

استخراج روغن از سه رقم زیتون با استفاده از فرآیند آنزیمی

لیلا نجفیان^{۱*}، محمد حسین حدادخداپرست^۲، علیرضا قدس ولی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار پژوهش صنایع غذایی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان

چکیده

در این تحقیق تأثیر وارپته زیتون (کرونایکی، روغنی محلی ایران و میشن) و غلظت آنزیم (غلظت صفر، ۰/۰۲ و ۰/۰۴) روی میزان راندمان استخراج، اسیدیته، عدد پراکسید، عدد دیدی، کدورت، شاخص رنگ و میزان پلی فنل کل روغن استحصالی در آزمایشات فاکتوریل ۳×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تأثیر وارپته روی کلیه فاکتورهای مورد بررسی معنی دار (p<۰/۰۱) بود. اثر غلظت آنزیم روی راندمان استخراج روغن، رنگ، کدورت و پلی فنل کل اختلاف معنی دار (p<۰/۰۱) نشان داد در حالیکه تأثیر معنی داری (p<۰/۰۵) روی اسیدیته، عدد پراکسید و عدد یدی مشاهده نگردید. میزان رنگ و ترکیبات فنلی روغن‌های استخراج شده به روش آنزیمی - آبی نسبت به شاهد آزمایش با اختلاف معنی دار (p<۰/۰۱) به ترتیب افزایشی معادل ۶۲/۲ تا ۱۳/۹ و ۷۲/۶ درصد را نشان داد. میزان کدورت با اختلاف معنی دار (p<۰/۰۱) کاهش معادل ۶۷/۴ تا ۲۹/۶ درصد داشت. همچنین در میزان راندمان استخراج روغن با اختلاف معنی دار (p<۰/۰۱) نسبت به شاهد افزایشی معادل ۲/۴ تا ۱/۳ درصد مشاهده گردید. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که استفاده از پیش تیمار آنزیمی سبب افزایش راندمان استخراج روغن و بهبود کیفیت روغن استحصالی از زیتون می‌گردد و می‌توان از آن به عنوان یک کمک فرآیند در صنایع روغن‌کشی زیتون بهره برد.

کلیدواژگان: روغن زیتون، کمک فرآیند آنزیمی، راندمان استخراج، کیفیت روغن

۱- مقدمه

مناسب آغاز شده است از جمله طرح توسعه کشت زیتون در نواحی پرخوردار، که استان گلستان با توجه به دارا بودن جمیع شرایط خصوصاً اقلیم مناسب، وجود مجموعه ارقام بومی و خارجی و اراضی شیب دار نقش محوری را داراست [۳]. از جمله کارهای دیگری که در این زمینه می‌توان انجام داد، بهینه‌سازی فرآیند استخراج روغن یا به کارگیری فن‌آوری‌های جدید و کارآتر در صنایع روغن‌کشی می‌باشد که راه‌های مختلفی در این زمینه وجود دارد که یکی از این راه‌ها استفاده از پیش تیمار آنزیمی می‌باشد. در سال‌های اخیر، کاربرد آنزیم در صنایع روغن‌کشی به دلیل مزایایی که کاتالیزورهای بیولوژیکی دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است این آنزیم‌ها اختصاصی بوده و در درجه حرارت‌های نسبتاً پایین واکنش‌های مربوطه را کاتالیز می‌نمایند و با تخریب دیواره سلولی موجب بهبود بازده و کیفیت روغن استحصالی می‌گردند [۳]. آنزیم مورد استفاده بر

میوه زیتون به خاطر دارا بودن خواص غذایی مفید، مصارف بهداشتی، دارویی و صنعتی از دیرباز همواره مورد توجه بشر قرار داشته است. روند تولید دانه‌های روغنی در دنیا به ویژه در دهه اخیر از رشد بالایی برخوردار بوده است. در صورتی که کشور ما با وجود نیاز مبرم به این ماده غذایی نقش چندانی در این توسعه نداشته است و سالیانه مقادیر زیادی از روغن مورد نیاز خود را (حدود ۹۰ درصد) وارد می‌نماید. درخت زیتون با نام علمی *Olea europea* گیاهی است همیشه سبز، بومی نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیر که در صورت وجود ۳۰۰ میلی متر بارندگی، کشت دیم آن نیز امکان پذیر می‌باشد. ارزش روغن زیتون نه تنها به خاطر طبیعی بودن، بلکه به دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع خصوصاً اسید اولئیک در آن است [۲ و ۱]. با توجه به ارزش درخت زیتون و میوه آن، به منظور توسعه سطح زیرکشت این محصول اقدامات گسترده‌ای برای شناسایی اقلیم

* مسنول مکاتبات: najafian_5828@yahoo.com

هگزان، کلروفرم، متانل، معرف چسب نشاسته، کربنات کلسیم، معرف فولین سیو کالتو، معرف هانوس، ید و فنل فتالین می باشند.

