



بررسی اثر استخراج آبی-آنزیمی با استفاده از آنزیم های سلولاز و پپسین بر ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص فیزیکی شیمیایی روغن کنجد

زینب ظاهری عبده^۱، محمد جواهریان^۲، مریم کلاهی^{۳*}، محمد صباثیان^{۴,۵}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- مرکز تحقیقات لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۱۶

کلمات کلیدی:

استخراج آبی-آنزیمی،

پپسین،

روغن،

سلولاز،

کنجد.

DOI: 10.22034/FSCT.22.166.143.

* مسئول مکاتبات:

salvia20us@yahoo.com

کنجد (*Sesamum indicum* L.) به دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی ارزشمند مانند لیگنانها و اسیدهای چرب غیراشباع، از اهمیت تغذیه‌ای و صنعتی بالایی برخوردار است. در این پژوهش، تأثیر روش آبی-آنزیمی با آنزیم سلولاز و پپسین بر استخراج روغن کنجد و شاخص‌های کیفی آن بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از آنزیم‌های سلولاز و پپسین نه تنها بازده استخراج را افزایش می‌دهد، بلکه ترکیبات زیست‌فعال نظیر فنول کل، ویتامین E و ظرفیت آنتی اکسیدانی را نیز بهبود می‌بخشد. شاخص‌های کیفی شامل عدد اسیدی و عدد صابونی و مواد غیر قابل صابونی تغییر محسوسی نشان ندادند و در محدوده استاندارد باقی ماندند. عدد یدی نیز بدون تغییر ماند که نشان‌دهنده حفظ ترکیب اسیدهای چرب اصلی مانند اولئیک اسید، لینولئیک اسید و پالمیتیک اسید است. این پایداری به دلیل روش ملایم آبی-آنزیمی است که از تخریب ترکیبات جلوگیری می‌کند. از سوی دیگر، عدد پراکسید کاهش یافت و به ۸ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم رسید که نشان‌دهنده بهبود پایداری اکسیداتیو روغن است. میزان ترکیبات غیر صابونی نیز افزایش معناداری نشان داد که به ارتقای کیفیت کلی روغن کمک می‌کند. علاوه بر این، عدد آنیزیدین، که نشان‌دهنده اکسیداسیون ثانویه روغن است، کاهش یافت، که کاهش این عدد نیز حکایت از کاهش اکسیداسیون اولیه و بهبود پایداری روغن دارد. این نتایج تأیید می‌کند که روش آبی-آنزیمی می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد سبز، کارآمد و با اثرات زیست‌محیطی کمتر برای استخراج روغن کنجد استفاده شود.

۱-مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) گیاهی یک‌ساله و علفی از خانواده Pedaliaceae است که به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌اش به عنوان "ملکه دانه‌های روغنی" شناخته می‌شود [۱]. منشأ این گیاه هند بوده و سپس به آفریقا، آسیا و مناطق جنوبی حوضه مدیترانه گسترش یافته است. کشورهای هند، سودان، چین و برمه از تولیدکنندگان عمده کنجد هستند و تجارت این گیاه در این کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۲]. دانه کنجد حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی مختلفی از جمله اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، فیتواسترول‌ها، توکوفرول‌ها، فسفولیپیدها و لیگنان‌هایی مانند سزامول، سزامین و سزامولین می‌باشد [۳].

روغن کنجد یکی از محصولات اصلی این گیاه است که به‌طور سنتی در پخت‌وپز و به عنوان افزودنی طعم‌دهنده در غذاهای آسیایی و غربی استفاده می‌شود. همچنین، روغن کنجد در رژیم‌های غذایی و درمان برخی مشکلات سلامتی نیز کاربرد دارد. این روغن به عنوان یکی از برترین روغن‌های گیاهی شناخته می‌شود و منبع مهمی از انرژی است [۴]. از نظر ارزش غذایی، روغن کنجد پس از روغن زیتون در رتبه دوم قرار دارد [۵]. روغن کنجد عمدتاً از اسیدهای چرب اولئیک-لینولئیک تشکیل شده است و بیش از ۸۰٪ اسیدهای چرب آن را اسید لینولئیک (۴۱.۵ تا ۴۷.۹ درصد) و اسید اولئیک (۳۵.۹ تا ۴۲.۳ درصد) تشکیل می‌دهند. برخلاف بسیاری از دانه‌های روغنی دیگر، درصد این دو اسید چرب در روغن کنجد بسیار نزدیک به هم است. همچنین، روغن کنجد کمتر از ۲۰٪ اسیدهای چرب اشباع دارد که عمدتاً شامل اسید پالمیتیک (۷.۹ تا ۱۲ درصد) و اسید استئاریک (۴.۸ تا ۶.۱ درصد) می‌باشد [۶]. به دلیل وجود ترکیبات فیتوشیمیایی فعال مانند اسیدهای چرب غیراشباع، فیتواسترول‌ها، توکوفرول‌ها و لیگنان‌هایی همچون سزامین، سزامول و سزامینول، روغن کنجد قادر به مقابله با گونه‌های

فعال اکسیژن است. این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون جلوگیری کرده و به حفظ کیفیت روغن کمک می‌کند [۷]. برای استخراج روغن از دانه‌های کنجد، روش‌های مختلفی از جمله استخراج با حلال، پرس سرد و استخراج آبی-آنزیمی وجود دارد. استخراج آبی-آنزیمی به دلیل مزایای خاص خود، از جمله بهبود کیفیت محصولات و کاهش استفاده از حلال‌های شیمیایی، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این روش از آنزیم‌هایی برای تخریب دیواره سلولی گیاهان استفاده می‌کند و ترکیبات زیست‌فعال مانند روغن و پروتئین را به‌طور هم‌زمان استخراج می‌نماید. این فرآیند با استفاده از آنزیم‌های انتخابی، بازده استخراج را افزایش داده و همچنین طعم و بو محصولات را بهبود می‌بخشد [۸]. دیواره سلولی گیاهان از سلولز، همی سلولز، پکتین و پروتئین تشکیل می‌شود. آنزیم‌ها قادرند ساختار دیواره سلولی را تخریب کرده و ترکیبات فنولی را آزاد کنند که در نتیجه موجب افزایش بازده استخراج روغن و سایر ترکیبات زیست‌فعال می‌شود [۹]. اصل اساسی استخراج به وسیله آنزیم، هیدرولیز دیواره سلولی گیاه تحت شرایط بهینه است. در این فرآیند، اجزای دیواره سلولی به محل فعال آنزیم متصل شده و باعث تغییر شکل آنزیم می‌شوند که این تغییر شکل موجب تعامل بیشتر بین جایگاه فعال آنزیم و اجزای دیواره سلولی می‌گردد. در نتیجه، پیوندهای سلولی شکسته شده و ترکیبات زیست‌فعال به راحتی آزاد می‌شوند [۱۰]. این روش به عنوان یکی از روش‌های استخراج سبز شناخته می‌شود. دانه‌های آسیاب‌شده، نسبت آب به سوستر، غلظت آنزیم‌های استفاده‌شده، سرعت هم‌زدن محلول و سایر عوامل قرار دارد. همچنین، شرایط بهینه برای این فرآیند به عواملی مانند pH و دمای آنزیم بستگی دارد [۱۱].

شکل نهایی روغن استخراج‌شده تحت تأثیر عواملی مانند ترکیبات شیمیایی دانه‌های روغنی، اندازه ذرات استفاده از

شد. در حالی که سلولاز در مطالعات پیشین عمدتاً به صورت ترکیبی با سایر آنزیم‌ها به کار رفته، در این تحقیق اثر آن به صورت مستقل بررسی شده است. همچنین، برای اولین بار، از آنزیم پپسین به تنهایی در استخراج روغن کنجد استفاده شده است. اهداف اصلی این پژوهش شامل ارزیابی تأثیر این آنزیم‌ها بر بازده استخراج روغن و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن به دست آمده است. تمرکز بر شاخص‌هایی مانند پایداری اکسیداتیو، ترکیبات زیست‌فعال نظیر فنول‌های کل و حفظ ترکیبات اصلی نظیر اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. این مطالعه در نظر دارد نشان دهد که استفاده از این روش نوآورانه می‌تواند بهبود بازده استخراج و کیفیت کلی روغن را در پی داشته باشد و به عنوان جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی و شیمیایی مطرح شود.

۲- مواد و روش‌ها

استفاده از میکروپیپت جدا شدند و برای غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند. نمونه‌ها سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای آزمایشات بعدی نگهداری شدند [۱۲].

