

# بررسی تاثیر غظت آنزیم و زمان گرمخانه گذاری بر میزان استخراج لیکوپن از تفاله گوجه فرنگی

زهرا دولت آبادی<sup>۱\*</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۲</sup>، سید هاشم اخلاقی فیض آباد<sup>۲</sup>، سیدحسین استیری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

<sup>۳</sup> عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۳

## چکیده

لیکوپن رنگدانه لیپوفیلی کاروتنوئیدی گوجه فرنگی رسیده می باشد و به دلیل اثرات بیولوژیکی مطلوبی مانند فعالیت آنتی اکسیدانی، باعث کاهش خطر ابتلا به سرطان از جمله سرطان پروستات می گردد. در این تحقیق اثر غظت آنزیم و زمان گرمخانه گذاری روی میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره حاصل از تفاله گوجه فرنگی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با سه سطح غظت آنزیم (۳۰، ۳۵ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و سه سطح زمان گرمخانه گذاری (۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه) و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد افزایش غظت آنزیم راندمان استخراج لیکوپن را افزایش می دهد. بیشینه فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره مربوط به زمانی که از غظت ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم پکتیناز استفاده گردید. با افزایش زمان گرمخانه گذاری از ۲۰ به ۶۰ دقیقه میزان استخراج لیکوپن در حدود ۱۵/۳۹ درصد کاهش یافت ( $P < 0/01$ ). بیشینه میزان استخراج لیکوپن متعلق به زمانی بود که از ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم با ۶۰ دقیقه زمان گرمخانه گذاری استفاده گردید که ۴۶ درصد بیش از کمینه میزان استخراج لیکوپن بود. کمترین فعالیت رادیکال گیرندگی لیکوپن استخراج شده به غظت ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم و ۴۰ دقیقه گرمخانه گذاری تعلق داشت. با توجه به این تحقیق می توان بیان داشت که برای استفاده بهینه از ضایعات صنعتی گوجه فرنگی، استفاده از آنزیم در استخراج لیکوپن بسیار مناسب می باشد.

**واژه های کلیدی:** استخراج لیکوپن، آنزیم، تفاله گوجه فرنگی، فعالیت رادیکال گیرندگی

## ۱- مقدمه

گوجه فرنگی، یک بخش جدایی ناپذیر از جهان گسترده ی رژیم غذایی است. مواد جامد گوجه فرنگی، از ۵۵ درصد قند، ۲۱ درصد مواد نامحلول در الکل ( پروتئین ها و پلی ساکاریدها )، ۱۲ درصد اسیدهای آلی (سیتریک ، مالیک ، گالاکتورونیک و کربوکسیلیک پیرولیدون )، ۷ درصد ترکیبات غیر آلی و ۵ درصد سایر مواد (کاروتنوئیدها ، اسید آسکوربیک، ترکیبات فرار، اسیدهای آمینه و غیره ) تشکیل شده است. پژوهش های صورت گرفته در مؤسسه ملی سرطان نشان می دهد که افرادی که از گوجه فرنگی و محصولات آن به وفور استفاده می کنند کمتر در معرض ابتلا به سرطان ها قرار می گیرند (۳).

در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹، در ایران چیزی در حدود ۱۴۶۹۸۵ هکتار به کشت گوجه فرنگی اختصاص داشت که از این مقدار ۹۹/۳ درصد آن مربوط به اراضی با کشت آبی و ۰/۷ درصد بقیه به صورت کشت دیم بوده است. استان فارس با تولید ۹۲۳۶۶۱ تن گوجه فرنگی در سال در رتبه اول تولیدکنندگان گوجه فرنگی کشور می باشد (۱).

