



بهینه‌سازی فرآیند استخراج لیکوپن و ترکیبات فنولی از تفاله گوجه فرنگی با استفاده از پیش تیمار

میدان الکتریکی پالسی

زهرا دولت آبادی¹، امیرحسین الهامی‌راد^{1*}، سید هاشم اخلاقی فیض آباد²، وحید فرزانه³، حمید بخش آبادی⁴

1- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

2- گروه شیمی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

3- گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آنگار، فارو، پرتقال.

4- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: 1400/09/20	
تاریخ پذیرش: 1400/11/12	
کلمات کلیدی:	
تفاله گوجه‌فرنگی، بهینه‌سازی، لیکوپن، ترکیبات فنولی، میدان الکتریکی پالسی.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.125.109	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.11.0	
* مسئول مکاتبات:	
ah.elhami@gmail.com	

در این مطالعه به منظور بهینه‌سازی فرآیند استخراج لیکوپن و ترکیبات زیست فعال دیگر از تفاله گوجه فرنگی به کمک پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی، از شدت‌های الکتریکی مختلف (2، 4 و 6 کیلوولت بر سانتی‌متر) و تعداد پالس‌های مختلف (10، 35 و 60) استفاده گردید و میزان راندمان استخراج لیکوپن، ترکیبات فنولی کل، فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌های استخراجی مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری و بهینه‌سازی فرآیند به روش سطح پاسخ انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت میدان الکتریکی میزان لیکوپن استحصال، ترکیبات فنولی کل، فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH و میزان قدرت احیاکنندگی آهن ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. با افزایش تعداد پالس‌ها نیز ابتدا میزان لیکوپن کاهش و سپس افزایش یافت ولی میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH به صورت جزئی افزایش یافت. بهینه‌سازی فرآیند نیز نشان داد که به‌منظور رسیدن به عصاره‌ای با میزان لیکوپن و ترکیبات فنولی بیشتر، بایستی شدت میدان الکتریکی 3/7 کیلوولت بر سانتی‌متر و تعداد پالس 60 باشد، تا مطلوبیت 0/915 ایجاد گردد. در نهایت مقایسه نمونه شاهد (فاقد تیمار) با نمونه حاصل از تیمار بهینه مشخص کرد که نمونه حاصل از پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی درصد لیکوپن، ترکیبات فنولی کل، فعالیت رادیکال گیرندگی و قدرت احیاکنندگی بیشتری نسبت به نمونه شاهد دارد.

1- مقدمه

امروزه با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی، می‌توان از عصاره گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی جهت حفظ و نگهداری مواد غذایی استفاده کرد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهند که برخی از گیاهان دارای خواص ضد میکروبی و ضد قارچی هستند. از طرفی مصرف کنندگان خواهان غذاهایی با کیفیت بالا و با حداقل مراحل فراوری هستند که بدون مواد نگهدارنده، قابلیت سالم ماندن در یک مدت زمان قابل قبول را داشته باشند. این خواسته همراه با قوانین سخت موجود در مورد استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی، موجب گسترش دامنه تحقیقات برای یافتن مواد طبیعی حاوی خصوصیات آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی، شده است [1]. لیکوپن رنگ دانه قرمز روشن و محلول در چربی است که در ایجاد رنگ بسیاری از میوه‌های رسیده، سبزیجات و گل‌ها نقش دارد. گوجه فرنگی و فرآورده‌های آن منابع اصلی حاوی لیکوپن هستند، هر چند که این رنگدانه در هندوانه، گواوا، گریپ فروت صورتی و در مقادیر کم در حداقل 40 گیاه دیگر نیز یافت می‌شود. تمام کاروتنوئیدها را می‌توان مشتقی از لیکوپن دانست [2]. علاوه بر این در سال‌های اخیر نشان داده شده است که در کنار قدرت خنثی کردن اکسیژن یگانه [3] و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی قوی نسبت به بتاکاروتن (2 برابر بتاکاروتن) و آلفا توکوفرول (10 برابر آلفا توکوفرول) [4]، لیکوپن قادر به جلوگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی و انواع سرطان‌های ویژه از جمله پروستات، ریه و معده می‌باشد [5]. بنابراین حضور آن در رژیم غذایی اهمیت دارد. به همین دلیل تقاضا برای مصرف این رنگدانه طبیعی و آنتی اکسیدان که دارای ویژگی‌های ضد سرطانی نیز می‌باشد روز به روز در حال رشد است. این امر باعث گرایش به سمت استخراج آن از منابع طبیعی مانند گوجه فرنگی شده است. لیکوپن در گوجه فرنگی به‌طور غالب در کلروپلاست بافت گیاه وجود دارد و بیوستز آن در طول فرآیند رسیدن میوه انجام می‌شود که طی آن کلروپلاست به کروموپلاست تبدیل می‌شود [6]. به دلیل پنهان بودن لیکوپن در

