(مقاله پژوهشی)

استخراج آبی- آنزیمی روغن و ترکیبات آنتی اکسیدانی از ارقام کنجد

سودابه عین افشار[1*]

۱- استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۰۶/۱۰

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین شرایط مناسب استخراج آبی- آنزیمی روغن از دانه‌ی کنجد، انجام شد. دو رقم کنجد (افغانی و پاکستانی) ابتدا به ارده تبدیل شدند و سپس مخلوط آنزیم‌های پکتیناز، سلولاز، همی‌سلولاز و پروتئاز در چهارغلظت (۰، ۲، ۳ و ۴ درصد حجمی/ وزنی) اضافه شد و تا زمان شکست امولسیون هم‌زده شد. روغن و کنجاله از یکدیگر جدا شدند و خصوصیات کمی و کیفی روغن تعیین شدند. آزمایشات شامل: اندازه‌گیری درصد روغن و کنجاله، زمان شکستن امولسیون، عدد اسیدی، پراکسید و ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی بودند. نتایج نشان دادند به روش آبی- آنزیمی می‌توان از دانه کنجد با راندمان بالا در حداقل زمان روغن استخراج نمود به طوریکه کمترین مقدار کنجاله و روغن حاصل شده و روغن دارای بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی باشد. از میان دو رقم به کار رفته کنجد رقم افغانی در استخراج آبی- آنزیمی با استفاده از ۴ درصد آنزیم کمترین زمان شکستن امولسیون (۵ دقیقه) و عدد پراکسید (۲/۰۹۱ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن در کیلوگرم) را داشت. این تیمار همچنین راندمان استخراج روغن (۴۸/۰۳ درصد)، ترکیبات فنلی (۳۲/۴۸ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم)، قدرت احیا کنندگی (۲۶/۶۳ میلی‌مول آهن II بر لیتر) و IC_{50} (۴۸/۰۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، میزان کنجاله استحصالی (۷۱/۱۱ درصد)، میزان عدد اسیدی (۰/۷۷۹ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن) بالایی را نشان داد ($P<0/05$).

واژه‌های کلیدی: راندمان استخراج روغن، روغن کنجد، عدد پراکسید، عدد اسیدی، قدرت آنتی‌اکسیدانی.

*مسئول مکاتبات:: soodabeheyn@yahoo.com

۱--مقدمه

استخراج روغن ازدانه‌های گیاهی از دیرباز انجام می‌شده است. روش‌های مختلفی برای کمک به استخراج روغن استفاده می‌شوند از جمله مخلوطی از آنزیم‌های تخریب-کننده دیواره سلولی نظیر همی‌سلولازها، سلولازها و پکتینازها (۷). تحقیقات زیادی در خصوص کاربرد آنزیم در استخراج روغن ارائه شده است از جمله ژیا هو و همکاران (۲۰۱۳) در استخراج روغن کنجد از سه آنزیم پاپائین، تریپسین و سلولاز در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و pH ۷ به مدت ۳ ساعت استفاده کردند و نشان دادند کاربرد آنزیم موجب بهبود بازیافت روغن می شود(۳۱). لطیف و انور (۲۰۱۱) پنج مخلوط آنزیم را در استخراج روغن و پروتئین کنجد بکار بردند و نشان دادند کیفیت پروتئین و روغن حاصل در مقایسه با سایر روش‌ها بهبود معنی‌داری یافت (۱۵). لانزانی و همکاران (۱۹۷۵) تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم سلولاز و اولترازیم را در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در استخراج روغن از آفتابگردان بررسی کردند (۱۴). سوسولسکی و سوسولسکی (۱۹۸۸) گزارش کردند در ارقام کانادایی کلزا، مخلوط آنزیمی پکتیناز و پروتئاز در غلظت ۲/۵درصد و زمان ۵ ساعت بیشترین میزان روغن استخراج شد (۲۷). بوسوسکا و همکاران (۱۹۹۳) روغن جوانه ذرت را به روش آبی-آنزیمی با استفاده از آنزیم پکتینکس و گاماناز در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۶ ساعت استخراج نمودند (۶). اولسون (۱۹۹۵) خصوصیات کمی و کیفی روغن کلزا، حاصل از فرایندهای نوین استخراج را اندازه گیری و با یکدیگر مقایسه نمود در روش آنزیمی آنزیم های مورد استفاده شامل مخلوطی از آنزیم های سلولاز، پکتیناز به همراه پروتئیناز بودند(۲۰). رانالی و دی‌متیا (۱۹۹۷) استخراج آبی- آنزیمی را در بعد صنعتی جهت استخراج روغن زیتون به‌کار بردند. آنزیم‌های مورد نظر در مرحله ورز دادن خمیر زیتون اضافه شد. دما در حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و پس از ۶۰ دقیقه به‌وسیله سانتریفوژ دو مرحله‌ای روغن از خمیر جدا شد. این فرایند موجب افزایش راندمان در حدود ۲-۳ درصد شد و روغن حاصل دارای خصوصیات کیفی بالایی بود (۲۱). سینیرو و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند راندمان استخراج روغن با افزایش غلظت آنزیم افزایش می‌یابد (۲۴). دنگ و همکاران (۱۹۹۹) مراحل فرآیند آنزیمی در استخراج روغن کلزا را بررسی کردند (۹). هان‌مونگ‌جای و نیرانجان (۲۰۰۱) از فرایند استخراج آنزیمی در استخراج روغن سبوس برنج استفاده کردند و نشان دادند غلظت آنزیم در راندمان استخراج روغن در مقایسه با درجه حرارت و زمان تاثیر بیشتری داشت(۱۲). بوسوسکا و همکاران (۲۰۰۳) استخراج آبی- آنزیمی روغن جوانه ذرت را با استفاده از آنزیم پکتینکس و گاماناز، در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد،۵/۲ =pH و به مدت ۶ ساعت انجام دادند (۶). مورلوو همکاران (۲۰۰۴) روغن جوانه ذرت را در محیط آبی با کمک آنزیم‌های پروتئاز و سلولاز، استخراج نمودند و نشان دادند با استفاده از فرایند آنزیمی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد طی ۴ ساعت می‌توان روغن ذرت را با راندمان در حدود۹۰ درصد استخراج نمود (۱۸). پرایرا و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند فرآیند آنزیمی به عنوان عامل کمک کننده در استخراج روغن به روش فشردن یا استخراج با حلال می تواند به کار رود.آنزیم‌های به کار رفته شامل سلولاز، آلکالاز و پکتیناز در غلظت ۶ درصد ، و به مدت ۶ ساعت بودند. با این روش روغن و کنجاله‌ای با راندمان و کیفیت بالا در مقایسه با روش حلال به‌دست آمد (۲۱). عبدالکریم و همکاران (۲۰۰۶) در فرایند استخراج آنزیمی روغن از دانه روغنی مورینگا الیفرا[1] از چهار آنزیم پروتئاز، آلفا آمیلاز، پکتیناز و سلولاز به‌طور جداگانه و یا مخلوط استفاده کردند (۳). لامسال و جانسون (۲۰۰۷) با استفاده از فرایند آنزیمی ۹۰-۸۸ درصد کل روغن سویا را استخراج نمودند و آنزیم فسفولیپاز را به منظور جداسازی بهتر روغن از فاز آبی به دلیل دی‌امولسیونه شدن روغن در آب، پیشنهاد کردند (۱۳). ژانگ و همکاران (۲۰۰۷)

