مقایسه استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی با کاربرد فراصوت و عدم اعمال آن به‌روش رویه‌پاسخ

رحیمه احمدزاده [1*]، علیرضا بصیری [2]، مانیا صالحی‌فر [3]

[1]دانش‌آموخته ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[2]استادیار پژوهشکده صنایع شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، تهران، ایران.

[3]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت:1392/5/13 تاریخ پذیرش: 1394/4/18

چکیده

با توجه به اینکه لیکوپن از خاصیت آنتی‌اکسیدانی و رنگ دهندگی قوی برخوردار بوده و بدلیل وجود مقدار زیاد این رنگدانه در پوست گوجه‌فرنگی، در این تحقیق به امکان استخراج آن و تاثیر سه متغیر دما، زمان و نسبت حلال به نمونه بر میزان استخراج با و بدون اعمال فراصوت پرداخته شده است. جهت کاربرد امواج فراصوت از حمام آبی فراصوت و برای مقایسه نتایج از آزمایشات شاهد با کاربرد هیتر همزن مغناطیسی استفاده گردید. نقشه انجام آزمون‌ها نیز توسط روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی چرخش‌پذیر تعیین گردید. بیشترین غلظت لیکوپن استخراج شده در صورت کاربرد فراصوت 2/497 میلی‌گرم بر لیتر و در صورت عدم کاربرد آن 1/772 میلی‌گرم بر لیتر حاصل گردید. از بین متغیرهای مورد بررسی در این تحقیق مشخص گردید که دمای استخراج بیشترین تاثیر را بر میزان استخراج داشته و زمان تاثیر معنی‌داری بر میزان استخراج نداشته است. این نتایج در هر دو حالت با و بدون اعمال فراصوت مشاهده گردید. مقایسه غلظت لیکوپن استخراجی در شرایط بهینه، با حالت بدون اعمال فراصوت حاکی از افزایش37 درصدی در میزان استخراج است.

واژه‌های کلیدی: لیکوپن، گوجه‌فرنگی، استخراج، فراصوت، رویه‌پاسخ

*نویسنده مسوول: reyhaneh_ahmadzadeh@yahoo.com

1- مقدمه

لیکوپن رنگدانه قرمز موجود در بسیاری از میوه‌ها و برخی سبزیجات است. این ترکیب 40 کربنی دارای 11 باند دوگانه مزدوج و دو باند دوگانه غیرمزدوج می‌باشد. این ویژگی ساختاری آن‌را مستعد جذب اکسیژن یگانه و رادیکال‌های آزاد که در شرایط محیطی در بدن و مواد غذایی مستعد بوجود می‌آید، می‌سازد. دو ترکیب ذکر شده در بدن باعث ایجاد سرطان و در غذا باعث اکسیده شدن ترکیبات غذایی و فساد می‌گردد. 90- 85 درصد رنگ قرمز گوجه‌فرنگی رسیده به‌دلیل حضور لیکوپن در میان بخش‌های مختلف گوجه‌فرنگی است. پوست گوجه‌فرنگی بیشترین میزان لیکوپن (حدود 70 درصد) را دارا می‌باشد (2).

در کشور ایران طبق آمار سازمان خوار و بار جهانی در سال 2007 از 140 هزار هکتار زمین زیر کشت گوجه‌فرنگی، میزان 5 میلیون تن محصول برداشت شده (20) و در سال 2010 پس از چین، امریکا، ترکیه، هند، مصر و ایتالیا، ایران در رتبه هفتم تولید گوجه‌فرنگی در جهان قرار گرفته و از نظر کیفی نیز از جمله گوجه‌فرنگی‌های مرغوب جهان به‌شمار می‌رود. از این رو کشور ایران 3/7 درصد از تولید کل گوجه‌فرنگی جهان را به خود اختصاص می‌دهد (8). پوست گوجه‌فرنگی در طی فرآوری رب گوجه‌فرنگی بیشترین هدر رفت را به‌دنبال دارد و از این رو لیکوپن زیادی از دست می‌رود. این پوست‌های دور ریز شده حاوی مقادیر زیادی لیکوپن است که می‌تواند پس از بازیابی در صنعت غذا و دارو مورد استفاده قرار گیرد. به‌علاوه تهیه مکمل‌های غذایی جدید حاوی لیکوپن رو به افزایش است (7). در حال حاضر لیکوپن به‌عنوان یک عامل رنگ‌دهنده طبیعی با خواص فراسودمند (غذا- دارو) مورد توجه صنعت غذا و دارو قرار گرفته است و آگاهی مردم نیز از کاربرد آن در حال افزایش می‌باشد (14).

با توجه به قدرت رنگ‌دهندگی بالا، این رنگدانه می‌تواند جایگزین مناسبی برای بسیاری از رنگ‌های مصنوعی به‌کار رفته در تنقلات غذایی و نوشیدنی‌ها باشد. تنها 30 درصد از تولید سالانه گوجه‌فرنگی در ایران به‌صورت تازه مصرف می‌شود و مابقی در صنایع تبدیلی برای تولید رب، سس و سایر موارد به‌کار می‌رود. ولی این فرآورده‌ها در بسیاری از مواد غذایی همچون دسرها، محصولات بر پایه غلات، نوشابه‌ها و مواردی از این قبیل که نیاز به افزودن ترکیبات رنگی دارند، قابل استفاده نمی‌باشد (2). تاکنون روش‌های مختلف استخراج لیکوپن از گوجه‌فرنگی پیشنهاد، مورد آزمایش و بررسی قرار گرفته‌اند. استخراج توسط حلال‌های آلی، استخراج با سیال فوق بحرانی(SFE) ، استخراج به‌کمک آنزیم(EAE) ، استفاده از امواج فراصوت(UAE) و استفاده از مایکروویو به‌همراه امواج فراصوت (UMAE) از جمله روش‌هایی هستند که تاکنون در دنیا جهت استخراج لیکوپن به‌کار رفته‌اند (4). استفاده از روش اولتراسونیک جهت استخراج مزایایی نسبت به سایر روش‌ها دارد که برخی از این موارد عبارتند از: کاهش مدت زمان استخراج، عدم نیاز به استفاده از حلال‌های مضر، ساده بودن روش، بازدهی بیشتر، نفوذ بهتر حلال به داخل بافت جامد، هزینه پایین‌تر، استفاده از دماهای پایین و در نتیجه عدم اتلاف دما و جلوگیری از نابودی ترکیبات فراری که نقطه جوش پایینی دارند (18).

