کاربرد شستشوی اتانولی ضایعات گوجه فرنگی، آنزیم پکتیناز، و صابونی کردن اولئورزین در افزایش خلوص لیکوپن

آزاده رنجبر ندامانی[a*]، یحیی مقصودلو[b]، محمد قربانی[c]، علیرضا صادقی ماهونک[c]

[a] دکتری تکنولوژی مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
[b] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
[c] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۲/۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳

چکیده

مقدمه: خلوص لیکوپن حاصل از اولئورزین ضایعات گوجه فرنگی در این تحقیق مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق اثر پیش‌تیمار آنزیمی پکتیناز با غلظت‌های ml/Kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ و زمان اثر ۳۰، ۶۰، ۹۰ دقیقه و شستشو با اتانول ۹۴٪ در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه استفاده شد. استخراج لیکوپن، در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۶ ساعت با حلال هگزان: اتانول: استون با نسبت‌های ۱:۱:۲ به نسبت ۱:۱۰ نسبت به نمونه‌های خشک شده انجام شد. برای جلوگیری از اکسیداسیون به مقدار ۰/۰۵ درصد وزنی/ وزنی از BHT استفاده شد. بعد از این مرحله اثر صابونی کردن اولئورزین در افزایش خلوص لیکوپن توسط پروپیلن گلایکول و هیدروکسید پتاسیم ۴۵٪ و آب دیونیزه به‌ترتیب به‌مقدار ۳۰٪، ۱۰٪ و ۱۰٪ وزنی اولئورزین بررسی شد.

یافته‌ها: به‌طورکلی اثر پیش تیمار آنزیمی و اتانولی و همچنین صابونی کردن اولئورزین، بر روی استخراج اولئورزین و لیکوپن و راندمان استخراج لیکوپن دارای اثر معنی‌دار بود ($P<0/01$). در مورد ضایعات نشان داده شد که پیش تیمار اتانولی و آنزیمی نمونه‌های ضایعات قادر به افزایش غلظت لیکوپن در اولئورزین نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری: بیشترین مقدار لیکوپن از تیمار با آنزیم پکتیناز در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ دقیقه یعنی ۲۷۹/۵ میلی‌گرم لیکوپن در هر ۱۰۰ گرم اولئورزین به دست آمد. اما در صورت صابونی کردن اولئورزین‌های استخراجی، غلظت لیکوپن در اولئورزین در نمونه‌های تیمار شده با آنزیم و اتانول بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با آنزیم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: *اولئورزین، تیمار اتانولی، پکتیناز، صابونی کردن، ضایعات گوجه فرنگی، لیکوپن*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: aranjbar5264@gmail.com

مقدمه

داشتن رنگ مطلوب در فرآورده‌های مختلف غذایی از نظر مصرف‌کننده نشانه فرآیند مناسب تولید و کیفیت مطلوب محصول است. به‌همین دلیل استفاده از رنگدانه‌های سنتزی یا طبیعی در صنایع غذایی رواج دارد. اما امروزه به دلیل نگرانی‌ها از مصرف رنگ‌های سنتزی و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از منابع طبیعی رنگی، توجه به سمت استفاده از رنگدانه‌های طبیعی جلب شده است (Delgado-Vargas & Paredes-López Andreeva, 2003; Socaciu, 2008). کاروتنوئیدها[1] به دلیل پراکندگی وسیع در منابع حیوانی و گیاهی و همچنین داشتن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و زیست‌فعالی کاربرد وسیعی در رنگ‌دهی مواد غذایی دارند. تمام کاروتنوئیدها را می توان مشتقاتی از لیکوپن دانست که از طریق حلقه‌ای شدن یک یا دو انتهای مولکول، تغییر در سطح هیدروژناسیون، دهیدروژنه شدن و ورود گروه‌های اکسیژن‌دار، آرایش مجدد، مهاجرت باند دوگانه و غیره، اسکلت پایه لیکوپن به انواع کاروتنوئیدها قابل تبدیل است (Socaciu, 2008). علاوه بر این در سالهای اخیر نشان داده شده است که در کنار قدرت خنثی کردن اکسیژن یگانه (Soni, 2003) و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی نسبت به بتاکاروتن (دو برابر بتاکاروتن) و آلفا توکوفرول (ده برابر آلفاتوکوفرول) (Shi *et al.*, 1999; Sahlin *et al.*, 2004)، لیکوپن قادر به جلوگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی و انواع سرطان‌ها به‌ویژه پروستات، ریه و معده می‌باشد (Ausich & Sanders, 1997). به همین دلیل لیکوپن از طرف سازمان غذا و دارو امریکا به‌عنوان رنگ‌دهنده ماده غذایی با شماره E ۱۶۰d ثبت شده است (FDA, 2009).