1- .Morinaga Oleifera

استخراج آنزیمی ارقام کلزای چینی را جهت استخراج روغن مورد مطالعه قرار دادند. آنان آنزیم‌های پکتیناز، سلولاز و بتاگلوکاناز و پروتئاز را در غلظت ۲/۵درصد به مدت ۴ ساعت به‌کار بردند و درجه حرارت ۴۰-۳۰ درجه سلسیوس و pH=۴ را شرایط مناسب استخراج معرفی نمودند(۳۲). نجفیان و همکاران (۱۳۸۹) استخراج آنزیمی روغن زیتون را با استفاده از آنزیم های صنعتی مورد بررسی قرار دادند (۲). آنان آنزیم‌های پکتیناز ۱.۶۰۲۱ را بر روی دو واریته زیتون کرونایکی و میشن[1] بررسی کردند و نشان دادند آنزیم پکتینکس اولترا [2] موثرتر از پکتیناز بود (۲). دانسو بوتنگ (۲۰۱۱) اثر آنزیم و پیش تیمار حرارتی را بر بازیافت روغن از دانه آفتابگردان در فرآیند آنزیمی- آبی و استخراج با هگزان مقایسه کرد و نتیجه گرفت استفاده از پیش تیمار بخار تحت فشار سبب تسریع و بهتر تخریب شدن کوتلیدون سلول دانه آفتابگردان شد و راندمان استخراج بالاتری داشت (۸). گراسو[3] و همکاران (۲۰۱۲) در مورد بهبود استخراج روغن سویا با پیش تیمار آنزیمی تحقیق کردند و شرایط دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و زمان ۷ ساعت و pH = ۵/۴ را برای دانه های سویا فلیک شده، pH = ۵/۸ با دمای ۴۴ درجه سانتی گراد و به مدت ۵ ساعت را برای دانه کولت شده (با تخلخل بیشتر و سنگین تر) پیشنهاد کردند و نتیجه گرفتند استخراج آنزیمی سرعت و راندمان استخراج را نسبت به روش‌های معمول افزایش داده است(۱۱). از آنجایی که در مورد خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن حاصل از استخراج آبی آنزیمی ارقام کنجد اطلاعات اندکی وجود دارد لذا در این پژوهش به بررسی شرایط استخراج آبی- آنزیمی روغن کنجد به عنوان روشی جدید در روغن‌کشی پرداخته می‌شود و فرآیند آنزیمی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار رقم کنجد (در دو سطح) و غلظت آنزیم (چهار سطح) بررسی شد تا ضمن به‌دست آوردن شرایط بهینه، خصوصیات کمی و کیفی روغن و کنجاله حاصله بررسی گردد.

۲-مواد و روشها

دو نمونه ارده از دو رقم کنجد مجلسی و افغانی از بازار محلی یزد تهیه شدند و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای اتاق نگهداری شدند. آنزیم‌های پکتیناز، سلولاز، همی سلولاز و پروتئاز از شرکت نان قدس رضوی تهیه شدند و با نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط شدند این ترکیب برای تجزیه و خرد کردن دیواره سلول (که دارای ترکیبات پکتینی، سلولزی، هموسلولزی و پروتئینی می باشد) مناسب می باشد. ترکیبات مورد استفاده در تجزیه‌های شیمیایی دارای ماهیت و درجه‌ی تجزیه‌ای و آزمایشگاهی بودند.

۲-۱-مراحل استخراج آنزیمی

ابتدا آنزیم (۰، ۲، ۳ و ۴ درصد وزنی/ حجمی) به آب اضافه گردید. آب حاوی آنزیم به ارده به نسبت ۵ به ۱ وزنی اضافه گردید و در مخلوط‌کن با سرعت ۸۰ دور در دقیقه مخلوط شد. عمل اختلاط تا شکستن امولسیون روغن ادامه یافت. با شکستن امولسیون، فاز روغن از کنجاله جدا گردید. زمان لازم تا شکستن امولسیون در هر مورد یادداشت شد. پس از شکستن امولسیون و جداشدن روغن از فاز جامد مخلوط به سانتریفوژ منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه، روغن از کنجاله جدا گردید، فاز مایع شامل روغن و فاز جامد شامل کنجاله ارده و آب بود.

۲-۲-اندازه‌گیری اسیدیته روغن

بر حسب اسید اولئیک و توسط تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در مقابل فنل فتالئین اندازه گیری شد.

۲-۳-اندازه گیری عدد اسیدی

تعیین عدد اسیدی به روش استاندارد AOAC به شماره ۹۴۰/۲۸ صورت گرفت.

1-.Cronayky and Mission
2-.Pectinex Ultra
3- .Grasso

۲-٤-اندازه گیری عدد پراکسید

یک دهم تا ۰/۲ گرم نمونه روغن (بسته به میزان پراکسایش) در لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی لیتری وزن شد و با ۹/۸ میلی‌لیتر حلال کلروفرم : متانل (به نسبت ۳:۷) مخلوط و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه هم زده شد. عدد پراکسید از فرمول ۶ محاسبه شد:

$$PV = \frac{(As - Ab) \times m}{55/84 \times W \times 2}$$ فرمول۶

که As، جذب نمونه و Ab جذب شاهد در طول موج ۵۰۰ نانومتر است. m شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون (۴۰/۸۶ با ضریب تبیین ۰/۹۹) و W وزن نمونه روغن است (۲۵).