درون ساختارهای غشایی کلروپلاست و دشواری در نفوذ حلال به بافت فشرده پوست گوجه فرنگی، راندمان استخراج این رنگدانه از پوست گوجه فرنگی پایین است [7]. تاکنون برای استخراج لیکوپن از گوجه فرنگی روش‌های مختلفی معرفی شده است که از جمله این روش‌ها می‌توان به استخراج از طریق حلال‌های آلی [8]، استخراج از طریق سیال فوق بحرانی [9]، استخراج به کمک امواج فراصوت [10] و استخراج به روش آنزیمی [6] اشاره کرد. یکی دیگر از تکنیک‌هایی که اخیراً از آن در طی فرآیند استخراج استفاده می‌شود، پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی است که خواستگاه استفاده از این فرآیند را می‌توان به تحقیقات انجام شده در آلمان نسبت داد. دئون اسپک در سال 1960 تجهیزات و روش‌های مختلف این فرآیند را برای فراوری سوسیس شرح داد. پس از آن مطالعات زیادی از سوی دیگر محققان آلمانی به منظور توسعه این فرآیند صورت گرفت [11]. با استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی به علت افزایش در نفوذپذیری سلول‌ها، میزان راندمان استخراج افزایش می‌یابد. قابل قبول‌ترین نظریه پذیرفته شده درباره نحوه عملکرد روش PEF با مدل الکترومکانیکی معرفی شده توسط زیمرمن و همکاران در سال 1974 تطابق دارد. این مدل توضیح می‌دهد که غشاء سلول‌ها در حالت عادی همانند خازنی با ثابت دی‌الکتریک پایین حاوی یون‌های مثبت و منفی است که مجتمع شدن این یون‌ها در دو سمت غشاء به ایجاد اختلاف پتانسیل در حدود 10 mV در سلول منجر می‌شود. در صورت قرار گرفتن این سلول در یک میدان الکتریکی خارجی، یون‌ها در طول میدان الکتریکی حرکت می‌کنند. حرکت یون‌ها باعث افزایش اختلاف پتانسیل شده تا اینکه مقدار آن به یک حد بحرانی برسد که در سلول‌های مختلف متفاوت است. زمانی که اختلاف پتانسیل به حد بحرانی رسید، نیروی جاذبه بین بارهای با قطب‌های مخالف خود سبب غالب شدن نیروهای الکترومکانیکی و آسیب دیدن غشاء الاستیک می‌شود و به این ترتیب منافذی در غشاء به وجود می‌آید که این پدیده را نفوذپذیری الکتریکی یا الکتروپوراسیون¹ گویند [12]. بخش

1. Electroporation

از شرکت مرک آلمان و ۲،۲ دی فنیل -1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و لیکوپن خالص از شرکت سیگما تهیه گردید.

2-2- آماده سازی نمونه‌ها و شرایط اعمال

تیمارهای مختلف قبل از فرآیند استخراج

لیکوپن

در این مطالعه از پیش‌تیمار میدان الکتریکی پالسی برای استخراج لیکوپن و ترکیبات زیست فعال تفاله گوجه فرنگی استفاده شد، به طوری که برای استخراج با پیش‌تیمار میدان الکتریکی پالسی از سه سطح شدت میدان الکتریکی (2، 4/5 و 7 کیلوولت بر سانتی متر) و سه سطح تعداد پالس (10، 35 و 60) استفاده شد. در نهایت عصاره حاوی لیکوپن حاصل از این نمونه‌ها و نمونه شاهد (فاقد تیمار) با 7 قسمت حلال اتانول- هگزان (به نسبت 4 به 3) مخلوط شد و تحت شرایط تاریک، به قیف دکانتور منتقل گردید و پس از 10 دقیقه همزدن و 20 دقیقه توقف، فاز فوقانی حاوی لیکوپن، جداسازی شد و از کاغذ صافی و سولفات سدیم بی‌آب عبور داده شد. روی عصاره‌های به دست آمده آزمایشات زیر صورت گرفت [16].

2-3- محاسبه مقدار لیکوپن

برای محاسبه مقدار لیکوپن از منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. به این صورت که از لیکوپن استاندارد تهیه شده از شرکت سیگما غلظت های 0-200 ppm تهیه شد و برای این منظور 0/001 گرم از لیکوپن خالص را در 5 میلی لیتر کلروفورم (به عنوان حلال) کاملاً حل گردید تا غلظت ppm 200 از آن تهیه شد. سپس رقیق‌سازی شد و غلظت‌های استاندارد از 0 تا 200ppm (0، 10، 30، 50، 80، 100، 130، 150، 180 و 200) تهیه شد. سپس جذب هر یک از این غلظت‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu، ساخت ژاپن) در طول موج 503 نانومتر تعیین گردید و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم شد ($R^2 = 0/953$) و با توجه به منحنی، رابطه 1 به دست آمد:

(رابطه 1)

آبادی و همکاران (2017) در تحقیقی از میدان الکتریکی پالسی و مایکروویو در استخراج روغن استفاده نمودند و بیان داشتند که استفاده از پیش‌تیمارهای مایکروویو و میدان الکتریکی پالسی می‌تواند در استخراج روغن از سیاه دانه به علت افزایش راندمان استخراج و همچنین افزایش ترکیبات مفید موجود در روغن، استفاده شود [13]. از دیگر افرادی که از میدان الکتریکی پالسی در مطالعات خود استفاده نمودند می‌توان به ویکتور و همکاران (2015) در استخراج ترکیبات زیست فعال از بافت‌های گیاهی، بوستا و همکاران (2014) استخراج ترکیبات فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی از کنجاله‌های دانه کتان، گونزالس-کاسادو و همکاران (2018) در استخراج کاروتنوئیدهای گوجه فرنگی اشاره نمود [14-16]. بهینه‌سازی عبارت است از بهبود عملکرد یک سامانه، فرآیند یا روش تولید به منظور دستیابی به حداکثر سود از آنها و روش سطح پاسخ، مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی و آماری است که برای مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل مسائلی مورد استفاده قرار می‌گیرد که در آنها پاسخ مورد نظر تحت تأثیر چندین متغیر گوناگون قرار دارد. هدف از اعمال این روش، یافتن بهترین مجموعه از سطوح عامل برای رسیدن به بعضی ویژگی‌های خاص و مورد نظر و همچنین بهینه سازی فرآیندهای مختلف می باشد [17]. هدف از این مطالعه بهینه‌سازی فرآیند استخراج لیکوپن و ترکیبات فنولی از ضایعات کارخانجات گوجه فرنگی (تفاله گوجه فرنگی) به کمک میدان الکتریکی پالسی، به منظور تولید یک محصول عملگرا و با ارزش افزوده بالاتر می باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

برای این تحقیق تفاله‌ی گوجه فرنگی حاصل از ضایعات فرآیند تولید رب گوجه فرنگی (به روش هات‌بریک) از کارخانه رب دانه‌چین واقع در شهرستان سبزوار تهیه و به آزمایشگاه گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار و همچنین پژوهشکده صنایع غذایی ایران انتقال یافت. بافر استات، استون، کلروفورم و پترولیوم اتر، فولین سیوکالتیو

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

که در آن y میزان جذب و x غلظت لیکوپن بر حسب ppm می‌باشد [6].