۲-۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- استخراج روغن

۱- نمونه برداری، ابتدا درختان ارقام میشن، کرونایکی و روغنی در فصل بهار در باغات مورد نظر، انتخاب و علامت گذاری شدند و این درختان مرتباً بازدید و درجه رسیدگی میوه زیتون تا زمان بهینه برداشت کنترل گردیدند و در فصل پاییز برداشت شدند. ۲- آسیاب کردن (تهیه خمیر)، میوه ها پس از برداشت دستی، برگ ها و سایر مواد زائد کاملاً جدا گردیدند و شستشو شدند و سپس توسط دستگاه آسیاب به همراه هسته خوب خرد شده و خمیر همگنی تهیه شد و در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد به صورت منجمد تا زمان آزمایش نگهداری گردید [۴]. ۳- افزودن آنزیم، ۲۵۰ گرم خمیر زیتون را در یک بشر ۵۰۰ میلی لیتر وزن نمودیم بشر را در حمام بخار قرار داده تا دمای خمیر به دمای مناسب فعالیت آنزیم (۳۵ درجه سانتی گراد) برسد، سپس بر اساس تیمار های مورد نظر در آزمایش، آنزیم را به خمیر زیتون اضافه می کنیم. نمونه شاهد نیز به وسیله توزین ۲۵۰ گرم نمونه در یک بشر ۵۰۰ میلی لیتر آماده شد و کلیه مراحل استخراج روغن بدون تزییق آنزیم بر روی آن انجام گردید [۴ و ۵]. ۴- مالش دادن (مالاکسیون)، خمیر پس از افزودن آنزیم به مدت ۶۰ دقیقه با همزنی با ۸۰ دور در دقیقه مالش داده شد [۴]. ۵- سانتریفوژ خمیر، خمیر زیتون پس از مالش دادن به مدت ۲۰ دقیقه با ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید که سه فاز روغنی، آب گیاه و تفاله خواهیم داشت [۷]. ۶- جداسازی فاز روغنی، فاز روغنی و آبی از تفاله جدا شده و با حلال هگزان مخلوط می گردد تا جداسازی فاز روغنی از فاز آبی راحت تر گردد که فاز روغنی و هگزان توسط دکانتور جدا و هگزان در آون ۵۰ درجه سانتی گراد تبخیر و روغن باقیمانده جهت آزمایش نگهداری شد.

۲-۲-۲- تجزیه های شیمیایی

تعیین میزان رطوبت طبق روش AOCS [۸].

تعیین میزان روغن محتوی طبق روش AOCS [۸].

تعیین راندمان استخراج روغن طبق رابطه زیر:

اساس ساختار دیواره سلولی تعیین می گردند و کمپلکس آنزیمی مورد استفاده در استخراج روغن زیتون حاوی پکتیناز و آنزیم های سلولولیتیک و همی سلولولیتیک به اضافه برخی آنزیم های کم اهمیت تر در این زمینه می باشد [۵ و ۶]. این آنزیم ها در میوه زیتون نیز وجود دارند ولی مقادیر قابل توجهی از آنها در طی فرآیندهای معمول استخراج ناپود می گردند. بنابراین اضافه نمودن چنین سیستم آنزیمی به خمیر زیتون موجب ترمیم و حتی افزایش میزان آنزیم های طبیعی آن می شود. عملکرد کمپلکس آنزیمی سبب می شود که میزان زیادی از بخش روغنی سیتوپلاسم که با کلوئیدها تشکیل امولسیون می دهد، توسط عمل آنزیم ها آزاد می شود بنابراین درصد استخراج روغن افزایش می یابد، همچنین امولسیون روغن-آب برداشته شده و این روغن وارد بخش آبی گیاه نشده و به هدر نمی رود [۵ و ۶]. از مزایای دیگر این آنزیم ها محلول بودن آن در آب است به عبارت دیگر تمامی آنزیم مورد استفاده در پایان عملیات روغن کشی به داخل بخش آبی گیاه راه پیدا کرده و باقیمانده ای در روغن نخواهد داشت [۵]. هدف از این تحقیق بررسی افزایش میزان استخراج روغن از زیتون و خصوصیات کیفی روغن استخراج شده از ارقام آزمایش با استفاده از کمک فرایند آنزیمی می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

سه واریته زیتون کرونایکی، روغنی محلی ایران و میشن که از باغ مجتمع کشاورزی مینودشت و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان برداشت شد.

آنزیم پکتینکس اولترا اس پی-ال^۱ که توسط سویه انتخابی *Aspergillus aculeatus* تهیه شده است که این آنزیم ساخت شرکت Novo Nordisk دانمارک می باشد و دارای فعالیت پکتولیتیکی، همی سلولولیتیکی و سلولولیتیکی و دیگر فعالیت های جانبی می باشد و دمای مناسب فعالیت آن ۳۵ درجه سانتی گراد است. غلظت های مورد استفاده در این تحقیق ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد (حجمی-وزنی) بوده است [۶].

