بررسی تاثیر غظت آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن از تفاله گوجه فرنگی

زهرا دولت آبادی[1]*،امیرحسین الهامی راد[2] ، سید هاشم اخلاقی فیض آباد[2] ، سیدحسین استیری[3]

[1] دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار ، ایران

[2] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی ، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

[3] عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۳

چکیده

لیکوپن رنگدانه لیپوفیلی کاروتنوئیدی گوجه‌فرنگی رسیده می‌باشد و به دلیل اثرات بیولوژیکی مطلوبی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، باعث کاهش خطر ابتلا به سرطان از جمله سرطان پروستات می‌گردد. در این تحقیق اثر غلظت آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری روی میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره حاصل از تفاله گوجه‌فرنگی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با سه سطح غلظت آنزیم (۳۰ ، ۳۵ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سه سطح زمان گرمخانه‌گذاری (۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه) و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد افزایش غلظت آنزیم راندمان استخراج لیکوپن را افزایش می‌دهد. بیشینه فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره مربوط به زمانی که از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم پکتیناز استفاده گردید. با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری از ۲۰ به ۶۰ دقیقه میزان استخراج لیکوپن در حدود ۱۵/۳۹ درصد کاهش یافت ($P<0/01$). بیشینه میزان استخراج لیکوپن متعلق به زمانی بود که از ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم با ۶۰ دقیقه زمان گرمخانه‌گذاری استفاده گردید که ۴۶ درصد بیش از کمینه میزان استخراج لیکوپن بود. کمترین فعالیت رادیکال گیرندگی لیکوپن استخراج شده به غلظت ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم و ۴۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری تعلق داشت. با توجه به این تحقیق می‌توان بیان داشت که برای استفاده بهینه از ضایعات صنعتی گوجه فرنگی، استفاده از آنزیم در استخراج لیکوپن بسیار مناسب می‌باشد.

واژه های کلیدی : استخراج لیکوپن، آنزیم، تفاله گوجه فرنگی، فعالیت رادیکال گیرندگی

*مسوول مکاتبات: zahra ـ 621365@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

گوجه فرنگی، یک بخش جدایی ناپذیر از جهان گسترده‌ی رژیم غذایی است. مواد جامد گوجه فرنگی، از ۵۵ درصد قند، ۲۱ درصد مواد نامحلول در الکل (پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها)، ۱۲ درصد اسیدهای آلی (سیتریک ، مالیک ، گالاکتورونیک و کربوکسیلیک پیرولیدون)، ۷ درصد ترکیبات غیر آلی و ۵ درصد سایر مواد (کاروتنوئیدها ، اسید آسکوربیک، ترکیبات فرار، اسیدهای آمینه و غیره) تشکیل شده است. پژوهش های صورت گرفته در مؤسسه ملی سرطان نشان می‌دهد که افرادی که از گوجه فرنگی و محصولات آن به وفور استفاده می‌کنند کمتر در معرض ابتلا به سرطان‌ها قرار می‌گیرند (۳).

در سال زراعی۹۰-۱۳۸۹، در ایران چیزی در حدود ۱۴۶۹۸۵ هکتار به کشت گوجه فرنگی اختصاص داشت که از این مقدار ۹۹/۳ درصد آن مربوط به اراضی با کشت آبی و ۰/۷ درصد بقیه به صورت کشت دیم بوده است. استان فارس با تولید ۹۲۳۶۶۱ تن گوجه فرنگی در سال در رتبه اول تولیدکنندگان گوجه‌فرنگی کشور می‌باشد(۱).