2-4- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

برای اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراجی، از روش ارائه شده بوسیله شاددل و همکاران (2014) استفاده شد. در این روش غلظت ثابتی از عصاره‌های استخراجی به لوله های آزمایش منتقل شده و 2/5 میلی لیتر معرف فولین سیو کالچو، 10 بار رقیق شده در آب مقطر، به لوله ها منتقل و در نهایت 2 میلی لیتر محلول کربنات سدیم (7/5 گرم در 100 میلی لیتر آب) اضافه و به مدت 30 دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. در پایان، جذب نمونه در سل های 1 سانتی متری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 765 نانومتر قرائت شد. نمودار استاندارد نیز با استفاده از غلظت‌های 10 تا 200 پی‌پی‌ام اسیدگالیک رسم گردید و مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها بر مبنای میلی گرم اسید گالیک در 100 گرم ماده خشک محاسبه شد [18].

2-5- تعیین فعالیت رادیکال گیرندگی به روش

DPPH

در این روش، توانایی عصاره های استخراج شده در احیا کردن رادیکال های پایدار DPPH، بر اساس تغییر رنگ ایجاد شده از ارغوانی به زرد در طول موج 517 نانومتر بررسی شد. به این صورت که 5 میلی لیتر از محلول عصاره استخراج شده با 1 میلی لیتر محلول متانولی DPPH (غلظت 1mM) مخلوط و سپس به مدت 30 دقیقه در دمای محیط و شرایط تاریک نگهداری شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر قرائت گردید [8 و 10].

2-6- قدرت احیاکنندگی آهن

توانایی عصاره ها برای احیا آهن سه ظرفیتی توسط روش بالدیریم و همکاران (2001)، تعیین شد [19]. در این روش 1 میلی لیتر از محلول هر عصاره با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات (M=0.2 و pH=6.6) و 2/5 میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (10 گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس 2/5 میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید 10 درصد (وزنی - حجمی) به نمونه ها اضافه شد و به مدت 10 دقیقه با سرعت 1650 g

سانتریفوژ (Thermo، ژاپن) شد. از محلول روئی پس از سانتریفوژ، 2/5 میلی لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن 2/5 میلی لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر کلرید آهن (III) (1 گرم در لیتر) جذب نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر خوانده شد. میزان جذب بالا نشان دهنده قدرت احیاکنندگی بالای عصاره‌ها می‌باشد.

2-7- طرح آزمایش و تحلیل آماری

روش‌شناسی سطح پاسخ² (RSM)، با استفاده از یک طرح Face Central برای ارزیابی پارامترهای ثابت مطالعه، شدت میدان الکتریکی پالسی (x_1) و تعداد پالس‌ها (x_2)، روی میزان راندمان استخراج لیکوپن، ترکیبات فنولی کل، میزان فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن، به عنوان پارامترهای متغیر، مورد استفاده قرار گرفت. به کمک این طرح کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها قابل برآورد هستند. مهمترین مسئله در تحقیق پیش رو بررسی اثر متقابل فاکتورها و بهینه‌یابی بهترین شرایط در فرآیند استخراج روغن بود از اینرو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب گردید. توابع پاسخ (Y) در مورد پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از مدل‌های خطی (رابطه 2)، جمله‌ای ساده (رابطه 3)، چند جمله‌ای درجه دوم (رابطه 4) و چند جمله‌ای درجه سوم (رابطه 5) مورد بررسی قرار گرفتند.

(رابطه 2)

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2$$

(رابطه 3)

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2$$

(رابطه 4)

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + b_{12} x_1 x_2$$

(رابطه 5)

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{111} x_1^3$$

$$+ b_{222} x_2^3 + b_{112} x_1^2 x_2 + b_{122} x_1 x_2^2$$

که در آنها b_0 ، عرض از مبدا، b_1 و b_2 ، ضرایب اثرات اصلی، b_{11} و b_{22} ، ضرایب اثرات درجه دوم و b_{12} ، ضریب اثر متقابل متغیرهای ثابت، b_{111} و b_{222} ، ضرایب اثرات درجه سوم، b_{112} ، اثر متقابل درجه دوم متغیر شدت میدان الکتریکی و ساده تعداد پالس‌ها و b_{122} ، اثر متقابل ساده متغیر شدت میدان الکتریکی و

تحت شرایط بهینه به دست آمد با نمونه شاهد (تیمار نشده) از نرم افزار SAS با یک طرح کاملاً تصادفی و آزمون T تست در سطح آماری 5 درصد استفاده شد.

درجه دوم متغیر تعداد پالس ها می باشند. آنالیز آماری این قسمت توسط نرم افزار Design Expert نسخه 6.0.2 صورت گرفت. در نهایت برای مقایسه بین بهترین نمونه‌ی که

Table 1 Model selection for dependent (response) variables.