۲-۲- عصاره‌گیری به روش ماسراسیون

برای بررسی ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی محلول در الکل، عصاره‌گیری روغن کنجد به روش ماسراسیون با اتانول ۷۰٪ انجام شد. بدین منظور، ۲ گرم روغن کنجد با ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه انکوباتور شیکردار در دمای محیط قرار گرفت. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پس از سانتریفیوژ عصاره الکلی جداسازی شد. [۱۳].

۲-۳- اندازه‌گیری بازده استخراج روغن

روش استخراج آبی-آنزیمی به دلیل نگرانی‌های ایمنی و مقررات زیست‌محیطی در حال گسترش است. این روش، در مقایسه با استخراج با حلال، نه تنها ایمن‌تر و سازگارتر با محیط‌زیست است، بلکه از لحاظ اقتصادی نیز مقرون‌به‌صرفه‌تر می‌باشد. همچنین، به دلیل نیاز کمتر به انرژی و هزینه‌های عملیاتی پایین‌تر، این روش بهینه‌تر است. علاوه بر این، محصولات جانبی ارزشمندی مانند کنجاله، فیبر و پروتئین به دلیل شرایط ملایم عملیاتی تولید می‌شوند. یکی دیگر از مزایای این روش، جداسازی فسفولیپیدها از روغن است که باعث حذف مرحله صمغ‌زدایی و کاهش هزینه‌های کل فرآیند می‌شود [۸].

۱-۱- هدف پژوهش

این پژوهش با هدف بررسی اثر استفاده از آنزیم‌های پپسین و سلولاز در فرآیند استخراج آبی-آنزیمی روغن کنجد انجام

۱-۲- آماده‌سازی نمونه‌ها

دانه‌های کنجد در آذر ماه سال ۱۴۰۱ از مرکز جهاد کشاورزی شهرستان بهبهان تهیه شد. آنزیم پپسین از مرک و آنزیم سلولاز از شرکت بایولوننس تهیه شد. برای استخراج روغن کنجد، از دو روش آبی و آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های سلولاز و پپسین به صورت مستقل استفاده شد. ۱۰ گرم دانه‌ی کنجد آسیاب شده در ارنل مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نسبت ۱ به ۲ قرار گرفت و pH آن با استفاده از سدیم هیدروکسید و اسید هیدروکلریک ۰/۱M به pH بهینه هر آنزیم (۷ pH برای آنزیم سلولاز و ۲ pH برای آنزیم پپسین) تنظیم شد. آنزیم‌ها با غلظت بهینه (۲٪ وزنی/وزنی برای آنزیم پپسین و ۳٪ وزنی/وزنی برای آنزیم سلولاز) به مخلوط اضافه شدند. مخلوط در انکوباتور شیکردار با دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۶ ساعت قرار گرفت. سپس مخلوط به فالدکون منتقل شده و با دور ۱۰,۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ فاز بالایی حاوی روغن با

بازده استخراج روغن در تمامی روش های استخراج طبق استاندارد AOCS Af ۳-۵۴ و طبق رابطه زیر محاسبه شد [۱۴].

$$100 \times \frac{\text{وزن روغن استخراج شده (g)}}{\text{وزن نمونه اولیه (g)}} = \text{بازده استخراج روغن (\%)} \quad (g)$$

۲-۴ سنجش اسید چرب

روغن های استخراج شده با استفاده از حلال آلی اتر نفت استخراج شدند. برای آنالیز اسیدهای چرب، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۶۸۹۰ کوپل شده با طیف سنج جرمی مدل (۵۹۷۳) N ساخت شرکت Agilent آمریکا

۲-۵ بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش

DPPH

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی روغن های استخراج شده از آزمون DPPH به روش برنر-ویلیامز استفاده شد. ابتدا ۰.۱ میلی لیتر عصاره به لوله آزمایش اضافه گردید. سپس ۳.۹ میلی لیتر از محلول DPPH (با غلظت ۰.۰۲۰٪ در متانول ۹۸٪) به آن افزوده شد. نمونه ها به مدت چند ثانیه ورتکس شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی برای انجام واکنش نگهداری شدند. در این فرایند، رنگ بنفش DPPH به رنگ زرد تغییر یافت. جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. درصد فعالیت آنتی اکسیدانی طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۱۶].

$$\text{جذب کنترل} / ۱۰۰ \times (\text{جذب نمونه} - \text{جذب})$$

$$\text{کنترل} = \text{درصد مهارکنندگی}$$

۲-۶ سنجش محتوای فنول

محتوای فنول کل با استفاده از روش فولین-سیوکالیتو اصلاح شده اندازه گیری شد. به ۰.۲ میلی لیتر عصاره تهیه شده ۱.۵ میلی لیتر معرف فولین ۱۰٪ اضافه شد. پس از ۶ دقیقه استراحت، ۱.۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۵٪ افزوده گردید و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت.

استفاده شد. این دستگاه دارای ستون موئین HP-5MS با فاز ساکن متیل سیلوکسان ۵٪ به طول ۳۰ اینچ و قطر داخلی ۰.۲۵ میلی متر بود. انرژی یونیزاسیون دستگاه طیف سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت بود. ۱-۲ میکرو لیتر نمونه خالص با سرنگ ۱۰ میکرو لیتر به دستگاه تزریق شد. دمای اولیه دستگاه ۵۰ درجه سانتی گراد تنظیم گردید و به مدت ۳ دقیقه ثابت ماند. سپس دما با سرعت ۱۰ C/min° به ترتیب به ۱۲۰ C°، ۱۵۰ C° و ۱۹۰ C° رسید و در هر مرحله برای ۳ دقیقه ثابت ماند [۱۵].

تغییر رنگ نمونه به آبی تیره نشان دهنده حضور ترکیبات فنولی در نمونه بود. سپس جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان ترکیبات فنولی بر اساس میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید [۱۷].

۲-۷ سنجش محتوای ویتامین E

میزان ویتامین E در روغن کنجد با استفاده از دستگاه HPLC اندازه گیری شد. فاز متحرک شامل متانول ۱۰۰٪ با جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه بود. ستون از نوع فاز معکوس با طول ۲۵۰ میلی متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر و دکتور UV با طول موج ۲۸۵ نانومتر بود. حجم تزریق ۲۰ میکرو لیتر در نظر گرفته شد. برای استخراج ویتامین E، ۱ گرم روغن کنجد با ۲ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم ۱۲٪ مخلوط و ۲۰ دقیقه در آون با دمای ۸۲ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، ۵ میلی لیتر هگزان اضافه و پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه، محلول رویی جدا شد. حلال در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد با دستگاه روتاری تبخیر شد و نمونه با ۴۲۰ میکرو لیتر متانول حل شده و به HPLC تزریق گردید. برای آنالیز کمی، کروماتوگرام های حاصل از تزریق هر نمونه با

کروماتوگرام‌های استاندارد مربوطه مقایسه گردید و غلظت ویتامین E در هر نمونه بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم روغن محاسبه شد [۱۸].

۲-۸ سنجش عدد صابونی

برای سنجش عدد صابونی روغن، مقدار ۰.۵ گرم از هر نمونه روغن به همراه ۱۰ میلی لیتر محلول KOH (۲۸ گرم KOH در ۱۰۰ میلی لیتر محلول اتانول/آب با نسبت ۱:۱) مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۸۰ تا ۸۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پیشرفت واکنش با تغییر رنگ محلول‌ها به ارغوانی نشان داده می‌شود. پس از خنک شدن نمونه‌ها در دمای محیط، ۱ تا ۲ قطره معرف فنول فتالین ۱٪ به هر نمونه اضافه شد. سپس، تیتراژ کردن با محلول هیدروکلریک اسید ۰.۵ مولار (HCl) انجام شد تا در نقطه هم‌ارزی رنگ محلول از ارغوانی به بی‌رنگ تغییر یابد. این مراحل برای محلول بلانک که فقط شامل محلول KOH است نیز تکرار شد [۱۹].