سالانه قسمت عمده تولیدات ۵/۲ میلیون تنی این محصول به عنوان خوراک اولیه واحدهای تولید انواع رب و کچاب به کارخانجات فراوری گوجه فرنگی وارد می شود. بخش قابل توجهی از ورودی کارخانه ضمن دارا بودن ارزش غذایی مناسب و پتانسیل ایجاد ارزش افزوده به علت عدم دسترسی به فرایند مناسب، جهت استحصال مواد مغذی، بصورت ضایعاتی درآمده که نه تنها ارزش افزوده مناسبی ندارند بلکه بعلاوه <sup>۱</sup>BOD بالا و تعفن پذیری سریع از نظر زیست محیطی نیز مضر محسوب شده و نیاز به دفع مناسب دارند، همچنین پوست، تفاله و دانه گوجه فرنگی در حال حاضر به عنوان ضایعات این محصول تلقی شده و در بهترین شرایط به صورت خوراک دام به فروش می رسند. این در حالی است که این مواد علاوه بر پروتئین، چربی و آنزیم های گیاهی دارای مقادیر قابل ملاحظه ای از رنگدانه قرمز لیکوپن می باشند. در گوجه فرنگی بیش از ۲۱ نوع رنگدانه کاروتنوئیدی تشخیص و تعیین مقدار شده است که از این بین لیکوپن کاروتنوئید اصلی بوده و ۹۰-۸۵ درصد وزن کل کاروتنوئیدهای گوجه فرنگی را به خود اختصاص داده است (۱۱).

ضایعات جامد (تفاله، باقیمانده پس از فرآیند استخراج عصاره از پالپ، شامل پوست، بذرها، مواد فیبری، زانده ها، هسته ها می باشند. این ضایعات معمولاً به فاضلاب، جویبارها و رودخانه ها ریخته می شود یا به عنوان کود مصرف می شود. پروتئین بذر گوجه فرنگی دارای اسید آمینه لیزین بالایی بوده و به طور قابل ملاحظه ای می تواند کیفیت پروتئین محصولات غله ای را جبران نماید. همچنین می توان از بذر گوجه فرنگی به عنوان مکمل نان، افزایش دهنده حجم، بافت و کیفیت نان، به علت دارا بودن خواص ضد بیاتی استفاده نمود (۱۲).

لیکوپن به صورت طبیعی به شکل ترانس در محصولات غذایی دیده می شود و تشکیل لیکوپن سیس، احتمالاً در طول فراوری یا نگهداری صورت می گیرد (۹). لیکوپن به طور غالب در کلروپلاست بافت گیاه وجود دارد و بیوستز آن در گوجه فرنگی در طول فرایند رسیدن انجام می شود که طی آن کلروپلاست به کروموپلاست تبدیل می شود (۸). 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 (۴). به همین دلیل از آنجا که دیواره ی سلولی از سلولز و پکتین تشکیل شده است، می توان با استفاده از آنزیم های تجزیه کننده دیواره سلولی به عنوان ابزاری برای افزایش بازیابی لیکوپن از پوست گوجه فرنگی را بررسی نمود. بدین منظور تحقیقات متنوعی صورت پذیرفته است که می توان از تحقیقات لاوکیا و زورو<sup>۲</sup> (۸)، کانوارا و همکاران<sup>۳</sup> (۷) و رنجبر و همکاران<sup>۴</sup> (۲) نام برد که همگی این محققین بیان داشتند که استفاده از آنزیم منجر به افزایش راندمان استخراج لیکوپن می شود. آداموپولوس و همکاران با تحقیقی که در سال ۲۰۰۶ روی پیش بینی تجزیه لیکوپن در طول فراوری انجام دادند، بیان داشتند که استفاده از فرایند فشار بالا منجر به افزایش میزان لیکوپن به علت سست کردن پیوند میان لیکوپن با شبکه بافتی می گردد (۶). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر افزودن آنزیم و زمان گرمخانه گذاری بر میزان استخراج لیکوپن بود.

<sup>2</sup> Lavecchia and Zuorro

<sup>3</sup> Konwarh etal

<sup>4</sup> Adamopoulos etal

<sup>1</sup> Biochemical oxygen demand

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

برای این تحقیق تفاله‌ی گوجه فرنگی حاصل از ضایعات فرایند تولید رب گوجه فرنگی (به روش هات‌بریک) از کارخانه رب دانه‌چین واقع در شهرستان سبزوار تهیه و به آزمایشگاه گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار انتقال یافت. بافر استات، استون، کلروفرم و پترولیوم از شرکت مرک آلمان و آنزیم پکتیناز، لیکوپن استاندارد و ۲،۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما تهیه گردید.