۲-۵-اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل به روش فولین سیوکالچو انجام گرفت. در این روش مقدار کل ترکیبات فنلی براساس یک ترکیب فنلی انتخاب شده، بیان می گردد و در اغلب مواقع این ترکیب اسید گالیک است. معرف فولین در حضور ترکیبات فنولیک در محلول قلیایی احیا و رنگ آبی تولید می‌کند که شدت جذب آن در طول موج ۷۶۰ nm بیانگر مقدار کل ترکیبات فنلی است.

۲-٦-اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH[1]

برای اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی‌اکسیدان‌ها از رادیکالهای آزاد DPPH استفاده می‌شود (۲۶). DPPH، ۲ و ۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل(۲و ۲- 1-picrilhydrazyldiphenyl) یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش می‌باشد که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) به دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازین زرد رنگ تبدیل می‌شود توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش DPPH در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد.

۲-۷-اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی آهن III (روش FRAP[2])

برای ارزیابی قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها از روشهای FRAP و تیوسانات استفاده شد (۳). آزمون FRAP آزمونی سریع، قابل تکرار و ارزان است که قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات احیا کننده یون فریک Fe^{3+} به فرو Fe^{2+} را به عنوان معیاری از قابلیت آنتی‌اکسیدان اندازه گیری می‌کند. در واقع قدرت آنتی‌اکسیدان یک نمونه از طریق توانایی آن در احیا نمودن آهن Fe^{3+} و تبدیل آن به Fe^{2+} و تغییر رنگ از سبز به آبی قابل تشخیص است.

۲-۸-کروماتوگرافی گازی

کروماتوگرافی گازی (ساخت شرکت یانگ لین، ACME 6100) با ستون SE-54 (DB-1) به طول ۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت فیلم ۰/۱ میکرومتر، گاز حامل هیدروژن با شدت جریان ۳۶ سانتیمتر در دقیقه، سیستم شکافت (دو قسمتی) با نسبت یک به ۲۰، دمای تزریق و شناسایی ۳۲۰ درجه سانتیگراد و برنامه دمایی ۲۴۰ تا ۲۵۵ درجه سانتیگراد و روند افزایشی چهار درجه سانتیگراد در دقیقه، حجم تزریق یک میلی‌لیتر و شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای انجام شد.

۲-۹-تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و براساس آزمایش فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. تیمارها عبارت بودند از : نوع رقم کنجد (در دو سطح، رقم افغانی و مجلسی) و درصد آنزیم بکار رفته (در چهار سطح، ۰، ۲، ۳ و ۴ درصد وزنی/ حجمی). میانگین‌ها با نرم افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ($p<۰/۰۵$) مقایسه شدند. به منظور برازش دهی منحنی‌ها از نرم‌افزار SigmaPlot استفاده شد. نمودارها با نرم افزارMicrosoft Excel ترسیم گردیدند.

1-2,2-Diphenyl-picrylhydrazyl

2-Ferric Reducing Activity of Plasma

۳-نتیجه و بحث

۳-۱-ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی روغن استخراجی به روش آبی- آنزیمی و نمونه شاهد

ترکیب اسیدهای چرب، میزان کل توکوفرولهای روغن استخراج شده به روش آبی- آنزیمی و نمونه شاهد (استخراج شده به روش پرس) در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که در جدول ۱ نمایان است دو نمونه روغن از نظر ترکیب اسیدهای چرب با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند اما میزان اسیدهای چرب اشباع روغن استخراج شده به روش آبی- آنزیمی بیشتر و مقدار اسیدهای چرب تک و چند غیر اشباعی آن کمتر از روغن استخراج شده به روش پرس بود از طرف دیگر نسبت ترکیبات توکوفرولی روغن کنجد استخراج شده به روش آبی- آنزیمی به طور معنی‌داری بیش از نمونه استخراج شده به روش پرس بود لذا انتظار می رود این روغن دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قویتری در مقایسه با نمونه استخراج شده به روش پرس سرد باشد.

جدول ۱- مقایسه خصوصیات فیزیکو شیمیایی نمونه های روغن کنجد استخراج شده به روش آبی- آنزیمی و پرس

پارامترهای فیزیکو شیمیایی	روغن استخراج شده به روش	
	پرس	آبی- آنزیمی
میرستیک اسید (درصد)	۰/۰۵۱^{a}±۰/۰۱	۰/۰٤۸ ^{a}±۰/۰۱
پالمتیک اسید (درصد)	۹/۳۹ ^{a}±۰/۲۲	۹/۳۳ ^{a}±۰/۲۱
پالمیتولئیک اسید (درصد)	۰/۱٦۹ ^{a}±۰/۰۱	۰/۱۷۵ ^{a}±۰/۰۲
استئاریک اسید (درصد)	٦/۰۸ ^{a}±۰/۱۱	٦/۰۵ ^{a}±۰/۱٦
اولئیک اسید (درصد)	٤۳/۹۵ ^{a}±۰/۳۱	٤۳/٦۵ ^{a}±۰/٤۹
لینولئیک اسید (درصد)	۳۸/۷۵ ^{a}±۰/۵۰	۳۸/۲۵ ^{a}±۰/۷۱
لینولنیک اسید (درصد)	۰/۳۵ ^{a}±۰/۰٤	۰/۳۳ ^{a}±۰/۰۳
آراشیدونیک اسید (درصد)	۰/۵۳ ^{a}±۰/۰۲۵	۰/۵۱ ^{a}±۰/۰۲
پائولینیک اسید (درصد)	۰/۱۳ ^{a}±۰/۰۲	۰/۱۱ ^{a}±۰/۰۰
بهنیک اسید (درصد)	۰/۷۹ ^{a}±۰/۲۵	۰/۸۱ ^{a}±۰/۲۱
لیگنوسریک اسید (درصد)	۰/۱٦ ^{a}±۰/۰	۰/۱۵ ^{a}±۰/۰۱
اسیدهای چرب اشباع (درصد)	۱۷/۰۰۱	۱۷/۳٤۸
اسیدهای چرب تک غیراشباع (درصد)	٤٤/۲٤۹	٤۳/۹۳۵
اسیدهای چرب چند غیراشباع (درصد)	۳۹/۱	۳۸/۵۸
اسید چرب چندغیراشباع/اسید چرب تک‌غیراشباع (درصد)	۰/۸۸۳	۰/۸۷۸
میزان توکوفرول‌ها (mg/kg)	٦٤۸/۲٤ ^{b}±۰/۰۲	٦۹۳/٤۵ ^{a}±۰/۰٤

*حروف مشابه در هر ردیف از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند (P<۰/۰۵)

۳-۲-اثر رقم کنجد بر ویژگی‌های مورد آزمون

آنالیز واریانس اثر رقم کنجد بر ویژگیهای روغن نشان داد که رقم کنجد بر درصد روغن و کنجاله، زمان شکستن امولسیون، عدد اسیدی و عدد پراکسید روغن تاثیر معنی‌داری داشت و بر ترکیبات فنلی، قدرت احیاکنندگی آهن III و IC_{50} معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵).