Models	DF	Lycopene (PPM)		TPC (PPM)		DPPH(%)		Ferric	reducing activity
		Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F
Mean	1	18376.6		9524000		34138		9.12	
Linear	2	33.36	0.1751	9134.08	0.8853	17.55	0.8429	0.00381	0.9395
2Fi	1	42.06	0.0116	57960.56	0.02285	19.80	0.5593	0.062	0.113
Quadratic	2	35.97	< 0.0001	303200	< 0.0001	449.43	< 0.0001	0.24	< 0.0001
Cubic	2	0.1.64	0.0109	6553.54	0.0531	33.10	0.0012	0.00213	0.0301
Residue	5	0.32		2842.30		2.37		0.00096	
Total	13	18489.98		9904000		34660.40		9.43	

Table 2 Analysis of variance for determined parameters in oil extraction by pulsed electric field pretreatment.

Source	Lycopene (ppm)		TPC (ppm)		DPPH(%)		Ferric reducing activity					
	Sum of squares	Pb>F	F Value	Sum of squares	F Value	Pb>F	Sum of squares	F Value	Pb>F			
Model	111.39	<0.0001	79.31	370.300	56.37	<0.0001	486.79	19.21	0.0006	0.30	150.84	<0.0001
A	29.66	<0.0001	105.59	3337.04	2.54	0.1550	5.23	1.03	0.3437	0.00375	9.28	<0.0001
B	3.70	0.0084	13.16	5797.04	4.41	0.0738	12.33	2.43	0.1628	0.00067	0.16	<0.0001
A ²	34.44	<0.0001	122.61	242700	184.73	<0.0001	369.52	72.91	<0.0001	0.19	475.9	<0.0001
B ²	11.42	0.0004	40.66	1581	1.20	0.3089	0.89	0.18	0.6881	0.00099	2.46	0.0006
AB	42.06	<0.0001	149.71	57960.56	44.12	0.0003	19.80	3.91	0.0886	0.062	154.59	<0.0001
Residual	1.97			9195.84			35.48			0.00283		
Lack of Fit	1.83	0.093	17.41	9194.72	10975		34.19	42.39	0.0017	0.00279	109.65	0.003
Pure Error	0.14			1.12			1.08			0.00034		
Cor Total	113.35			379500			522.27			0.31		

همکاران (2018) بیان داشتند که استفاده از میدان الکتریکی پالسی به علت نفوذپذیری بیشتر غشا سلولی منجر به افزایش استخراج لیکوپن و کاروتن‌ها از گوجه‌فرنگی می‌گردد ولی با افزایش بیشتر میدان الکتریکی به علت تخریب روزنه‌ها میزان لیکوپن استخراجی کاهش یافت [16 و 20]. بخش آبدی و همکاران (2017) نیز که تاثیر پیش تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و مایکروویو را روی برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن و کنجاله سیاه دانه را مورد مطالعه قرار داده بودند، بیان داشتند که استفاده از میدان الکتریکی پالسی منجر به افزایش استخراج روغن از سیاه‌دانه می‌شود [13]. همان‌طور که در جداول 2 و 3 مشاهده می‌شود، اثر متقابل شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس‌ها بیشترین تاثیر را بر میزان لیکوپن نمونه‌ها داشت.

3- نتایج و بحث

3-1- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر میزان

لیکوپن

جدول 1 نشان داد که برای برآزش داده‌های میزان لیکوپن حاصل از فرآیند میدان الکتریکی پالسی مدل چند جمله‌ای درجه دوم، بهترین مدل می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل اطلاعات آماری بیان‌گر معنی‌دار بودن اثرات متغیرهای مورد بررسی بر میزان لیکوپن بود. نتایج نشان داد که با افزایش شدت میدان الکتریکی در ابتدا میزان لیکوپن استحصالی افزایش و سپس کاهش یافت ولی با افزایش تعداد پالس‌ها ابتدا میزان لیکوپن کاهش و سپس افزایش یافت (شکل 1). والوردو کورالت و همکاران (2013) و گونزالس کاسادو و

می‌شود [24]. مدل نهایی ارائه شده در جدول 3 برای میزان ترکیبات فنولی کل به دست آمده با پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی و همچنین عدد F حاکی از اثرگذاری بیشتر متغیر درجه دوم شدت میدان الکتریکی بود.

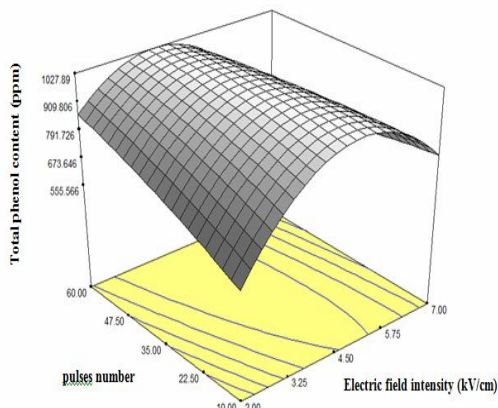


Fig 2 The effects of pulsed electric field intensity and pulse number on the quantity of phenolic compounds of the extracted infusion.

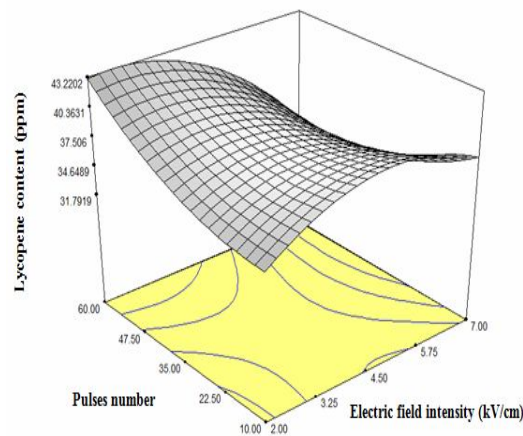


Fig 1 The effects of pulsed electric field and pulse number on the extraction of lycopene.