طی تحقیقی که لی‌سای و تئو[1] در سال 2012 بر روی پالپ هموژن شده گوجه‌فرنگی که به‌روش انجمادی خشک شده بود، انجام دادند، از مخلوط انهگزان، اتانول و استون با نسبت 3:1:1 به‌عنوان حلال و حمام آبی فراصوت با فرکانس 37 کیلوهرتز و توان موثر 140 وات برای افزایش راندمان استخراج استفاده نمودند. نتایج این تحقیق با روش سطح پاسخ بهینه‌سازی شده و بهترین راندمان (99%) در مدت زمان 45/6 دقیقه، دمای 47/6 درجه سانتی‌گراد و نسبت 1: 74/4 (v/w) حلال به نمونه خشک‌شده گوجه‌فرنگی، حاصل گردید(12).

هدف از انجام این تحقیق این است که با کاربرد امواج فراصوت به‌عنوان محرکی جهت افزایش تخریب دیواره سلولی و انتشار بهتر و موثرتر رنگدانه‌های موجود در پوست گوجه‌فرنگی به‌خصوص لیکوپن، علاوه بر کاهش مدت زمان و دمای مورد نیاز جهت استخراج نسبت به روش‌های متداول، از حلال‌هایی ضعیف‌تر و با سمیت کمتر استفاده شود. همچنین مراحل استخراج در شرایط یکسانی از لحاظ متغیرهای بکار رفته بدون کاربرد امواج فراصوت انجام شده و نتایج و غلظت لیکوپن استخراج شده در این دو حالت با یکدیگر مقایسه شده است.

[1] Alice Lee-Sie Eh & Siang-Guan Teoh

2 - مواد و روش‌ها

نمونه‌های گوجه‌فرنگی از واریته Red cloud مورد استفاده قرار گرفتند. حلال‌های انهگزان، اتانول، استون و اتیل‌استات با خلوص آزمایشگاهی و همچنین بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت Merck تهیه شد.

2-1- آماده‌سازی نمونه

پس از پاک‌سازی و جدا نمودن قسمت‌های باقیمانده بوته گوجه‌فرنگی‌ها شستشو و به‌مدت حدود 10 دقیقه در ظرف حاوی آب جوش غوطه‌ور شدند. پس از آن بلافاصله زیر جریان آب سرد قرار گرفتند. در اثر شوک حرارتی وارده اتصال پوست با لایه‌های زیرین سست شده و به‌راحتی با دست جدا شدند برای جلوگیری از گسترش فساد میکروبی و افزایش ماندگاری در طی مدت آزمایش‌ها در آون (مدل UNB400 ساخت شرکت Memmert آلمان) خشک شدند. رطوبت اولیه نمونه با قرار دادن آن در آون اندازه‌گیری شده و پس از رسیدن به وزن ثابت مقدار آن 75 درصد تعیین شد. شرایط خشک کردن پوست‌های گوجه‌فرنگی این‌گونه بود که آن‌ها را بر روی یک سطح پارچه‌ای به‌صورت تک‌لایه در محیطی تاریک و در دمای محیط (℃ 35 -30) به مدت 16 ساعت قرار داده و پس از اینکه رطوبت تا حدی کاهش یافت، به‌مدت 10 ساعت در آون با دمای 60°c قرار داده شده تا جایی‌که رطوبت به حدود 5 درصد رسید. (11) پس از آن پوست‌های خشک شده به‌منظور افزایش سطح تماس با حلال و بهبود فرآیند استخراج توسط آسیاب (ساخت شرکت Moulinex فرانسه) خرد شده و به‌شکل ذراتی پودری درآمد و جهت یکنواختی بیشتر از الک با شماره مش40 عبور داده شد. برای جلوگیری از تجزیه و ایزومریزاسیون لیکوپن و افزایش ماندگاری در ظرف شیشه‌ای پوشیده با فویل آلومینیومی تا زمان مصرف در دمای حدود 4+℃ نگهداری شد.

2-2- مراحل انجام فرآیند استخراج با تاثیر فراصوت

برای هر بار انجام فرآیند استخراج ،2 گرم از پودر خشک‌شده پوست گوجه‌فرنگی را وزن نموده (ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001± گرم مدل GF-300 ساخت AND ژاپن) و با حجم مشخصی از حلال (مطابق جدول 1) و 0/05 درصد (وزنی/حجمی) BHT در استون مخلوط شد. بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن آنتی‌اکسیدانی است که جهت جلوگیری از واکنش‌های اکسیداسیون و ایزومریزاسیون استفاده می‌شود. حجم حلال مورد استفاده بر اساس ترکیب حلال به‌کار رفته که مخلوطی از حلال‌های انهگزان، اتانول و استون با نسبت 1:1:2 برای تمام سطوح آزمون مشخص و مورد استفاده قرار گرفت. این ترکیب پس از هم‌زدن داخل بشر در حمام آبی فراصوت غوطه‌ور گردید.