### ۲-۲- استخراج لیکوپن

ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه تفاله به همراه ۱۲۰ میلی لیتر با فراسات M ۰/۲ در pH برابر با ۴/۷ مخلوط شد و سپس غلظت‌های متفاوتی از آنزیم پکتیناز (۳۰، ۳۵ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به نمونه اضافه شد. سپس هر کدام از نمونه‌ها در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد (بر اساس نظر تولیدکننده آنزیم‌ها) با زمان‌های متفاوت ۲۰، ۴۰، ۶۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. بعد از گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند تا آنزیم پکتیناز غیرفعال شود. سپس از هر نمونه ۵ گرم برداشته و با نسبت ۱ به ۱۰ با حلال (استون / پترولیوم اتر با نسبت ۱:۱) مخلوط شد. سپس تحت شرایط تاریک به قیف دکانتور انتقال گردید و پس از ۱۰ دقیقه همزدن و ۲۰ دقیقه توقف، فاز فوقانی که حاوی لیکوپن بود جداسازی شد و از کاغذ صافی و سولفات سدیم بی‌آب ۱ گرم عبور داده شده سپس ۲ میلی لیتر از عصاره صاف شده را جهت مشاهده جذب در طول موج ۵۰۳ نانومتر به سل دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu، ساخت ژاپن) انتقال داده شد (۱۲).

### ۲-۳- تعیین فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH

در این روش احیاء‌کنندگی (توانایی هیدروژن دهنده‌گی یا قدرت رادیکال گیرندگی) عصاره استخراج شده بر رادیکال پایدار DPPH، و تغییر رنگ آن از ارغوانی به زرد در طول ۵۱۷ نانومتر بررسی شد به این صورت که ۵ میلی لیتر از محلول عصاره استخراج شده با ۱ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (غلظت ۱mM) مخلوط و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و شرایط تاریک نگهداری شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید (۱۰).

### ۲-۴- محاسبه مقدار لیکوپن

برای محاسبه مقدار لیکوپن از منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. به این صورت که از لیکوپن استاندارد تهیه شده از شرکت سیگما غلظت‌های ppm ۲۰۰-۰ تهیه شد و برای این منظور ۰/۰۰۱ گرم از لیکوپن خالص را در ۵ میلی لیتر کلروفرم (به عنوان حلال) کاملاً حل گردید تا غلظت ppm ۲۰۰ از آن تهیه شد. سپس رقیق‌سازی شد و غلظت‌های استاندارد از ۰ تا ۲۰۰ ppm (۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۰۰) تهیه شد سپس جذب هر یک از این غلظت‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۳ نانومتر تعیین گردید و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم شد ( $R^2 = 0/953$ ) و با توجه به آن منحنی رابطه زیر به دست آمد:

$$y = 0/006x + 0/027$$

که در آن y میزان جذب می‌باشد و x غلظت لیکوپن بر حسب ppm می‌باشد (۴).

### ۲-۵- روش آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل ۳×۳ با سه سطح غلظت آنزیم و سه سطح زمان گرمخانه‌گذاری و در سه تکرار انجام گردید. از نرم افزار SAS برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها استفاده شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- تاثیر غلظت آنزیم بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت

#### رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

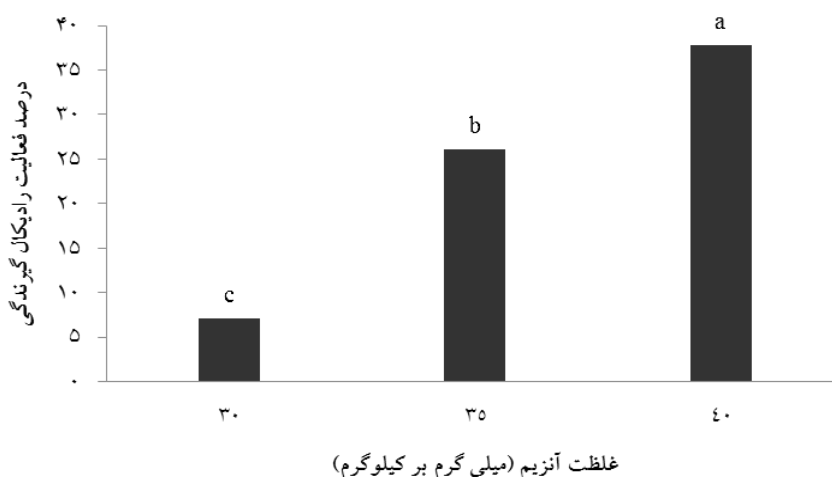
آنالیز واریانس داده‌های حاصل نشان داد که غلظت آنزیم بر میزان لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی‌دار داشت ( $P < 0/01$ ). مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن (شکل ۱) نشان داد که افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش میزان استخراج لیکوپن گردید. علت افزایش میزان استخراج لیکوپن با افزایش غلظت آنزیم را می‌توان به تخریب بیشتر پکتین، سلولز و همی سلولز که پلی‌ساکاریدهای اصلی تشکیل‌دهنده بافت پوسته گوجه فرنگی هستند، نسبت داد (۸). نتایج این بخش با نتایج رنجبر و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت داشت (۲). همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد، افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره شد به گونه‌ای

جذب رادیکال آزاد لیکوپن استخراجی از پوست گوجه فرنگی با استفاده از آنزیم را گزارش نمودند.

که بیشینه فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره مربوط به زمانی که از غلظت ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم پکتیناز استفاده گردید، بود. کانوارا و همکاران (۷) نیز افزایش فعالیت زیستی و پتانسیل



شکل ۱- اثر غلظت آنزیم پکتیناز بر میزان استخراج لیکوپن



شکل ۲- اثر غلظت آنزیم پکتیناز بر درصد فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره

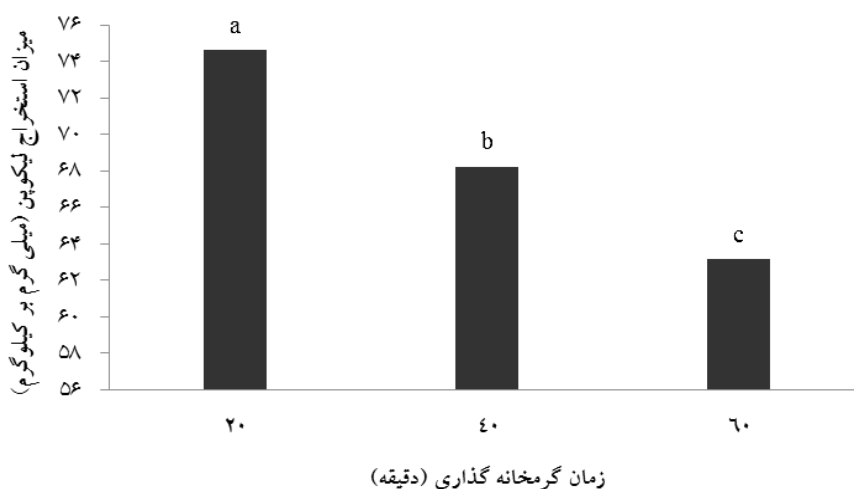
وسیع از مولکول لیکوپن که در بافت گیاهی احاطه شده است به سرعت از ساختار محافظت شده کلروپلاست آزاد می شود و در معرض شرایط محیطی قرار می گیرد، به علت واکنش پذیری بالا، مولکول های لیکوپن آزاد شده می تواند دستخوش تخریب سریع اکسیداتیو شود. اکسیداسیون منجر به شکل گیری محصولات تجزیه ای متعددی مانند آپولیکوپنال ها و آپوکاروتندیال ها می شود که طیف آنها، طول موج های کوتاه تری را در مقایسه با لیکوپن شیفتمی دهد. بنابراین کاهش مشاهده