از جمله مهمترین منابع لیکوپن گوجه‌فرنگی است. لیکوپن در گوجه‌فرنگی رنگدانه غالب بوده و بسته به واریته ۹۸- ۶۵٪ وزنی کل کاروتنوئیدهای موجود در گوجه‌فرنگی را به خود اختصاص می‌دهد (Shi, 2001؛ Socaciu, 2008). گوجه‌فرنگی یکی از محصولات مهمی است که همه خانوارها برای تهیه موادغذایی بدان وابسته هستند. اما متاسفانه ضایعات آن با توجه به سطح کشت و کیفیت بالا، بسیار زیاد است. درصد ضایعات در مراحل برداشت و پس از برداشت به ترتیب ۵ و ۱۵ درصد می‌باشد و مقدار ضایعات این دو مرحله با احتساب تولید کل گوجه فرنگی به ترتیب برابر با ۲۲۱ و ۶۶۴ هزار تن است (شادان، ۱۳۸۵) و با توجه به اینکه بازدهی تولید در صنایع تبدیلی گوجه فرنگی در حدود ۹۰-۷۰ درصد است (مصباحی و همکاران، ۱۳۸۹)، اگر تمهیدات و برنامه ریزی ها چه در بخش دولتی و چه در بخش خصوصی در جهت جلوگیری از ضایعات در همه مراحل ایجاد آن صورت پذیرد، نه تنها باعث خواهد شد زیان اقتصادی حاصل از ضایعات گوجه فرنگی به حداقل برسد بلکه اولاً ارزش افزوده این محصول با ایجاد صنایع تکمیلی و تبدیلی بسیار بالا خواهد رفت ثانیاً مقداری از نیروی بیکار تحصیلکرده نیز جذب این صنایع خواهند شد (شادان، ۱۳۸۵).

Bombardelli و همکاران (۱۹۹۹) ابتدا مقدار ۱۰ کیلوگرم از گوجه‌فرنگی‌های رسیده را هموژنیزه‌کرده و سپس بعد از حرارت‌دهی در $95^{\circ}C$ به مدت نیم ساعت همراه با هم‌زدن و سردکردن تا $60^{\circ}C$ با حلال n- هگزان به استخراج لیکوپن پرداختند. در این تحقیق ۱۱ گرم باقی‌مانده روغنی قرمز روشن به‌دست‌آمد که حاوی ۰/۵۲ گرم لیکوپن بود. همین روش برای استخراج لیکوپن از پوست تر گوجه‌فرنگی، پوست خشک‌شده گوجه‌فرنگی نیز انجام‌شد که به ترتیب۵/۲ گرم باقیمانده روغنی قرمز روشن حاوی ۴/۶٪ لیکوپن و ۴/۲ گرم باقیمانده روغنی قرمز روشن حاوی ۵/۶٪ لیکوپن به‌دست آمد. Bortlik و همکاران (۲۰۰۱) به بررسی استخراج لیکوپن توسط اتانول ۹۴٪ پرداختند. آنها قبل از استخراج، گوجه‌فرنگی را با اتانول ۹۴٪ در حال جوش شستشو دادند تا به این وسیله ترکیبات قطبی آن را قبل از استخراج خارج نمایند. سپس میزان ۳۰۰ کیلوگرم از پوست خردشده گوجه‌فرنگی را برای استخراج با اتانول ۹۴٪ به کاربرده و توانستند میزان ۲۲/۲ گرم لیکوپن از ماده اولیه استخراج نمایند. Choudhari و Ananthanarayan (۲۰۰۶) به بررسی تیمار آنزیمی با سلولاز و پکتیناز و دستیابی به غلظت بهینه این آنزیمها در استخراج لیکوپن از گوجه‌فرنگی، پوست و ضایعات آن پرداختند. آنها به این نتیجه رسیدند که استفاده از آنزیم پکتیناز برای گوجه‌فرنگی کامل و پوست، و استفاده از آنزیم سلولاز در استخراج لیکوپن از ضایعات، باعث افزایش راندمان استحصال لیکوپن به‌ترتیب به‌میزان ۱۰۸ و ۱۱۰۴

[1] Carotenoids

میکروگرم در هر گرم نمونه می‌شود. Lavecchia و Zuorro (۲۰۰۸) به بررسی استخراج صنعتی لیکوپن از محصولات جانبی گوجه‌فرنگی پرداختند. آنها با استفاده از مخلوط هگزان، اتانول و استون به بررسی میزان استخراج پرداخته و توانستند از ۱۰۰ گرم نمونه پوست خشک‌شده میزان ۴ میلی‌گرم لیکوپن استخراج نمایند. همچنین این محققین از پیش‌تیمار آنزیمی سلولاز، پکتیناز و همی‌سلولاز برای افزایش راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی استفاده‌کردند. آنها بعد از تیمار یک‌ساعته با آنزیم‌های ذکرشده، عمل استخراج با هگزان: اتانول:استون از پوست خشک‌شده گوجه‌فرنگی را انجام داده و توانستند میزان ۴۴۰ میلی‌گرم لیکوپن را از ۱۰۰ گرم نمونه استخراج نمایند.

با توجه به سطح زیرکشت گوجه‌فرنگی در ایران و حجم ضایعات تولیدشده در صنایع تبدیلی گوجه‌فرنگی و اهمیت روزافزون مصرف رنگدانه‌های طبیعی و به‌ویژه لیکوپن در رژیم غذایی در جهان، در این مطالعه بهینه‌سازی استخراج لیکوپن به همراه روش افزایش خلوص لیکوپن در اولئورزین آن با یک نگاه صنعتی مورد بررسی قرار گرفته است تا به این ترتیب شرایط صنعتی کردن استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی مطالعه و روش بهینه‌شده آن معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از آنزیم پکتیناز Panzym BE شرکت Begrow ایتالیا با قدرت ۷۵۰۰ PGNU/g (پلی‌گالاکتوروناز) به صورت مایع و با دمای بهینه فعالیت ۲۵-۵ °C استفاده شد. آنزیم تا زمان استفاده، در دمای ۶-۴ °C نگهداری شد. حلالهای به کار رفته نیز عبارت بودند از استون از ایران، اتانول از شرکت شیمیایی سینا فریمان، ایران و هگزان Scharlow کشور اسپانیا که خلوص آنها به ترتیب ۹۸، ۹۶ و ۹۸٪ بود.

