دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال یازدهم، شماره‌ی ۴۲
بهار ۱۳۹۹، صفحات ۶۱-۵۳

بهینه‌سازی استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از گوجه‌فرنگی با استفاده از آنزیم صنعتی همی سلولاز

مهیار جلالیان
گروه صنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
آرزو قادی*
گروه مهندسی شیمی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
Email:a.ghadi@iauamol.ac.ir
رویا باقری
گروه صنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

چکیده

در این پژوهش فرآیند جداسازی رنگدانه‌ی کاروتنوئیدی لیکوپن از پودر گوجه‌فرنگی به وسیله‌ی آنزیم صنعتی همی‌سلولاز مورد مطالعه قرار گرفت به این منظور مطالعه بر اثرات ناشی از تغییر دما، غلظت آنزیم مصرفی، زمان انکوباسیون، pH همه در نقاط اپتیمم انجام گرفت. پژوهش بر مبنای اثر بخشی آنزیم در شرایط مختلف بر میزان رنگدانه‌های استخراجی از پودر گوجه‌فرنگی و به‌دست آوردن نقاط بهینه استخراج به‌وسیله‌ی تحلیل آماری نتایج می‌باشد. برای استخراج رنگدانه در این پژوهش از حلال‌های هگزان، اتانول، استن به نسبت ۱:۲:۱ و انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه به مدت ۱۶ ساعت برای اثر بخشی کامل حلال استفاده گردید. برای هر متغیر سه سطح تعریف شد که به‌منظور هدفمند کردن آزمایشات از طرح تاگوچی برای جدول طراحی آزمایش استفاده شده و شامل نه ردیف آزمایش و برای هر ردیف آزمایش از سه تکرار و یک شاهد حاوی نمونه بدون آنزیم درنظر گرفته شده است. محلول‌های حاوی رنگدانه در پایان مرحله‌ی جداسازی به دستگاه اسپکتروفتومتری انتقال و پس از ثبت ارقام و تحلیل آماری آن مشاهده شد که میزان اثر بخشی متغیر غلظت آنزیم بسیار بیشتر از متغیرهای دیگر بوده به‌طوری که بالاترین میانگین غلظت استخراجی رنگدانه در ۵۰۰ میکروگرم = ۰/۴۵۰ و تحلیل جداگانه هر متغیر نقاط بهینه را برای دمای انکوباسیون ۴۰ درجه و برای زمان انکوباسیون ۶۰ دقیقه، برای pH = ۴ ، غلظت آنزیم ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر برای هر ۵ گرم پودر گوجه می‌باشد.

کلید واژه: کاروتنوئید، پودر گوجه، آنزیم همی‌سلولاز.