2-3- تاثیر پارامترهای عملیاتی بر میزان

ترکیبات فنولی کل

بهترین مدل انتخابی برای میزان ترکیبات فنولی کل حاصل از پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی، مدل چند جمله‌ای درجه دوم بود (جدول 1). نتایج جدول 2 نشان داد که اثر درجه دوم شدت میدان الکتریکی و همچنین اثر متقابل تعداد پالس‌ها و شدت میدان الکتریکی بر میزان ترکیبات فنولی کل معنی‌دار بود. از شکل 2 می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش شدت میدان الکتریکی میزان این ترکیبات ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت که شدت این کاهش چشمگیرتر بود، ولی با افزایش تعداد پالس‌ها به صورت جزئی میزان ترکیبات فنولی کل افزایش یافت. علت این افزایش ترکیبات فنولی را با افزایش شدت و همچنین تعداد پالس‌ها را می‌توان به آزادسازی بیشتر این ترکیبات بر اثر استفاده میدان الکتریکی نسبت داد [21] و کاهش این ترکیبات نیز احتمالاً به علت اثر تخریبی شدت‌های بالای میدان الکتریکی بر روی این ترکیبات می‌باشد. نتایج این بخش با نتایج سارکیس و همکاران (2015)، مطابقت داشت [22]. جریمی و همکاران (2010) بیان داشتند که استفاده از پیش تیمار میدان الکتریکی به علت آزادسازی بیشتر ترکیبات فنولی بیشتر از فعالیت آنزیم‌های پلی فنول اکسیداز رو افزایش می‌دهد [23]. ال دارا و همکاران (2013) نیز نشان دادند که میدان الکتریکی پالسی منجر به افزایش استخراج ترکیبات فنولی از پوست سیب

3-3- تاثیر میدان الکتریکی پالسی بر فعالیت

رادیکال گیرندگی به روش DPPH

DPPH نوعی رادیکال آزاد هیدروفیل و پایدار و ارغوانی رنگ است که به دلیل وجود الکترون‌های منفرد دارای حداکثر جذب در طول موج 515-517 nm است. انتقال الکترون و یا اتم هیدروژن به رادیکال‌های DPPH از ترکیبات احیا کننده نظیر فنول‌ها و تبدیل آن‌ها به فرم غیر رادیکالی منجر به کاهش میزان جذب محلول DPPH در این طول موج می‌گردد [25]. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوطه است. نتایج جدول 2 نشان داد که اثر درجه دوم شدت میدان الکتریکی بر میزان DPPH معنادار بود. از طرفی نتایج نشان داد که پارامتر درجه دوم شدت میدان الکتریکی بیشترین تأثیر را بر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH زمانی که از میدان الکتریکی پالسی استفاده شده بود، داشت. شکل (3) تأثیر شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس‌ها را بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد با افزایش شدت میدان الکتریکی، میزان توانایی مهار رادیکال‌های

می‌دهد. ظرفیت دهندگی الکترون نیروی احیاکننده‌گی مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیستی می‌باشد [28]. جدول 3 و همچنین مقادیر F نشان داد که بیشترین تأثیر بر میزان قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌ها زمانی که از میدان الکتریکی پالسی به‌عنوان پیش‌تیمار استخراج عصاره استفاده شد، پارامتر درجه دوم شدت میدان الکتریکی و بعد از آن اثر متقابل شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس‌ها بود. افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس ابتدا میزان قدرت احیا کنندگی آهن را افزایش و سپس کاهش داد هرچند در شدت‌های پایین میدان الکتریکی با افزایش تعداد پالس‌ها میزان قدرت احیاکنندگی آهن افزایش داشت (شکل 4). علت این افزایش را می‌توان به افزایش آزاد سازی موادی که در احیا آهن نقش دارند و همچنین غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌ها نسبت داد [14]. در کل ویژگی‌های احیا کنندگی با حضور ترکیبات اهداءکننده‌ی الکترون همراه است. به عبارت دیگر با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیا کنندگی آن افزایش می‌یابد در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تاخیر بی‌اندازد. واکنش ترکیبات احیا کننده با پیش‌سازهای پراکسید نیز یکی دیگر از مکانیسم‌هایی که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و احیا کننده از تشکیل پراکسید در روغن‌ها و چربی‌ها جلوگیری می‌کنند [29].

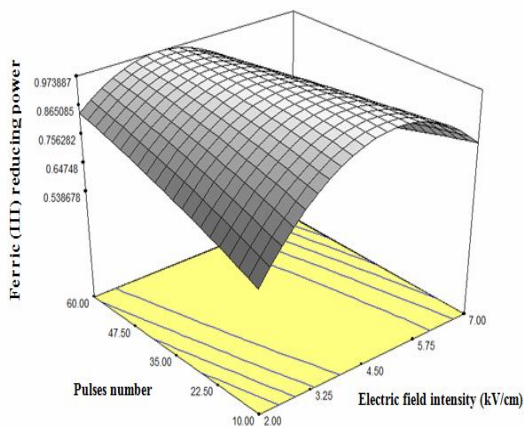


Fig 4 The effects of pulsed electric field intensity and pulse number on ferric reducing activity.