میزان صابونی شدن با استفاده از رابطه زیر محاسبه و بر حسب میلی گرم پتاسیم هیدروکسید در ۱۰۰ گرم روغن کنجد بیان گردید

$$\text{مقدار صابونی شدن (mgg}^{-1}\text{)} = \frac{28(5 \times (A - B) \times F}{S}$$

A = حجم مصرفی HCl تیتراسیون بلانک

B = حجم مصرفی HCl تیتراسیون نمونه

F = فاکتور $0.5N = HCl$

S = وزن نمونه

۲-۹ سنجش عدد اسیدی

در این مطالعه، برای محاسبه درصد اسیدهای چرب آزاد به دلیل هیدرولیز تری گلیسریدها، از آزمایش ارزش اسیدی به روش AOCS استفاده شد. در بالن ژوژه (۲۵۰ میلی لیتری)، ۱ گرم روغن به ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪

اضافه شد تا حل گردد. سپس ۲ قطره فنول فتالین ۱٪ به عنوان معرف افزوده شد. نمونه‌های روغن با محلول هیدروکسید پتاسیم ۰.۱ مولار (KOH) تیتراژ شدند تا زمانی که رنگ صورتی کم‌رنگ ظاهر شود. حجم تیتراژ ثبت شد و سپس مقدار اسید چرب آزاد با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید [۱۴].

$$\text{عدد اسیدی} = \frac{(V - B) \times N \times 56.1}{W}$$

B = حجم مصرفی KOH تیتراسیون بلانک

V = حجم مصرفی KOH تیتراسیون نمونه

N = فاکتور $0.1N = KOH$

W = وزن نمونه

۲-۱۰ سنجش عدد یدی

عدد یدی به روش هانوس و مطابق با استاندارد AOAC 158-92 انجام شد. در این روش، ۰.۲۵ گرم روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری وزن شد و سپس ۱۰ میلی لیتر کلروفرم به آن اضافه گردید. نمونه با تکان دادن ارلن در کلروفرم حل شد. سپس ۲.۵ میلی لیتر معرف هانوس به آن اضافه و ارلن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. پس از این مدت، ۱۰ میلی لیتر محلول یدید پتاسیم ۱۵٪ و سپس ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به ارلن افزوده شد. در مرحله پایانی، نمونه با محلول سدیم تیوسولفات ۰.۱ مولار به صورت قطره قطره تیتراژ شد، درحالی که ارلن به طور یکنواخت تکان داده می‌شد تا رنگ محلول به زرد آجری تغییر یابد. سپس چند قطره معرف نشاسته اضافه شد و تیتراژ کردن تا از بین رفتن کامل رنگ آبی ادامه یافت. در نهایت، حجم سدیم تیوسولفات مصرفی ثبت شد. آزمون شاهد نیز دقیقاً تحت شرایط مشابه انجام شد، به استثنای افزودن نمونه عدد یدی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۱۴].

۲-۱۲ اندازه‌گیری عدد پراکسید روغن‌های

استخراج شده

عدد پراکسید طبق استاندارد AOCS Cd 53-8 محاسبه شد. برای این منظور، مقدار معینی از نمونه روغن (۰.۵ گرم) با ۵ میلی‌لیتر محلول اسید استیک-کلروفرم با نسبت ۳:۲ مخلوط گردید و ظرف حاوی آن به‌منظور حل شدن نمونه تکان داده شد. سپس ۰.۵ میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع به مخلوط افزوده و به‌مدت دقیقاً ۱ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد. در ادامه، به مخلوط حاصل ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و چند قطره معرف نشاسته اضافه گردید. سپس عملیات تیتراژ با محلول سدیم تیوسولفات با غلظت ۰.۰۱ مول بر لیتر انجام شد تا رنگ آبی حاصل از مراحل قبلی به‌طور کامل از بین برود. مراحل فوق برای نمونه شاهد (بدون افزودن نمونه روغن) نیز تکرار شد [۱۴].

$$PV = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{W}$$

PV = عدد پراکسید (میلی اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم روغن)

S = مقدار محلول سدیم تیوسولفات مصرفی برای نمونه (mL)

B = مقدار محلول سدیم تیوسولفات مصرفی برای شاهد (mL)

N = نرمالیه محلول سدیم تیوسولفات
W = وزن نمونه (g)

۲-۱۳ سنجش عدد آنزیدین

این شاخص بر اساس استاندارد ISO ۶۸۸۵ اندازه‌گیری شد. برای آماده‌سازی محلول آزمون، ۱ گرم روغن در بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری توزین و با ایزواکتان به حجم رسانده شد. سپس جذب محلول نمونه به دو روش در دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. در روش اول، ۵ میلی‌لیتر

$$IV = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 12.69}{m}$$

IV = عدد یدی (g ید جذب شده در ۱۰۰g روغن)

V₁ = حجم محلول سدیم تیوسولفات مصرفی برای نمونه روغن (ml)

V₂ = حجم محلول سدیم تیوسولفات مصرفی برای شاهد (ml)

N = نرمالیه محلول سدیم تیوسولفات

m = جرم نمونه روغن (g)

۲-۱۱ اندازه‌گیری ترکیبات غیرقابل صابونی

روغن‌های استخراج شده

طبق استاندارد، AOCS Ca ۶ a-۴۰ ابتدا ۵ گرم روغن در داخل بالن ته گرد ریخته شده و ۵۰ میلی‌لیتر محلول پتاسیم هیدروکسید اتانولی ۱ mol/L و تعدادی سنگ جوش به آن افزوده شد. پس از سرد شدن محلول، محتویات بالن به قیف دکانتور ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و بالن طی ۳ مرحله با دی‌اتیل‌اتر شستشو داده شد. سپس قیف مدتی در حالت سکون قرار گرفت و پس از دو فاز شدن نمونه، فاز پایینی دور ریخته شد. فاز بالایی که حاوی ترکیبات غیرصابونی و حلال اتری بود، به دستگاه تبخیرکننده چرخشی منتقل شد. در دمای ۷۵ °C، حلال دی‌اتیل‌اتر تبخیر شد و در پایان، برای رسیدن به وزن ثابت، ظرف حاوی نمونه در آن ۱۰۳ °C و دسیکاتور قرار گرفت. تمامی مراحل آزمون بدون نمونه برای تهیه نمونه شاهد تکرار شد. میزان مواد غیرصابونی‌شونده با استفاده از رابطه مشخصی محاسبه گردید [۱۴].

$$\text{درصد مواد غیر صابونی شونده} = \frac{m_1 - m_2 - m_3}{m} \times 100$$

$$Q = \frac{100 \times QV \times [1.2 \times (A_2 - A_1 - A_0)]}{m}$$

Q = میزان نمونه محلول اندازه گیری شده که بر اساس آن

عدد آنیزیدین بیان می شود (گرم در میلی لیتر)

V = حجمی که در آن نمونه حل شده (۲۵ میلی لیتر)

A_0 = میزان جذب محلول آزمون واکنش نیافته

A_1 = میزان جذب محلول واکنش یافته

A_2 = میزان جذب محلول شاهد

m = وزن نمونه (گرم)

۲-۱۴ آنالیز آماری داده ها

آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS۲۰ انجام شد. میانگین داده ها، که بر اساس سه تکرار مستقل به دست آمد، با روش دانکن مورد بررسی قرار گرفت و نمودارهای میانگین با نرم افزار اکسل رسم گردید.

روغن کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه ی کنترل افزایش یافت. بیش ترین بازدهی روغن مربوط به روغن استخراج شده با آنزیم سلولاز بود، $p < 0.05$.

محلول آزمون با ۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط و پس از ۸ دقیقه در تاریکی و دمای ۲۳ درجه سانتی گراد، طی ۲ دقیقه به سل طیف سنجی خشک و تمیز منتقل شد. پس از ۱۰ دقیقه، جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر خوانده و به عنوان جذب محلول آزمون واکنش نیافته ثبت شد. در روش دوم، ۵ میلی لیتر محلول آزمون با ۱ میلی لیتر معرف آنیزیدین مخلوط و پس از ۸ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای ۲۳ درجه سانتی گراد، طی ۲ دقیقه به سل طیف سنجی منتقل شد. جذب محلول در ۳۵۰ نانومتر خوانده و به عنوان جذب محلول آزمون واکنش یافته ثبت گردید. در نهایت، برای تعیین جذب محلول شاهد، ۵ میلی لیتر ایزواکتان با ۱ میلی لیتر معرف آنیزیدین مخلوط و پس از ۱۰ دقیقه واکنش، جذب در ۳۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. عدد آنیزیدین طبق رابطه مشخص محاسبه گردید [۲۰].