- تهیه ضایعات گوجه‌فرنگی و آماده‌سازی نمونه

نمونه‌برداری از پوست گوجه‌فرنگی و ضایعات آن در طول یک فصل تولیدی کارخانه کامنوش واقع در تقی‌آباد استان گلستان در تابستان انجام‌شد. فاصله نمونه‌برداری‌ها یک هفته از آغاز تولید تا انتهای تولید بود. در هر نمونه‌برداری ۱۵- ۱۰ کیلوگرم ضایعات گوجه‌فرنگی تهیه می‌شد. بعد از هر نمونه‌برداری نمونه‌ها در فریزر ۱۸- °C حداکثر به‌مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند تا مراحل بعد از نمونه برداری یعنی آنزیم‌زنی و پیش تیمار اتانولی و سپس خشک‌کردن روی آنها انجام شود. بعد از انجام پیش تیمارها و خشک کردن، نمونه‌های خشک شده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی درون پاکت کاغذی و در دمای ۴ °C نگهداری شدند. مدت زمان نگهداری در این دما تا زمان استخراج حداکثر ۴۸ ساعت بود.برای جداکردن پوست ضایعات از بذر و سایر مواد همراه، از شناورسازی در آب و جمع‌آوری دستی پوست از سطح آب استفاده شد. سپس ۱۰۰ گرم از نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی، به ۵ قسمت مساوی ۲۰ گرمی تقسیم‌شدند. به هرکدام از آنها غلظت‌های ml/kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز اضافه‌شد و در دمای ۵۵ °C گرمخانه گذاری‌شدند. به‌منظور بررسی اثر زمان اثر آنزیم بر میزان استخراج لیکوپن، نمونه‌ها با فواصل زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰، از گرمخانه خارج و بعد از آن آنزیم در ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه منعقد شد (Shi, 2001). سپس نمونه‌های آنزیم‌زنی شده به دو قسمت تقسیم شدند. یک قسمت به‌عنوان تیمار بدون اتانول در نظرگرفته و خشک شدند و قسمت دوم به‌مدت ۵ ثانیه در اتانول ۹۴٪ در دمای ۶۰°C قرارداده‌شده و بعد از آن خشک شدند. فرآیند خشک‌کردن تمامی نمونه‌ها در آون تحت دمای ۴۰°C تا رسیدن به رطوبت ثابت انجام‌شد.

- پیش‌تیمار اتانولی

نمونه‌های آنزیم‌زنی شده به دو قسمت تقسیم‌شدند. یک قسمت به‌عنوان تیمار بدون اتانول در نظرگرفته و خشک شدند. این نمونه‌ها در اشکال و جداول در مورد نمونه‌های ضایعات با حروف اختصاری، NW4، NW6، NW8، NW10 نمایش داده می شوند که به ترتیب نشان دهنده نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی هستند که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند. قسمت دوم نمونه های ضایعات را به‌مدت ۵ ثانیه در اتانول ۹۴٪ در دمای ۶۰ °C قرارداده و بعد از آن خشک شدند. این نمونه‌ها نیز در اشکال و جداول در مورد نمونه‌های ضایعات از حروف اختصاری EW2، EW4، EW6، EW8، EW10 استفاده شده است که نشان‌دهنده

نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی است که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند و سپس تیمار اتانولی روی آنها انجام شده است (Bortlik *et al.*, 2001).

- فرآیند استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

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

- محاسبه مقدار اولئورزین

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

- محاسبه مقدار لیکوپن

روش استاندارد محاسبه لیکوپن، استفاده از اسپکتروفتومتر می‌باشد (Lavecchia & Zuorro, 2008; Choudhari & Ananthanarayan, 2006). جذب لیکوپن در هگزان دارای سه پیک در ۴۴۵، ۴۷۲، ۵۰۳ نانومتر است که به‌منظور حداقل کردن دخالت سایر کاروتنوئیدها و اندازه‌گیری مقدار کل لیکوپن تمام ترانس، اندازه‌گیری در طول موج ۵۰۳ نانومتـر (λ_{Max}) در حلال هگزان انجام شد (Lavecchia & Zuorro, 2008; Choudhari, *et al.* 2008). مقدار لیکوپن تمام ترانس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS T80، PG Instruments Ltd) طبق فرمول (۱) برحسب mg و با استفاده از ضریب خاموشی[1] ویژه ($E_{1cm}^{1\%}$) محاسبه شد (Choudhari & Ananthanarayan, 2006):

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

که در آن A جذب محلول در کووت ۱ سانتی‌متر؛ dil فاکتور رقیق‌سازی؛ ml حجم نهایی نمونه؛ و $E_{1cm}^{1\%}$ ضریب خاموشی ویژه برای لیکوپن در هگزان و معادل ۳۴۵۰ می‌باشد (Lu *et al.*, 2009).