جدول۲- مقایسات میانگین اثر رقم کنجد بر ویژگی‌های مورد آزمون

رقم کنجد	مقدار روغن (درصد)	مقدار کنجاله (درصد)	زمان شکستن امولسیون (دقیقه)	عدد اسیدی (میلی گرم پتاس در گرم روغن)	عدد پراکسید (میلی اکی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن)	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم)	قدرت احیا کنندگی آهن III (میلی مول آهن II بر لیتر)	IC50 (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
افغانی	٤٥/٣٩٨[a]	٦٩/٠٤٨[b]	٦/٦٦٧ [b]	٠/٦٠٨ [b]	٣/١٣٨ [b]	٢٦/٥٢٨ [b]	١٨/٩١٤ [b]	٧١/٤٦٨ [a]
پاکستانی	٣٤/٩٦٩[b]	٧٣/٨٨٩[a]	٣٨/٣٣٣ [a]	٠/٧٨٧ [a]	٤/٤٦٥ [a]	٣٣/٦٣٣ [a]	٢٤/٠٥١ [a]	٥٦/٤٥٨[b]

* اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار نیستند ($P<0/05$)

داده‌های جدول۲ نشان می‌دهد از کنجد رقم افغانی، به طور معنی‌داری میزان روغن بالاتری (۴۵/۳۹۸ درصد)، درصد کنجاله کمتر (۶۹/۰۴۸) در زمان کوتاه‌تری (۶/۶۶۷ دقیقه) استخراج گردید درحالی‌که کنجد نوع پاکستانی میزان کنجاله بیشتری تولید نمود. درصد استخراج روغن در این پروژه مشابه گزارش سایر محققین از جمله لطیف و انور (۲۰۱۱) بود (۱۵) . اثر رقم بر میزان استخراج روغن در سایر منابع روغنی مانند زیتون قبلا گزارش شده بود برای مثال نجفیان و همکاران (۱۳۸۶) و قدس ولی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش نمودند که در استخراج آبی- آنزیمی روغن زیتون، اثر رقم بر درصد روغن استحصالی، راندمان و مقدار ترکیبات فنلی تاثیر معنی‌داری داشت (۱و۲). همچنین رانالی و همکاران (۱۹۹۹) نتایج مشابهی در مورد سه رقم زیتون کراتینا، دریتا ولسینو را گزارش کردند (۲۲).جدول ۲ نشان می‌دهد زمان شکستن امولسیون و استخراج روغن در رقم افغانی(۶/۶ دقیقه) به طور معنی‌داری ($P<0/05$)کمتر از رقم دیگر بود. زمان شکستن امولسیون در ارقام بکار رفته در این پژوهش در مقایسه با سایر محققین بسیار کمتر بود برای مثال ژیا هو و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند فرایند استخراج روغن کنجد از کنجد با استفاده از آنزیم درحدود ۳ ساعت به طول انجامید (۳۱) و بوسوسکا و همکاران (۲۰۰۳)، دراستخراج آنزیمی– آبی روغن جوانه ذرت (۶) و پرایرا و همکاران (۲۰۰۲) در استخراج روغن سویا به روش آنزیمی زمان ۶ ساعت (۲۱) را گزارش نمودند. اختلاف در زمان استخراج احتمالا به نوع دانه روغنی و رقم مربوطه بستگی دارد. جدول ۲ نشان می‌دهد عدد اسیدی و پراکسید روغن کنجد رقم افغانی به ترتیب ۰/۶۰۸ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن و ۳/۱۳۸ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن بود که به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) از رقم پاکستانی کمتر بود. اعداد پراکسید و اسیدی به ترتیب نماد میزان کل ترکیبات هیدروپراکسیدی و تندی ناشی از هیدرولیز لیپیدهای خوراکی هستند که به منظور ارزیابی کیفیت اولیه مواد لیپیدی به کار می‌روند (۱۶). نجفیان و همکاران (۱۳۸۶) عدد اسیدی و پراکسید روغن زیتون که با استفاده از فرایند آنزیمی استخراج شده بود را به ترتیب ۰/۳۱میلی‌گرم پتاس در گرم روغن و ۲/۲ میلی‌اکی‌والان-گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش نمودند (۲). بوسوسکا و همکاران (۲۰۰۳) در استخراج آبی- آنزیمی روغن جوانه ذرت عدد اسیدی را ۱/۵ میلی گرم پتاس در گرم روغن (۶) و دنگ و همکاران (۱۹۹۹) مقدار اندیس پراکسید و عدد اسیدی روغن کنجد را به ترتیب ۳/۴ میلی‌اکی‌والان اکسیژن درکیلوگرم روغن و ۲/۸ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن (۹) گزارش نمودند که دو مورد آخر از اعداد داده شده در این پژوهش بالاتر بودند. حد مجاز اعداد پراکسید و اسیدی برای روغن‌های تصفیه شده به ترتیب ۱۰ میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم و ۰/۶ میلی‌گرم بر گرم تعیین شده است (استاندارد کدکس به شماره ۲۱۰، ۱۹۹۹). بنابراین، عدد پراکسید و عدد اسیدی روغن کنجد استخراج شده به روش آنزیمی در حد مجاز بود. که