پس از گذشت مدت زمان لازم برای هر آزمون، بشر را از حمام آبی خارج نموده و محتویات آن از صافی عبور داده شد، تفاله کم‌رنگ شده پوست گوجه‌فرنگی بر روی صافی باقی ماند. به محلول عبوری از کاغذ صافی 20ml آب دیونیزه اضافه شد. پس از افزودن آب دو لایه لیپولیتیک و هیدرولیتیک از هم جدا می‌شوند. آب و کاروتنوئیدهای قطبی دیگر به سمت پایین حرکت کرده و لایه لیپولتیک که در سطح بالایی قرار گرفته و حاوی لیکوپن است، به‌کمک یک قیف جدا کننده، جدا شد (18)

محلول بالایی را که حاوی لیکوپن می‌باشد در سل کوارتز دستگاه اسپکتروفتومتر(UV/VIS مدل 2100 یو وی ساخت UNICO آمریکا) ریخته و میزان جذب آن در طول‌موج 503 نانومتر تعیین گردید (6، 12، 16). سپس با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله منحنی لیکوپن استاندارد، غلظت لیکوپن در نمونه مجهول محاسبه شد.

برای تعیین معادله رگرسیون و منحنی کالیبراسیون از منحنی به‌دست آمده از آزمایشات انجام شده توسط راولو پرز و همکارانش استفاده گردید (شکل 1). نحوه تعیین این منحنی همانند سایر کارهای مشابهی که توسط محققان دیگر نیز انجام گرفته است (10)

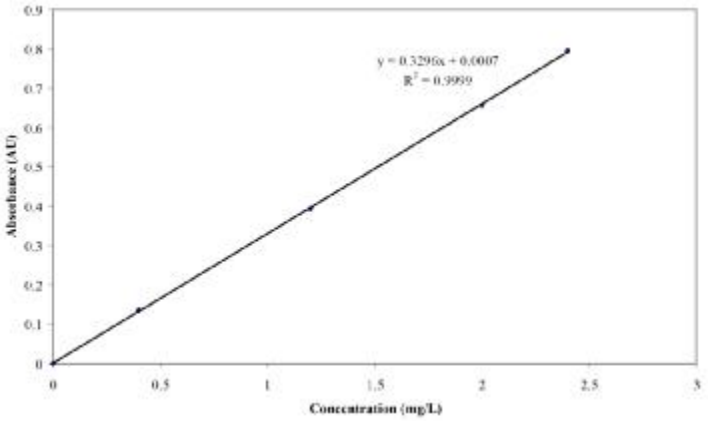
با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها با غلظت مجهول در معادله استاندارد، غلظت لیکوپن در نمونه مجهول به‌دست آمد (15). بر این اساس معادله رگرسیونی که در این تحقیق از آن استفاده شده است به‌صورت زیر می‌باشد:

رابطه 1:

$$Y=0/3296x+0/0007 \qquad R^2=0/9999$$

جدول 1- نسبت، ترکیب و مقدار حلال‌های مورد استفاده در سطوح مورد بررسی آزمون

حلال به نمونه	مقدار حلال (ml)	ترکیب حلال‌ها با نسبت 1:1:2
10	20	10 میلی‌لیتر انهگزان+ 5 میلی‌لیتر اتانول+ 5 میلی‌لیتر استون+ 0/25 گرم BHT
24/18	48/36	24/18 میلی‌لیتر انهگزان+ 12/09 میلی‌لیتر اتانول+ 12/09 میلی‌لیتر استون+ 0/6 گرم BHT
45	90	45 میلی‌لیتر انهگزان+ 22/5 میلی‌لیتر اتانول+ 22/5 میلی‌لیتر استون+ 1/645 گرم BHT
65/81	131/62	65/81 میلی‌لیتر انهگزان+32/9 میلی‌لیتر اتانول+ 32/9 میلی‌لیتر استون+ 1/645 گرم BHT
80	160	80 میلی‌لیتر انهگزان+ 40 میلی‌لیتر اتانول+ 40 میلی‌لیتر استون+ 2 گرم BHT



شکل1- منحنی کالیبراسیون لیکوپن استاندارد (15)

2-3- استخراج بدون اعمال فراصوت

آزمایشات شاهد نیز با شرایط برابری از لحاظ متغیرهای مورد بررسی، بدون همراهی امواج فراصوت به‌منظور اثبات تاثیر نیروی فراصوت بر مقدار راندمان انجام گرفت. تنها تفاوت موجود در این آزمون‌ها، کاربرد هیتر همزن مغناطیسی (مدل RH Basic 2 ساخت شرکت IKA آلمان) به‌جای حمام آبی فراصوت می‌باشد. بدین ترتیب که مخلوط نمونه با حلال پس از همزدن در بشر بجای غوطه‌ور شدن در حمام آبی بر روی هیتر قرار گرفتند. سایر مراحل و استفاده از معادله رگرسیون همانند آزمایشات قبلی می‌باشد.

2-4- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

جهت تعیین شرایط بهینه استخراج رنگدانه لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی از روش سطح پاسخ، با طرح آزمایشی مرکب مرکزی چرخش‌پذیر(CCRD) به‌منظور تولید داده‌های لازم و تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزارJMP محصول شرکت SAS ویرایش 8.0 استفاده گردید. متغیرهای مستقل در این تحقیق عبارتند از : زمان قرارگیری در حمام آبی فراصوت(X_1) دمای استخراج (X_2) ، و نسبت حلال به نمونه (X_3). همچنین غلظت لیکوپن نیز که به‌عنوان پاسخ شناخته می‌شود، متغیر وابسته در این آزمایشات است. پس از انجام پیش‌آزمایش‌ها، محدوده متغیرهای مورد بررسی مطابق زیر تعیین شدند:مدت زمان استخراج 55-20 دقیقه، دمای استخراج 52-32 درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به نمونه پودر پوست گوجه‌فرنگی 80-10 برابر حجمی/ وزنی. هریک از متغیرها در 5 سطح مختلف که توسط طرح مرکب مرکزی چرخش‌پذیر تعیین شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند. کد گذاری سطوح به‌صورت 1/682- ،1- ،0 ، 1و 1/682 انجام پذیرفت به‌طوری‌که 0 نقطه مرکزی و حد وسط را نشان می‌دهد. جدول 2 مقدار متغیرهای مستقل در سطوح مورد بررسی آزمون را نشان می‌دهد.