۳- نتایج و بحث

۳-۱ میزان تغییرات بازدهی روغن

نتایج مقایسه ی میانگین بازدهی روغن کنجد استخراج شده با روش های مختلف نشان داد، میزان بازدهی در

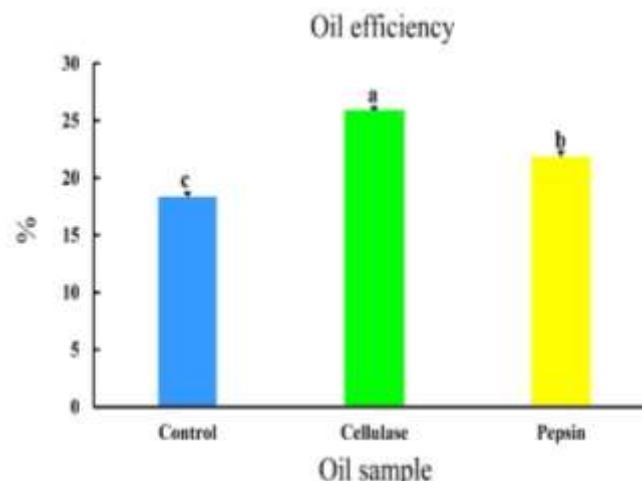


Figure 1. Yield of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

کوتاه‌تر پپتیدی تبدیل کنند. این امر موجب افزایش محتوای روغن در استخراج با آنزیم می‌شود [۲۳].

۲-۳ میزان تغییرات اسیدهای چرب

با بررسی داده‌های GC-MS روغن دانه‌ی کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف، چهار اسید چرب اصلی پالمیتیک اسید، لینولئیک اسید، اولئیک اسید و استئاریک اسید شناسایی شد. در شرایط کنترل، میزان مناسبی از هریک از اسیدهای چرب وجود داشت و تفاوت معناداری با روغن‌های استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین یافت نشد.

استخراج آبی-آنزیمی از طریق شکستن دیواره‌ی سلولی گیاه باعث آزادسازی روغن می‌شود. بازدهی استخراج روغن به پارامترهایی مختلفی مانند اندازه ذرات، نوع و غلظت آنزیم، نسبت آب به دانه، زمان استخراج، دما و pH بستگی دارد [۲۱]. استخراج روغن با آنزیم سلولاز و پپسین از دانه‌ی کنجد نشان می‌دهد، آنزیم‌های سلولاز باعث تخریب دیواره‌ی سلولی و آزادسازی روغن حبس شده در لایه‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدی می‌شوند [۲۲]. همچنین پپسین پیوندهای پپتیدی در زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی که محل تجمع قطرات روغن هست را هیدرولیز کند و آن‌ها را به قطعات

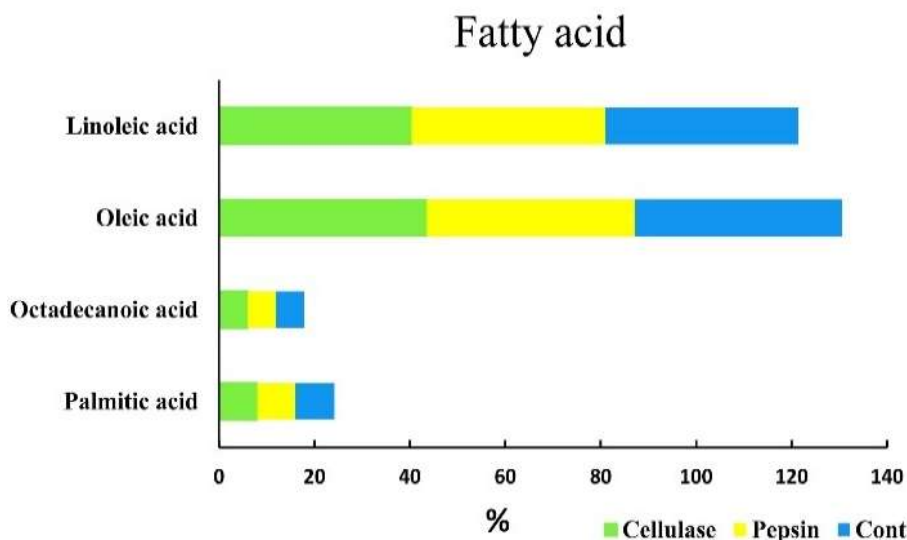


Figure 2. Content of main fatty acids in extracted sesame oil

اینکه به ترکیب اسیدهای چرب آسیب برساند. آنزیم پپسین نیز به طور مستقیم با لیپیدها و اسیدهای چرب واکنش نمی‌دهد و بر ترکیبات شیمیایی روغن تأثیری ندارد [۲۸].

۳-۳ میزان تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

نتایج مقایسه‌ی میانگین محتوای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در روغن کنجد استخراج شده با آنزیم پپسین و سلولاز نسبت به نمونه‌ی کنترل افزایش یافت. بیش‌ترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به روغن‌های کنجد استخراج شده با آنزیم پپسین بود، $p < 0.05$.

اسیدهای چرب معیار مهمی برای ارزیابی کیفیت و پایداری روغن‌ها هستند. در روغن کنجد، اولئیک اسید و لینولئیک اسید بیش از ۸۰٪ کل اسیدهای چرب را تشکیل می‌دهند و کیفیت تغذیه‌ای بالایی دارند [۲۴ و ۲۵]. اسیدهای چرب چندغیراشباع، مانند لینولئیک اسید، به کاهش کلسترول و پیشگیری از تصلب شرایین کمک می‌کنند [۲۶]. استخراج آنزیمی تأثیری بر ترکیب اسیدهای چرب ندارد، اما عواملی مانند حرارت و اکسیداسیون می‌توانند ترکیب آن‌ها را تغییر دهند. دمای پایین و زمان کوتاه استخراج از اکسیداسیون و تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع جلوگیری کرده و ترکیبات حساس را حفظ می‌کند [۲۷]. آنزیم سلولاز با تجزیه دیواره سلولی دانه‌ها، بازده استخراج روغن را افزایش می‌دهد بدون

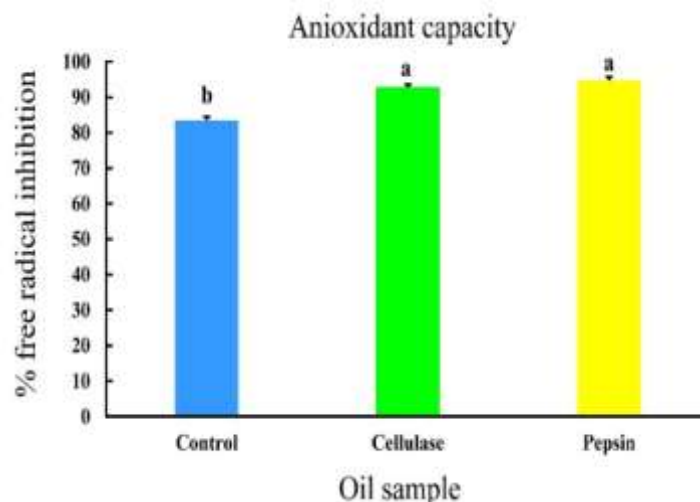


Figure 3. Content of antioxidant capacity in extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

همچنین، کاهش کمپلکس شدن پلی فنول ها با پلی ساکاریدهای دانه، ظرفیت آنتی اکسیدانی روغن را افزایش می دهد [۳۰].

۳-۴ میزان تغییرات فنول کل

نتایج مقایسه‌ی میانگین محتوای فنول کل روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان فنول در روغن کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و آنزیم پیپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل افزایش یافت. بیش‌ترین میزان فنول مربوط به روغن استخراج شده با آنزیم پیپسین بود، $p < 0.05$.

DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که حداکثر جذب را در ۵۲۰nm دارد. هنگامی که DPPH با یک اهدا کننده پروتون مواجه می‌شود، رادیکال آزاد حذف می‌شود و جذب کاهش می‌یابد. بر این اساس، فعالیت آنتی اکسیدانی یک ماده به توانایی آن در حذف رادیکال DPPH مرتبط است [۲۹]. روغن کنجد استخراج شده با روش آبی-آنزیمی ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به روش‌های مرسوم دارد. این روش با آزادسازی بیشتر ترکیبات زیست فعال مانند فنول‌ها، توکوفرول‌ها، مواد فرار، کاروتن‌ها، زانتوفیل‌ها و کلروفیل‌ها در فاز روغنی، کیفیت طعم و ماندگاری محصول را بهبود می‌بخشد.