- تعیین خلوص لیکوپن

خلوص لیکوپن بر اساس مقدار وزنی آن در ۱۰۰ گرم اولئورزین استحصالی محاسبه شد.

- تعیین راندمان استخراج لیکوپن

راندمان استخراج لیکوپن بر اساس فرمول (۲) برحسب میلی‌گرم از ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه‌شد.

$$\text{Yield (mg/100g)} = [(C \times m)/M] \times 100 \qquad (۲)$$

C = مقدار لیکوپن استخراج شده (mg)

m = وزن اولئورزین استخراج شده (g)

M = وزن نمونه ضایعات خشک‌شده گوجه‌فرنگی

- صابونی‌کردن

برای انجام این مرحله از تحقیق، از نمونه‌هایی استفاده شد که طی تیمارهای قبلی بیشترین بازدهی و خلوص لیکوپن را از خود نشان دادند. سپس برای صابونی‌کردن نمونه‌ها، از تیمار قلیایی با هیدروکسیدپتاسیم، و پروپیلن گلایکول و شستشو با آب دیونیزه استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا به نمونه‌ها مقدار ۳۰٪ وزنی پروپیلن

[1] Extinction

گلایکول و ۱۰٪ وزنی هیدروکسید پتاسیم ۴۵٪ در دمای $55^{\circ}C$ اضافه شد. سپس مخلوط به‌دست‌آمده به مدت نیم ساعت در $65^{\circ}C$ هم زده‌شد. بعد از این مرحله به مقدار ۱۰٪ وزنی به آن آب دیونیزه $75^{\circ}C$ اضافه و مخلوط حاصله به آرامی هم‌زده‌شد. در مرحله نهایی مخلوط توسط کاغذ واتمن شماره ۲ فیلتر و با آب دیونیزه $85^{\circ}C$ شستشو داده‌شد. بعد از این مرحله مقدار لیکوپن در مخلوط حاصله به‌روش ذکر شده در بالا توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Ausich & Sanders, 1997).

- تجزیه و تحلیل آماری

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

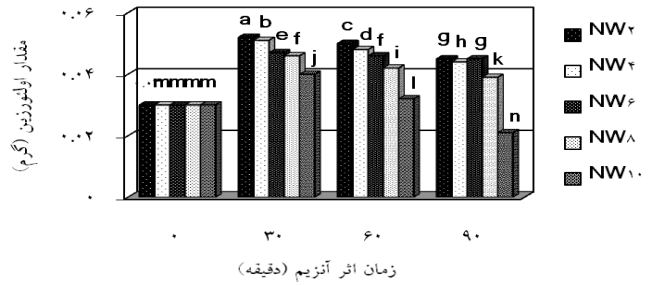
یافته‌ها

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی بر مقدار اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

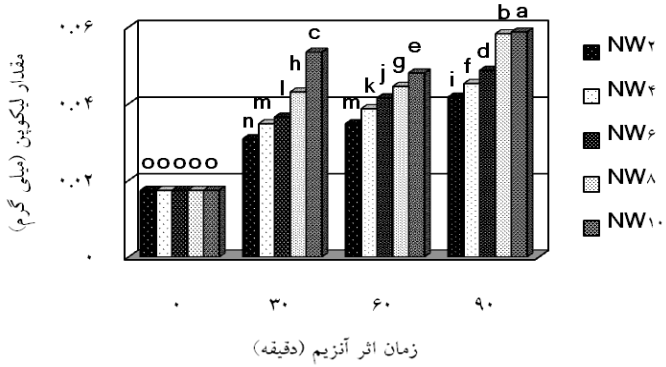
روند استخراج اولئورزین از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم در شکل ۱ نشان داده می‌شود. طبق این شکل این روند با افزایش زمان و غلظت آنزیم پایین‌رونده است. بیشترین مقدار اولئورزین در غلظت ml/kg ۲ آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۳۰ دقیقه به مقدار ۰/۰۴ گرم از ۲ گرم نمونه به‌دست‌آمد.

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی بر مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش غلظت آنزیم و زمان اثر مقدار استخراج نیز افزایش می‌یابد تا اینکه در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ دقیقه، به بیشترین مقدار یعنی ۰/۰۵۸ میلی‌گرم می‌رسد.



شکل ۱- مقدار اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظت‌های مختلف آنزیم، (NW2، NW4، NW6، NW8، NW10: نمونه‌های ضایعات گوجه فرنگی که به ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند)



شکل ۲- مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظت‌های مختلف آنزیم (میلی‌گرم)، (NW2، NW4، NW6، NW8، NW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند)

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی بر غلظت لیکوپن در وزن معینی از اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

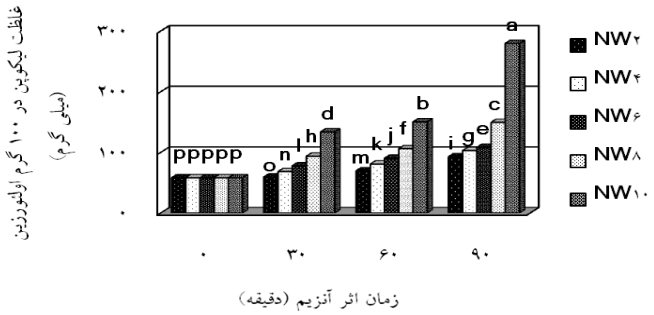
در شکل ۳ غلظت لیکوپن در وزن معین ۱۰۰ گرم اولئورزین نشان داده می‌شود. طبق این شکل بیشترین مقدار لیکوپن در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ دقیقه و به مقدار ۵۰/۲۷۹ میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد.