جدول 2- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آن‌ها در هر دو حالت با و بدون استفاده از فراصوت

مقادیر کدگذاری شده	X_1 : زمان استخراج (دقیقه)	X_2 : دمای استخراج (درجه سانتی‌گراد)	X_3 : نسبت حلال به پوست گوجه‌فرنگی (حجمی/وزنی)
-1/682	20	32	10
-1	27/09	36/05	24/18
0	37/5	42	45
1	47/90	47/94	65/81
1/682	55	52	80
x_i	x_1= (زمان -37/5) ÷17/5	x_2= (دما -42) ÷10	x_3= (نسبت حلال به نمونه -45) ÷35

تعداد نمونه‌های مورد آزمایش 18 مورد بوده که 4 مورد نقاط مرکزی هستند. آزمون‌های با اعمال فراصوت 2 بار تکرار شده و میزان جذب به‌صورت میانگین ذکر گردید. برای بررسی نتایج بر طبق مدل پیشنهاد شده از طریق نرم‌افزار، از معادله درجه دوم استفاده شد:

رابطه 2:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i<j}^{3} \beta_{ij} X_i X_j$$

در این معادله Y نشانگر راندمان استخراج است. β_0 پاسخ ثابت در نقطه مرکزی آزمایش را نشان می‌دهد. (زمانی‌که هر سه متغیر در حالت وسط قرار داشته باشند) β_i ضریب جملات خطی، β_{ii} ضریب جملات مرتبه دوم و β_{ij} ضریب جملات متقابل است. x_i و x_j نیز متغیرهای مستقل کدگذاری شده هستند (3) از طریق این معادله امکان دستیابی به پاسخ‌های پیش‌بینی شده وجود دارد. پس از وارد نمودن دامنه داده‌ها در نرم‌افزار، نقشه انجام آزمایش‌ها مطابق جدول 3 به‌دست آمد.

3- نتایج و بحث

3-1 نتایج حاصل از آزمون‌های استخراج تحت تاثیر فراصوت

پس از تعیین نقشه آزمایشات، در ادامه آزمون‌ها یک به‌یک در شرایط پیشنهاد شده انجام پذیرفت. میزان غلظت لیکوپن حاصله نیز پس از جایگذاری در معادله رگرسیون لیکوپن استاندارد بدست آمد. با به‌کارگیری روش آماری سطح پاسخ و مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقادیر پیش‌بینی شده مطابق جدول 4 نزدیک بودن این اعداد به یکدیگر نشان می‌دهد که این امر نشانگر همبستگی خوبی بین نتایج بدست آمده با روش تجربی و مقادیر پیشگویی شده با روش آماری است. تناسب مدل پیش‌بینی شده نیز توسط روش آنالیز واریانس(ANOVA) مطابق جداول 5 و 9 مورد تحلیل قرار گرفت و برای تعیین میزان تاثیر هر کدام از ضرایب آزمون t روی ضرایب انجام شد که در جداول 6 و 8 قابل مشاهده است.

نتایج نشان داده شده در جدول 6 حاکی از آن است که در میان آثار خطی دمای استخراج و نسبت حلال به نمونه با P ‹ 0/0001 بیشترین تاثیر معنی‌دار را بر مقدار استخراج تحت اثر فراصوت داشتند. به‌طوری که در عمل نیز با افزایش آن‌ها میزان استخراج به‌صورت خطی افزایش یافت. در میان اثرات متقابل، تنها اثر معنی‌دار مربوط به ترکیب دما (x_2) و نسبت حلال به نمونه (x_3) با P ‹ 0/0001 می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که دما و نسبت حلال به نمونه موثرترین متغیرها در این تحقیق محسوب می‌شوند. به‌عبارت دیگر اثر عامل زمان و اثرات متقابل زمان- دما و زمان- نسبت حلال به نمونه معنی دار نمی‌باشند. بر این اساس مدل سه جمله‌ای ذکر شده در قبل به شکل مدل دو جمله‌ای زیر که نشان‌دهنده ارتباط تجربی بین میزان استخراج لیکوپن و دو متغیر معنی دار دمای استخراج و نسبت حلال به نمونه می‌باشد، تبدیل می‌گردد. همچنین برای بررسی ارتباط بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته از نمودار سه بعدی سطح پاسخ رسم شده توسط مدل استفاده شد.

رابطه 3:

$$Y=1/7274 +0/7679\ x_2 +0/5816\ x_3 - 0/1882\ x_3^2 -0/4643\ x_2x$$

از مقایسه میزان t در جدول 6 بین دو متغیر موثر در این پژوهش(دما و نسبت حلال به نمونه) مشاهده می‌گردد که افزایش دما بیشترین تاثیر را در میزان استخراج دارد که این نتیجه در

نمودار 2 نیز قابل مشاهده است. علت این پدیده را می‌توان این‌گونه بیان نمود که تاثیر انرژی وارده به‌صورت امواج صوتی همراه با افزایش دما قدرت نفوذ حلال به داخل بافت گوجه‌فرنگی را افزایش داده که این امر موجب از هم گسیختن غشای سلولی و افزایش نقل و انتقالات جامد- مایع می‌گردد (9) و درنتیجه انتشار لیکوپن از فضای داخل سلولی به فضای خارجی و ترکیب با حلال افزایش می‌یابد .