### ۲-۳- تاثیر زمان گرمخانه گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

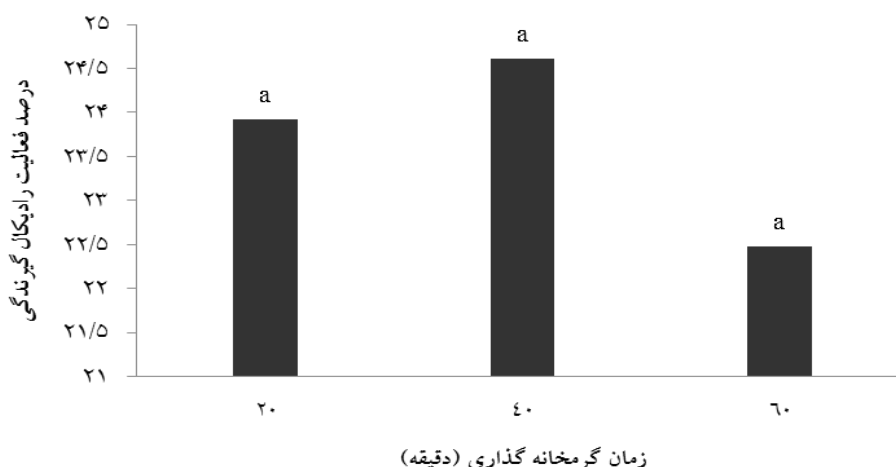
تجزیه و تحلیل داده های حاصل نشان داد که زمان گرمخانه گذاری بر میزان لیکوپن تاثیر معنی دار داشت ( $P < 0/01$ ) ولی بر فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی دار نداشت ( $P > 0/05$ ). همانطور که شکل ۳ نشان می دهد با افزایش زمان گرمخانه گذاری میزان استخراج لیکوپن در حدود ۱۵/۳۹ درصد کاهش یافت. تجزیه ترکیبات دیواره سلولی در زمان های اولیه انکوباسیون سریع اتفاق می افتد، بنابراین اکثریت

گرمخانه گذاری ابتدا به صورت غیرمعنی داری میزان فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره افزایش و سپس به علت تجزیه اکسیداتیو لیکوپن کاهش یافت.

شده در راندمان های استخراج با افزایش زمان گرمخانه گذاری می تواند یک انعکاس از کاهش تدریجی لیکوپن به علت اکسیداسیون باشد (۸). شکل ۴ نشان داد که با افزایش زمان



شکل ۳- اثر زمان گرمخانه گذاری بر میزان استخراج لیکوپن



شکل ۴- اثر زمان گرمخانه گذاری بر درصد فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره

بود که ۴۶ درصد بیش از کمینه میزان استخراج لیکوپن بود. کمترین فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره به لیکوپن استخراج شده توسط افزودن ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم و ۴۰ دقیقه گرمخانه گذاری تعلق داشت. در تحقیقی مشابه توسط رنجبر و همکاران (۱۳۹۱) که اثر آنزیم پکتیناز و تیمار اتانولی را در افزایش راندمان لیکوپن استخراج شده از پوست گوجه فرنگی را بررسی کردند، در بررسی زمان گرمخانه گذاری در مورد نمونه های تیمار نشده با حلال (اتانول) در زمان اثر ۱۸۰ دقیقه و غظت

### ۳-۳- اثر متقابل آنزیم و زمان گرمخانه گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

آنالیز واریانس داده های حاصل از انجام آزمایش نشان داد که اثر متقابل غظت آنزیم و زمان گرمخانه گذاری بر میزان لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی دار داشت ( $P < 0.01$ ). همانطور که جدول ۱ نشان می دهد بیشینه میزان استخراج لیکوپن متعلق به زمانی بود که از ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم با ۶۰ دقیقه زمان گرمخانه گذاری استفاده گردیده

۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم پکتیناز بیشترین مقدار لیکوپن به دست آمد و در مورد نمونه‌های تیمار شده با حلال بیان داشتند که در زمان ۶۰ دقیقه و غلظت ۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم پکتیناز، لیکوپن به بیشترین مقدار خود رسید (۲).