آزاد DPPH ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد به‌طوری که بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در این فرآیند مربوط به شدت میدان الکتریکی 4/25 و 60 kv/cm پالس بود. لازم به ذکر است که با افزایش تعداد پالس‌ها، میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت. احتمالاً علت افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را می‌توان به آزادسازی بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به درون عصاره نسبت داد و کاهش آن را نیز می‌توان به اثر تخریبی این فرآیند نسبت داد [13]. نتایج این بخش با نتایج گودرجان و همکاران (2005) تطابق داشت [26]. در سال 2015، محققینی روی تأثیر میدان الکتریکی پالسی بر استخراج پروتئین، ترکیبات فنولی، کربوهیدرات‌ها و ایزوتیوسیانات‌های دانه پاپایا مطالعه نمودند. نتایج آن‌ها حاکی از این بود که راندمان استخراج پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات فنولی، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و اندیس معادل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترولوکس³ (TEAC) در مورد تیمارهای فراوری شده به وسیله میدان الکتریکی پالسی، بالاتر از روش استخراج آبی بود [27].

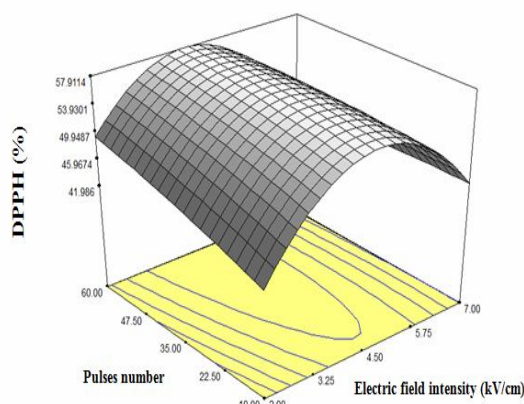


Fig 3 The effects of pulsed electric field and pulse number on DPPH free radical scavenging activity.

3-4- قدرت احیاکنندگی آهن

در این روش احیا آهن III به‌عنوان معیاری برای قابلیت الکترون دهی ترکیبات فنولی به‌کار می‌رود. این مسئله، مکانیسم مهمی را در فرآیند اکسیداسیون ترکیب‌های فنولی تشکیل

³Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).

Table 3 Designed equation models for dependent variable.

Number	Dependent variable	Equation	R ²	R ² -adj	C.V
1	Lycopene (ppm)	$y = +38.29 - 2.22 X_1 + 0.78X_2 - 3.53 X_1^2 + 2.03 X_2^2 - 3.24X_1X_2$	0.982	0.970	1.41
2	Polyphenols (ppm)	$y = +1003.79 - 23.58 X_1 + 31.08X_2 - 296.43 X_1^2 - 23.93 X_2^2 - 120.37X_1X_2$	0.975	0.958	4.23
3	DPPH(%)	$y = +56.84 - 0.93 X_1 + 1.43 X_2 - 11.57 X_1^2 - 0.57 X_2^2 - 2.22X_1X_2$	0.9321	0.8836	4.39
4	Ferric reducing activity	$y = +0.97 - 0.025X_1 + 0.0033 X_2 - 0.26X_1^2 - 0.019 X_2^2 - 0.12X_1X_2$	0.990	0.984	2.40

3-6- مقایسه نمونه حاصل از پیش تیمار بهینه با نمونه فاقد تیمار (کنترل)

در این بخش خصوصیات مورد مطالعه نمونه شاهد با نمونه‌ای که تحت شرایط بهینه استخراج بدست آمد، مقایسه شدند (داده‌های مربوط به پیش تیمارهای مختلف در این قسمت از بخش بهینه‌سازی نرم‌افزار Design Expert گرفته شده بود). نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل نشان داد که نوع پیش تیمار بر تمامی خصوصیات مورد بررسی تأثیر معنی داری داشت ($P < 0/01$). همان‌طور که جدول 4 نشان می‌دهد، استفاده از پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی منجر به افزایش خصوصیات مورد اندازه‌گیری شد. به گونه‌ای که نمونه حاصل از پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی به ترتیب 73/43، 146/28، 45/64 و 112/44 درصد دارای لیکوپن، ترکیبات فنولی کل، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن بیشتری نسبت به نمونه شاهد بود که علت این بیشتر بودن این ترکیبات نسبت به نمونه شاهد را می‌توان به خروج و رهاسازی بیشتر این ترکیبات در اثر استفاده از میدان الکتریکی پالسی نسبت داد. سارکیس و همکاران (2015)، از میدان‌های الکتریکی متناوب و تخلیه الکتریکی ولتاژ بالا در استخراج روغن از دانه‌های کنجد به‌عنوان پیش تیمار و با هدف تخریب دیواره سلولی و افزایش راندمان استخراج روغن استفاده نمودند. در این تحقیق تأثیر تیمارهای الکتریکی با انرژی‌های خروجی مختلف (40 و 240 kJ/kg) بر راندمان استخراج، شاخص تخریب پذیری و خصوصیات کیفی روغن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش انرژی خروجی فرآیند ولتاژ بالا شاخص تخریب پذیری راندمان یافت و همچنین این دو فرآیند منجر به افزایش راندمان روغن‌کشی شد [22]. سارکیس و همکاران در

3-5- بهینه‌سازی فرآیند استخراج لیکوپن و ترکیبات زیست فعال از تفاله گوجه فرنگی با پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی

به‌منظور یافتن بهترین شرایط استخراج لیکوپن و ترکیبات زیست فعال دیگر از تفاله گوجه فرنگی با پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی، با توجه به شدت میدان الکتریکی پالسی که در دامنه 2 تا 6 کیلوولت بر سانتی متر و تعداد پالس‌ها که بین 10 تا 60 تنظیم شده بود، فرآیند استخراج این ترکیبات در شرایط ذکر شده به منظور رسیدن به حداکثر میزان لیکوپن، ترکیبات فنولی کل، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیا کنندگی آهن بهینه یابی گردید. نتایج نشان داد که به منظور رسیدن به اهداف ذکر شده، بایستی شدت میدان الکتریکی 3/7 کیلوولت بر سانتی متر و تعداد پالس 60 باشد، تا مطلوبیت 0/915 ایجاد گردد (شکل 5).