سالانه قسمت عمده تولیدات ۵/۲ میلیون تنی این محصول به‌عنوان خوراک اولیه واحدهای تولید انواع رب و کچاب به کارخانجات فراوری گوجه فرنگی وارد می‌شود. بخش قابل توجهی از ورودی کارخانه ضمن دارا بودن ارزش غذایی مناسب و پتانسیل ایجاد ارزش افزوده به‌علت عدم دسترسی به فرایند مناسب، جهت استحصال مواد مغذی، بصورت ضایعاتی درآمده که نه تنها ارزش افزوده مناسبی ندارند بلکه بعلت BOD[1]بالا و تعفن‌پذیری سریع از نظر زیست محیطی نیز مضر محسوب شده و نیاز به دفع مناسب دارند، همچنین پوست، تفاله و دانه گوجه فرنگی در حال حاضر به‌عنوان ضایعات این محصول تلقی شده و در بهترین شرایط به صورت خوراک دام به فروش می‌رسند. این در حالی است که این مواد علاوه بر پروتئین، چربی و آنزیم‌های گیاهی دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از رنگدانه قرمز لیکوپن می‌باشند. در گوجه فرنگی بیش از ۲۱ نوع رنگدانه کاروتنوئیدی تشخیص و تعیین مقدار شده است که از این بین لیکوپن کاروتنوئید اصلی بوده و ۹۰-۸۵ درصد وزن کل کاروتنوئیدهای گوجه فرنگی را به خود اختصاص داده است (۱۱).

ضایعات جامد (تفاله، باقیمانده پس از فرآیند استخراج عصاره از پالپ، شامل پوست، بذرها، مواد فیبری، زائده‌ها، هسته‌ها می‌باشند. این ضایعات معمولا به فاضلاب، جویبارها و رودخانه‌ها ریخته می‌شود یا به عنوان کود مصرف می‌شود. پروتئین بذر گوجه‌فرنگی دارای اسیدآمینه لیزین بالایی بوده و به طور قابل ملاحظه‌ای می‌تواند کیفیت پروتئین محصولات غله‌ای را جبران نماید. همچنین می‌توان از بذر گوجه فرنگی به عنوان مکمل نان، افزایش دهنده حجم، بافت و کیفیت نان، به علت دارا بودن خواص ضد بیاتی استفاده نمود(۱۲).

لیکوپن به صورت طبیعی به شکل ترانس در محصولات غذایی دیده می‌شود و تشکیل لیکوپن سیس، احتمالاً در طول فراوری یا نگهداری صورت می گیرد (۹). لیکوپن به طور غالب در کلروپلاست بافت گیاه وجود دارد و بیوسنتز آن در گوجه فرنگی در طول فرایند رسیدن انجام می‌شود که طی آن کلروپلاست به کروموپلاست تبدیل می‌شود (۸). به دلیل پنهان بودن لیکوپن در درون ساختارهای غشایی کلروپلاست و دشواری حلال در نفوذ به بافت فشرده در پوست گوجه‌فرنگی و حل‌کردن رنگدانه لیکوپن، راندمان استخراج این رنگدانه از پوست گوجه فرنگی پایین است (۴). به همین دلیل از آنجا که دیواره‌ی سلولی از سلولز و پکتین تشکیل شده است، می‌توان با استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی به عنوان ابزاری برای افزایش بازیابی لیکوپن از پوست گوجه فرنگی را بررسی نمود. بدین منظور تحقیقات متنوعی صورت پذیرفته است که می‌توان از تحقیقات لاوکیا و زورو[2] (۸)، کانوارا و همکاران[3] (۷) و رنجبر و همکاران[4] (۲) نام برد که همگی این محققین بیان داشتند که استفاده از آنزیم منجر به افزایش راندمان استخراج لیکوپن می‌شود. آداموپولوس و همکاران با تحقیقی که در سال ۲۰۰۶ روی پیش‌بینی تجزیه لیکوپن در طول فراوری انجام دادند، بیان داشتند که استفاده از فرایند فشار بالا منجر به افزایش میزان لیکوپن به علت سست کردن پیوند میان لیکوپن با شبکه بافتی می‌گردد (۶). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر افزودن آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن بود.

[1] Biochemical oxygen demand

[2] Lavecchia and Zuorro

[3] Konwarh etal

[4] Adamopoulos etal

Archive of SID

www.SID.ir

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

برای این تحقیق تفاله‌ی گوجه فرنگی حاصل از ضایعات فرایند 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 انتقال یافت. بافر استات، استون، کلروفورم و پترولیوم از شرکت مرک آلمان و آنزیم پکتیناز، لیکوپن استاندارد و ۲،۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما تهیه گردید.