جدول 3 - نقشه تعیین شده آزمایش‌ها (با و بدون حضور فراصوت)

شماره آزمایش	الگوی انجام آزمون‌ها	زمان(X_1)	دما (X_2)	نسبت حلال به نمونه (X_3)
1	-+-	27/09	47/94	24/18
2	+-+	47/90	36/05	65/81
3	-++	27/09	47/94	65/81
4	Ooo	37/5	42	45
5	oAo	37/5	52	45
6	Ooo	37/5	42	45
7	Aoo	55	42	45
8	+--	47/90	36/05	24/18
9	Oao	37/5	32	45
10	++-	47/90	47/94	24/18
11	--+	27/09	36/05	65/81
12	Ooo	37/5	42	45
13	Aoo	20	42	45
14	Ooo	37/5	42	45
15	ooa	37/5	42	10
16	---	27/09	36/05	24/18
17	+++	47/90	47/94	65/81
18	ooA	37/5	42	80

جدول4-نمایش نتایج مشاهده شده در آزمون‌ها و نتایج پیش‌بینی شده در حضور فراصوت

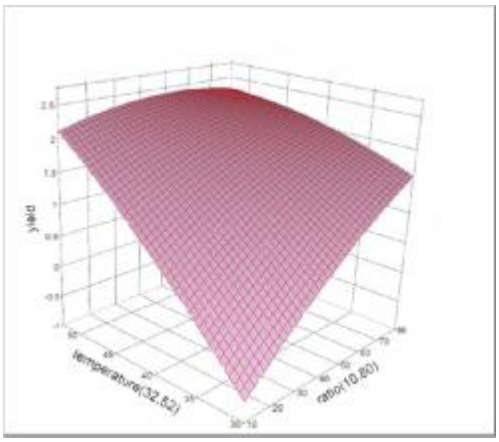
شماره آزمایش	الگوی انجام آزمون‌ها	میانگین میزان جذب (نانومتر)	غلظت لیکوپن (میلی‌گرم بر لیتر)	نتایج پیش‌بینی شده
1	-+-	0/663	1/966	1/839
2	+-+	0/563	1/706	1/747
3	-++	0/730	2/212	2/301
4	ooo	0/589	1/784	1/726
5	oAo	0/726	2/201	2/346
6	ooo	0/558	1/690	1/726
7	Aoo	0/515	1/561	1/763
8	+--	0/304	0/920	0/702
9	oao	0/257	0/777	0/812
10	++-	0/663	1/855	1/927
11	--+	0/578	1/751	1/703
12	ooo	0/576	1/745	1/726
13	aoo	0/553	1/675	1/652
14	ooo	0/576	1/718	1/726
15	ooa	0/274	0/829	1/011
16	---	0/172	0/519	0/578
17	+++	0/824	2/497	2/309
18	ooA	0/665	2/017	2/277

جدول5- نتایج تجزیه واریانس غلظت لیکوپن استخراجی تحت تاثیر فراصوت

منبع تغییر	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F ratio	Prob>F
تیمار	9	4/6765	0/5196	17/6081	0/0002
خطا	8	0/2360	0/0295		
کل	17	4/9126			

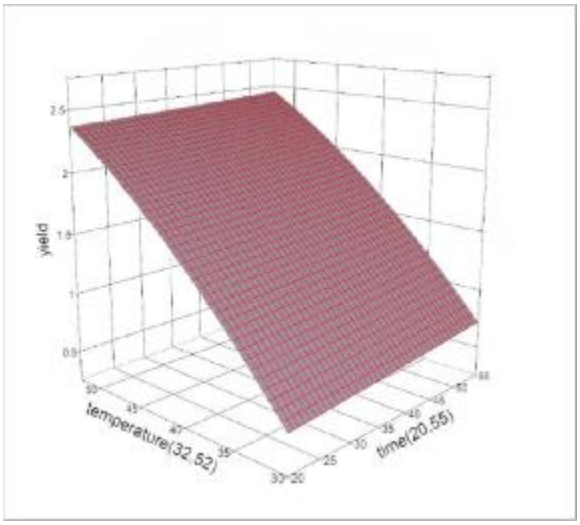
جدول 6 - نمایش میزان معنادار بودن ضرایب رگرسیون بر روی میزان استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی با تاثیر فراصوت

ضریب	میزان ضریب	خطای استاندارد	t	P
β_0	1/7274	0/6146	33/56	<0/0001
β_1	0/0574	0/0469	1/23	0/2313
β_2	0/7679	0/0469	16/37	<0/0001
β_3	0/5816	0/0469	12/40	<0/0001
β_{11}	0/0047	0/8198	0/06	0/9538
β_{22}	-0/1147	0/8198	-1/40	0/1736
β_{33}	-0/1882	0/8198	-2/30	0/0300
β_{12}	-0/0182	0/1030	-0/18	0/8612
β_{13}	-0/0638	0/1030	-0/62	0/5413
β_{23}	-0/4643	0/1030	-4/50	0/0001



شکل 2- نمودار سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تاثیر تغییرات دما و نسبت حلال به نمونه بر روی استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی تحت تاثیر فراصوت