مواد شیمیایی استاندارد مورد نیاز که شامل یدور پتاسیم، اسید استیک، هیپو سولفیت سدیم، تتراکلرید کربن،

1. Pectinex Ultra SP-L

دقیقه ۱ میلی لیتر محلول سدیم کربنات اشباع (۳۵ درصد) اضافه شد و با آب مقطر به حجم رسانده پس از یک ساعت در طول موج ۷۲۵ نانومتر در برابر شاهد اندازه گیری شد. غلظت پلی فنل کل بر حسب کافئیک اسید در محدوده $100 \mu\text{g}/10 \text{ ml}$ -۱۰۰ محاسبه گردید [۱۱].

تعیین اسید های چرب ارقام آزمایش این آزمون مطابق استاندارد ۴۹۰۶ انجام شد [۱۲]. توسط دستگاه Shmadzu GC-17A با طول ستون ۶۰ متر و جنس سلیکاژل و با دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی گراد و دمای تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات شیمیایی ارقام زیتون آزمایش

جدول ۳-۱ ترکیبات شیمیایی ارقام زیتون آزمایش a

رقم زیتون	روغن (درصد)	رطوبت (درصد)	ماده جامد زیتون (درصد)
کرونا یکی	24.3 ± 0.50	52.5 ± 2.29	23.2 ± 2.76
روغنی	16.2 ± 0.34	63.8 ± 0.51	20 ± 0.85
میشن	13.1 ± 0.29	70.2 ± 0.45	16.7 ± 0.57

a: نتایج عبارت است از: میانگین ۳ تکرار \pm SD

۳-۲- پروفیل اسید های چرب ارقام زیتون آزمایش

ترکیب اسید های چرب انواع روغن زیتون با یکدیگر متفاوت و بستگی به موقعیت جغرافیایی، آب و هوا، نوع، گونه و میزان رسیدگی زیتون ها در موقع برداشت دارد [۱۳].

همانطور که در جدول ۳-۲ نشان داده شده است روغن زیتون سرشار از اسید های چرب اشباع نشده (اسید اولئیک) C_{18} می باشد که میزان آن در ارقام مختلف $79.2-57.7$ درصد قرار دارد.

۳-۳- خصوصیات کمی و کیفی روغن های تهیه شده از

تیمارهای آزمایش

۳-۳-۱- پلی فنل کل

ارقام زیتون مورد بررسی از نظر میزان پلی فنل کل اختلاف معنی دار ($P < 0.01$) داشتند. رقم روغنی به طور متوسط با $334/778$ و کرونا یکی با $255/111$ میلی گرم بر کیلو گرم بر حسب اسید کافئیک به ترتیب بیشینه و کمینه بودند (جدول ۳-۳).

$100 \times (\text{درصد روغن خمیر}) / (\text{درصد روغن تفاله} - \text{درصد روغن خمیر}) = \text{راندمان}$

عدد یدی طبق دستور العمل ۱۳-۱-۴۱ (AOAC) و از روش هانوس تعیین گردید [۹].

عدد پراکسید طبق دستور العمل ۱۶-۱-۴۱ (AOAC) تعیین گردید [۹].

اسیدیته طبق دستور العمل ۲۱-۱-۴۱ (AOAC) تعیین شد [۴].

اندازه گیری رنگ طبق روش AOCS و بدین صورت که

برای سنجش رنگ که اغلب مخلوطی از رنگ های قرمز و زرد است از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. برای این منظور دانسیته اپتیک روغن را در طول موج های ۶۷۰ و ۴۸۴ و ۴۵۴ و ۴۳۰ نانومتر اندازه گیری و سپس از رابطه زیر بر حسب رنگ زرد لایویناند مقدار رنگ اندازه گیری گردید. جذب در نواحی ۴۳۰، ۴۵۴، ۴۸۴ بر اساس رنگ زرد زیتون ناشی از کاروتنوئیدها بوده و در ۶۷۰ نانومتر در رابطه با پیگمان هایی نظیر کلروفیل می باشد [۱۰].

$$C = 1/29 A_{430} + 69/7 A_{454} + 41/2 A_{484} - 56/4 A_{670}$$

تذکر: جهت اندازه گیری دقیق تر، نمونه ها توسط تتراکلرید کربن ۱۰ مرتبه رقیق شده اند.

تعیین کدورت طبق روش AOCS و بدین صورت که مقدار موم در روغن در این روش با استفاده از تعیین کدورت روغن در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد بر حسب $(T_1)NTU$ و کسر آن کدورت در ۵/۵ درجه سانتی گراد (T_2) بعد از گذشت یک ساعت به کمک منحنی استاندارد بدست می آید [۴].

$$\text{ppm} = 33/33 \times (T_2 - T_1)$$

تعیین پلی فنل کل طبق روش AOCS و بدین صورت که ۱۰ گرم روغن در ۵۰ میلی لیتر هگزان حل شد و سه بار با حجم های ۲۰ میلی لیتر متانل ۶۰ درصد در آب استخراج گردید. در هر بار استخراج، مخلوط ۲ دقیقه، تکان داده شد. عصاره های الکلی به هم افزوده و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در دستگاه اواپراتور دوار تحت خلاء تبخیر گردید. باقیمانده در ۱ میلی لیتر متانل حل و در ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. $0.4 - 0.1$ میلی لیتر از عصاره الکلی در بالن ژوژه ده میلی لیتری ریخته شد به آن ۵ میلی لیتر آب مقطر و 0.5 میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰) افزوده گردید. پس از ۳

با توجه به مقایسه داده ها تاثیر غلظت آنزیم روی میزان پلی فنل کل معنی دار ($P < 0.01$) بود چنانکه با اعمال سطوح غلظت (غلظت ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد) به ترتیب و به طور متوسط افزایش معادل ۴۲/۹ و ۳۴/۶ درصد نسبت به شاهد مشاهده گردید (جدول ۳-۴).