مقدمه

تجربه به انسان القا نموده است که رنگ، با کیفیت و ویژگی‌های حسی رابطه‌ی مستقیم دارد و در عین حال تداعی کننده‌ی بافت و طعم و مزه‌ی محصول نیز می‌باشد. رنگ‌های مصنوعی که به مواد غذایی و نوشیدنی‌ها افزوده می‌شوند، می‌توانند ضریب هوشی کودکان را کاهش دهند. از این رو به‌دست آوردن رنگدانه‌های طبیعی با کیفیت و کمیت بالا از میوه‌ها و سبزیجات که هم طبیعی بوده و هم برای سلامتی مفید باشد از اهمیت بالایی برخوردار است [۱]. در بدن انسان کاروتنوئیدها می‌توانند چندین وظیفه مهم را انجام دهند. طبق دانسته‌های موجود، نقش غذایی کاروتنوئیدها جلوگیری از کمبود ویتامین آ در بدن است. فقدان این ویتامین دلیل بزرگ مرگ و میرهای نابهنگام ملل درحال توسعه خصوصاً در میان بچه‌ها است [۲]. از مهم‌ترین مواد دارای رنگدانه‌های طبیعی گوجه‌فرنگی است که به لحاظ اقتصادی دومین سبزی مهم دنیا است و تقریبا در سراسر ایران کشت می‌شود. ۸۳ درصد کاروتنوئیدهای موجود در آن را لیکوپن تشکیل می‌دهد [۳]. لیکوپن یک کاروتنوئید غیر اشباع با ۱۱ باند دوگانه مزدوج و جز کاروتنوئیدهای بدون حلقه می‌باشد. این ماده دارای نقطه ذوب ۱۷۳ درجه سانتی‌گراد و وزن مولکولی ۵۳۶/۹ می‌باشد. این رنگدانه موجب ایجاد رنگ قرمز در گوجه‌فرنگی و برخی سبزیجات می‌شود. ۸۳ درصد کاروتنوئیدهای موجود در گوجه فرنگی را لیکوپن و ۳ الی ۷ درصد کل رنگدانه‌های موجود در آن را بتاکاروتن تشکیل می‌دهد [۴]. از نظر شیمیایی لیکوپن در مقایسه با سایر پیگمان‌های گیاهی و جانوری، جزو کاروتنوئیدهای بسیار پایدار است. میوه‌ها و سبزی‌هایی که حاوی مقادیر بالایی از لیکوپن هستند عبارتند از گوجه‌فرنگی، هندوانه، گریپ فروت، انبه و فلفل قرمز [۱]. اهمیت لیکوپن در این است که بدن انسان قادر به ساخت لیکوپن نبوده و باید آن را از رژیم غذایی دریافت نماید. در بسیاری از مواد غذایی خام ایزومر ترانس از نظر کمی اهمیت بیش‌تری داشته و به عنوان مثال در میوه گوجه‌فرنگی قرمز ۹۶-۹۴ درصد لیکوپن را ایزومر ترانس و ۵ الی ۳ درصد را ایزومر سیس تشکیل می‌دهد [۵]. تاثیر لیکوپن بر سلامتی به صورت کاهش آسیب اکسیداتیو بیومولکول‌ها، مهار آنزیم IGF، مهار فسفریلاسیون P5، افزایش poptosiso، مهار آنزیم ردوکتاز، کاهش اکسیداسیون لیپیدها و کلسترول خون، کاهش ضخامت دیواره عروق خونی و آسیب میوکاردیال می‌باشد [۶]. اهداف افزایش رنگ به یک محصول یا فرآورده‌ی غذایی شامل: برگرداندن رنگ اصلی به فرآورده هنگامی که رنگ‌های طبیعی با انجام یک فرآیند حرارتی نابود می‌شوند و یا زمانی که در طی مدت نگهداری، شدت رنگ کاهش می‌یابد. اطمینان از یکنواختی رنگ به علت تغییرات طبیعی در شدت رنگ نظیر زمانی که میوه‌جات یا صیفی‌جات در زمان‌های مختلف در طی یک فصل برداشت می‌شود از نقطه نظر شدت رنگ تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند. تشدید رنگ‌هایی که به‌طور طبیعی در غذاها یافت می‌شود ولی ضعیف‌تر و کم‌رنگ‌تر از مقداری است که مصرف‌کننده در رابطه با غذا تشخیص می‌دهد. مانند: آب‌میوه یا برخی از انواع سس یا ماست میوه. رنگ‌های مصنوعی که به مواد غذایی و نوشیدنی‌ها افزوده می‌شوند، می‌توانند ضریب هوشی کودکان را کاهش دهند و دادن ظاهر جذاب و اشتهاآور به مواد غذایی می‌باشد. به عنوان مثال ژل حاصل از ژلاتین، بی‌رنگ می‌باشند اما هنگامی که متناسب با طعم دهنده، رنگ مناسب نیز به آن اضافه شود ظاهری جذاب و اشتها آور پدید می‌آورد. کمک به حفظ خصوصیات و دادن هویت به ماده‌ی غذایی که در حقیقت به‌وسیله‌ی آن ماده‌ی غذایی تشخیص داده می‌شود و به وسیله‌ی مصرف‌کننده مورد شناسایی قرار می‌گیرد [۱-۲].

مواد و روش‌ها

آنزیم به‌کار برده شده در این تحقیق همی‌سلولاز شرکت begrow ایتالیا بود. محلول‌های به‌کاربرده شده در این آزمایش عبارتنداز n- هگزان- اتانول- استن- اسید کلریدریک و سود که همگی از شرکت مرک آلمان بودند.

دستگاه‌ها و وسایل آزمایشگاهی به‌کار برده شده در این آزمایش عبارتند از:

آون تحت خلا مدل NUVAEVALA ساخت آلمان، آون MOMMENT ساخت آلمان، انکوباتور MOMMENT ساخت آلمان، کوره مدل NUVAEVALA ، سمپلر ساخت آلمان جهت برداشت آنزیم، pH متر مدل PM12 ساخت ایران شرکت FAN AZMA GOSTAR، ترازوی دیجیتال مدل MOMMENT ساخت آلمان و دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UX 2100 ساخت تایوان. سایر وسایل آزمایشگاهی شامل دسیکاتور، دماسنج، قیف دکانتوره، گیره بوته‌چینی هاون، کاغذ صافی واتمن، الک با مِش سایز ۰/۲۵ میلی‌متر، دستگاه آسیاب Molinex می‌باشد.

– ارزیابی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پودر گوجه فرنگی تولیدی

بعد از تولید پودر گوجه‌فرنگی جهت ارزیابی آن با استانداردهای ملی ایران برای پودر گوجه فرنگی ساییده شده استفاده شده است و برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی پودر گوجه‌فرنگی را اندازه‌گیری کرده و با استاندارد آن می‌سنجیم.

اندازه‌گیری مقدار رطوبت پودر گوجه فرنگی:

به روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۹۷.