با توجه به شکل 3 در آزمایشاتی که مدت زمان استخراج همزمان با افزایش دما بیشتر می‌شود، بدون در نظر گرفتن نسبت حلال به نمونه، این افزایش زمان بر افزایش راندمان لیکوپن استخراج شده تاثیر چندانی نداشته است و این تاثیر در زمان‌های طولانی‌تر به مقدار بسیار اندکی بیشتر بوده که این تغییر چندان محسوس نمی‌باشد. باتوجه به عدم تاثیر زمان بر روی میزان استخراج در این تحقیق می‌توان به این نتیجه رسید که در حداقل زمان به‌کار رفته (20 دقیقه) حداکثر فرایند استخراج انجام شده و گذشت زمان تاثیر چندانی در این افزایش ندارد.این نتیجه تا حدودی با یافته‌های حاصل از پژوهش (12) که بر روی پالپ گوجه‌فرنگی انجام شده و از امواج فراصوت نیز استفاده شده بود، هم‌خوانی داشته و در آن تحقیق نیز مدت زمان استخراج در بین متغیرها کمترین تاثیر را در میزان استخراج داشته است و این در حالی است که در تحقیق صورت گرفته توسط این محققین نسبت حلال به نمونه بیشترین تاثیر را بر میزان استخراج داشته است. اما در تحقیقی که توسط Lianfu و Zelong بر روی استخراج لیکوپن از رب گوجه‌فرنگی انجام شد و از دستگاه مایکروویو برای افزایش راندمان استفاده گردید، توان مایکروویو و نسبت حلال به نمونه رب گوجه‌فرنگی مهم‌ترین فاکتورها در افزایش میزان راندمان به‌شمار می‌رفتند. (13)



شکل 3 - منحنی سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تاثیر تغییرات دما و زمان بر روی استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی با تاثیر فراصوت

4-1-نتایج آزمون‌های استخراج بدون حضور فراصوت

برای اطمینان از تاثیر امواج فراصوت بر روی میزان لیکوپن استخراج شده و حصول اطمینان از موثر بودن کاربرد حمام آبی فراصوت با فرکانس و توان مذکور، تمام آزمون‌ها تحت شرایط مشابهی از لحاظ زمان، دما و نسبت حلال به نمونه، بدون کاربرد فراصوت و تنها با حرارت‌دهی توسط هیتر همزن مغناطیسی انجام شده و نتایج و همچنین میزان پاسخ (غلظت لیکوپن) پس از جایگذاری در معادله رگرسیون به‌همراه نتایج پیش‌بینی‌شده توسط این روش نشان داده شده است در جدول 7 آورده شده است. لازم به ذکر است که الگوی انجام آزمون‌ها همانند آزمون‌های قبلی می‌باشد اما هر آزمون تنها یک‌مرتبه انجام پذیرفت. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته بدون تاثیر امواج فراصوت توسط هیتر همزن مغناطیسی بر میزان غلظت لیکوپن نیز از نمودار سه بعدی سطح پاسخ استفاده شده است.

با توجه به p مشاهده شده در جدول 8 مشخص می‌شود که ضرایب β_1، β_{11}، β_{22}،β_{33}، β_{12} و β_{13} تاثیر معنی‌داری بر روی میزان استخراج لیکوپن ندارند و نتایج تا حدودی همانند استفاده از فراصوت بوده و عامل زمان و اثرات متقابل زمان—دما و زمان—نسبت حلال به نمونه معنی‌دار نیستند.

بنابراین در اینجا نیز مدل سه جمله‌ای ذکر شده که برای نشان دادن ارتباط تجربی بین میزان استخراج لیکوپن و دو متغیر معنی‌دار دمای استخراج و نسبت حلال به نمونه ذکر شده بود، به شکل مدل دو جمله‌ای و به‌صورت زیر نشان داده می‌شود:

رابطه 4: $Y=1/2268 + 0/5521\ x_2 + 0/4250\ x_3 - 0/3369\ x_2x_3$

با توجه به نمودار 4 مشخص می‌شود که تغییرات میزان لیکوپن استخراج شده از پوست گوجه‌فرنگی شباهت زیادی به این تغییرات در حالتی که از فراصوت استفاده می‌شود، دارد و متغیرهای دما و نسبت حلال به نمونه بیشترین تاثیر را در افزایش میزان راندمان استخراج دارد.

همچنین نقاطی که در آن‌ها بیشترین میزان استخراج مشاهده می‌شود همانند این محدوده حین استفاده از فراصوت می‌باشد. در آزمایشاتی که مدت زمان استخراج همراه با افزایش نسبت حلال به نمونه بدون در نظر گرفتن دمای استخراج، بیشتر می‌شود تاثیر زیادی بر میزان استخراج نداشته و این نتیجه از روی میزان ضریب حاصل از تقابل اثرات زمان—نسبت حلال (β_{13}) که معنی‌دار نمی‌باشد (مطابق جدول8) نیز قابل مشاهده است.

جدول 7 - نمایش نتایج مشاهده شده در آزمون‌ها و نتایج پیش‌بینی شده بدون حضور فراصوت

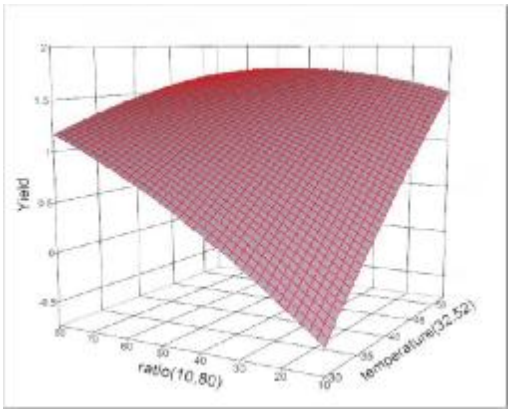
شماره آزمایش	الگوی انجام آزمون‌ها	میزان جذب (نانومتر)	غلظت لیکوپن (میلی‌گرم بر لیتر)	نتایج پیش‌بینی شده
1	-+-	0/475	1/439	1/384
2	+-+	0/403	1/221	1/192
3	-++	0/526	1/593	1/606
4	ooo	0/442	1/338	1/229
5	oAo	0/526	1/593	1/692
6	ooo	0/385	1/165	1/229
7	Aoo	0/372	1/127	1/214
8	+--	0/211	0/638	0/541
9	oao	0/189	0/571	0/588
10	++-	0/473	1/432	1/418
11	--+	0/409	1/238	1/169
12	ooo	0/406	1/229	1/229
13	aoo	0/482	1/461	1/166
14	ooo	0/398	1/205	1/229
15	ooa	0/201	0/608	0/828
16	---	0/124	0/374	0/471
17	+++	0/585	1/772	1/592
18	ooA	0/477	1/445	1/561