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی بر راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

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

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی و اتانولی بر مقدار اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

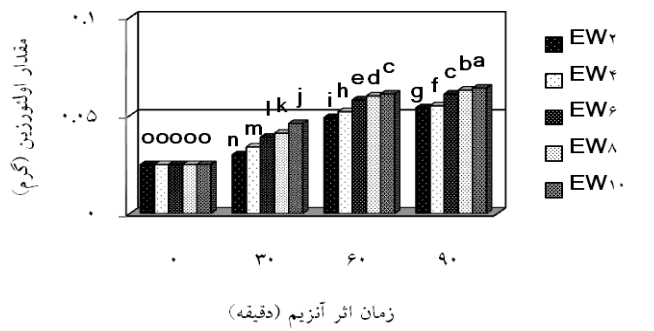
در شکل ۴ روند بالارونده استخراج اولئورزین از ضایعات گوجه‌فرنگی که با آنزیم و اتانول تیمار شده بودند، نمایش داده می‌شود. همان‌طور که گفته شد این روند با افزایش غلظت و زمان اثر آنزیم افزایش می‌یابد تا اینکه در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ به بیشترین مقدار خود یعنی ۰/۶۴ گرم از ۲ گرم نمونه می‌رسد.



شکل ۳- غلظت لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با غلظت های مختلف آنزیم (میلی‌گرم/ ۱۰۰گرم اولئورزین)، (NW2، NW4، NW6، NW8، NW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند)

جدول ۱- راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم در زمان‌های مختلف (میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم نمونه)

زمان اثر آنزیم (دقیقه)/ مقدارآنزیم (ml/kg)	۲	٤	٦	۸	۱۰
۰	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}	۰/۰۲۶۰۸۷^{p}
۳۰	۰/۰۸۰۲۶۱^{m}	۰/۰۸۸۶۹۶^{j}	۰/۰۸۵۸۲۶^{l}	۰/۰۹۹^{e}	۰/۱۰۶۹۵۷^{c}
۶۰	۰/۰۸۶۹۵۷^{k}	۰/۰۹۲۸۷^{i}	۰/۰۹۵۵۱۴^{f}	۰/۰۹۳۴۹۶^{g}	۰/۰۷۶۸۷^{n}
۹۰	۰/۰۹۳۱۹۳^{h}	۰/۰۹۹۵۷۴^{d}	۰/۱۰۹۵۶۵^{b}	۰/۱۱۳۶۰۹^{a}	۰/۰۶۱۶۳^{o}



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

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی و اتانولی بر مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

در شکل ۵ روند استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم پکتیناز و اتانول نشان داده می‌شود. در این شکل دیده می‌شود که به عکس روند استخراج اولئورزین، با افزایش غلظت و زمان اثر آنزیم روند استخراج لیکوپن پایین رونده است. بیشترین مقدار لیکوپن در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۳۰ دقیقه و به مقدار ۰/۰۲ میلی‌گرم به‌دست آمد.

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی و اتانولی بر غلظت لیکوپن در وزن معینی از اولئورزین استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی

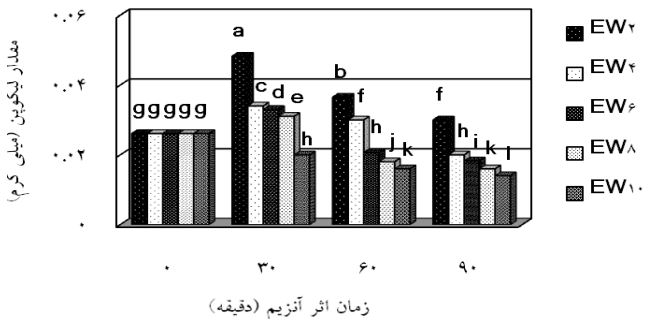
غلظت لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین در شکل ۶ نشان داده می‌شود. همان‌طور که در این شکل دیده می‌شود، این روند نیز همانند استخراج لیکوپن پایین‌رونده است. بیشترین مقدار لیکوپن در ۱۰۰ گرم اولئورزین، در غلظت ml/kg ۲ و زمان اثر ۳۰ دقیقه و به‌مقدار ۱۶۰/۸۶۹ میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد.

- اثر پیش‌تیمار آنزیمی و اتانولی بر راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

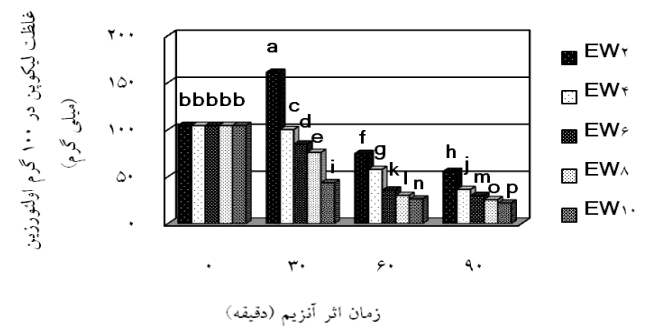
راندمان استخراج لیکوپن از ۱۰۰ گرم نمونه خشک‌شده ضایعات گوجه‌فرنگی که با آنزیم و اتانول تیمار شده‌بود، در جدول ۲ نشان داده می‌شود. طبق این جدول بیشترین راندمان در غلظت ml/kg ۲ آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۶۰ دقیقه، به میزان ۰/۰۸۹۴۷۸ میلی‌گرم به دست‌آمد.