نشانگر کیفیت مناسب روغن کنجد استخراج شده در این پژوهش می‌باشد. ترکیبات فنلی به‌خوبی به عنوان ضداکسنده‌های طبیعی شناخته شده‌اند. مقدار ترکیبات فنلی کل در روغن کنجد رقم پاکستانی با ۳۳/۶۳ میلی‌گرم بر گرم روغن به طور معنی‌داری از کنجد رقم افغانی با ۲۶/۵۲ میلی‌گرم بر گرم بیشتر بود. این ترکیبات دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مهمی در موجودات زنده هستند و ممکن است حائز آثار سودمندی در مبارزه با بیماری‌های مرتبط با تولید رادیکال اکسیژن با غلظت‌های بیش از ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن انسان باشند (۴و ۱۸). نجفیان و همکاران (۱۳۸۶) مقدار ترکیبات فنلی را در روغن زیتون استخراج شده با استفاده از فرایند آنزیمی ۰/۳۰۵ –۰/۳۲۴ میلی گرم برگرم روغن(۲) و لطیف و انور(۲۰۱۱) آنرا۰/۲۴- ۰/۱۷ میلی‌گرم بر گرم روغن کنجد (۱۵) گزارش نمودند که خیلی کمتر از مقدار فنلهای گزارش شده در این تحقیق بود. تیمار آنزیمی ترکیباتی که به میزان کم درروغنها وجود دارند مانند فنل‌ها و توکوفرول‌ها را استخراج می‌کنند لذا این روغن‌ها دارای قابلیت ضد اکسایشی می‌باشند.میر و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند روش‌های استخراج در از بین رفتن فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های فنلی که به حلال‌ها و یا دماهای بالا حساس می‌باشند موثر هستند (۱۷). لذا فرایندهایی مانند فرایندهای آنزیمی تا حدودی این مواد را در سیستم‌ها حفظ می‌کنند.قدرت مهارکنندگی آهن III در روغن کنجد قابلیت یک ماده را در احیاء یون آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی نشان می‌دهد و در واقع نشان‌گر قدرت ضداکسایشی یک روغن می‌باشد. جدول ۲ نشان می‌دهد رقم پاکستانی با ۲۴/۰۵ میلی مول آهن II بر لیتر دارای قدرت احیاکنندگی آهن بالاتر و با ۵۶/۴۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر IC_{50} کمتری در مقایسه با رقم افغانی بود لذا این رقم دارای قدرت ضداکسایشی بالاتری نسبت به رقم افغانی بود. بیشتر بودن قدرت ضداکسایشی رقم پاکستانی نسبت به رقم افغانی را می‌توان به بیشتر بودن مقدار ترکیبات فنلی آن نسبت داد وانگ و همکاران (۱۹۹۶) همبستگی مثبت بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی را در میوه‌های مختلف نشان دادند(۲۹).

۳-۳-اثر درصد آنزیم بکار رفته در استخراج آنزیمی بر ویژگی‌های مورد آزمون

آنالیز واریانس اثر درصد آنزیم بر ویژگی‌های روغن نشان داد که اثر درصد آنزیم به کار رفته در استخراج آنزیمی بر کلیه ویژگی‌های مورد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

جدول۳- مقایسات میانگین اثر درصد آنزیم بر ویژگی‌های مورد آزمون

مقدار آنزیم (درصد)	مقدار روغن (درصد)	مقدار کنجاله (درصد)	زمان شکستن امولسیون (دقیقه)	عدد اسیدی (میلی گرم پتاس در گرم روغن)	عدد پراکسید (میلی اکی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن)	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم)	قدرت احیا کنندگی آهن III (میلی مول آهن II بر لیتر)	IC50 (میلی‌گرم بر میلی-لیتر)
۰	۳٤/۰۳ d	۷٦/۳۰ a	۸/۳۳ d	۰/٥٤٥ b	٤/۲۳٦ ab	۳۰/۳۸ b	۱۷/۸۳ b	۹۹/۹٥ a
۲	۳٥/۳۰ c	۷۰/۳٥ b	٦۰/۰۰ a	۰/۸۷۲ a	۳/٥۰۸ bc	۳۳/٦٤ a	۲۲/۸٦ ab	٤٤/۳٦ b
۳	٤٥/۲۳ b	٦۸/٤۷ c	۱۱/٦۷ b	۰/٦٥٤ b	٤/۳٥۹ a	۲٦/۰۳ c	۱۸/۱۲ b	٥۲/٦۳ b
٤	٤٦/۱۷ a	۷۰/۷٦ b	۱۰/۰۰ c	۰/۷۱۷ ab	۳/۱۰۲ c	۳۰/۲۷ b	۲۷/۱۲ a	٥۸/۹۱ b

* اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P<۰/۰۵)

جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش درصد آنزیم مقدار روغن استخراج شده افزایش، و مقدار کنجاله حاصل کاهش معنی داری (P<۰/۰۵) یافت. به‌طوری‌که مقدار روغن استحصالی از تیمار آنزیمی ۴ درصد در مقایسه با ۲ درصد، ۳۰ درصد افزایش یافت. این افزایش در تیمار ۴ درصد آنزیم در مقایسه با شاهد، ۳۵ درصد بود. نتایج