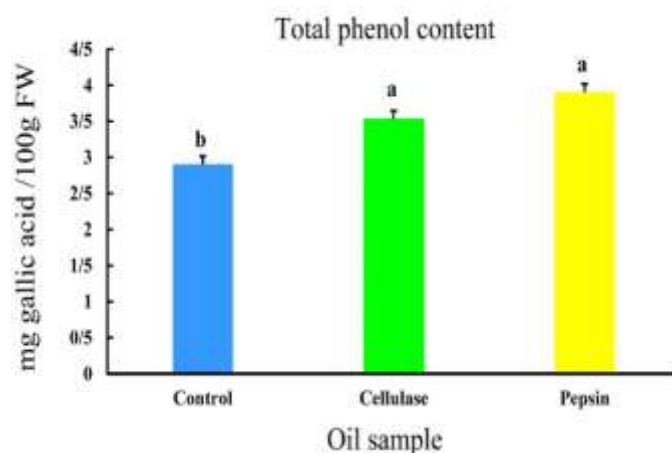


Figure 4. Total phenolic content of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

پلی ساکاریدهای دانه، انتقال این ترکیبات به فاز روغنی را تسهیل می کند [۳۲].

۳-۵ میزان تغییرات ویتامین E

نتایج مقایسه‌ی میانگین محتوای ویتامین E روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان ویتامین E در روغن کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل افزایش یافت، $p < 0.05$.

ترکیبات فنولی به دلیل توانایی در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و مهار تشکیل آن‌ها، به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی شناخته می شوند. همچنین، خاصیت کلاته کردن یون‌های فلزی آن‌ها موجب مهار پراکسیداسیون لیپیدی می گردد [۳۱]. آماده سازی آنزیمی در استخراج روغن با هیدرولیز دیواره سلولی، ترکیبات فنولی را آزاد کرده و اجزای زیست فعال روغن را افزایش می دهد. این فرایند با کاهش کمپلکس ترکیبات فنولی و

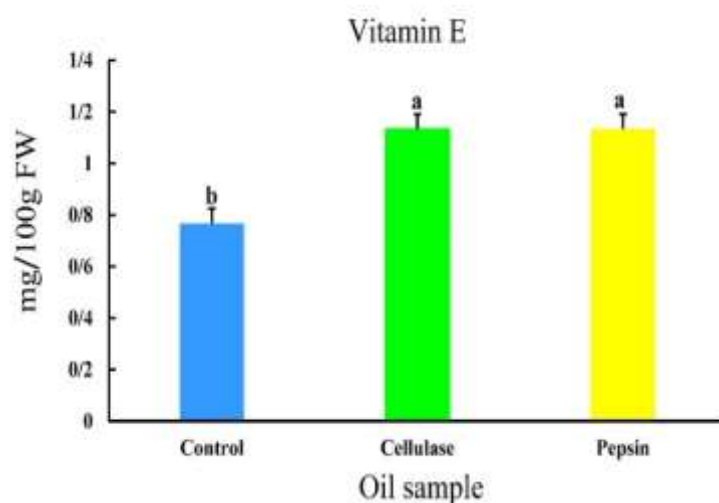


Figure 5. Vitamin E content of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

آنزیم پپسین با شکستن پیوندهای ویتامین E با پروتئین‌ها، موجب افزایش محتوای این ویتامین می شود [۳۴].

۳-۶ میزان تغییرات عدد صابونی

نتایج مقایسه‌ی عدد صابونی روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان عدد صابونی در روغن‌های کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل تفاوت معناداری یافت نشد، $p < 0.05$.

ویتامین E شامل توکوفرول‌ها و توکوترینول‌ها است که با خواص آنتی اکسیدانی خود از زوال اکسیداتیو جلوگیری کرده و روغن‌ها و چربی‌ها را تثبیت می کند [۳۳]. در فرآیند استخراج آنزیمی، هیدرولیز دیواره سلولی دانه‌ها منجر به آزادسازی بیشتر توکوفرول‌ها و ترکیبات فنولی شده و اجزای زیست فعال روغن را افزایش می دهد. این افزایش احتمالاً به دلیل کاهش کمپلکس ترکیبات زیست فعال با پلی ساکاریدهای دانه است که انتقال آن‌ها به فاز روغنی را تسهیل می کند [۳۰]. همچنین،

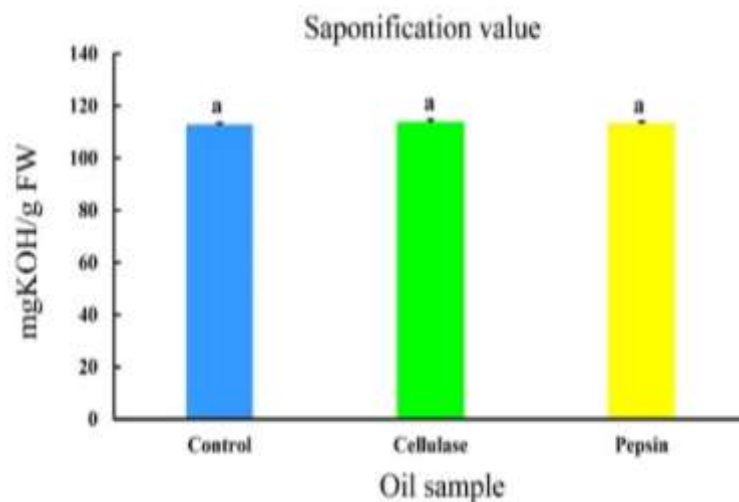


Figure 6. Saponification value of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

روغن‌های گروه اسید اولئیک-لینولئیک تقریباً یکسان است [۱۲]. روش استخراج آبی-آنزیمی با هیدرولیز دیواره سلولی و غشای اولتوزوم، روغن را آزاد می‌کند اما تغییری در ترکیب اسیدهای چرب و عدد صابونی ایجاد نمی‌کند [۳۷].

۳-۷ میزان تغییرات عدد اسیدی

نتایج مقایسه عدد اسیدی روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان عدد اسیدی در روغن‌های کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل تفاوت معناداری یافت نشد، $p < 0.05$

عدد صابونی یکی از شاخص‌های کلیدی در شناسایی روغن‌ها و چربی‌ها است که میانگین طول زنجیره اسیدهای چرب را تخمین می‌زند [۳۵]. این شاخص با طول زنجیره اسیدهای چرب رابطه معکوس دارد؛ کاهش عدد صابونی نشان‌دهنده افزایش طول زنجیره اسیدهای چرب است. اسیدهای چرب بلند زنجیر به دلیل جرم مولکولی بیشتر، تعداد مولکول‌های کمتری در هر گرم روغن دارند و به همین دلیل به قلیای کمتری برای صابونی شدن نیاز دارند [۳۶]. روش‌های مختلف استخراج تأثیر قابل توجهی بر عدد صابونی نداشتند، زیرا ترکیب اسیدهای چرب و طول زنجیره آن‌ها در

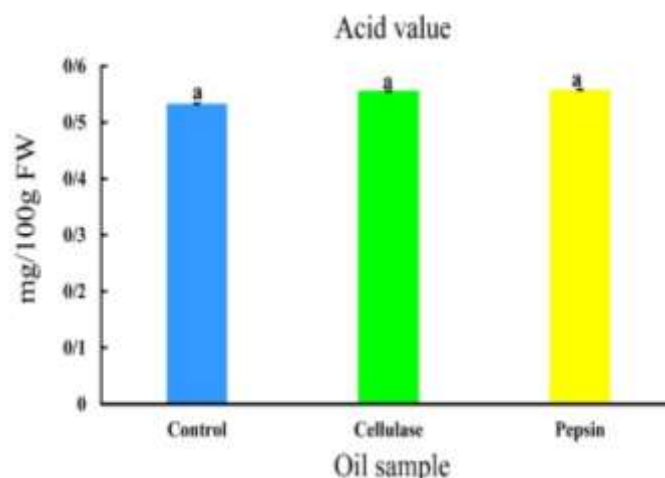


Figure 7. Acid value of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

روغن است [۳۸]. در این روش، زمان کوتاه و دمای پایین فرآیند برای هیدرولیز تری‌گلیسریدها به اجزای کوچک‌تر کافی نبوده و عدد اسیدی بدون تغییر باقی مانده است [۳۹].

۳-۸ میزان تغییرات عدد یدی

نتایج مقایسه‌ی عدد یدی روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان عددیدی در روغن‌های کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل تفاوت معناداری نداشتند، $p < 0.05$.