اندازه‌گیری درصد خاکستر پودر گوجه فرنگی:

به روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۹۷.

درصد خاکستر نامحلول در اسید:

به روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۰۵.

روش به‌دست آوردن غلظت رنگدانه:

جهت به‌دست آوردن غلظت از رابطه $A=\varepsilon.B.C$ استفاده کردیم که در آن A مقدار جذب، ε ضریب جذب مولی، B اندازه Cell دستگاه که ۱ سانتی‌متر می‌باشد و C مقدار غلظت می‌باشد.

نتایج و بحث

– ارزیابی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پودر گوجه‌فرنگی تولیدی

– رطوبت

نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات در ارزیابی میزان رطوبت پودر گوجه‌فرنگی تولیدی در جدول۱ به‌طور خلاصه ذکرشده است. میزان رطوبت کل از میانگین نتایج به‌دست‌آمده از ۳ تکرار در این آزمون محاسبه شده است. پس از به‌دست آوردن میزان رطوبت در این ۳ تکرار، از میانگین عددی این نتایج به‌عنوان درصد رطوبت اصلی پودر گوجه تولیدی استفاده شد.

جدول ۱: میزان رطوبت پودر گوجه تولیدی

محاسبه درصد رطوبت با استفاده از خشک‌کردن در آون (۱۳۰ درجه سانتی‌گراد)									
	وزن ظرف خشک	وزن ماده مرطوب	وزن ظرف و ماده پس از ۱ساعت	پس از ۱/۵ ساعت	پس از ۲ ساعت	پس از ۲/۵ ساعت	پس از ۳ ساعت	درصد رطوبت نمونه	درصد رطوبت ماده
نمونه اول	۲۴/۳۹	۲/۰۸	۲۶/۴۴	۲۶/۴۲	۲۶/۴۱	۲۶/۴۰	۲۶/۴۰	۳/۳۶۵	۳/۰۸۵
نمونه دوم	۲۸/۲۱	۲/۰۶	۳۰/۲۵	۳۰/۲۴	۳۰/۲۳	۳۰/۲۱	۳۰/۲۱	۳/۴	
نمونه سوم	۲۳/۱۸	۲/۴۱	۲۵/۵۶	۲۵/۵۵	۲۵/۵۴	۲۵/۵۳	۲۵/۵۳	۲/۴۹	

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها، طبق جدول۱ مشاهده شد که پودر گوجه تولیدی ازلحاظ میزان رطوبت در سطح استاندارد می‌باشد، زیرا حداکثر درصد جرمی استاندارد برای پودر گوجه ساییده شده ۴ درصد و درصد رطوبت پودر گوجه‌فرنگی تولیدی ۳/۰۸۵ درصد بود. نتایج حاصل با تحقیقات انجام شده توسط محققین مطابقت داشت [۷-۸].

- میزان خاکستر

نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات در به‌دست آوردن خاکستر کل پودر گوجه تولید شده در جدول ۲ آورده شده است. درصد خاکستر کلی نمونه عبارت است از میانگین عددی نتایج حاصل از ۳ تکرار که در نهایت با میزان خاکستر مجاز برای پودر گوجه ساییده شده، ذکر شده توسط اداره استاندارد سنجیده شد.

جدول ۲- میزان خاکستر کل پودر گوجه تولیدی

محاسبه درصد خاکستر (بر اساس ماده خشک)					
	وزن بوته خشک	وزن نمونه	وزن بوته و خاکستر	درصد خاکستر نمونه	درصد خاکستر
نمونه ۱	۳۸/۰۵	۲/۰۶	۳۸/۲۱	٪۷/۷۶۷	٪۷/۸۰۵۰
نمونه ۲	۴۲/۴۱	۲/۰۴	۴۲/۵۷	٪۷/۸۴۳۱	
نمونه ۳	۳۴/۷۱	۲/۰۵	۳۴/۸۷	٪۷/۸۰۴۹	

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات مطابق جدول ۲ مشخص شد که پودر گوجه تولیدی از لحاظ میزان خاکستر تولیدی در سطح استاندارد ملی بوده، مقدار میانگین خاکستر پودر گوجه تولیدی ۷/۸۰۵۰ به دست آمد و مقدار خاکستر مجاز برای پودرگوجه ساییده شده طبق استاندارد ملی حداکثر ۱۸ درصد می‌باشد [۹-۱۰].

- میزان درصد خاکستر نامحلول در اسید

اعداد به‌دست‌آمده از آزمون تعیین درصدخاکستر نامحلول در اسید در جدول ۳ آمده است و میزان درصد خاکستر نامحلول در اسیدکلی پودر گوجه تولیدی از میانگین عددی سه تکرار این آزمون به‌دست‌آمده است. این مقدار با مقدار مجاز ذکر شده در اداره استاندارد مقایسه شد.