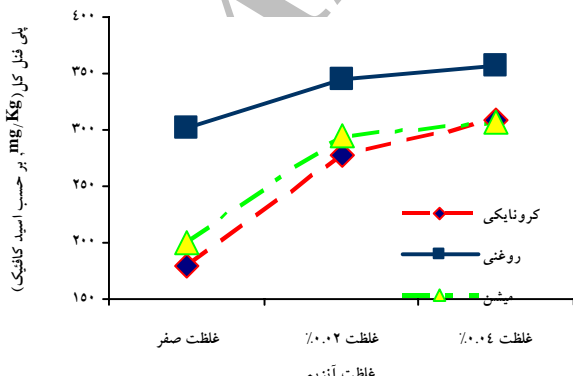
جدول ۳-۴ مقایسه میانگین (آزمون دانکن $P < 0.05$)

خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر غلظت آنزیم

منابع تغییر (غلظت)	صفر (شاهد)	۰/۰۲ درصد	۰/۰۴ درصد
اسیدیته (درصد، بر حسب اسید اولئیک)	۰/۳۱۳ ^a	۰/۳۱۳ ^a	۰/۳۱۲ ^a
عدد پر اکسید (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم)	۲/۱۷۸ ^a	۲/۱۶۷ ^a	۲/۲۱۱ ^a
عدد یدی (روش هانوس)	۸۷/۴۱۰ ^a	۸۷/۳۸۱ ^a	۸۷/۳۹۵ ^a
شاخص رنگ	۷/۳۲۲ ^c	۸/۹۲۸ ^b	۹/۴۱۷ ^a
کدورت (واحد نفلومتری)	۵۲/۵۸۲ ^a	۳۰/۹۱۷ ^b	۱۹/۶۲۴ ^c
پلی فنل کل (mg/kg) بر حسب اسید کافئیک)	۲۲۷/۰۰۰ ^c	۳۰۵/۶۶۷ ^b	۳۲۴/۴۴۴ ^a
راندمان استخراج (درصد)	۶۶/۲۲۲ ^b	۶۸/۰۵۶ ^a	۶۸/۱۸۹ ^a

اختلاف معنی دار آماری بین میانگین های با حروف یکسان وجود ندارد

نتایج این تحقیق نشان داد که اثر متقابل رقم x غلظت آنزیم بر پلی فنل کل معنی دار ($p < 0.01$) بود و بیشینه میزان ترکیبات فنلی مربوط به تیمار اعمال غلظت آنزیمی ۰/۰۴ درصد (حجمی - وزنی) روی زیتون رقم کرونا یکی بود.



شکل ۳-۱ تاثیر رقم زیتون و غلظت آنزیم بر پلی فنل کل

جدول ۳-۲ ترکیب اسید چرب روغن زیتون استخراج شده از

ارقام آزمایش

اسید	اتم	کرونا یکی	روغنی	میشن	تعیین کننده %
پالمیتیک	C _{16:0}	۱۲/۲	۱۹/۸	۱۷	۲۰-۷/۵
پالمیتولئیک	C _{16:1}	۰/۷	۳/۵	۱/۸	۳-۵/۰
هپتادکانوئیک	C _{17:0}	۰/۰۴	۰/۰۶	۰/۰۴	۰-۰/۳
استئاریک	C _{18:0}	۲/۷	۲/۵	۱/۹	۵-۵/۰
اولئیک	C _{18:1}	۷۹/۲	۶۰/۶	۵۷/۷	۵۵-۸۳
لینولئیک	C _{18:2}	۵/۶	۲۰/۸	۱۸/۷	۲۱-۳/۵
لینولئیک	C _{18:3}	۰/۴	۰/۵	۰/۳	۰-۰/۹
آراشیدیک	C _{20:0}	۰/۵	۰/۵	۰/۶	۰-۰/۶
ایکوزونوئیک	C _{20:1}	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۲۴	۰-۰/۴
بهنیک	C _{22:0}	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۰۸	۰-۰/۲
لیگنوسریک	C _{24:0}	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۴	۰-۰/۲

* استاندارد شماره ۱۴۴۶ ایران

جدول ۳-۳ مقایسه میانگین (آزمون دانکن $P < 0.05$)

خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر رقم زیتون

منابع تغییر (رقم)	کرونا یکی	روغنی	میشن
اسیدیته (درصد، بر حسب اسید اولئیک)	۰/۲۴۳ ^c	۰/۲۶۰ ^b	۰/۲۳۳ ^a
عدد پر اکسید (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم)	۱/۳۱۱ ^c	۲/۲۱۱ ^b	۳/۰۳۳ ^a
عدد یدی (روش هانوس)	۸۰/۴۷۲ ^c	۹۰/۷۱۴ ^b	۹۱/۰۰۰ ^a
شاخص رنگ	۱۴/۹۶۷ ^a	۶/۱۷۸ ^b	۴/۵۲۲ ^c
کدورت (واحد نفلومتری)	۳۸/۱۴۲ ^a	۳۲/۳۹۸ ^b	۳۲/۵۸۲ ^b
پلی فنل کل (mg/kg) بر حسب اسید کافئیک)	۲۵۵/۱۱۱ ^c	۳۳۴/۷۷۸ ^a	۲۶۲/۲۲۲ ^b
راندمان استخراج (درصد)	۷۱/۲۵۶ ^a	۶۷/۳۸۹ ^b	۶۳/۸۲۲ ^c

اختلاف معنی دار آماری بین میانگین های با حروف یکسان وجود ندارد.

تعلق داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تاثیر سطوح غلظت آنزیم بر میزان کدورت معنی دار ($P < 0.01$) بود چنانکه بر طبق جدول ۳-۴ با اعمال غلظت های ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد آنزیمی به ترتیب به طور متوسط کاهش معادل ۱/۱ و ۶۲/۷ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد. با توجه به تجزیه واریانس نتایج تاثیر تیمار رقم X غلظت آنزیم روی میزان کدورت روغن استحصالی معنی دار ($P < 0.01$) بود، چنانکه میزان کدورت کاهش بین ۶۷/۴-۲۹/۶ درصد نسبت به شاهد نشان داد که رقم روغنی با غلظت ۰/۰۴ درصد و رقم میشن با غلظت ۰/۰۲ درصد به ترتیب بیشینه و کمینه بودند (جدول ۳-۵). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که در سه رقم کراتینا، دریتا و لسینو در اثر افزودن آنزیم سبب کاهشی معادل ۴۴/۱۲، ۶۱/۷ و ۱۷/۰ درصد

طبق تحقیقات دیگری که بر روی سه رقم کراتینا، دریتا و لسینو انجام گردید افزودن آنزیم به ترتیب ۶/۵، ۶۰/۶ و ۲۹/۸ درصد سبب افزایش در میزان پلی فنل های روغن شد [۴]. مطالعات نشان داده‌اند که اضافه کردن آنزیم های تجزیه کننده دیواره سلولی تشکیل کمپلکس بین ترکیبات فنلی و پلی ساکاریدها را کاهش داده و لذا غلظت فنل های آزاد در خمیرها و آزاد شدن آنها را در روغن و بخش آبی گیاه در حین فرآوری بهبود می بخشد [۱۵ و ۱۴].

۳-۲-۳- کدورت

در این تحقیق اثر تیمار رقم روی میزان کدورت روغن های استحصالی آزمایش معنی دار ($P < 0.01$) بود و بالاترین میزان کدورت به رقم کرونا یکی به طور متوسط با ۳۸/۱ واحد نفلومتری

جدول ۳-۵ مقایسه میانگین (آزمون دانکن $P < 0.05$) داده‌ها تحت تاثیر رقم X غلظت آنزیم

منابع تغییر	اسیدیتته (درصد، بر حسب اسید اولئیک)	عدد پر اکسید (میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم)	عدد یدی (روشن هانوس)	شاخص رنگ	کدورت (واحد نفلومتری)	پلی فنل کل (میلی گرم بر کیلوگرم بر حسب اسید کافئیک)	راندمان استخراج (درصد)
کرونا یکی							
آنزیم پکتینکس							
غلظت صفر (شاهد)	۰/۲۴۷ ^{de}	۱/۳۶۷ ^e	۸۰/۴۰۰ ^c	۱۲/۹۰۰ ^b	۵۹/۹۹۳ ^a	۱۷۹/۰۰۰ ^h	۶۹/۷۰۰ ^c
غلظت ۰/۰۲ درصد	۰/۲۴۳ ^e	۱/۳۰۰ ^f	۸۰/۴۹۰ ^c	۱۵/۸۵۰ ^a	۳۳/۸۸۳ ^h	۲۷۷/۳۳۳ ^f	۷۱/۹۳۳ ^b
غلظت ۰/۰۴ درصد	۰/۲۴۰ ^{de}	۱/۲۶۷ ^f	۸۰/۵۲۷ ^c	۱۶/۱۵۰ ^a	۲۰/۵۵۰ ^d	۳۰۹/۰۰۰ ^c	۷۲/۱۳۳ ^a
روغنی							
آنزیم پکتینکس							
غلظت صفر (شاهد)	۰/۲۶۰ ^{bc}	۲/۱۶۷ ^d	۹۰/۷۷۳ ^b	۵/۶۳۳ ^d	۵۲/۷۷۳ ^b	۳۰۲/۳۳۳ ^d	۶۶/۰۶۷ ^f
غلظت ۰/۰۲ درصد	۰/۲۵۳ ^{cd}	۲/۲۰۰ ^d	۹۰/۷۰۳ ^b	۶/۳۶۷ ^e	۲۷/۲۰۷ ^f	۳۴۴/۳۳۳ ^b	۶۷/۰۰۰ ^e
غلظت ۰/۰۴ درصد	۰/۲۶۷ ^b	۲/۲۶۷ ^c	۹۰/۶۶۷ ^d	۶/۵۳۳ ^e	۱۷/۲۱۷ ⁱ	۳۵۷/۶۶۷ ^a	۶۸/۱۰۰ ^d
میشن							
آنزیم پکتینکس							
غلظت صفر (شاهد)	۰/۴۳۳ ^a	۳/۰۰۰ ^b	۹۱/۰۵۷ ^a	۳/۴۳۳ ^f	۴۴/۹۸۰ ^c	۱۹۹/۶۶۷ ^g	۶۲/۹۰۰ ⁱ
غلظت ۰/۰۲ درصد	۰/۴۳۷ ^a	۳/۰۰۰ ^b	۹۰/۹۳۳ ^a	۴/۵۶۷ ^e	۳۱/۶۶۰ ^e	۲۹۵/۳۳۳ ^e	۶۴/۲۳۳ ^h
غلظت ۰/۰۴ درصد	۰/۴۳۰ ^a	۳/۱۰۰ ^a	۹۰/۹۵۰ ^a	۵/۵۶۷ ^d	۲۱/۱۰۷ ^g	۳۰۶/۶۶۷ ^{cd}	۶۴/۳۳۳ ^g