- اثرصابونی‌کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار شده با آنزیم و آنزیم- اتانول

در جدول‌های ۳ و ۴ اثر فرآیند صابونی‌کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی که فقط با آنزیم تیمار شده‌اند، نمایش داده شده است.



شکل ۵- مقدار لیکوپن استخراج‌شده از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار شده با غلظت‌های مختلف آنزیم و تیمار اتانولی(میلی‌گرم)، (EW2، EW4، EW6، EW8، EW10: نمونه‌های ضایعات گوجه‌فرنگی که به‌ترتیب با غلظت‌های ml/kg ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ آنزیم پکتیناز تیمار شده‌اند و سپس تیمار اتانولی روی آنها انجام شده است)



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

جدول ۲- راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمارشده با آنزیم و اتانول در زمان‌های مختلف (میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم نمونه)

زمان اثر آنزیم (دقیقه)/ مقدارآنزیم (ml/kg)	۲	٤	٦	۸	۱۰
۰	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}	۰/۰۳۲۶۰۹^{p}
۳۰	۰/۰۷۲۳۹۱^{d}	۰/۰۵۷۸^{h}	۰/۰۶۴۳۵^{e}	۰/۰۶۳۶۳۹^{f}	۰/۰۴۶^{o}
۶۰	۰/۰۸۹۴۷۸^{a}	۰/۰۷۸^{c}	۰/۰۶۰۰۱۷^{g}	۰/۰۵۴^{k}	۰/۰۴۸۸^{m}
۹۰	۰/۰۸۱^{b}	۰/۰۵۵^{j}	۰/۰۵۵۶۹۶^{i}	۰/۰۵۰۴^{l}	۰/۰۴۴۸^{n}

جدول ۳- اثر صابونی کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار شده با آنزیم

	قبل از صابونی کردن		بعد از صابونی کردن	
	شاهد	نمونه	شاهد	نمونه
اولئورزین (گرم)	۰/۲^{a}	۰/۲^{a}	۰/۱۴۹^{b}	۰/۱۴۵^{b}
لیکوپن (میلی‌گرم)	۰/۲۷۲ ^{a}	۰/۳۲۲^{a}	۰/۲۹۷^{b}	۰/۳۳۰^{b}
غلظت لیکوپن (میلی گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین)	۲۷/۸۸۹^{a}	۳۲/۹۱۸^{a}	۲۹/۰۰۷^{b}	۳۴/۲۲۸^{b}

جدول ٤- اثر صابونی‌کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار شده با آنزیم و اتانول

	قبل از صابونی‌کردن		بعد از صابونی‌کردن	
	شاهد	نمونه	شاهد	نمونه
اولئورزین (گرم)	۰/۲^{a}	۰/۲^{a}	۰/۱۲۸^{b}	۰/۱۲۲^{b}
لیکوپن (میلی‌گرم)	۰/۳۲۰^{a}	۰/۳۵۴^{a}	۰/۳۵۴^{b}	۰/۳۸۸^{b}
غلظت لیکوپن (میلی گرم/ ۱۰۰ گرم اولئورزین)	۳۲/۹۰۴^{a}	۳۳/۰۰۸^{a}	۳۶/۱۹۴^{b}	۳۷/۶۲۱^{b}

بحث

- میزان استخراج اولئورزین و لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

مقدار اولئورزین به دست آمده از تیمار آنزیمی و آنزیمی- اتانولی به‌ترتیب در شکل‌های ۱ و ۴ نشان داده شده‌اند. با مشاهده این شکل‌ها می‌توان دریافت که روند استخراج در هر کدام با دیگری معکوس است و به‌طور کلی بازیافت اولئورزین توسط تیمار اتانولی در بیشترین مقدار در غلظت ۱۰ ml/kg آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۹۰ دقیقه و برابر با ۰/۰۶۴ گرم از هر ۲ گرم نمونه است که این مقدار بالاتر از تیمار آنزیمی با بیشترین مقدار ۰/۰۵۴ در غلظت ۲ ml/kg آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۳۰ دقیقه است. اما استخراج لیکوپن با روند استخراج اولئورزین معکوس بوده و با افزایش مقدار اولئورزین، مقدار لیکوپن کاهش می‌یابد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش زمان اثر و غلظت آنزیم، مقدار اولئورزین کاهش می‌یابد. این پدیده به‌دلیل تجزیه کامل پکتین و محلول شدن آن در فاز آبی و خروج آن از مخلوط واکنش می‌باشد. زیرا ضایعات به طور طبیعی و به دلیل اعمال فرآیندهای حرارتی بر روی آن‌ها، دارای پکتین کمتری نسبت به پوست می‌باشد و افزودن آنزیم به سرعت باقیمانده پکتین در دیواره را تجزیه می‌کند. تا این‌که در غلظت ۱۰ ml/kg آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۹۰ دقیقه، بیشترین مقدار لیکوپن استخراج شده یعنی۲۷۹/۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد (شکل ۳). با مشاهده شکل ۴ می‌توان دریافت که تیمار اتانولی باعث افزایش مقدار اولئورزین و به همان ترتیب کاهش مقدار لیکوپن در اولئورزین می‌شود. علت این پدیده را هم می‌توان با توجه به اینکه پکتین ضایعات آنقدر کم و تضعیف شده است که به راحتی توسط آنزیم تجزیه تحت تاثیر اتانول قرار می‌گیرد، توجیه کرد. به این ترتیب بیشترین مقدار لیکوپن در غلظت ۲ ml/kg آنزیم پکتیناز و زمان اثر ۳۰ دقیقه به مقدار ۱۶۰/۸۷ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم اولئورزین به دست آمد (شکل ۶) که این مقدار کمتر از بیشترین مقدار به دست آمده توسط تیمار آنزیمی می‌باشد. پس می‌توان گفت تیمار اتانولی در مورد ضایعات مطلوب نمی‌باشد. مشاهده می‌شود که هر چند Bortlik و همکاران (۲۰۰۱) معتقدند کاربرد یک تا دو مرحله شستشو با اتانول در پوست گوجه‌فرنگی به‌دلیل حذف ناخالصی‌هایی از قبیل