اسیدهای چرب آزاد از جمله ترکیبات فرعی روغن‌های خوراکی هستند که افزایش آن‌ها تأثیرات منفی متعددی بر کیفیت روغن، از جمله رایحه، ظاهر و پایداری، به همراه دارد. به همین دلیل، میزان این ترکیبات باید در محدوده استاندارد قرار گیرد. سطح پایین اسیدهای چرب آزاد نشان‌دهنده عدم وقوع واکنش‌های هیدرولیتیکی است که می‌توانند منجر به ترشیدگی و تخریب تری‌گلیسریدها شوند. روغن استخراج شده با آنزیم به دلیل محتوای پایین اسیدهای چرب آزاد و میانگین ۹۲.۱۱ درصد آسیل‌گلیسرول، گواهی بر کارایی بالای روش استخراج آنزیمی آبی در حفظ و ارتقای کیفیت

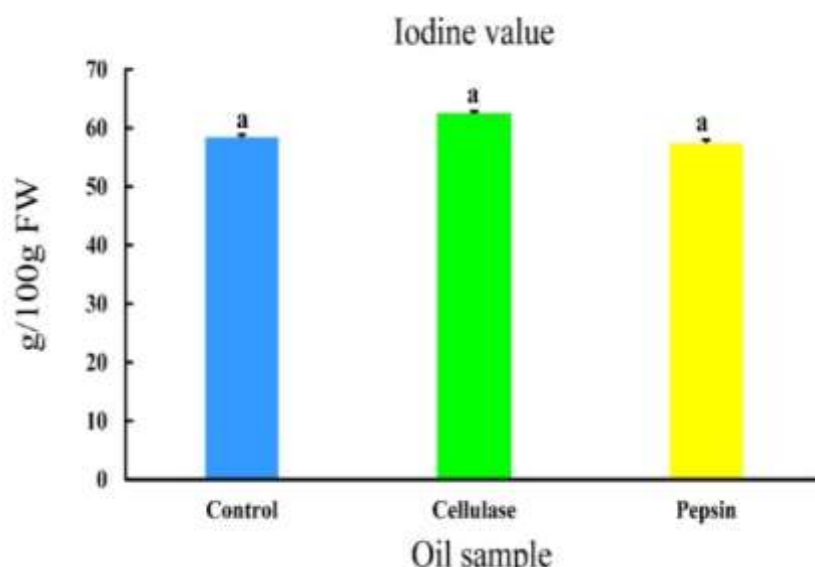


Figure 8. The Iodine value of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

کیفیت روغن‌ها استفاده می‌شود و تحت تأثیر روش‌های استخراج روغن قرار نمی‌گیرد [۱۲]. عدد یدی تنها به نوع دانه بستگی دارد [۴۱].

۳-۹ میزان تغییرات مواد غیر قابل صابونی

نتایج مقایسه‌ی مواد غیرقابل صابونی روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان مواد غیرقابل صابونی در روغن‌های کنجد استخراج شده با

عدد یدی شاخصی است برای اندازه‌گیری غیر اشباع بودن و تعداد پیوندهای دوگانه در چربی‌ها و روغن‌ها. کاهش عدد یدی نشان‌دهنده کاهش پیوندهای دوگانه و افزایش اکسیداسیون روغن است. این عدد اطلاعاتی درباره ساختار، ارزش تغذیه‌ای و پایداری روغن‌ها در برابر فساد اکسیداتیو ارائه می‌دهد. هرچه عدد یدی بالاتر باشد (غیر اشباع بودن بیشتر)، تمایل روغن به اکسید شدن نیز افزایش می‌یابد [۴۰]. عدد یدی معمولاً برای ارزیابی

آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل تفاوت معناداری یافت نشد، $p < 0/05$.

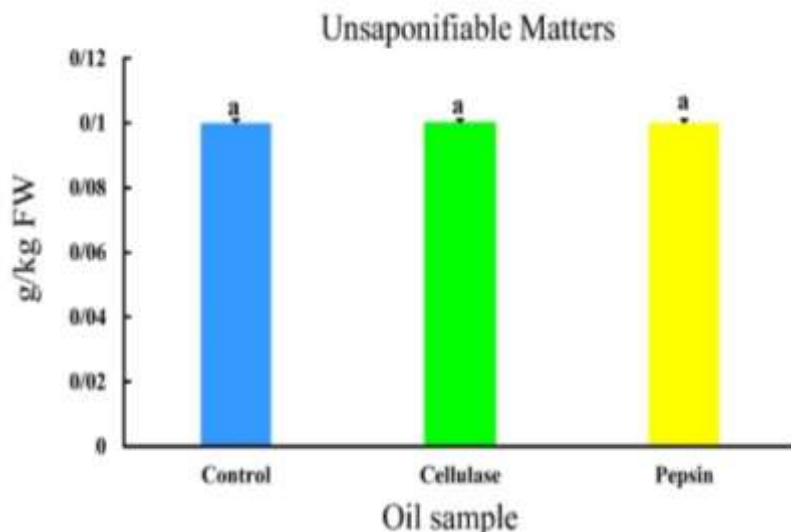


Figure 9. Unsaponifiable matter of extracted sesame oil
The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

نشد و این ترکیبات تحت تاثیر روش استخراج قرار نگرفتند. همچنین، ترکیب آنزیم‌ها و شرایط فرآیند در استخراج آبی-آنزیمی تأثیر چشمگیری بر میزان مواد غیرصابونی استخراج شده دارند [۱۲].

۳-۱۰ میزان تغییرات عدد پراکسید

نتایج مقایسه‌ی عدد پراکسید روغن کنجد استخراج شده با روش‌های مختلف نشان داد، میزان عدد پراکسید در روغن‌های کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه‌ی کنترل کاهش یافت، $p < 0/05$.

در فرآیند استخراج آنزیمی، واکنش‌هایی مانند هیدرولیز پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در دانه‌ها رخ می‌دهد که منجر به افزایش مواد غیرصابونی در روغن می‌شود [۴۲]. ترکیباتی همچون فنول‌ها، لیگنان‌ها، استرول‌ها، توکوفرول‌ها و هیدروکربن‌ها به عنوان مواد غیرصابونی شناخته شده و اهمیت زیادی در روغن دارند [۴۳]. در مطالعه‌ی انجام شده تفاوت معناداری در میزان مواد غیرصابونی استخراج شده با روش‌های مختلف مشاهده

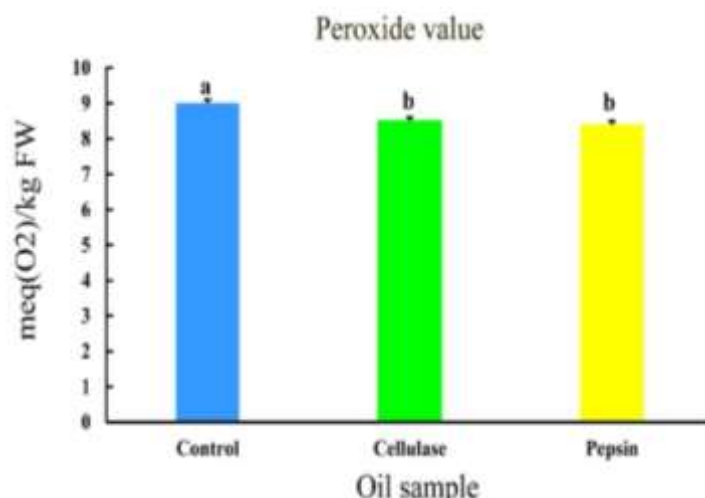


Figure 10. Peroxide value content of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

ظرفیت آنتی اکسیدانی روغن را افزایش داده و در نتیجه عدد پراکسید کاهش می یابد [۴۵]. علاوه بر این، استخراج آنزیمی با آنزیم سلولاز که دیواره سلولی را تخریب می کند، موجب آزادسازی بیشتر ترکیبات زیست فعال (مانند فنول ها، توکوفرول ها، کاروتن ها، زانتوفیل ها و کلروفیل ها) در فاز روغنی می شود که به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی خود، در کاهش عدد پراکسید مؤثرند [۳۰].

۳-۱۱ میزان تغییرات عدد آنزیدین

نتایج مقایسه ای عدد آنزیدین روغن کنجد استخراج شده با روش های مختلف نشان داد، میزان عدد آنزیدین در روغن های کنجد استخراج شده با آنزیم سلولاز و پپسین نسبت به نمونه ی کنترل کاهش یافت، $p < 0.05$.