در این تحقیق اثر متقابل رقم \times غلظت آنزیم در نمونه های مورد مطالعه تاثیر معنی دار ($P < 0/05$) روی شاخص رنگ داشت (جدول ۳-۵) چنانکه شاخص رنگ افزایش بین ۶۲/۲-۱۳ درصد نشان داد رقم روغنی با غلظت ۰/۰۲، کمینه و رقم میشن با غلظت ۰/۰۴، بیشینه بودند. بر طبق تحقیقات دیگر این روغن ها از نظر بتاکاروتن (پیش ویتامین A) گزانتوفیل، (لوتئین، ویولاکسانتین و نوکسانتین) و کلروفیل و فتوفیتین نسبت به نمونه های شاهد غنی تر بودند. شاخص رنگ در رقم کرپسینو، کاسانز و لسینو به ترتیب ۵۹/۲، ۴۳/۵ و ۶۵/۴ درصد افزایش نشان داده اند (۱۶). افزایش میزان شاخص رنگ می تواند به دلیل تاثیر آنزیم بر روی آزاد سازی لیپوکرم های سبز و زرد از بافت گیاهی و حل شدن آن در روغن باشد [۵].

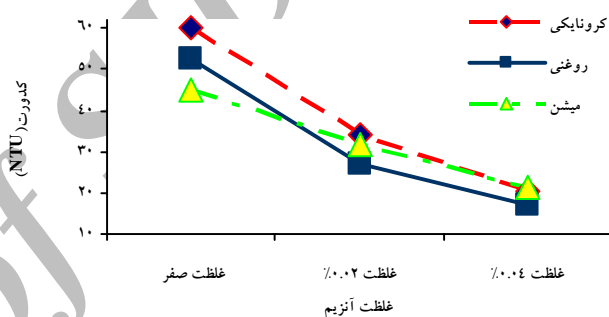
۳-۳-۳-۴- اسیدیته

میزان اسیدیته نمونه های آزمایشگاهی این تحقیق به صورت بسیار معنی دار ($P < 0/01$) تحت تاثیر وارپته زیتون قرار داشت و به طور متوسط رقم میشن با ۰/۴۳۳ و کرونایکی با ۰/۲۴۳ درصد (بر حسب اسیداولئیک) به ترتیب بیشینه و کمینه بودند. نتایج نشان داد که اثر غلظت آنزیم و اثر متقابل رقم \times غلظت آنزیم ($p < 0/05$) اختلاف معنی دار نشان ندادند. در تحقیقات دیگر اسیدیته سه رقم کراتینا، دریتا و لسینو به ترتیب ۰/۳۳، ۰/۴۲ و ۰/۳۹ بود که در زمان افزودن آنزیم این اعداد ۰/۲۶، ۰/۴۵ و ۰/۴۰ بوده اند [۴]. اسیدیته به میزان قابل توجهی تحت تاثیر بیوشیمیایی خمیر زیتون نمی باشد، تفاوت های اندک این شاخص در دو نوع روغن را احتمالاً می توان به خطای آزمایش نسبت داد شاخص اسیدیته و پراکسید به همراه خواص حسی، به عنوان شاخصی جهت ارزیابی کیفیت روغن به کار می روند [۱۷].