مشابهی نیز در مورد درصد کنجاله حاصل شد و در تیمار ۴ درصد آنزیم، ۷ درصد کنجاله کمتری در مقایسه با شاهد حاصل گردید. تحقیقات نشان می‌دهد که آنزیم‌ها دیواره‌ی سلولی سلول‌های حاوی روغن را تخریب نموده و دارای اثرات مشابهی بر سیستم کلوئیدی (پکتین-ها،همی‌سلولزها، پروتئین‌ها و غیره) که قطرات روغن را درخود نگاه می‌دارندمی‌باشند. از این طریق قطرات روغن آزاد شده و به تدریج با یکی شدن قطرات بزرگتری ایجاد، که نهایتا منجر به تولید روغن آزاد می‌گردد .ژیا هو و همکاران (۲۰۱۳) درصد بازیافت روغن از فرایندهای تجاری استخراج روغن کنجد را با استفاده از سه نوع آنزیم پاپایین، تریپسین و سلولاز بهبود بخشیدند. آنها نشان دادند فرایند آنزیمی در مقایسه با فرایند مرسوم مقدار بیشتری روغن را بازیافت نمود (۳۱). نتایج محققین دیگر از جمله سینیرو و همکاران (۱۹۹۸)، مورلو و همکاران (۲۰۰۴)، عبدالکریم و همکاران (۲۰۰۵) ، ژانگ و همکاران (۲۰۰۷)، نجفیان و همکاران (۲۰۰۹) ،گراسو و همکاران (۲۰۱۲) (۲، ۳، ۱۱، ۱۸، ۲۴، ۳۲) با نتایج این تحقیق همسو بود، این تحقیق و محققین نامبرده، اهمیت غلظت آنزیم در افزایش راندمان استخراج روغن از کنجد را نشان می‌دهند. این محققین نشان دادند غلظت آنزیم‌ها نیز در بالابردن بازده استخراج موثرند، چون آنزیم‌ها عامل تخریب دیواره سلولی و رهایش روغن به دام افتاده در لایه‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدی هستند، بدیهی است افزایش میزان آن‌ها در بهبود میزان بازده استخراج مؤثر خواهد بود. مقدار روغن استخراج شده طی استخراج آنزیمی از مقدار گزارش شده به وسیله لطیف و انور(۲۰۱۱) که با استفاده از پنج نوع مخلوط آنزیمی مختلف تا ۵۷/۴ درصد روغن را از دانه کنجد استخراج نمودند کمتر بود که احتمالاً به دلیل اختلاف در نوع آنزیم بکار رفته و یا میزان روغن موجود در ارقام به کار رفته در دو پروژه باشد (۱۵). جدول ۳ نشان می‌دهد از نظر زمان شکستن امولسیون اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین تیمار شاهد (۸/۳۳ دقیقه)و تیمارهای استخراج آنزیمی وجود داشت. از این نظر نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین از جمله گراسو و همکاران (۲۰۱۲) و پرایرا و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت داشت این محققین گزارش کرده بودند که استخراج آنزیمی، سرعت و راندمان استخراج را نسبت به روش‌های معمول افزایش داد (۱۱ و ۲۱). احتمالا تفاوت نتایج این تحقیق با سایر تحقیقات انجام شده در نوع آنزیم و یا ارقام بکار رفته باشد.جدول ۳ همچنین نشان می‌دهد زمان شکستن امولسیون با افزایش غلظت آنزیم کاهش معنی‌داری یافت به طوری‌که غلظت ۴ درصد آنزیم کمترین زمان (۱۰ دقیقه) را داشت. پرایرا وهمکارن (۲۰۰۲) نیز نشان دادند که غلظت ۴ درصد آنزیم‌های سلولاز،آلکالاز و پکتیناز،کمترین زمان استخراج را داشتند(۲۱). جدول ۳ نشان می‌دهد عدد اسیدی روغن کنجد استحصالی به روش آنزیمی در غلظت ۳ درصد آنزیم با ۰/۶۵۴ (میلی‌گرم پتاس در گرم روغن) کمترین مقدار بود و عدد پراکسید روغن کنجد حاصل از ۴ درصد آنزیم با ۳/۱۰۲ میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن کمترین مقدار بود. نتایج این تحقیق با گزارش هانمونگجای و همکاران (۲۰۰۱) که نشان دادند در فرایند استخراج آنزیمی روغن سبوس برنج تاثیر غلظت آنزیم به طور معنی‌داری موجب افزایش راندمان استخراج شده مقدار اسیدیته و پراکسید پائین‌تری داشت، همسو بود (۱۲) اما بانتایج حاصل از مطالعات نجفیان و همکاران (۲۰۰۹) که نشان دادند در استخراج آنزیمی روغن زیتون غلظت آنزیم در اسیدیته و پراکسید روغن تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) نداشت (۲)، مغایر بود. دلیل این تفاوت این است که در محصولاتی مانند زیتون، خمیر زیتون یک سیستم کلوئیدی می باشد که قطرات روغن در آن محبوس هستند (۲۴) در حالیکه این چنین سیستمی در مورد ارده و سبوس برنج مشاهده نمی شود. تیمار آنزیمی در مقایسه با شاهد مقدار ترکیبات فنلی استخراج شده و قدرت ضداکسایشی روغن کنجد (شامل IC_{50} و قدرت احیا کنندگی آهن III) را به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش داد. نوع و میزان استخراج ترکیبات فنلی و ترکیبات دارای قدرت ضد اکسایشی به نوع آنزیم به کار رفته بستگی دارد تیکسیرا و همکاران

(۲۰۱۳) نشان دادند که کاربرد مخلوط آنزیم های پکتیناز و سلولاز موجب کاهش استخراج مقدار ترکیبات فنلی در مقایسه با شاهد گردید و افزایش تاناز به سیستم آنزیمی مقدار استخراج این ترکیبات را افزایش داد (۲۸). کاهش IC_{50} روغن کنجد در نمونه ۲ درصد آنزیم در مقایسه با شاهد در احتمالا به دلیل افزایش استخراج ترکیبات فنلی در این دو نمونه می باشد. همبستگی بین ترکیبات فنلی و قدرت ضداکسایشی در روغن‌ها قبلا توسط محققین بسیاری گزارش شده است (۳۳). مقادیر IC_{50} گزارش شده در این پروژه با مقادیری که لطیف و انور (۱۵) گزارش نموده بودند و با گزارشات رانالی و همکاران (۱۹۹۷) همسان بود (۲۲). قدرت احیاکنندگی آهن III در تیمار۴ درصد آنزیم به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیش از سایر تیمارها بود و همچنین IC_{50} این نمونه نیز بدون داشتن اختلاف معنی‌دار با سایر درصدهای آنزیم کمترین مقدار بود.

۳-٤-اثر متقابل رقم کنجد، درصد آنزیم بکار رفته بر ویژگی‌های مورد آزمون

آنالیز واریانس اثر متقابل رقم کنجد و درصد آنزیم بر ویژگی‌های روغن نشان داد که اثر متقابل رقم کنجد و درصد آنزیم به کار رفته در استخراج آنزیمی بر درصد روغن و کنجاله، زمان شکستن امولسیون، عدد اسیدی و IC_{50} معنی‌دار بود و بر قدرت احیاکنندگی آهن III، عدد پراکسید و ترکیبات فنلی تاثیر معنی‌داری نداشت.