جدول ۳: میزان خاکستر نامحلول در اسید پودر گوجه‌فرنگی تولیدی

محاسبه درصد خاکستر نامحلول در اسید (بر اساس ماده خشک)					
	وزن بوته خشک	وزن پودر گوجه‌فرنگی	وزن بوته و خاکستر	درصد خاکستر نمونه	درصد خاکستر
نمونه ۱	۳۵/۰۸	۲/۰۶	۳۸/۰۶۱	٪۰/۵۳۴	٪۰/۴۸۷۶
نمونه ۲	۴۲/۴۱	۲/۰۴	۴۲/۴۱۹	٪۰/۴۴۱	
نمونه ۳	۳۴/۷۱	۲/۰۵	۳۴/۷۲	٪۰/۴۸۸	

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات مطابق جدول ۳ مشخص شد که پودر گوجه تولیدی ازلحاظ میزان خاکستر نامحلول در اسید تولیدی در سطح استاندارد ملی بوده، حداکثر مقدار مجاز خاکستر نامحلول در اسید ذکرشده در استاندارد ملی ۱/۵ درصد و مقدار به‌دست‌آمده در آزمایش پودر گوجه تولیدی ۰/۴۸۷۶ درصد می‌باشد. نتایج حاصل با پژوهش‌های سابو و همکاران (۲۰۱۸) و پلیکانو و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت.

- استخراج لیکوپن از گوجه فرنگی

متغیرات و سطوح به‌کاربرده شده در این پژوهش در جدول ۴ آورده شده است.

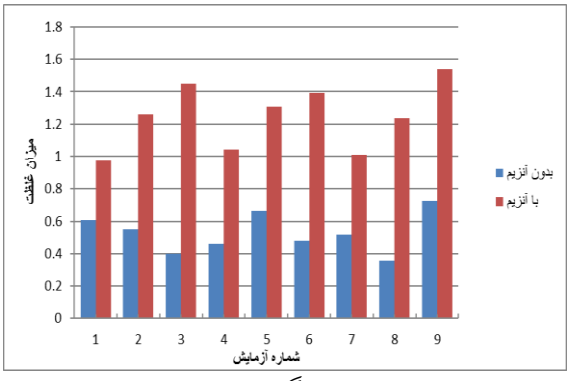
جدول ۴ - متغیرات و سطوح به‌کاربرده شده

نوع متغیر	سطح ۱	سطح ۲	سطح ۳
دما(درجه سانتی‌گراد)	۴۰	۵۰	۶۰
pH	۲/۵	۴	۵/۵
زمان انکوباسیون(دقیقه)	۳۰	۶۰	۹۰
مقدار آنزیم(میکروگرم)	۱۰۰	۲۰۰	۵۰۰

به‌طورکلی میزان متغیرهای هرکدام از آزمون‌ها در این واحد و میزان جذب نمونه استخراج‌شده در دقت ۰/۰۱ نمونه و میزان غلظت نهایی نمونه در هرکدام از آزمایشات در جدول ۵ آورده شده است. همچنین میزان این غلظت در نمونه شاهد هرکدام از آزمایشات در این واحد در ستونی مجزا گنجانده شده است. مقایسه میزان غلظت رنگ‌دانه استخراج‌شده در نمونه حاوی آنزیم و نمونه شاهد در نمودار ۲ آورده شده است.

جدول۵- نتایج کلی آزمایشات تعیین لیکوپن موجود در پودر گوجه‌فرنگی

آزمایشات بر پایه همی سلولاز							
شماره آزمایش	دما(درجه سانتی‌گراد)	pH	مقدار آنزیم(میکروگرم)	زمان انکوباسیون(دقیقه)	جذب بدون آنزیم	جذب با آنزیم	غلظت بدون آنزیم
۱	۴۰	۲/۵	۱۰۰	۳۰	۰/۸۳	۰/۹۷	۰/۰۲۴۲
۲	۵۰	۴	۲۰۰	۳۰	۰/۸۱	۱/۳۶	۰/۰۲۳۵۷
۳	۶۰	۵/۵	۵۰۰	۳۰	۰/۷۲	۱/۵۴	۰/۰۲۰۹۷
۴	۶۰	۴	۱۰۰	۶۰	۰/۷۴	۰/۹۹۹۸	۰/۰۲۱۳۸
۵	۴۰	۵/۵	۲۰۰	۶۰	۰/۸۴	۱/۳۹	۰/۰۲۴۴۱
۶	۵۰	۲/۵	۵۰۰	۶۰	۰/۷۵	۱/۵۱	۰/۰۲۱۱۸
۷	۵۰	۵/۵	۱۰۰	۹۰	۰/۷۷	۰/۹۹	۰/۰۲۲۱۹
۸	۶۰	۲/۵	۲۰۰	۹۰	۰/۷۳	۱/۳۲	۰/۰۲۱۰۶
۹	۴۰	۴	۵۰۰	۹۰	۰/۸۶	۱/۵۷	۰/۰۲۵۰۳