عدد پراکسید نشان دهنده ترکیبات هیدروپراکسید حاصل از اکسیداسیون لیپیدهای خوراکی است و به عنوان معیاری برای ارزیابی کیفیت اولیه روغن استفاده می شود. روغن کنجد به طور طبیعی دارای عدد پراکسید پایین و پایداری اکسیداتیو بالاست. این ویژگی ناشی از حضور آنتی اکسیدان های طبیعی مانند سزامول و سزامولین و فعالیت آنتی اکسیدانی بالای آن است [۲۲]. روش استخراج آنزیمی با افزایش ترکیبات زیست فعال در روغن، پایداری اکسیداتیو را تقویت کرده و منجر به کاهش عدد پراکسید می شود. استفاده از دمای ملایم (40°C) در فرآیند استخراج نیز به حفظ پایداری روغن در برابر اکسیداسیون کمک می کند [۴۴]. آنزیم های پروتئازی با هیدرولیز پیوندهای پپتیدی پروتئین ها،

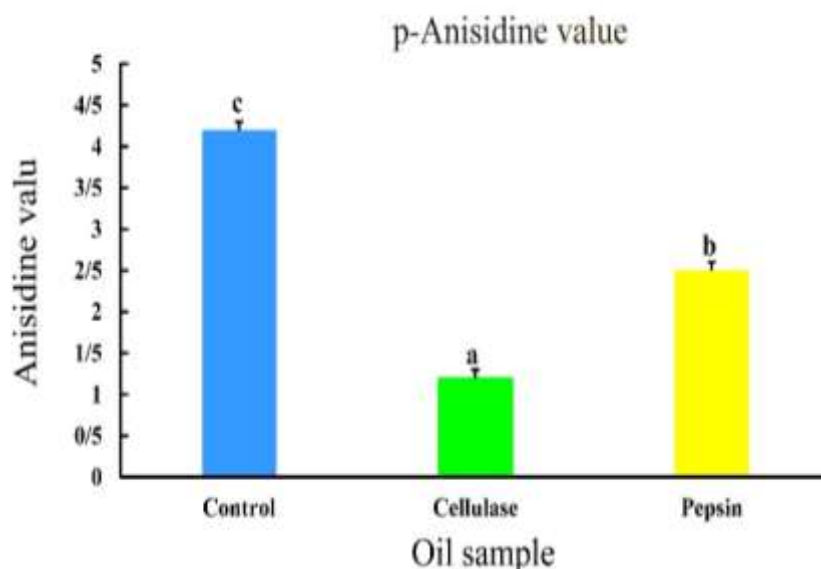


Figure 11. p-Anisidine value content of extracted sesame oil

The mentioned values are the average of 3 repetitions $\pm$ standard error. Similar letters indicate no significant difference between the means.

آنزیمی میزان ترکیبات فنولی را به دلیل تخریب ساختار دیواره ی سلولی افزایش می دهد. ترکیبات فنولی در روغن استخراج شده به روش آنزیمی به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند و باعث کاهش عدد آنزیدین می شوند. این روش به دلیل استخراج بیش تر ترکیبات

عدد آنزیدین شاخص مهم در کنترل و کیفیت روغن های خوراکی است و فساد ثانویه اکسیداسیون روغن را نشان می دهد. عدد آنزیدین میزان بو و مرحله ی اکسیداسیون روغن را نشان می دهد. کاهش عدد آنزیدین نشان دهنده ی میزان فساد اکسایشی کم و عدم تولید ترکیبات نامطبوع فساد می باشد [۶]. روش های استخراج

فنی و توکفرولی مقاومت روغن را به اکسایش افزایش می‌دهند [۱۲].

۴- جمع بندی

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از روش استخراج آبی-آنزیمی با بهره‌گیری از آنزیم‌های سلولاز و پپسین، تأثیر چشمگیری در بهبود بازده استخراج روغن کنجد و ارتقای شاخص‌های کیفی آن دارد. این روش نه تنها میزان استخراج روغن را افزایش می‌دهد، بلکه با حفظ ترکیبات اصلی موجود در روغن نظیر اسیدهای چرب ضروری، تأثیر مثبتی بر کیفیت محصول نهایی می‌گذارد. همچنین، پایداری اکسیداتیو روغن به شکل قابل توجهی بهبود یافته و ترکیبات زیست‌فعال همچون فنول‌های کل افزایش می‌یابد که این امر به تقویت ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ارزش تغذیه‌ای روغن کمک می‌کند. کاهش عدد آنیزیدین نیز نشان‌دهنده بهبود

۶- منابع

ویژگی‌های اکسیداتیو و کاهش میزان تخریب چربی‌ها در طول فرآیند استخراج است. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که روش آبی-آنزیمی، به‌ویژه با آنزیم‌های ذکرشده، می‌تواند به‌عنوان یک فناوری نوآورانه، کارآمد و سازگار با محیط زیست برای استخراج روغن کنجد با کیفیت بالا مورد استفاده قرار گیرد. این روش با کاهش نیاز به حلال‌های شیمیایی و حداقل‌سازی ضایعات زیست‌محیطی، نه تنها از منظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه است بلکه از دیدگاه زیست‌محیطی نیز قابل‌تحسین است.

۵- سپاس‌گزاری

نویسندگان مقاله حاضر مراتب قدردانی خود از دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی این کار پژوهشی اعلام می‌دارد.

- [1] Batool R, Batool T, Nisa FU, Khalid F, Asghar Z. 2024, Ethnobotanical, pharmacological, and therapeutic importance of sesame seeds along with their role in the biogenic synthesis of important chemicals. In: Therapeutic and Pharmacological Applications of Ethnobotany. IGI Global, 2024, p. 241–273.
- [2] El Hanafi L, Mssillou I, Nekhla H, Bessi A, Bakour M, Laaroussi H, et al. 2023, Effects of dehulling and roasting on the phytochemical composition and biological activities of *Sesamum indicum* L. seeds. J Chem, 2023, 2023:1–18.
- [3] Li M, Luo J, Nawaz MA, Stockmann R, Buckow R, Barrow C, et al. 2024, Phytochemistry, bioaccessibility, and bioactivities of sesame seeds: An overview. Food Rev Int, 2024, 40(1):309–35.
- [4] Pusadkar PP, Kokiladevi E, Bonde SV, Mohite NR. 2015, Sesame (*Sesamum indicum* L.) importance and its high quality seed oil: A review. Trends Biosci, 2015, 8(15):3900–6.
- [5] Abdiani N, Kolahi M, Javaherian M, Sabaiean M. 2024, Effect of storage conditions on nutritional value, oil content, and oil composition of sesame seeds. J Agric Food Res, 2024, 16:101117.
- [6] Shahidi F., 2005, Bailey's industrial oil and fat products, John Wiley & Sons, Champaign, USA, Vol. 6, pp. 1–500
- [7] Nigam D, Singh C, Tiwari U. 2015, Evaluation of in vitro study of antioxidant and antibacterial activities of methanolic seed extract of

- Sesamum indicum*. J Pharmacogn Phytochem, 2015, 3(5):88–92.
- [8] Yusoff MM, Gordon MH, Niranjan K. 2015, Aqueous enzyme-assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. Trends Food Sci Technol, 2015, 41(1):60–82.
- [9] Miron TL, Herrero M, Ibáñez E. 2013, Enrichment of antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis*) by pressurized liquid extraction and enzyme-assisted extraction. J Chromatogr A, 2013, 1288:1–9.
- [10] Nadar SS, Rao P, Rathod VK. 2018, Enzyme-assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. Food Res Int, 2018, 108:309–30.
- [11] Abdulkarim SM, Lai OM, Muhammad SKS, Long K, Ghazali HM. 2006, Use of enzymes to enhance oil recovery during aqueous extraction of *Moringa oleifera* seed oil. J Food Lipids, 2006, 13(2):113–30.
- [12] Tirgarian B, Farmani J, Milani JM. 2019, Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein hydrolysate from sesame seed. Food Meas, 2019, 13(3):2118–29.
- [13] Dravie EE, Kortei NK, Essuman EK, Tettey CO, Boakye AA, Hunkpe G. 2020, Antioxidant, phytochemical, and physicochemical properties of sesame seed (*Sesamum indicum* L.). Sci Afr, 2020, 8:e00349.
- [14] Brühl L. 1996, Official methods and recommended practices of the American Oil