جدول ٤- مقایسات میانگین اثر متقابل رقم کنجد و درصد آنزیم بر ویژگی‌های مورد آزمون

نوع کنجد	درصد آنزیم	مقدار روغن (درصد)	مقدار کنجاله (درصد)	زمان شکستن امولسیون (دقیقه)	عدد اسیدی (میلی گرم پتاس در گرم روغن)	عدد پراکسید (میلی اکی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن)	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم)	قدرت احیا کنندگی آهن III (میلی مول آهن II بر لیتر)	IC_{50} (mg/ml)
	۰	٤۰/۷۹d	۷۰/۹۷ c	٥e	۰/٤۹۸ c	۳/۱۲٤ cd	۲۰/۰۷ c	۱۳/٥۹ bc	٤۰/۷۹ d
افغانی	۲	٤٦/۳۹b	٦٦/۸٤e	۸/۳۳ d	۰/٥٦۱ bc	۳/٤٤۸c	abc ۲۷/٥۷	۲۲/۸٦ ab	٤٦/۳۹b
	۳	٤٦/۳۸b	٦۷/۲۷e	۸/۳۳d	۰/٥۹۲ bc	۳/۸۹۰ bc	۲٥/۹۹bc	۱۲/٥۷ c	٤٦/۳۸b
	٤	٤۸/۰۳ a	۷۱/۱۱c	٥e	۰/۷۷۹b	۲/۰۹۱d	۳۲/٤۸abc	۲٦/٦۳a	٤۸/۰۳a
پاکستانی	۰	۲۷/۲٦e	۸۱/٦۳a	۱۱/٦۷c	۰/٥۹۲bc	٥/۳٤۸a	٤۰/٦۸a	۲۲/۰۷abc	۲۷/۲٦e
	۲	۲٤/۲۱f	۷۳/۸٦b	۱۱۱/۷a	۱/۱۸٤a	۳/٥٦۹c	۳۹/۷۱ab	۲۲/۸٥abc	۲٤/۲۱f
	۳	٤٤/۰۹ c	٦۹/٦٦d	۱٥/۰b	۰/۷۱۷bc	٤/۸۲۹ab	۲٦/۰۷abc	۲۳/٦۷ab	٤٤/۰۹c
	٤	٤٤/۳۲c	۷۰/٤۰cd	۱٥/۰b	۰/٦٥٤bc	٤/۱۱۳bc	۲۸/۰٦abc	۲۷/٦۱a	٤٤/۳۲c

* اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار نیستند($P<۰/۰٥$)

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است ارقام کنجد که تحت درصدهای مختلفی از آنزیم قرر گرفتند از نظر میزان استخراج روغن رفتار متفاوتی از خود نشان دادند به طوریکه از رقم افغانی در ۴ درصد آنزیم مقدار درصد روغن بیشتری (۴۸/۰۳ درصد) در کمترین زمان (۵ دقیقه) حاصل شد. از همین رقم در غلظت‌های آنزیم ۲ و ۳ درصد کمترین مقدار کنجاله (حدود ۶۷ درصد) حاصل شد. بیشترین مقدار عدد اسیدی و عدد پراکسید نمونه‌های روغن کنجد استخراج شده به روش آنزیمی به ترتیب در تیمارهای ۲ درصد آنزیم رقم پاکستانی و نمونه شاهد همین رقم مشاهده شد. جدول ۴ نشان می دهد قدرت ضد اکسایشی رقم پاکستانی تیمار ۲ درصد آنزیم بالاترین مقدار بود زیرا ترکیبات فنلی و قدرت مهارکنندگی آهن این تیمار بیشترین و IC_{50} آن کمترین مقدار بود. نتیجه این بخش از تحقیق با نتایج پرایرا و همکاران (۲۰۰۲) همسو بود، که اهمیت غلظت آنزیم و درجه حرارت واکنش آنزیمی افزایش راندمان تا حد مشخصی از غلظت آنزیم و دمای واکنش را نشان می‌دهد (۲۱).

٤-نتیجه گیری

در این تحقیق به بررسی استخراج آبی- آنزیمی در روغن-کشی از دو رقم کنجد افغانی و مجلسی پرداخته شد، تا شرایط مناسب استخراج آنزیمی و خصوصیات کمی و کیفی روغن حاصله تعیین گردد. نتایج نشان داد از ارده می توان با استفاده از روش استخراج آبی- آنزیمی، روغن کنجد با راندمان بالا و کمترین مقدار کنجاله در حداقل زمان ممکن استخراج نمود. از میان دو رقم کنجد به کار رفته از کنجد رقم افغانی در مقایسه با رقم پاکستانی، به طور معنی‌داری میزان روغن بالاتر (۴۵/۳۹۸ درصد) و درصد کنجاله کمتر (۶۹/۰۴۸) در زمان کوتاه‌تری (۶/۶۶۷ دقیقه) استخراج گردید این روغن از کیفیت بالاتری نیز برخوردار بود به‌طوری‌که عدد اسیدی (۰/۶۰۸ میلی‌گرم پتاس در گرم روغن) و عدد پراکسید (۳/۱۳۸ میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن) کمتری داشت. اما ترکیبات فنلی رقم پاکستانی با ۳۳/۶۳ میلی‌گرم بر گرم روغن به طور معنی‌داری از کنجد رقم افغانی با ۲۶/۵۲ میلی‌گرم بر گرم بیشتر بود هم‌چنین قدرت ضد اکسایشی آن نیز بیشتر از رقم افغانی بود. درصد مخلوط آنزیم به کار رفته در این پروژه بر خصوصیات کمی وکیفی روغن کنجد موثر بود به طوریکه بالاترین راندمان استخراج روغن در ۴ درصد مخلوط آنزیم حاصل شد اما کمترین میزان کنجاله در ۳ درصد مخلوط آنزیم بدست آمد و قدرت ضد اکسایشی نمونه حاوی ۲ درصد آنزیم بالاترین مقدار بود. لذا به طورکلی با توجه به نتایج حاصله از راندمان و خصوصیات روغن، همچنین صرفه اقتصادی و زمانی در عوامل تولید، می‌توان از کنجد رقم افغانی با کاربرد ۴ درصد مخلوط آنزیم‌های پکتیناز، سلولاز، همی‌سلولاز و پروتئاز روغن کنجد را به روش آبی- آنزیمی استخراج نمود.

٥- منابع

۱. قدس ولی، ع.، حداد خداپرست، م. ح.، نجفیان، ل. ۱۳۸۷. بررسی کاربرد آنزیم در روغن کشی از ارقام زیتون استان گلستان. اولین همایش تخصصی روغن زیتون. تهران.

۲. نجفیان، ل.، حداد خداپرست، م. ح.، قدس ولی، ع.. ۱۳۸٦. استخراج روغن از سه رقم زیتون با استفاده از فرآیند - آنزیمی، فصلنامه علوم وصنایع غذایی ایران، دوره ٤، شماره ۱، بهار۱۳۸٦.

3. Abdulkarim, S. M., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S., Long, K., Ghazali, H. M. 2006. Use of enzymes to enhance oil recovery ouring aqueous extraction of moringa oleifera seed oil. *Journal of food lipids*, 13: 113-130.

4. Aparicio, R., Roda, L., Albi, M.A., and Gutiérrez, F. 1999. Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. Journal of *Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4150-4155.