جدول 8 - نمایش میزان معنادار بودن ضرایب رگرسیون بر روی میزان استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی بدون تاثیر فراصوت

ضریب	میزان ضریب	خطای استاندارد	t	p
β_0	1/2268	0/0694	17/67	<0/0001
β_1	0/0238	0/0632	0/38	0/7161
β_2	0/5521	0/0632	8/37	<0/0001
β_3	0/4250	0/0632	6/72	<0/0002
β_{11}	-0/0083	0/1105	-0/08	0/9417
β_{22}	-0/0583	0/1105	-0/53	0/6121
β_{33}	-0/1443	0/1105	-1/31	0/2280
β_{12}	-0/0265	0/1139	-0/19	0/8535
β_{13}	-0/0335	0/1139	-0/24	0/8152
β_{23}	-0/3369	0/1139	-2/42	0/0416

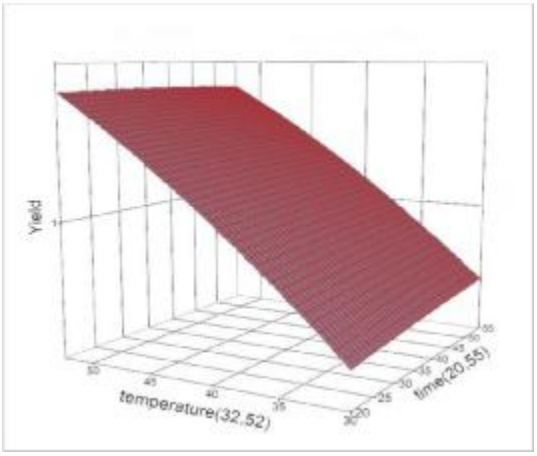
جدول 9- نتایج تجزیه واریانس غلظت لیکوپن استخراجی بدون تاثیر فراصوت

منبع تغییر	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F ratio	Prob>F
تیمار	9	2/497	0/277	14/356	0/0005
خطا	8	0/154	0/019		
کل	17	2/652			



شکل4- منحنی سه‌بعدی سطح پاسخ مربوط به تاثیر تغییرات دما و نسبت حلال به نمونه بر روی استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی بدون تاثیر فراصوت

در شکل 5 نیز تاثیر همزمان افزایش زمان و دمای استخراج بدون در نظر گرفتن نسبت حلال به نمونه در صورت عدم حضور فراصوت قابل مشاهده است که مطابق این نمودار نیز طولانی شدن مدت زمان حین استخراج همزمان با افزایش دما کمترین تاثیر را در بازدهی لیکوپن استخراج شده داشته و این نتیجه از جدول 8 و مقایسه میزان ضرایب نیز اثبات می‌گردد. همین‌گونه که مشاهده می‌گردد در زمینه چگونگی تاثیر متغیرها بر میزان استخراج و اثرات متقابل دو متغیر بر میزان پاسخ تفاوت چندانی بین حضور و عدم حضور فراصوت مشاهده نمی‌گردد و در هر دو حالت میزان دمای استخراج به‌عنوان موثرترین عامل در افزایش میزان استخراج در این تحقیق شناخته شده و عامل زمان نیز کمترین تاثیر را داراست.



شکل 5- منحنی سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تاثیر تغییرات زمان و دما بر روی استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی بدون تاثیر فراصوت

2-4- مقایسه تاثیر اعمال و عدم اعمال فراصوت بر روی استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی

در جدول 10 اختلاف غلظت لیکوپن در دو حالت با و بدون استفاده از فراصوت در کلیه آزمایشات انجام شده، مقایسه و میزان ضریب این افزایش استخراج محاسبه گردیده است. بیشترین غلظت لیکوپن استخراج شده در صورت به‌کارگیری فراصوت 2/497 میلی‌گرم بر لیتر بوده و این مقدار در صورت عدم استفاده از آن و تنها به‌کارگیری هیتر 1/772 میلی‌گرم بر لیتر مشاهده گردید. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در حضور فراصوت 37 درصد افزایش در غلظت لیکوپن استخراج شده افزایش مشاهده می‌گردد. علاوه بر این زمانی که حمام آبی فراصوت جهت استخراج استفاده می‌شود توان مورد نیاز برای دستیابی به میزان راندمان فوق برابر با توان حمام آبی فراصوت یعنی 95 وات می باشد، در حالی‌که توان خروجی هیتر همزن مغناطیسی مورد استفاده برابر با 415 وات می باشد و از این‌رو با کاربرد حمام آبی فراصوت در میزان انرژی مورد استفاده نیز صرفه‌جویی صورت گرفته است.