- Chemist's Society: Physical and chemical characteristics of oils, fats and waxes. Section I. Champaign: AOCS Press, 1996, 1997.
- [15] Yuan X, Liu J, Zeng G, Shi J, Tong J, Huang G. 2008, Optimization of conversion of waste rapeseed oil with high FFA to biodiesel using response surface methodology. *Renew Energy*, 2008, 33(7):1678–84.
- [16] Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 1995, 28(1):25–30.
- [17] de Magalhães BEA, de Andrade Santana D, de Jesus Silva IM, Minho LAC, Gomes MA, da Silva Almeida JRG, et al. 2020, Determination of phenolic composition of oilseed whole flours by HPLC-DAD with evaluation using chemometric analyses. *Microchem J*, 2020, 155:104683.
- [18] Aguilar Urbano M, Pineda Priego M, Prieto P. 2013, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E1.
- [19] Ano AAR, Koffi EN, Kassi BB, Ocho-Anin Atchibri L. 2019, Effect of solvent and press extractions on physicochemical properties of oil extracted from *Dacryodes edulis* fruit. *Asian J Sci Technol*, 2019, 9(3):9559–64.
- [20] Chen Y, Fu Y, Li P, Xi H, Zhao W, Wang D, et al. 2022, Characterization of traditional Chinese sesame oil by using headspace solid-phase microextraction/gas chromatography–mass spectrometry, electronic nose, sensory evaluation, and RapidOxy. *Foods*, 2022, 11(22):3555.
- [21] Allay A, Benkirane C, Rbah Y, Moumen AB, Taaifi Y, Belhaj K, et al. 2024, Combined effect of protease, hemicellulase and pectinase on the quality of hemp seed oil (*Cannabis sativa* L.) obtained by aqueous enzymatic extraction as an eco-friendly method. *J Oleo Sci*, 2024, 73(7):963–76.
- [22] Abdehvand ZZ, Javaherian M, Kolahi M, Sabaeian M. 2025, Evaluation of the quality and phytochemical composition of sesame oil extracted using cellulase and pepsin enzymes. *Appl Food Res*, 2025, 5(2):101046.
- [23] Liu JunJun LJ, Gasmalla MAA, Li PengFei LP, Yang RuiJin YR. 2016, Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing, and application.
- [24] Mondal N, Bhat KV, Srivastava PS. 2010, Variation in fatty acid composition in Indian germplasm of sesame. *J Am Oil Chem Soc*, 2010, 87(11):1263–9.
- [25] Naghisharifi H, Kolahi M, Javaherian M, Zargar B. 2024, Oxidative stress is the active pathway in canola seed aging: the role of oxidative stress in the development of seedlings grown from aged canola seed. *Plant Stress*, 2024, 11:100313.
- [26] Juvvi P, Debnath S. 2020, Enzyme-assisted three-phase partitioning: An efficient alternative for oil extraction from sesame (*Sesamum indicum* L.). *Grasas Aceites*, 2020, 71(1):e346.
- [27] Lu X, Du H, Liu Y, Wang Y, Li D, Wang L. 2022, Effect of ultrasound-assisted solvent enzymatic extraction on fatty acid profiles, physicochemical properties, bioactive compounds, and antioxidant activity of *Elaeagnus mollis* oil. *Foods*, 2022, 11(3):359.
- [28] Zhuang Y, Dong J, He X, Wang J, Li C, Dong L, et al. 2022, Impact of heating temperature and fatty acid type on the formation of lipid oxidation products during thermal processing. *Front Nutr*, 2022, 9:913297.
- [29] Wang Y, Wang Z, Cheng S, Han F. 2008, Aqueous enzymatic extraction of oil and protein hydrolysates from peanut. *Food Sci Technol Res*, 2008, 14(6):533–7.
- [30] Latif S, Anwar F. 2009, Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality. *J Am Oil Chem Soc*, 2009, 86(4):393–400.
- [31] Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldivar SO. 2020, Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: Impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. *Sci World J*, 2020, 2020:6792069.
- [32] Latif S, Anwar F. 2011, Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chem*, 2011, 125(2):679–84.
- [33] Hamid F, Kamarudin H. 2017, The quality of oil extracted from palm pressed fibre using aqueous enzymatic treatment. *J Oil Palm Res*, 2017, 29(4):588–93.
- [34] Olatidoye OP. 2021, Effect of temperature and time combinations on colour characteristics, mineral and vitamin content of raw and roasted cashew kernel. *J Food Process Technol*, 2021, 12:554.
- [35] Hasenhuettl GL, Hartel RW., 2019, Food emulsifiers and their applications, Springer International Publishing, Cham, Switzerland, pp. 1–600
- [36] Pike OA, O'Keefe S. 2017, Fat characterization. In: Nielsen SS, editor. Food analysis. Cham: Springer International Publishing, 2017, p. 407–29.
- [37] Ribeiro SAO, Nicacio AE, Zانqui AB, Biondo PBF, de Abreu-Filho BA, Visentainer JV, et al. 2016, Improvements in the quality of sesame oil obtained by a green extraction method using enzymes. *LWT Food Sci Technol*, 2016, 65:464–70.
- [38] Shahidi F., 2005, Quality assurance of fats and oils, Wiley, Champaign, USA, pp. 1–300
- [39] De Aquino DS, Roders C, Vessoni AM, Stevanato N, Da Silva C. 2022, Assessment of obtaining sunflower oil from enzymatic aqueous extraction using protease enzymes. *Grasas Aceites*, 2022, 73(1):e452.

- [40] Chebet J, Kinyanjui T, Cheplogoi PK. 2016, Impact of frying on iodine value of vegetable oils before and after deep frying in different types of food in Kenya. *J Sci Innov Res*, 2016, 5(5):193–6.
- [41] Najafian L, Ghodsvai A, Khodaparast MH, Diosady LL. 2009, Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. *Food Res Int*, 2009, 42(1):171–5.
- [42] Puangsri T, Abdulkarim SM, Ghazali HM. 2005, Properties of Carica papaya L. (papaya) seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods. *J Food Lipids*, 2005, 12(1):62–76.
- [43] Mastaghi A, Yasaman Q, Gharachorlu. 2020, Evaluation of Chemical Properties of Oil Extracted from Three Chia Seed Varieties. *Food Science and Nutrition*, 18(Winter 99). (In Persian).
- [44] Shabani J, Jila R, Vanak P, Gholami. 2019, Comparative Study of Oxidative Stability, Peroxide Value, Iodine Number, and Antioxidant Activity of Synthetic Antioxidants Extracted from Edible Oils. *Innovations in Food Science and Technology*, 11(4). (In Persian)
- [45] Wang F, Zhang S, Deng G, Xu K, Xu H, Liu J. 2022, Extracting total anthocyanin from purple sweet potato using an effective ultrasound-assisted compound enzymatic extraction technology. *Molecules*, 2022, 27(14):4344.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the Effect of Aqueous-Enzymatic Extraction Using Cellulase and Pepsin Enzymes on Phytochemical Compounds and Physicochemical Properties of Sesame Oil

Zeinab Zaheri Abdovand¹, Mohammad Javaheriyani², Maryam Kolahi^{*3}, Mohammad Sabaeian⁴

- 1- Master's student in the Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 2- Associate Professor of Chemistry Department, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 3- 3.Associate Professor of Biology Department, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 4- Professor of Physics Department, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 5- Centre for Research on Laser and Plasma, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2025/1/19

Accepted: 2025/5/6

Keywords:

Aqueous-enzymatic extraction,

Cellulase,

Oil,

Pepsin,

Sesame.

DOI: 10.22034/FSCT.22.166.142.

*Corresponding Author E-

salvia20us@yahoo.com

Sesame (*Sesamum indicum* L.) is highly valued both nutritionally and industrially due to its rich phytochemical composition, including lignans and unsaturated fatty acids. This study investigated the impact of aqueous-enzymatic extraction using cellulase and pepsin enzymes on sesame oil extraction yield and quality parameters. Results indicated that the application of cellulase and pepsin enzymes not only enhanced the extraction yield but also improved bioactive compounds such as total phenols, vitamin E, and antioxidant capacity. Quality indices, including acid value, saponification value, and unsaponifiable matter, showed no significant changes and remained within standard ranges. The iodine value also remained unchanged, reflecting the preservation of key fatty acids like oleic acid, linoleic acid, and palmitic acid. This stability was attributed to the gentle aqueous-enzymatic method, which prevents compound degradation. Furthermore, the peroxide value decreased to 8 milliequivalents per kilogram, indicating improved oxidative stability of the oil. Unsaponifiable compounds showed a significant increase, contributing to the overall enhancement of oil quality. Additionally, the anisidine value, a marker of secondary oil oxidation, was reduced, signaling diminished primary oxidation and improved oil stability. These findings confirm that the aqueous-enzymatic method can be a green, efficient, and environmentally friendly approach for sesame oil extraction.