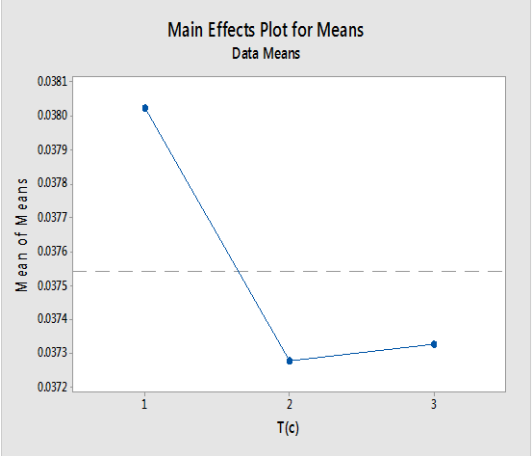


نمودار۱: تفاوت میزان غلظت رنگ‌دانه‌های استخراجی بین نمونه با آنزیم و نمونه شاهد

همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود میزان غلظت رنگ‌دانه خروجی در نمونه‌های آنزیم زده شده به‌طور چشمگیری افزایش داشته است. بیش‌ترین مقدار غلظت رنگ‌دانه استخراجی در نمونه با آنزیم در آزمایش شماره ۹ به‌دست آمد و مقدار عددی آن برابر با ۰/۰۴۶ میلی‌گرم به میلی‌لیتر بوده و این در حالی است که بیش‌ترین میزان استخراج در نمونه شاهد در آزمون شماره ۹ به دست‌آمده و مقدار عددی آن برابر با ۰/۰۲۵۰۳ میلی‌گرم به میلی‌لیتر (از هر ۵ گرم پودر گوجه) می‌باشد.

– تأثیر دمای انکوباسیون بر میزان استخراج لیکوپن

نتیجه حاصل از تأثیر دما بر میزان استخراج لیکوپن در نمودار ۲ آورده شده است:



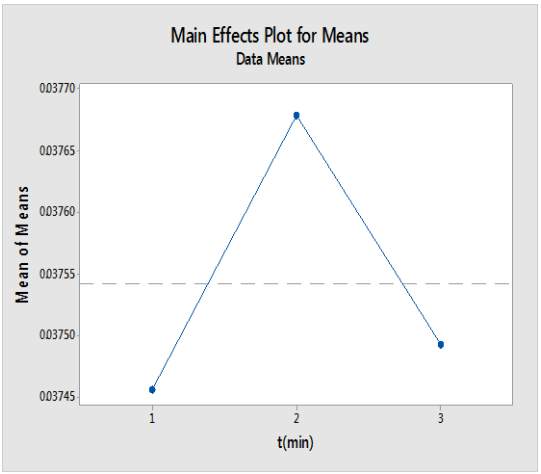
نمودار ۲: تأثیر دما بر میزان استخراج

با توجه به بررسی داده‌ها با فرض بیش‌تر – بهتر و با توجه به نمودار ۲، مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان استخراج رنگ‌دانه در سطح دمای شماره ۱ (۴۰ درجه سانتی‌گراد) به‌دست‌آمده است این میزان با افزایش دما به سطح ۲ (۵۰ درجه سانتی‌گراد) کاهش داشت، گرچه میزان استخراج با افزایش دما به سطح ۳ (۶۰ درجه سانتی‌گراد) به مقدار محدودی افزایش نشان داد.

دما یکی از فاکتورهای مهم جهت فعالیت آنزیمی می‌باشد. ازاین‌رو دمای انکوباسیون بهینه در فعالیت آنزیمی یکی از فاکتورهای تأثیرگذار در فرایند استخراج رنگ‌دانه‌های کاروتنوئیدی می‌باشد. ولی آنچه در این فرایند باید موردتوجه قرار گیرد، حساس بودن رنگ‌دانه‌های کاروتنوئیدی و به‌خصوص لیکوپن به دما می‌باشد، به‌طوری‌که دمای بالا باعث اکسیداسیون سریع کاروتنوئیدها می‌شود. همان‌طور که در نمودار۲ مشاهده شد افزایش دما باعث افت میزان استخراج رنگ‌دانه‌ها می‌گشت. ازآنجایی‌که دماهای انتخابی در ۳ سطح، بر اساس میزان بهینه عملکرد آنزیم (که از طرف شرکت سازنده انتخاب شده بود) تنظیم شده بود، این کاهش میزان استخراج را نمی‌توان به کاهش عملکرد آنزیمی نسبت داد چرا که در هر ۳ سطح دمایی، آنزیم فعالیت اپتیمم را دارد. بنابراین این کاهش میزان استخراج به دلیل اکسیداسیون رنگ‌دانه‌ها در شرایط دمایی نامطلوب و بالا می‌باشد [۱۱-۸].

