2006. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food chemistry. 102:77-81.

Choudhary, T.J. *et al*., 2008 Bowser, P.Weckler , N.O. Manessb,W. McGlynn. 2008. Rapid estimation of lycopene concentration in watermelon and tomato puree by fiber optic visible reflectance spectroscopy. Postharvest Biology and Technology. 7p.

Delgado-Vargas, F., and Paredes-López Andreeva, O. 2003. Natural colorants for food and nutraceutical uses. Boca Raton, Florida, Pp: 44- 71.

Jannat M., ´and n-Gutie´rrez,R., and Dolores Luque de Castro,M. 2007. Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 26, No. 2. 8p.

Lavecchia, R., and Zuorro, A. 2008. Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. European Food Research and Technology 228(1): 153-158.

Lu,C,H., J. Engelmann,N., Ann Lila,M., W. Erdman Jr,J. 2009. Optimization of Lycopene Extraction from Tomato Cell Suspension Culture by Response Surface Methodology. J Agric Food Chem. 56(17): 7710–7714.

Sadler G., and Davis, J., and Dezman, D. 1990. Rapid Extraction of Lycopene and β-Carotene from Reconstituted Tomato Paste and Pink Grapefruit Homogenates. Journal of Food Science 55(5): 1460-1461.

Sahlin , E. , and Savage , G.P. , and Lister , C.E. 2004 . Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. Journal of Food Composition & Analysis. 17, 635-647.

Shi , J. , and Maguer , M.L. , and Kakuda , Y. , and Liptay , A. , and Niekamp , F. 1999 . Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration . Food Research International , 32 , 15-21.

Shi, J. 2001. Separation of carotenoids from fruits and vegetables. WO/2001/079355

Socaciu, C. 2008. Food Colorants Chemical and Functional Properties. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton. 652p.

Soni, J. 2003. Separation of carotenoids from fruits and vegetables. US2003/0180435

Zuorro, A., and Lavecchia, R. 2008. Process for the extraction of lycopene. WO/2008/055894.