زانتوفیل‌ها و کاروتنوئیدهای قطبی می‌تواند به افزایش خلوص لیکوپن در اولئورزین کمک نماید، اما این نظریه در مورد ضایعات صادق نیست و در مجموع استفاده از تیمار اتانولی در استخراج لیکوپن از ضایعات نمی‌تواند باعث افزایش حضور لیکوپن در اولئورزین استحصالی شود. دلیل این پدیده شاید ناپایدار شدن لیکوپن طی فرآیند تولید رب و بالارفتن شانس ایزومریزاسیون طی فرآیند تولید و سپس شستشو با اتانول باشد.

- راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی

تیمار با آنزیم و اتانول باعث می‌شود نه تنها لیکوپن در غلظت و زمان اثر کمتر آنزیم پکتیناز، بلکه با خلوص بالاتری از پوست گوجه‌فرنگی استخراج‌شود. با مراجعه به جداول ۱ و ۲ می‌توان دریافت که به‌طورکلی تیمار اتانولی بر روی نمونه‌های آنزیم‌زنی شده نمی‌تواند مقدار استخراج لیکوپن در اولئورزین را افزایش دهد بلکه آن را کمتر نیز می‌کند. به همین دلیل در مجموع می‌توان در مورد ضایعات فقط از تیمار آنزیمی در غلظت مناسب استفاده کرد و نیازی به استفاده از تیمار اتانولی در کنار آن وجود ندارد.

- نقش صابونی‌کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی

با مراجعه به جدول‌های ۳ و ۴ می‌توان مشاهده کرد که تیمار صابونی‌کردن میزان خلوص لیکوپن در اولئورزین نمونه‌های تیمار شده را افزایش می‌دهد. این افزایش در میزان خلوص در نمونه‌های تیمارشده با آنزیم به مقدار ۲۱۵/۶۵٪ و در نمونه‌های تیمارشده با آنزیم و اتانول ۲۶۷/۴۶٪ است. پس می‌توان نتیجه گرفت که در مورد استخراج لیکوپن، بهترین مسیر استفاده از تیمار آنزیمی و اتانولی و سپس صابونی‌کردن اولئورزین به‌دست آمده است.

- نقش صابونی‌کردن بر خلوص لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی

در مورد نقش صابونی‌کردن بر ضایعات گوجه‌فرنگی نیز با مراجعه به جدول ۵، می‌توان مشاهده کرد که تیمار صابونی‌کردن میزان خلوص لیکوپن در اولئورزین نمونه‌های تیمارشده را افزایش می‌دهد. این افزایش در میزان خلوص در نمونه‌های تیمارشده با آنزیم به مقدار ۱۰۳/۹۷٪ و در نمونه‌های تیمارشده با آنزیم و اتانول ۱۱۳/۹۷٪ است. برای تصمیم‌گیری در مورد مسیر بهینه‌شده استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی، با توجه به اینکه در تیمار اتانولی مقدار استخراج لیکوپن کمتر از تیمار آنزیمی است اما در صابونی‌کردن مقدار خلوص تیمار اتانولی بیشتر از تیمار آنزیمی شده است، در جدول زیر مقدار لیکوپن نهایی از هر دو مسیر جهت مقایسه نشان داده می‌شود. برای انجام این محاسبه، مقدار لیکوپن در هر ۱۰۰ گرم اولئورزین، در ضریب افزایش خلوص هر نمونه ضرب شده است.

جدول ۵- مقدار لیکوپن نهایی حاصل از ضایعات گوجه‌فرنگی

تیمارهای انجام‌شده	مقدار نهایی لیکوپن (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم اولئورزین)
تیمار آنزیمی	۱۸۳۳۴/۳۵
تیمار اتانولی و آنزیمی	۲۹۰۵۹/۶۱

همان‌طور که مشاهده می‌شود، هرچند در زمان استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی تیمار اتانولی به طور کلی راندمان پایین‌تری از تیمار آنزیمی از خود نشان می‌دهد، اما بعد از فرآیند صابونی‌کردن و حذف مواد زائد، این تیمار بیشترین بازدهی لیکوپن را داشته است. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمار صابونی‌کردن می‌تواند در استخراج لیکوپن بسیار موثر و تصمیم‌ساز باشد.