جدول ۱- اثر متقابل آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

غلظت آنزیم (mg/kg)	زمان گرمخانه‌گذاری (دقیقه)	میزان استخراج لیکوپن (میلی گرم بر کیلوگرم)	فعالیت رادیکال گیرندگی (DPPH)
۳۰	۲۰	۴۶/۹۵ <sup>h</sup>	۳/۵۷ <sup>g</sup>
۳۰	۴۰	۵۲/۳۵ <sup>g</sup>	۲/۵۷ <sup>g</sup>
۳۰	۶۰	۶۲/۷۲ <sup>f</sup>	۱۵/۱۷ <sup>f</sup>
۳۵	۲۰	۶۸/۷۹ <sup>e</sup>	۳۵/۹۷ <sup>b</sup>
۳۵	۴۰	۷۱/۵۵ <sup>d</sup>	۱۸/۵۰ <sup>ef</sup>
۳۵	۶۰	۷۲/۵۷ <sup>cd</sup>	۲۳/۸۷ <sup>de</sup>
۴۰	۲۰	۷۴/۴ <sup>c</sup>	۳۲/۲۵ <sup>bc</sup>
۴۰	۴۰	۸۰/۷۸ <sup>b</sup>	۵۲/۷۶ <sup>a</sup>
۴۰	۶۰	۸۶/۸۸ <sup>a</sup>	۲۸/۴۰ <sup>cd</sup>

حروف مشترک در هر ستون، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از ورودی کارخانه‌های فراوری گوجه فرنگی ضمن دارا بودن ارزش غذایی مناسب و همچنین ارزش افزوده بالا به‌علت عدم دسترسی به فرایند مناسب، جهت استحصال مواد مغذی، بصورت ضایعاتی در می‌آیند، که می‌توان از آنها برای تولید لیکوپن استفاده نمود که یکی از راه‌های استخراج لیکوپن استفاده از آنزیم است. همانطور که در این تحقیق آورده شد افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش میزان استخراج لیکوپن گردید و با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری میزان استخراج لیکوپن کاهش یافت.

#### ۵- منابع

- ۳- مظاهری تهرانی، مصطفی، ۱۳۸۶، تولید و فرآوری گوجه فرنگی، تهران مرز دانش، جلد اول
- 4- Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan. 2006. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food chemistry. 102:77-81.
- 5- Choudhari, S.M and Ananthanarayan L. 2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Journal of Food chemistry. 102,77-81.
- 6- Adamopoulos, K.G., Chatzitakis, P.C and Nikas, V.A. 2006. Prediction of lycopene degradation during a drying process of tomato pulp. Journal of Food Engineering, 74, 37-46.
- 7- Konwarh, R., Pramanik, S., Kalita, D., et al. 2012. Ultrasonication – A complementary 'green chemistry' tool to biocatalysis: A laboratory-scale study of lycopene extraction Ultrasonics Sonochemistry 19, 292-299.
- 8- 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.
- 9- Lee-sie, E.H., A and Teoh S.G. 2012. Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoe. Ultrasonics Sonochemistry, 19, 151-159.
- 10- Ottway, B and associates. 2004. Application for the evaluation of lycopene from tomato

- ۱- بی‌نام، آمارنامه کشاورزی. ۱۳۹۰. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، وزارت جهاد کشاورزی. جلد اول: محصولات زراعی. ۱۲۳ صفحه.
- ۲- رنجبر، آ.، مقصدلو، ی.، قربانی، م و صادقی ماهونک، ع.ر. ۱۳۹۱. نقش تیمار اتانولی و آنزیم پکتیناز بر راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات صنایع تبدیلی گوجه فرنگی. پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. ۸: ۱۵-۹.

oleoresin from tomato. Food standards agency, London UK.

11- Shi, J., Maguer, M.L., Kakuda, Y., Liptay, A., and Niekamp, F. 2001. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. Food Research International, 32: 15-21.

12- Sogi, D.S., Bhatia, R., Garg, S.K. and Bawa, A.S. 2005. Biological evaluation of tomato waste seed meals and protein concentrate. Food Chemistry, 89: 53-56.