جدول 10- مقایسه اختلاف غلظت لیکوپن استخراج شده با و بدون فراصوت و مشاهده ضریب تغییرات

شماره آزمایش	الگوی انجام آزمون‌ها	غلظت لیکوپن بدون فراصوت (میلی‌گرم بر لیتر)	غلظت لیکوپن با فراصوت (میلی‌گرم بر لیتر)	ضریب تغییر
1	-+-	1/439	1/966	0/366
2	+-+	1/221	1/706	0/397
3	-++	1/593	2/212	0/388
4	ooo	1/338	1/784	0/333
5	oAo	1/593	2/201	0/381
6	ooo	1/165	1/690	0/450
7	Aoo	1/127	1/561	0/385
8	+--	0/638	0/920	0/442
9	oao	0/571	0/777	0/360
10	++-	1/432	1/855	0/295
11	--+	1/238	1/751	0/414
12	ooo	1/229	1/745	0/419
13	aoo	1/461	1/675	0/362
14	ooo	1/205	1/718	0/425
15	ooa	0/608	0/829	0/363
16	---	0/374	0/519	0/387
17	+++	1/772	2/497	0/409
18	ooA	1/445	2/017	0/395

5-نتیجه‌گیری

جایگزین نمودن لیکوپن به‌عنوان عامل رنگ‌دهنده به‌جای رنگ‌های مصنوعی به‌کار رفته در مواد غذایی که تهدیدی برای سلامتی مصرف‌کنندگان آن‌ها محسوب می‌شود، دارای اهمیت فراوانی است. به‌همین علت تقاضای مصرف لیکوپن در جهان روز به روز در حال افزایش می‌باشد. از این رو در این تحقیق سعی شد تا به بررسی امکان استخراج لیکوپن از پوست گوجه‌فرنگی که جزئی از ضایعات کارخانجات تولید رب محسوب می‌شود، پرداخته شود. امروزه استخراج به‌روش فراصوت به‌دلیل مصرف انرژی کمتر و کارایی بالاتر به‌صورت جایگزینی مناسب برای روش‌های استخراج قدیمی و به‌عنوان روشی اثبات شده در استخراج مواد موثره از منابع گیاهی به‌ویژه ترکیبات با وزن مولکولی پایین تبدیل شده است. در این تحقیق به‌کمک طرح مرکب مرکزی حاصل از روش رویه پاسخ تاثیر سه متغیر دما، زمان و نسبت حلال به پوست گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفته و شرایط استخراج لیکوپن تحت تاثیر فراصوت و بدون آن تعیین گردید. نتایج آزمون‌های انجام شده تحت تاثیر فراصوت با آزمون‌های بدون تاثیر فراصوت مقایسه شد و نتایج نشان داد که در صورت بکارگیری فراصوت در حالت بهینه حدود 37 درصد افزایش در میزان غلظت لیکوپن مشاهده گردید. همچنین مشخص گردید که از میان متغیرهای مورد بررسی در این تحقیق دمای استخراج بیشترین تاثیر را بر میزان استخراج داشته است.

6-منابع

1- احمدی ق.1388.آخرین وضعیت طرح‌های صنایع فرآوری گوجه‌فرنگی در استان بوشهر. قابل دسترسی در www.boushehr.mim.gov.ir.

2- خانی‌پور، ا.، کرامت، ج.، حسینی پرور، ه.، معتمدزادگان، ع.، قربانی، آ.، شهیدی یاساقی، ا.، 1385. کاربرد کاروتنوئیدهای استخراجی از گوجه‌فرنگی در مواد غذایی حرارت دیده و سرد و بررسی پایداری آن در طول زمان نگهداری. *مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، 2: 23-13.

3- عباسی، ا.، نیاکوثری، م.، فرشادفر، ش.، 1385. معرفی روش‌های مختلف استخراج لیکوپن از گوجه‌فرنگی و ضایعات کارخانجات فرآوری گوجه‌فرنگی، امنیت، کاهش ضایعات و نوآوری. شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران (اولین کنگره منطقه‌ای)، 23-24 فروردین، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

4- Andre, I،khuri., 2005.Response Surface Methodology and Related Topics.university of Florida,USA.World Scientific.chapter 2:19-47.

5- Ausich, R, Sanders,L.,David, J., 1999. Process for the isolation and purification of lycopene crystals,US Patent,PN 5858700.

6- Choudhari, M .,Ananthanarayan, L.,2007. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chemistry* 102 :77–81.

7- Deziezak, J.D.,1987.Application of food colorants.*Food Technology*,vol 41, No.4, PP: 78-88.

8- Davis A.R.2008.A rapid Spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products.*Postharvest Biology and Ttechnology*,vol 28,No:3.

9- Faostat,2012,Food and agriculture Orgnization of the United Nations,Available at: http://www.fao.org/economic/ess/en/,(accessed: Jun 2013)

10- Feng, H.,Barbosa-Canvas, G.V.,Weiss, J.,2011.Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.Springer New York Dorrecht Heidelberg London,678 P.

11- Fish,W.,Perkins,P.V.,Collins,J.K.,2002.*Food Composition and analysis*,15:309-317.

12- Lavecchia, R.,Zuorro, A.,2008. Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. *European Food Research and Technology*, Springer-Verlag.

13- Lee-sie Eh, A and Teoh S.G.,2012.Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoes. *Ultrasonic Sonochemistry* 19:151-159.

14- Lianfu,Z., , L.,2008 .Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes., PP:731-737.

15- Olson, J.A and Krinsky,N.I.1995.Yhe colorful, fascina ng world of the carotenoids : important physucologic modulators.*J.FASEB*.9:1547-1550.

16- Ravelo-Perez, L.,M. Hernandez-Borges, J. , Rodriguez-Delgoda M.A, Borges-Miquel T.,2008. Spectrophotometric Analysis of Lycopene in Tomatoes and Watermelons. Department of Analytical chemistry. *Nutrition and Food Science, Chem educator* 13:11-13.

17-Rodrigues, S.P and Gustavo, A.S.,2007. Ultrasonic extraction of phenolic compounds from coconut(*Cocos nucifera*) shell powder. *J Food Eng*,80:869-872.

18-Sadler, G.,Davis, J and Dezman, D.,1990. Rapid extraction from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *J. Food Sci*. 55:1460-1461.

19- Y, G and S. 2008.Effect of heating and exposure to light on the stability of lycopene in tomato puree, PP: 514–520.

20- Toma, R.B.,Frank, G.C.,Nakayama, K and Tawfik, E.,2008.Lycopene content in raw tomato varies and tomatoes products, *J. Food Sci*,19:127-132