– تأثیر زمان انکوباسیون بر میزان استخراج لیکوپن

نتیجه حاصل از تأثیر دما بر میزان استخراج لیکوپن در نمودار ۳ آورده شده است:



نمودار ۳: تأثیر زمان انکوباسیون بر میزان استخراج لیکوپن

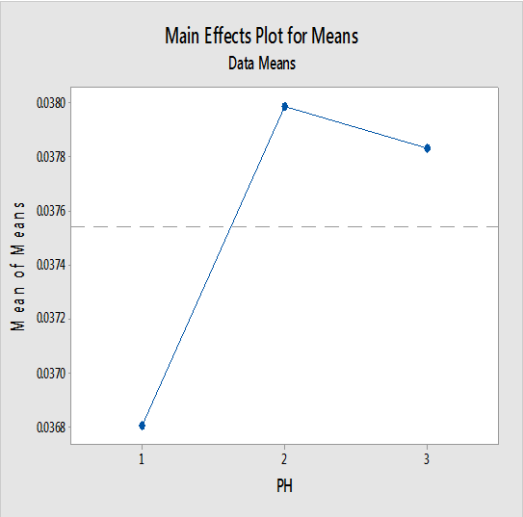
با توجه به بررسی داده‌ها با فرض بیش‌تر – بهتر و با توجه به نمودار ۳، مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان استخراج در زمان سطح شماره ۲ (۶۰ دقیقه) به دست آمده است و میزان استخراج در سطح شماره ۱ (۳۰ دقیقه) و سطح ۳ (۹۰ دقیقه) کاهش یافته است.

زمان انکوباسیون مدت‌زمانی است که به آنزیم اجازه داده شد تا در انکوباتور به فعالیت خود بر روی مخلوط بپردازد. این مقدار ازآن‌جهت حائز اهمیت است که اگر به آنزیم کمتر از مقدار موردنظر زمان جهت انجام فعالیت قرار دهیم فعالیت آنزیمی کامل نشده و مقدار استخراج به حد اپتیمم خود نخواهد رسید. از طرف دیگر اگر به آنزیم بیشتر از مقدار بهینه زمان داده شود، فعالیت آن پس از گذشت زمان بهینه کاهش یافته و شرایط دمایی موجود در انکوباتور باعث اکسیداسیون رنگ‌دانه‌ها می‌گردد و این امر باعث کاهش راندمان فرایند استخراج می‌گردد. همان‌طور که در

نمودار شماره ۳ مشاهده می‌شود با افزایش زمان انکوباسیون از سطح ۱ (۳۰ دقیقه) به سطح ۲(۶۰ دقیقه) شیب خط مثبت بوده و این امر بیانگر عدم تکمیل فرایند آنزیمی می‌باشد. با افزایش زمان از سطح ۲ به سطح ۳ (۹۰ دقیقه) شیب خط منفی شده است. این امر بیانگر این است که فرایند آنزیمی در گذشت زمان ۶۰ دقیقه کامل شده و در گذر زمان از ۶۰ دقیقه تا ۹۰ دقیقه فعالیت آنزیمی انجام نشده و در دمای انکوباسیون و دمای آن فعالیت اکسیداسیونی صورت می‌پذیرد. در این پژوهش مدت‌زمان سطح ۲ یعنی ۶۰ دقیقه به‌عنوان نقطه اپتیمم دمایی انتخاب شد [۹-۱۰].

- تأثیر pH بر میزان استخراج لیکوپن

نتیجه حاصل از تأثیر pH بر میزان استخراج لیکوپن در نمودار ۴ آورده شده است:



نمودار ۴ : تأثیر pH بر میزان استخراج

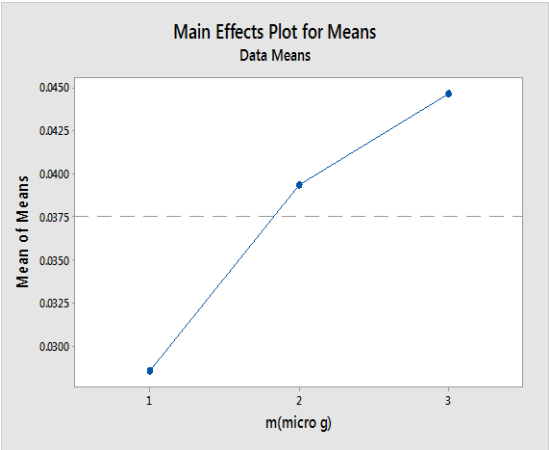
با توجه به بررسی داده‌ها با فرض بیش‌تر – بهتر و با توجه به نمودار۴ مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان استخراج در pH سطح شماره ۲ (pH=۴) به‌دست‌آمده و در pH سطح ۳ تأثیر بیش‌تری بر استخراج نسبت به سطح ۱ داشته است.