۲-۲- استخراج لیکوپن

ابتدا ۱۰۰ گرم از نمونه تفاله به همراه ۱۲۰ میلی لیتر با فراستات M ۰/۲ در pH برابر با ۴/۷ مخلوط شد و سپس غلظت‌های متفاوتی از آنزیم پکتیناز (۳۰ ، ۳۵ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به نمونه اضافه شد. سپس هر کدام از نمونه‌ها در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد (بر اساس نظر تولیدکننده آنزیم‌ها) با زمان‌های متفاوت ۲۰،۴۰ ، ۶۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. بعد از گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند تا آنزیم پکتیناز غیرفعال شود. سپس از هر نمونه ۵ گرم برداشته و با نسبت ۱ به ۱۰ با حلال (استون / پترولیوم اتر با نسبت ۱: ۱) مخلوط شد. سپس تحت شرایط تاریک به قیف دکانتور انتقال گردید و پس از ۱۰ دقیقه همزدن و ۲۰ دقیقه توقف، فاز فوقانی که حاوی لیکوپن بود جداسازی شد و از کاغذ صافی و سولفات سدیم بی‌آب ۱ گرم عبور داده شده سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را جهت مشاهدهٔ جذب در طول موج ۵۰۳ نانومتر به سل دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu، ساخت ژاپن) انتقال داده شد(۱۲).

۲-۳- تعیین فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH

دراین روش احیاءکنندگی (توانایی هیدروژن دهندگی یا قدرت رادیکال گیرندگی) عصاره استخراج شده بر رادیکال پایدار DPPH، و تغییر رنگ آن از ارغوانی به زرد در طول ۵۱۷ نانومتر بررسی شد به این صورت که ۵ میلی لیتر از محلول عصاره استخراج شده با ۱ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (غلظت ۱mM) مخلوط و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و شرایط تاریک نگهداری شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید (۱۰).

۲-۴- 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 ppm ۲۰۰-۰ تهیه شد و برای این منظور ۰/۰۰۱ گرم از لیکوپن خالص را در ۵ میلی لیتر کلروفورم (به عنوان حلال) کاملاً حل گردید تا غلظت ppm ۲۰۰ از آن تهیه شد. سپس رقیق‌سازی شد و غلظت‌های استاندارد از ۰ تا ppm۲۰۰ (۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۰۰) تهیه شد سپس جذب هر یک از این غلظت‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۳ نانومتر تعیین گردید و منحنی جذب بر حسب غلظت رسم شد (R^2 = ۰/۹۵۳) و با توجه به آن منحنی رابطه زیر به دست آمد:

$$y = ۰/۰۰۶ x + ۰/۰۲۷$$

که در آن y میزان جذب می‌باشد و x غلظت لیکوپن بر حسب ppm می‌باشد(۴).

۲-۵- روش آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل ۳×۳ با سه سطح غلظت آنزیم و سه سطح زمان گرمخانه‌گذاری و در سه تکرار انجام گردید. از نرم افزار SAS برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر غلظت آنزیم بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره استخراجی