۳-۳-۳-۵- عدد پراکسید

ارقام زیتون مورد بررسی از نظر عدد پراکسید اختلاف معنی دار ($P < 0/01$) داشتند چنانکه رقم کرونایکی و میشن به ترتیب به طور متوسط با ۱/۳۱ و ۳/۰۳ میلی اکی والان اکسیژن در کیلو گرم کمینه و بیشینه بودند. نتایج نشان داد که اثر غلظت آنزیم و اثر متقابل رقم \times غلظت آنزیم ($p < 0/05$) اختلاف معنی دار نشان ندادند. نتایج تحقیقات دیگر بر روی سه رقم لسینو، دریتا و کراتینا

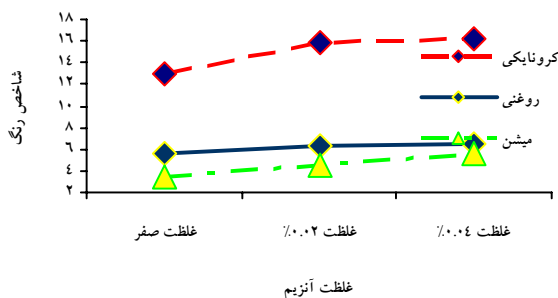
اختلاف معنی دار آماری بین میانگین های با حروف یکسان وجود ندارد در روغن استخراجی گردید [۴] که دلیل بالا بودن مقدار تیرگی و کدورت روغن های شاهد می تواند به دلیل بالا بودن میزان ذرات کلونیدی از روغن باشد که احتمالاً با اعمال تیمار آنزیمی از میزان این ذرات در روغن کاسته شده در نتیجه کدورت کاهش می یابد پارامتر های رنگ و کدورت دارای اثرات عمده ای روی پذیرش مشتری و انتخاب محصول دارد [۱۴]. که در سه رقم کراتینا، دریتا و لسینو در اثر افزودن آنزیم افزایشی معادل ۴۴/۱۲، ۶۱ و ۱۷ درصد در روغن استخراجی گردید [۴].



شکل ۳-۳-۳ تاثیر رقم زیتون و غلظت آنزیم بر کدورت

۳-۳-۳-۳- شاخص رنگ

نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار وارپته تاثیر معنی دار ($P < 0/01$) روی رنگ نمونه ها داشت و بیشینه مقدار آن در رقم کرونایکی مشاهده شد (جدول ۳-۳) تاثیر غلظت آنزیم بر شاخص رنگ اختلاف معنی دار ($P < 0/05$) نشان داد چنانکه با اعمال سطوح غلظت ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد به ترتیب به طور متوسط افزایش معادل ۱۳ و ۱۶ درصد نسبت به شاهد مشاهده گردید (جدول ۳-۴).



شکل ۳-۳-۳ تاثیر رقم زیتون و غلظت آنزیم بر شاخص رنگ

دهد که افزودن کمک - آنزیم موجب افزایش میزان روغن خروجی (بالاتر از ۲ درصد، برپایه وزن زیتون) می گردد. براساس تحقیقات دیگر، سیستم کمک فرآیند آنزیمی، برای واریته های سیپرسینو، کاسانز و لیسنو به ترتیب بازده متوسط روغن ۱۷/۹، ۱۴/۲ و ۱۵/۹ درصد نشان داد که برای روغن های شاهد این بازده استخراج به ترتیب ۱۶/۷، ۱۳/۱، ۱۵/۴ درصد می باشد که تفاوت ها به طور آماری در سطح ۰/۰۵ معنی دار (لیسنو) و در سطح ۰/۰۱ معنی دار (سیپرسینو و کاسانز) بودند (۱۶).

۴- نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق می توان گفت که استفاده از پیش تیمار آنزیمی سبب افزایش راندمان استخراج روغن و بهبود کیفیت روغن استحصالی از زیتون می گردد در مورد میزان آنزیم می توان بیان کرد که جهت دستیابی به راندمان بیشتر، استفاده از غلظت ۰/۰۲ درصد و برای نیل به کیفیت بالاتر بهره گیری از غلظت ۰/۰۴ درصد آنزیم راهگشا خواهد بود.

۵- تشکر و قدر دانی

بدینوسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، نمایندگی شرکت Novo Nordisk دانمارک و شرکت کشت و صنعت شمال و شرکت داروسازی نیاک صمیمانه سپاسگزاری می شود.

۶- منابع

- [۱] مالک، ف، ۱۳۷۹ چربیها و روغن های نباتی خوراکی ویژگی ها و فرآوری. انتشارات فرهنگ و قلم، ۴۶۴ صفحه.
- [۲] میرنظامی ضیایی، س، ح، ۱۳۷۷، خواص درمانی زیتون، انتشارات دانش نگار، ۱۳۷ صفحه.
- [۳] قدس ولی، ع، ۱۳۸۴، افزایش راندمان استخراج روغن از طریق کاربرد آنزیم در صنایع روغن کشتی، گزارش طرح پژوهشی وزارت کشاورزی، مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، ۵۴ صفحه.
- [4] Ranalli, A., Sgaramella, A., and Surricchio, G. 1999. The new "Cytolase 0" enzyme processing

نشان می دهد که قبل از افزودن آنزیم این اعداد ۷/۴، ۶/۷ و ۳/۷ میلی اکسیژن در کیلوگرم و پس از افزودن آنزیم این اعداد ۷/۴، ۶/۷ و ۳/۷ میلی اکسیژن در کیلوگرم بوده که اختلاف معنی داری دیده نشد و معمولا تیمارهای بیو تکنولوژیکی یا تاثیر اندکی روی میزان پیشرفت اکسیداسیون داشته و یا اصولاً بی تاثیر می باشند [۴].