آنچه در رابطه با pH مخلوط حائز اهمیت می‌باشد مقدار فرایند آنزیمی در pH مورد نظر می‌باشد. هر آنزیم بسته به نوع ماهیت آن و نیز نوع تولید آن در pH خاصی فعالیت بالاتر و در بازه‌ای از pH فعالیت آن‌ها متوقف می‌شود. در این پژوهش بازه انتخاب‌شده در میزان اسیدی یا بازی بودن مخلوط بر مبنای بازه pH اعلام‌شده از طرف شرکت سازنده آنزیم قرار داده شد، بنابراین در تمامی سطوح pH فعالیت آنزیمی وجود داشته ولی هدف از قرار دادن این متغیر در انجام آزمایش پیدا کردن مقدار بهینه آن در انجام آزمایش بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده و منطبق بر نمودارهای ۴ نتایج زیر در مورد این متغیر به دست آمد.

در این پژوهش با افزایش pH از سطح ۱(۲/۵) به سطح ۲(۴) شیب نمودار مثبت بوده که نشان‌دهنده افزایش مقدار استخراج می‌باشد ولی با رفتن این مقدار به سطح شماره ۳ (pH=۵/۵) شیب نمودار منفی گشته که نشان‌دهنده کاهش میزان استخراج می‌باشد. به‌طورکلی pH=۴ نقطه اپتیمم جهت استخراج رنگ‌دانه به کمک آنزیم همی سلولاز مشخص گردید. همچنین در این واحد متغیر pH بعد از مقدار آنزیم بیش‌ترین تأثیر را بر فرایند استخراج داشت [۸-۱۱].

- تأثیر مقدار آنزیم بر میزان استخراج

جهت بررسی تأثیر مقدار آنزیم مصرفی بر استخراج لیکوپن، همانند مراحل قبلی از نرم‌افزار Minitab استفاده کرده و با توجه به طراحی آزمایش انجام‌شده نتایج آن در نمودار شماره ۵ آورده شده است.



نمودار ۵: تأثیر مقدار آنزیم بر میزان استخراج

با توجه به بررسی داده‌ها با فرض بیش‌تر –بهتر و با توجه به نمودار ۵، مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان استخراج با افزایش آنزیم در سطح شماره ۳ (مقدار ۵۰۰ میکروگرم) به دست آمده است و مشاهده شده است که با افزایش میزان غلظت آنزیم در مخلوط، میزان غلظت رنگ‌دانه نیز افزایش یافته است.

بدون شک مهم‌ترین عامل در افزایش فرایند استخراج مقدار آنزیم بکار برده شده است. آنزیم‌های همی سلولاز بکار برده شده در این پژوهش با تخریب دیواره سلولی موجب تراوش اسیدهای چرب حاوی کاروتنوئیدها از داخل سلول به خارج‌شده و موجب تسهیل فرایند استخراج می‌گردند. آنچه در این پژوهش به‌طور کامل مشهود بود افزایش میزان استخراج در نمونه‌های حاوی آنزیم نسبت به نمونه‌های شاهد بود. به‌طور کلی تأثیر افزایش آنزیم بر میزان استخراج به‌صورت زیر بررسی می‌شود:

در این پژوهش مهم‌ترین عامل در بین متغیرات در فرایند استخراج، مقدار آنزیم بود که با افزایش مقدار آنزیم بکار رفته از سطح ۱ (۱۰۰ µg) به سطح۲ (۲۰۰ µg) و نیز افزایش به سطح ۳ (۵۰۰ µg) همواره نمودار با شیب تند و مثبت حرکت کرده که بیانگر افزایش میزان استخراج با افزایش غلظت آنزیمی در مخلوط می‌باشد. آنچه در نمودار ۵ حائز اهمیت بود کاهش شیب نمودار از سطح ۲ به ۳ نسبت به شیب در گذر از سطح ۱ به ۲ بود که بیانگر کاهش میزان افزایش استخراج با افزودن بیش‌تر آنزیم است. این نکته از این نقطه‌نظر حائز اهمیت می‌باشد که آنزیم یکی از پرهزینه‌ترین قسمت‌ها جهت استخراج به این نحو می‌باشد و استفاده از آنزیم باید به‌گونه‌ای صورت پذیرد که مقرون به‌صرفه بوده و جهت صنعتی کردن این فرایند صرفه اقتصادی داشته باشد. با این حال افزودن ۵۰۰ میکروگرم همی سلولاز به ۵ گرم از پودر گوجه بهترین سطح جهت استخراج شناسایی شد.

به‌طورکلی در این پژوهش افزودن آنزیم همی سلولاز به پودر گوجه‌فرنگی و در شرایط بهینه موجب استخراج لیکوپن با غلظت ۰/۰۴۶ میلی‌گرم به میلی لیتر شده و این در حالی بود که مقدار اپتیمم غلظت لیکوپن استخراجی در نمونه شاهد ۰/۰۲۵۰۳ میلی‌گرم به میلی‌لیتر بوده و این اعداد بیانگر افزایش میزان استخراج تا ۴۶ درصد می‌باشد [۹-۱۰].