5. Benzie, I. F. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP assay. Anal. Biochem, 239: 70–76.
6. Bocevska , M., Karolvic , D., Tukulov, J., and Pericin, D. 1993. Quality of corn germ oil obtained by aqueous enzymatic extraction. *Journal American Oil Chemists' Society*, 70: 1273– 1279.
7. Christensen, F. M. 1991. Extraction by aqueous enzymatic processes. I*NFORM*, 2(11): 986-989.
8. Danso-Boateng, E. 2011. Effect of enzyme and heat pretreatment on sunflower oil recovery using aqueous and hexane extraction. International *Journal of Chemical and Biological Engineering*, 4: 28-34.
9. Deng, Y., Pyle, D. L., Zhang, W. 1999. Studies on aqueous enzymatic extraction of oil from rapeseed. *Journal Agricultural Engineering*, 12(3): 990-195.
10. Fullbrook, P.D. 1984. The use of enzymes in the processing of oil seeds. *Journal American Oil Chemists' Society*, 60: 476-8.
11. Grasso, F.V., Montoya, P.A., Camussa, C.C., Maroto, B.G. 2012. Improvement of soybean oil solvent exteraction through enzymatic pretreatment. *International journal of agronomy*, 1-7.
12. Hanmoungjai, P., Pyle, D.L., Niranjan, K. 2001. Enzymatic process for extracting oil and protein form rice bran. *Journal American Oil Chemists' Society*, 78: 817-821.
13. Lamsal, B.P., Johnson, L. A. 2007. Separating oil from aqueous extraction fraction of soybean. *Journal American Oil Chemists' Society*, 84:785-792.
14. Lanzani, A., Petrini, M. C., Cozzoli, O. and Gallaversi, P. 1975.On the use of enzymes for vegetable-oil extraction. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 52:226-9.
15. Latif,A., Anwar, F. 2011. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry*, 125, 679–684.
16. Lovaas, E.A. 1992. Sensitive spectrophotometric method for lipid hydroperoxide determination. *Journal American Oil Chemists' Society*, 69: 777-783.
17. Maier, T., Goppert, A., Kammerer, D.R., Schieber, A., Carle, R. 2008. Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (Vitis vinifera L.) pomace. European *Food Research and Technology*, 227(1): 267-275.
18. Morello, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J., and Romero, M. P. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85: 357-364.
19. Morello, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J., and Romero, M. P. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, 85: 357-364.
20. Ohlson, R. 1995. Modern processing of rapeseed Journal American Oil Chemists' Society. 69(3): 995 – 997.
21. Pereira, S., Hartman L., and Couri, S .2002.The combined application of extraction and enzymatic for soybean oil . *Fett / Lipid* . 99 (9): 333 – 337.
22. Ranalli, A., and De Mattia, G. 1997. Characteristion of olive oil producted with a new enzyme processing aid. *Journal American Oil Chemists' Society*. 74:1105-1113.
23. Ranalli, A., Sgaramella, A. and Surricchio, G. 2005. The new "Cytolase 0" enzyme processing aid improves quality and yields of virgin olive Oil. *Journal of Food Chemistry*, 66: 443-454.
24. Seneiro, J., Dominguez, H., Núñez, M. J. and Lema, J. M. 1998.Optimization of the enzymatic treatment during oil extraction from sunflower seeds, J. *Food Chem*,, 61: 467 – 474.

25. Shantha, N. C., Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *J. AOAC Int.* 77: 421–4
26. 24.A.O.A.C. 2005. Official methods of the Association of Official Analytical Chemists. (18th ed.). Gaithersburg: AOAC International.
27. Siger, A., M., Nogala, kalucka and E. Lampart, Szczapa. 2007. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*. 15:137-149.
28. Sosulski, K. and Sosulski, F. W. 1988. Carbohydrase hydrolysis of canola to enhanceoil extraction with hexane . *Journal American Oil Chemists' Society*.70:825-829.
29. Teixeira,C.B., Macedo, G. A., Macedo, J. A., da Silva, L. H.M., da C. Rodrigues. A. M. 2013. Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm. Fruit (Elaeis guineensis) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*, 129: 575–581.
30. Wang, Y., Douglas, G. B., Waghorn, G. C., Barry, T. N., Foote, A. G., 1996. Effect of condensed tannins in Lotus corniculatus upon lactation performance in ewes. *Journal Agricultural Sciences*, 126 (3): 353-362.
31. Wanasundara, K. J. P. D., Shahidi, F. and Shukla, V. K. S., 1997. *Food Rev.* Int., 13: 225.
32. Xia Hou ,L., Lei Shang, X., Wang, X.2011. Application of enzyme in aqueous extraction of sesame oil. *Jing LiuEur Food Res Technol.* 236: 1027–1030
33. Zhang, B., Zhang, W., and Xu, S. 2007.Optimization of enzymatic extraction of rapeseed protein hydrolysates. *Journal American Oil Chemists' Society.* 84:97-105.

(Original Research Paper)

Aqua-enzymatic Extraction of Oil and Antioxidative Compounds From Sesamole Verieties

Soodabeh Ein Afshar

1-Assistant Professor, Department of Technical Researches and Agricultural Engineering, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Mashhad, Iran.

Received:02/07/2018 Accepted:01/09/2018

Abstract

This study was carried out to determine the optimum conditions of enzymatic extraction of oil from sesame seed in fully randomized experimental design. Two sesame variety (Afghani and Pakestani) were change to Tahini and then different amounts of a mixture of enzymes (pectinase , cellulase , hemi- cellulase and protease) in four concentrations (0 , 2 , 3 and 4 percent Drsdhjmy / w) was added and the emulsion was stirred until failure. When the emulsion was broken and the oil and meal were seperated, the quantity and quality characteristics of sesame oil were determined.Tests include measurement of oil and meal, breaking time of the emulsion, acid and peroxide value, and evaluation of antioxidant ability of sesame oil. The results showed sesame oil could be enzymatically extracted from sesame with high efficiency in minimum time, the least amount of the meal was obtained and sesame oil had the highest content of antioxidant ability. Among two applied sesame cultivars, Afghani cultivar in the aqua- enzymatic extraction at 4 percent enzyme, showed the minimum time of breaking the emulsion (5 minutes) and the peroxide value (2.091 meq grams of oxygen per kg). This treatment showed the high efficiency (48.03%) in the oil extraction, phenolic compounds (32.48 mg Gallic acid per 100 g), reducing power of Fe III^{+} (26.63 mmol Fe II^{+}), IC50 (78.03 mg/ml), the meal production (71.11 %) and acid value 0.779 mg KOH/gr oil)($P<0.05$).

Keywords: Yield of Oil Extraction, Sesame Oil, Peroxide Value, Acid Value, Antioxidative Ability.

*Corresponding Author: soodabeheyn@yahoo.com