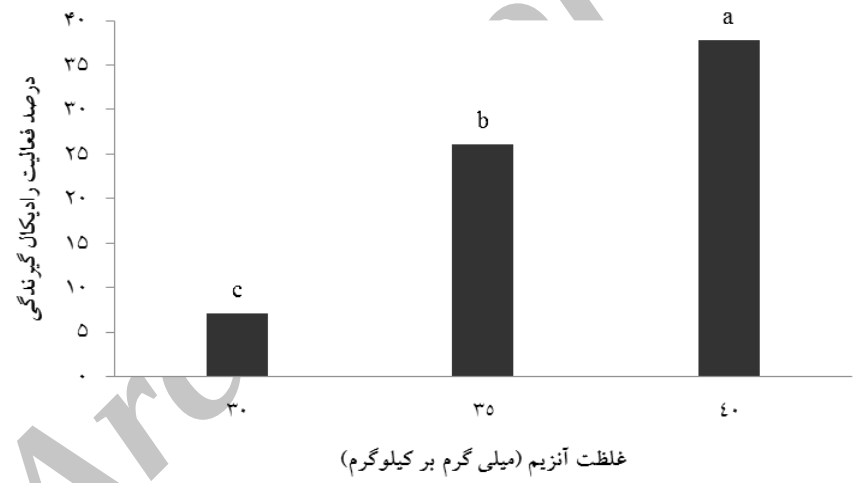
آنالیز واریانس داده‌های حاصل نشان داد که غلظت آنزیم بر میزان لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۱$). مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن (شکل ۱) نشان داد که افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش میزان استخراج لیکوپن گردید. علت افزایش میزان استخراج لیکوپن با افزایش غلظت آنزیم را می‌توان به تخریب بیشتر پکتین، سلولز و همی سلولز که پلی‌ساکاریدهای اصلی تشکیل‌دهنده بافت پوسته گوجه فرنگی هستند، نسبت داد(۸). نتایج این بخش با نتایج رنجبر و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت داشت (۲). همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد، افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره شد به‌گونه‌ای

Archive of SID

www.SID.ir

که بیشینه فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره مربوط به زمانی که از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم پکتیناز استفاده گردید، بود. کانوارا و همکاران (۷) نیز افزایش فعالیت زیستی و پتانسیل جذب رادیکال آزاد لیکوپن استخراجی از پوست گوجه فرنگی با استفاده از آنزیم را گزارش نمودند.

شکل ۱- اثر غلظت آنزیم پکتیناز بر میزان استخراج لیکوپن



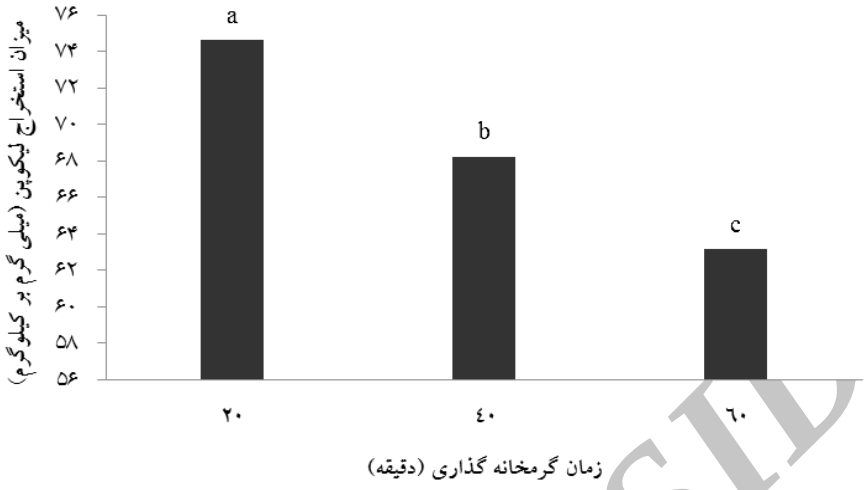
شکل ۲- اثر غلظت آنزیم پکتیناز بر درصد فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره

۳-۲- تاثیر زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره استخراجی

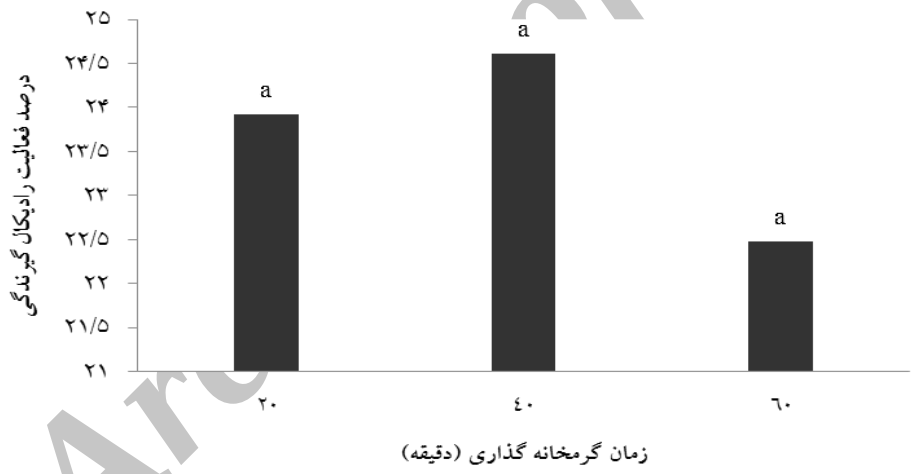
تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل نشان داد که زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان لیکوپن تاثیر معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۱$) ولی بر فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). همانطور که شکل ۳ نشان می‌دهد با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری میزان استخراج لیکوپن در حدود ۱۵/۳۹ درصد کاهش یافت. تجزیه ترکیبات دیواره سلولی در زمان‌های اولیه انکوباسیون سریع اتفاق می‌افتد، بنابراین اکثریت وسیعی از مولکول لیکوپن که در بافت گیاهی احاطه شده است به سرعت از ساختار محافظت شده کلروپلاست آزاد می‌شود و در معرض شرایط محیطی قرار می‌گیرد، به علت واکنش‌پذیری بالا، مولکول‌های لیکوپن آزاد شده می‌تواند دست‌خوش تخریب سریع اکسیداتیو شود. اکسیداسیون منجر به شکل‌گیری محصولات تجزیه‌ای متعددی مانند آپولیکوپنال‌ها و آپوکاروتندیال‌ها می‌شود که طیف آنها، طول موج‌های کوتاه‌تری را در مقایسه با لیکوپن شیفت می‌دهد. بنابراین کاهش مشاهده

www.SID.ir

شده در راندمان‌های استخراج با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری می‌تواند یک انعکاس از کاهش تدریجی لیکوپن به علت اکسیداسیون باشد (۸). شکل ۴ نشان داد که با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری ابتدا به صورت غیرمعنی‌داری میزان فعالت رادیکال گیرندگی عصاره افزایش و سپس به‌علت تجزیه اکسیداتیو لیکوپن کاهش یافت.



شکل ۳- اثر زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن



شکل ۴- اثر زمان گرمخانه‌گذاری بر درصد فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره

۳-۳- اثر متقابل آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

آنالیز واریانس داده‌های حاصل از انجام آزمایش نشان داد که اثر متقابل غلظت آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان لیکوپن و فعالیت رادیکال‌گیرندگی عصاره استخراج شده تاثیر معنی‌دار داشت ($P<0/01$). همانطور که جدول ۱ نشان می‌دهد بیشینه میزان استخراج لیکوپن متعلق به زمانی بود که از ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم آنزیم با ۶۰ دقیقه زمان گرمخانه‌گذاری استفاده گردیده بود که ۴۶ درصد بیش از کمینه میزان استخراج لیکوپن بود. کمترین فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره به لیکوپن استخراج شده توسط افزودن ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم و ۴۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری تعلق داشت. در تحقیقی مشابه توسط رنجبر و همکاران (۱۳۹۱) که اثر آنزیم پکتیناز و تیمار اتانولی را در افزایش راندمان لیکوپن استخراج شده از پوست گوجه‌فرنگی را بررسی کردند، در بررسی زمان گرمخانه‌گذاری در مورد نمونه های تیمار نشده با حلال (اتانول) در زمان اثر ۱۸۰ دقیقه و غلظت

Archive of SID

www.SID.ir

۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم پکتیناز بیشترین مقدار لیکوپن به دست آمد و در مورد نمونه‌های تیمار شده با حلال بیان داشتند که در زمان ۶۰ دقیقه و غلظت ۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم پکتیناز، لیکوپن به بیشترین مقدار خود رسید (۲).