نتیجه‌گیری

ضریب جذب (ضریب خاموشی) برای محاسبه مقدار غلظت رنگ‌دانه استخراجی از پودر گوجه فرنگی خالص به کمک حلال ان هگزان– استن و اتانول در این پژوهش ۳۴۵۰ بود.

جهت استخراج رنگ‌دانه‌های کاروتنوئیدی از پودر گوجه‌فرنگی به روش حلال ان هگزان- استن و اتانول باید خشک شود وجود مولکول‌های آب در بین این مخلوط موجب دوفازی شدن حلال و عدم کارایی مناسب جهت استخراج می‌گردد.

در استخراج به کمک آنزیم همی سلولاز شرایط دمای انکوباسیون ۴۰ درجه سانتی‌گراد، زمان انکوباسیون ۶۰ دقیقه، pH=۴ و مقدار آنزیم ۲۰۰ میکروگرم در هر ۵ گرم پودر گوجه فرنگی، شرایط بهینه جهت استخراج تعیین شد. افزودن آنزیم همی سلولاز به پودر گوجه‌فرنگی و در شرایط بهینه موجب استخراج لیکوپن با غلظت ۰/۰۴۶ میلی‌گرم به میلی‌لیتر شده و این در حالی بود که مقدار بهینه غلظت لیکوپن استخراجی در نمونه شاهد ۰/۰۲۵۰۳ میلی‌گرم به میلی‌لیتر بوده و این اعداد بیانگر افزایش میزان استخراج تا ۴۶ درصد، با افزودن ۵۰۰ میکروگرم همی سلولاز می‌باشد به این ترتیب میتوان نتیجه گرفت با توجه به کیفیت گوجه فرنگی های ایران و حجم مصرف آن در صنایع تبدیلی امکان استخراج لیکوپن با شرایط بهینه و امکان صنعتی شدن استخراج آن از گوجه فرنگی همچنین از ضایعات گوجه‌فرنگی طبق این روش وجود دارد.

منابع

[1] Rao, A.V, and Rao, L.G., 2007, Carotenoids and human health. Pharmacological research, 55(3), pp.207-216.

[2] Tapiero, H., Townsend, D.M. and Tew, K.D., 2004, The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. Biomedicine & Pharmacotherapy, 58(2), pp.100-110.

[۳] مظاهری تهرانی، م.، مرتضوی، ع.، ضیاء الحق، ح. ر.، قندی، ا.، ۱۳۸۶، ویژگی‌های کیفی در فرآوری گوجه فرنگی. تهران: انتشارات مرز دانش، جلد دوم.

[۴] خانی پور، ا.، کرامت، ج.، شکرانی، ر.، ۱۳۸۶، تعیین شرایط بهینه استخراج کاروتنوئیدهای گوجه فرنگی. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی)، ۱۱ (۴۰): ۲۸۹-۲۹۶.

[5] Arballo, J., Amengual, J. and Erdman, J.W., 2021, Lycopene: A critical review of digestion, absorption, metabolism, and excretion. Antioxidants, 10(3), p.342.

[6] Liang, X., Ma, C., Yan, X., Liu, X. and Liu, F., 2019, Advances in research on bioactivity, metabolism, stability and delivery systems of lycopene. Trends in Food Science & Technology, 93, pp.185-196.

[7] Szabo, K., Cătoi, A.F. and Vodnar, D.C., 2018, Bioactive compounds extracted from tomato processing by-products as a source of valuable nutrients. Plant foods for human nutrition, 73(4), pp.268-277.

[8] PELLICANÒ, T.M., Sicari, V., Loizzo, M.R., Leporini, M., Falco, T. and Poiana, M., 2019, Optimizing the supercritical fluid extraction process of bioactive compounds from processed tomato skin by-products. Food Science and Technology, 40, pp.692-697.

[9] Lombardelli, C., Liburdi, K., Benucci, I. and Esti, M., 2020, Tailored and synergistic enzyme-assisted extraction of carotenoid-containing chromoplasts from tomatoes. Food and Bioproducts Processing, 121, pp.43-53.

[10] Catalkaya, G. and Kahveci, D., 2019, Optimization of enzyme assisted extraction of lycopene from industrial tomato waste. Separation and Purification Technology, 219, pp.55-63.

[11] Madia, V.N., De Vita, D., Ialongo, D., Tudino, V., De Leo, A., Scipione, L., Di Santo, R., Costi, R. and Messore, A., 2021, Recent advances in recovery of lycopene from tomato waste: A potent antioxidant with endless benefits. Molecules, 26(15), p.4495.