نتیجه‌گیری

همان‌طور که در توضیحات آورده شد، برای بهینه‌سازی استخراج لیکوپن از ضایعات گوجه‌فرنگی مسیرهای متفاوتی وجود دارد. در مورد استفاده از ضایعات به عنوان منبع لیکوپن نیز باید توجه داشت که اگر از فرآیند صابونی‌کردن بعد از استخراج اولئورزین استفاده نمی‌شود، نباید از تیمار اتانولی استفاده شود و بهترین مسیر برای افزایش راندمان استخراج، استفاده از آنزیم پکتیناز به تنهایی است. اما اگر از فرآیند صابونی‌کردن استفاده می‌شود، استفاده از تیمار اتانولی بسیار مفید و پربازده خواهد بود. پیش تیمار اتانولی نمونه‌های ضایعات آنزیم‌زنی شده با پکتیناز قادر به افزایش غلظت لیکوپن در اولئورزین نمی‌باشد. به این‌ترتیب بیشترین مقدار لیکوپن از تیمار با آنزیم پکتیناز در غلظت ml/kg ۱۰ و زمان اثر ۹۰ دقیقه یعنی ۵۰/۲۷۹ میلی‌گرم لیکوپن در هر ۱۰۰ گرم اولئورزین به‌دست آمد. اما در

صورت صابونی کردن اولئورزین‌های استخراجی، غلظت لیکوپن در اولئورزین در نمونه‌های تیمار شده با آنزیم و اتانول بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با آنزیم می شود.

با همه این توصیفات و با توجه به قیمت بالای لیکوپن در بازارهای جهانی و کابردهای وسیع آن در صنایع‌غذایی و دارویی، امکان تولید انبوه این ماده با ارزش در کشورمان از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌نماید به ویژه اینکه ایران در رده بزرگ‌ترین تولیدکنندگان گوجه‌فرنگی می‌باشد و در این تحقیق نشان داده شد که گوجه‌فرنگی‌های کاشته شده در استان گلستان از نظر لیکوپن و راندمان استخراج به این شیوه گزینه مناسبی می‌باشند.

منابع

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

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

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

Bombardelli, E., Morazzoni, P. & Seghizzi, R. (1999). Process for the extraction of lycopene using phospholipid in the extraction medium. United States Patent 5897866.

Bortlik, K., Mortezavi, L. & Saucy, F. (2001). A Process for the extraction of lycopene. WO/2001/038443.

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

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

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

FDA. (2009). 21 CFR Ch. I (4–1–09 Edition) 73.585.

Koch, J. & Nevins, D. J. (1989). Tomato Fruit Cell Wall. Plant Physiol, 91, 816-822.

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

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

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

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

Saltveit, M. J. (1989). Effect of alcohols and their interaction with ethylene on the ripening of epidermal pericarp discs of tomato fruit1. Plant Physiology, 90, 167-174.

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

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

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

Soni, J. (2003). Separation of carotenoids from fruits and vegetables. United States Patent 2003/0180435

Waliszewski, A. K., Ovando, S. & Pardio, V. (2007). Effect of hydration and enzymatic pretreatment of vanilla beans on the kinetics of vanillin extraction. Journal of Food Engineering, 78, 1267–1273.

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

Ethanol Washing, Pectinase Pretreatment and Oleoresin Saponification of Tomato Waste to Increase Lycopene Purity

A. Ranjbar Nedamani [a*], Y. Maghsoudlou [b], M. Ghorbani [c], A. R. Sadeghi Mahounak [c]

[a] Ph. D. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran.

[b] Professor of the Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran.

[c] Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran.

Received: 24 April 2016 Accepted: 3 January 2018

Abstract

Introduction: In this study the best method of extracting lycopene from tomato skin, waste and the effect of pectinase enzyme pre-treatment at 2, 4, 6, 8, and 10 ml/Kg concentrations and 30, 60, 90 minutes of effective times for tomato waste and also washing with 94% ethanol at 60 °C for 5 seconds were studied in order to determine the best method of increasing lycopene purity in oleoresin.

Materials and Methods: Lycopene extraction was performed at 30 °C for 16 hours with hexane: ethanol: acetone (1:1:2) at ratios of 1:10 to dried samples with gentle stirring. In order to prevent the lycopene oxidation 0.05 percent w/w of BHT was used. The effect of oleoresin saponification to increase the purity of lycopene in oleoresin was also studied by propylene glycol and potassium hydroxide 45% (w/w) and deionized water at the concentration of 30%, 10% and 10% oleoresin by weight, respectively.

Results: The effect of enzyme pretreatment and ethanol and also oleoresin saponification had a significant effect on oleoresin and lycopene extraction and extraction efficiency from tomato waste ($P<0.01$). Ethanol treatment significantly increased lycopene purity in oleoresin ($P<0.01$). In waste samples treating with 10 ml/kg enzyme concentration at 90 minutes of effective time resulted in highest extraction of lycopene (279.5 mg/100g oleoresin).

Conclusion: It has been shown that if saponification is not employed in lycopene extraction from tomato waste the ethanol washing pre-treatments should not be applied.

Keywords: *Ethanol Treatment, Lycopene, Oleoresin, Pectinase, Saponification, Tomato Waste.*

* Corresponding Author: aranjbar5264@gmail.com