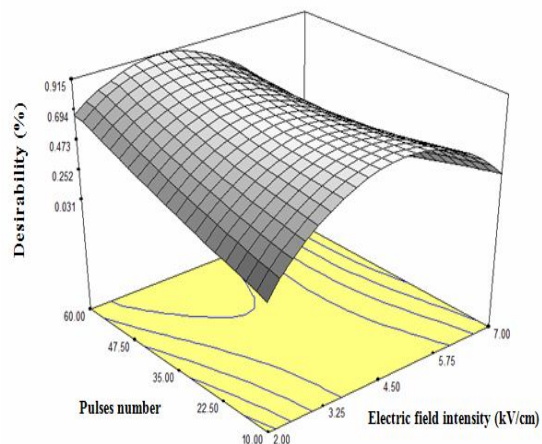


Fig 5 The optimization of lycopene and bioactive compounds extraction

دو روش باعث بهبود فرآیند استخراج این ترکیبات می‌شود. در پایان آن‌ها بیان داشتند که استفاده از این تکنیک‌ها در صنعت می‌تواند مقدار حلال، زمان و درجه حرارت فرآیند را کاهش دهد [30].

مطالعه‌ی دیگری در همان سال از میدان‌های الکتریکی متناوب و تخلیه الکتریکی ولتاژ بالا در استخراج ترکیبات مختلف از یک روغنی دانه‌های کنجد استفاده نمودند. نتایج نشان داد که میزان شاخص تخریب‌پذیری، پروتئین‌ها و ترکیبات فنولی با افزایش شدت انرژی خروجی افزایش یافت و در مجموع هر

Table 4 The effect of treatment type on some detected properties of tomato paste

Treatment type	Lycopene quantity (ppm)	Total phenolic compounds (ppm)	DPPH (%)	Ferric reducing power
Pulsed electric field	42.49 ^a	1027 ^a	57.53 ^a	0.973 ^a
Control sample	24.50 ^b	417 ^b	39.50 ^b	0.458 ^b

Data with different letter in each column demonstrate significant difference (P<0.01)

4- نتیجه گیری کلی

در این مطالعه تاثیر استفاده از میدان الکتریکی پالسی در استخراج لیکوپن و برخی از ترکیبات زیست فعال دیگر موجود در تفاله گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش شدت میدان الکتریکی میزان لیکوپن استحصال، ترکیبات فنولی کل، قدرت رادیکال گیرندگی و قدرت احیا کنندگی عصاره‌ها ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. با افزایش تعداد پالس‌ها نیز ابتدا میزان لیکوپن کاهش و سپس افزایش یافت ولی میزان ترکیبات فنولی کل و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، به صورت جزئی افزایش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده، استفاده از میدان الکتریکی پالسی در شرایط بهینه، از طریق افزایش در نفوذپذیری دیواره‌های سلولی، راندمان استخراج ترکیبات زیست فعال تفاله گوجه فرنگی را بطور قابل توجه و معنی داری افزایش می‌دهد.

5- منابع

- [5] Ausich, R.L. and Sanders, D.J. 1997. Process for the isolation and purification of lycopene crystals. United States Patent 5858700.
- [6] Choudhari, S.M. and Ananthanarayan, L. 2006. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food Chemistry. 102: 77-81.
- [7] Lavecchia, R. and Zuurro, A. 2008. Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. European Food Research and Technology. 228(1): 153-158.
- [8] Ottway, B. 2004. Application for the evaluation of lyco-o-mato lycopene oleoresin from tomato. Food standards agency, London UK.
- [9] Egydio, J.A., Moraes, Â.M. and Rosa, P.T.V. 2010. Supercritical fluid extraction of lycopene from tomato juice and characterization of its antioxidation activity, Journal Supercritical Fluids. 54: 159-164.
- [10] Dolatabadi, Z., Elhami Rad, A.H., Farzaneh, V., Akhlaghi Feizabad, S.H., Estiri, S.H and Bakhshabadi, H. 2016. Modeling of the lycopene extraction from tomato pulps. Food Chemistry. 190: 968-973.
- [11] Barbosa-Canovas, G.V. and Zhang, Q.H. 2001. In Pulsed Electric Fields in Food Processing. Washington, DC: Technomic.
- [12] Asavasanti, S., Ristenpart, W., Stroeve, P. and Barrett, D.M. 2011. Permeabilization of Plant Tissue by Monopolar Pulsed Electric Field: Effect of Frequency. Journal of Food Science. 76(1): 98-111.
- [13] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H.O., Ghodsvali, A., Jafari, S.M. and Ziaifar, A.M. 2017. The influence of pulsed electric field and microwave pretreatments on some
- [1] Zargari, E. 2014. Herbal plants, Tehran University publication. Voum 5. 1010 p. (In Persian).
- [2] Socaciu, C. 2008. Food colorants chemical and functional properties. CRC Press Taylor and Francis Group. Boca Raton, 652p.
- [3] Soni, J. 2003. Separation of carotenoids from fruits and vegetables. US2003/0180435.
- [4] Sahlin, E., Savage, G.P. and Lister, C.E. 2004. Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. Journal of Food Composition and Analysis. 17: 635-647.