جدول ۱- اثر متقابل آنزیم و زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان استخراج لیکوپن و فعالیت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی

غلظت آنزیم (mg/kg)	زمان گرمخانه‌گذاری (دقیقه)	میزان استخراج لیکوپن (میلی گرم بر کیلوگرم)	فعالیت رادیکال گیرندگی (DPPH)
۳۰	۲۰	۴۶/۹۵^{h}	۳/۵۷^{g}
۳۰	۴۰	۵۲/۳۵^{g}	۲/۵۷^{g}
۳۰	۶۰	۶۲/۷۲^{f}	۱۵/۱۷^{f}
۳۵	۲۰	۶۸/۷۹^{e}	۳۵/۹۷^{b}
۳۵	۴۰	۷۱/۵۵^{d}	۱۸/۵۰^{ef}
۳۵	۶۰	۷۲/۵۷^{cd}	۲۳/۸۷^{de}
۴۰	۲۰	۷۴/۴^{c}	۳۲/۲۵^{bc}
۴۰	۴۰	۸۰/۷۸^{b}	۵۲/۷۶^{a}
۴۰	۶۰	۸۶/۸۸^{a}	۲۸/۴۰^{cd}

حروف مشترک در هر ستون، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از ورودی کارخانه‌های فراوری گوجه فرنگی ضمن دارا بودن ارزش غذایی مناسب و همچنین ارزش افزوده بالا به‌علت عدم دسترسی به فرایند مناسب، جهت استحصال مواد مغذی، بصورت ضایعاتی در می‌آیند، که می‌توان از آنها برای تولید لیکوپن استفاده نمود که یکی از راههای استخراج لیکوپن استفاده از آنزیم است. همانطور که در این تحقیق آورده شد افزایش غلظت آنزیم منجر به افزایش میزان استخراج لیکوپن گردید و با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری میزان استخراج لیکوپن کاهش یافت.

۵- منابع

۱- بی‌نام، آمارنامه کشاورزی. ۱۳۹۰. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، وزارت جهاد کشاورزی. جلد اول: محصولات زراعی. ۱۲۳ صفحه.

۲- رنجبر، آ.، مقصودلو، ی.، قربانی، م و صادقی ماهونک، ع.ر. ۱۳۹۱. نقش تیمار اتانولی و آنزیم پکتیناز بر راندمان استخراج لیکوپن از ضایعات صنایع تبدیلی گوجه فرنگی. پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. ۸: ۱۵-۹.

۳- مظاهری تهرانی، مصطفی، ۱۳۸۶، تولید و فرآوری گوجه فرنگی، تهران مرز دانش، جلد اول

4- Choudhari, S. M. and L. Ananthanarayan. 2006. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. Food chemistry. 102:77-81.

5- Choudhari,S.M and Ananthanarayan L. 2007.Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues . Journal of Food chemistry. 102,77-81.

6- Adamopoulos , K.G. , Chatzitakis , P.C and Nikas , V.A. 2006. Prediction of lycopene degradation during a drying process of tomato pulp . Journal of Food Engeeniring , 74 , 37-46.

7- Konwarh.R , Pramanik .S, Kalita. D, et al. 2012. Ultrasonication – A complementary 'green chemistry' tool to biocatalysis: A laboratory-scale study of lycopene extraction Ultrasonics Sonochemistry 19 , 292–299.

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

9- Lee-sie .Eh,A and Teoh S.G. 2012. Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoe. Ultrasonics Sonochemistry,19, 151–159.

10- Ottway, B and associates. 2004. Application for the evaluation of lyco-o-mato lycopene

Archive of SID

www.SID.ir

oleoresinfrom tomato. Food standards agency, London UK.
11- Shi, J., Maguer, M.L., Kakuda, Y., Liptay, A., and Niekamp, F. 2001. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. Food Research International, 32: 15-21.
12- Sogi, D.S., Bhatia,R., Garg, S.K. and Bawa, A.S. 2005. Biological evaluation of tomato waste seed meals and protein concentrate. Food Chemistry, 89: 53–56.

Archive of SID

www.SID.ir