۳-۳-۶- عدد یدی

میزان عدد یدی نمونه های آزمایشگاهی این تحقیق به صورت بسیار معنی دار ($P < 0/01$) تحت تاثیر واریته زیتون قرار داشت و به طور متوسط رقم میشن با ۹۱ بیشینه و کرونا یکی با ۸۰/۴۷ کمینه بودند. نتایج نشان داد که اثر غلظت آنزیم و اثر متقابل رقم \times غلظت آنزیم ($P < 0/05$) اختلاف معنی دار نشان ندادند. در اثر تیمار آنزیمی تغییری در ترکیب اسیدهای چرب روغن ایجاد نمی شود و چون عدد یدی بستگی به میزان غیر اشباع تشکیل دهنده ماده چرب دارد بنابراین می توان گفت که عدد یدی نیز تحت تاثیر تیمار آنزیمی قرار نمی گیرد [۱۸].

۳-۳-۷- راندمان استخراج

نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار واریته تاثیر معنی دار ($P < 0/01$) روی میزان استخراج روغن دارد و رقم کرونا یکی و میشن به ترتیب به طور متوسط با ۷۱/۳ و ۶۳/۸ درصد استخراج، بیشینه و کمینه بودند. همچنین اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) بین دو سطح غلظت آنزیم وجود ندارد ولی بین دو سطح غلظت آنزیم با شاهد اختلاف معنی دار ($P < 0/01$) وجود داشت چنانکه غلظت های ۰/۰۲ و ۰/۰۴ درصد آنزیم به ترتیب به طور متوسط افزایش ۱/۸ و ۲/۰ درصد نسبت به شاهد نشان دادند و اثر متقابل رقم \times غلظت آنزیم ($P < 0/05$) اختلاف معنی دار نشان نداد.

نتایج تحقیقات دیگر (۵) نشان می دهد که آنزیم ها دیواره ی سلولی سلولهای حاوی روغن را تخریب نموده و دارای اثرات مشابهی بر سیستم کلوئیدی (پکتین ها، همی سلولز ها، پروتئین ها و غیره) در خمیر زیتون که قطرات روغن را در خود نگاه می دارند می باشند. از این طریق قطرات روغن آزاد شده و به تدریج با یکی شدن قطرات بزرگتری ایجاد، که نهایتاً منجر به تولید روغن آزاد می گردد. نتایج تکنولوژیکی مربوط نشان می

- [۱۳] مقصودی، ش، ۱۳۸۴، تکنولوژی زیتون و فرآورده‌های آن، (تألیف هوی. وای. اچ)، انتشارات فرهنگ و قلم، ۲۸۶ صفحه.
- [14] Tuck, K. L., and Hayball, P. G. 2002. Major Phenolic Compounds in olive oil metabolism and health effect. *J. Nutri. Biochem*, 13, 636-644.
- [15] Vierhuis, E., Servill, M., Baldioli, M., Schols, H. A. Voragen, A. G. J., and Montedoro, G. F. 2001b. Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *J. Agric. Food Chem*, 49, 1218-1223.
- [16] Ranalli, A. Malfatti, A, and Cabras, p. 2001. Composition and quality of pressed virgin olive oils extracted with a new enzyme processing aid. *J. Food Sci*, 66, 592-603.
- [17] Ranalli, A., Gomes, T. Delcurator, D., Contento, S., and Lucera, L. 2003. Improving virgin olive oil quality by means of innovative extracting Biotechnologies. *J. Agric. Food Chem*, 51, 2597-2607.
- [18] Ranalli, A., Costantini, N. 1994. Olive oil extraction: role of the biotechnologies Note2. *Riv. Ital. Sost. Grass*, 71, 417-422.
- aid improves quality and yields of virgin olive Oil. *J. Food Chem*, 66, 443-454.
- [5] Ranalli, A., and De Mattia, G. 1997. Characterisation of olive oil produced with a new enzyme processing aid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 1105-1113.
- [6] <http://www.novozymes.com/en>. 2001. Pectinex ultra SP-L.
- [7] Bocevaska, M., Karolovic, D., Tukulov, j., and Pericin, D. 1993. Quality of corn germ oil obtained by aqueous enzymatic extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 1273 – 1279
- [8] American Oil Chemist's Society. 1993. Official methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th end, Ba 6-84. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign.
- [9] AOAC. 2005. Official Methods of Analyses, 14 ed; Association of official Analytical Chemists: Washington, DC, USA.
- [10] Pathak, p. k. Agrawah, Y. C., and Singh, B. P. N. 1991. Effect of elevated drying temperature on rapeseed oil quality. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 580-582
- [11] Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 966-968.

[۱۲] استاندارد ملی ایران. ۱۳۷۶. روش تهیه متیل استرهای اسیدهای چرب. شماره استاندارد ایران ۴۰۹۰.