- [22] Sarkis, J.R., Boussetta, N., Tessaro, I.C., Ferreira Marczak, L.D. and Vorobiev, E. 2015a. Application of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges for oil extraction from sesame seeds. *Journal of Food Engineering*. 153: 20–27.
- [23] Grimi, N., Mamouni, F., Lebovka, N., Vorobiev, E. and Vaxelaire, J. 2010. Acoustic impulse response in apple tissues treated by pulsed electric field. *Biosystems Engineering*, 105(2): 266–272.
- [24] El Darra, N., Grimi, N., Maroun, R.G., Louka, N. and Vorobiev, E. 2013. Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. *European Food Research and Technology*. 236(1): 47–56.
- [25] Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A. and Andrade, P. B. 2007. Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata*., DC) seed: phytochemical characterization and antioxidant potential. *Journal of Food Chemistry*. 101: 549–558.
- [26] Guderjan, M., Topfl, S., Angersbach, A. and Knorr, D. 2005. Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*. 67 (3): 281–287.
- [27] Parniakov, O., Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N. and Vorobiev, E. 2015. New approaches for the effective valorization of papaya seeds: Extraction of proteins, phenolic compounds, carbohydrates, and isothiocyanates assisted by pulsed electric energy. *Food Research International*. 77 (4): 711–717.
- [28] Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*. 102: 1233–1240.
- [29] Kumaran, A and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*. 40: 344–352.
- [30] Sarkis, J.R., Boussetta, N., Blouet, C., Tessaro, I.C., Ferreira Marczak, L.D. and Vorobiev, E. 2015b. Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 29: 170–177.
- of the physicochemical properties of oil and the meal of black cumin seed. *Food science and nutrition*. 1–8.
- [14] Wiktor, A., Sledz, M., Nowacka, M., Rybak, K., Chudoba, T., Lojkowski, W. and Witrowa-Rajchert, D. 2015. The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 30: 69–78.
- [15] Boussetta, N., Soichi, E., Lanoisellé, J.L. and Vorobiev, E. 2014. Valorization of oilseed residues: Extraction of polyphenols from flaxseed hulls by pulsed electric fields. *Industrial Crops and Products*. 52: 347–353.
- [16] González-Casado, S., Martín-Belloso, O., Elez-Martínez, P. and Soliva-Fortuny, R. 2018. Enhancing the carotenoid content of tomato fruit with pulsed electric field treatments: Effects on respiratory activity and quality attributes. *Postharvest Biology and Technology*. 137: 113–118.
- [17] Rostami, M., Farzaneh, V. Boujmehrani, A., Mohammadi, M. and Bakhshabadi, H. 2014. Optimizing the extraction process of sesame seeds oil using response surface method on the industrial scale. *Industrial Crops and Products*. 58: 160–165.
- [18] Shaddel, R., Maskooki, A.M., Haddad-Khodaparast, M.H., Azadmard-Damirchi, S., Mohamadi, M. and Fathi-Achachlouei, B. 2014. Optimization of extraction process of bioactive compounds from Bene hull using subcritical water. *Food Science & Biotechnology*. 23 (5): 1459–1468.
- [19] Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4083–4089.
- [20] Vallverdu-Queralt, A., Odriozola-Serrano, I., Oms-Oliu, G., Lamuela-Raventós, R.M., Elez-Martínez, P. and Martín-Belloso, O., 2013a. Impact of high-intensity pulsed electric fields on carotenoids profile of tomato juice made of moderate-intensity pulsed electric field-treated tomatoes. *Food Chemistry*. 141: 3131–3138.
- [21] Boussetta, N., Soichi, E., Lanoisellé, J.L. and Vorobiev, E. 2014. Valorization of oilseed residues: Extraction of polyphenols from flaxseed hulls by pulsed electric fields. *Industrial Crops and Products*. 52: 347–353.



Optimization of pulsed electric field assisted extraction of lycopene and phenolic compounds from tomato waste

Dolatabadi, Z. ¹, Elhami Rad, A. H. ^{1*}, Akhlaghi Feizabad, S. H. ², Farzaneh, V. ³, Bakhshabadi, H. ⁴

1. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran
2. Department of Chemistry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
3. FCT, University of Algarve, Faro-Portugal.
4. Young Researchers and Elites Club, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 12/ 11
Accepted 2022/ 02/ 01

Keywords:

Tomato waste,
Optimization,
Lycopene extraction,
Phenolic compounds,
Pulsed electric field.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.109

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.11.0

*Corresponding Author E-Mail:
ah.elhami@gmail.com

ABSTRACT

In the present study, to optimize the lycopene and phenolic compounds extraction from tomato paste, pulsed electric field in different intensities including 2, 4, 6 KW. Cm⁻¹ and different pulse numbers including 10, 30, 60 were designed and applied. Therefore the extraction efficiency of lycopene and phenolic compounds, DPPH free radical scavenging activity as well as ferric reducing activity of the extracted oil were predicted. The statistical analysis and optimization process with the use of response surface methodology were performed. The achieved results presented that with enhancements in pulsed electric field intensity, at the beginning parameters including the efficiency of lycopene extraction and phenolic compounds extraction, DPPH free radical scavenging activity and ferric reducing power increased and then showed reductions. With enhancements in pulse number, at the beginning lycopene extraction slightly decreased then showed enhancements, but the phenolic compounds extraction rate as well as DPPH free radical scavenging activity increased slightly. The achieved results of optimization process expressed that to obtain extracts with high quantities of lycopene and phenolic compounds, pulsed electric field and pulse number should be set on 3.7 KW. Cm⁻¹ and 6 respectively to achieve the desirability value equals to 0.915. Finally the achieved results of the comparison of control sample with the treated ones expressed that, treated sample with pulsed electric field presented higher quantities for the extracted lycopene and phenolic compounds, DPPH free radical scavenging activity as well as reducing power (111.4, 45.64, 146.28 and 73.43) compared to the standard samples.