Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 3، پاییز 1393، صفحات 72-63

صمغ‌گیری روغن خام سویا با آنزیم لسیتاز اولترا

سیده ساناز میرنژاد خباز[1]، مریم قراچورلو[2]، مهرداد آذین[3]، مهرداد قوامی[4]، بابک غیاثی طرزی[2]

1 – نویسنده مسئول: کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، پست الکترونیکی:sanaz.mirnejad@yahoo.com
2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
3- دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
4 - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 92/10/19 تاریخ پذیرش: 93/2/10

چکیده

سابقه و هدف: صمغ‌گیری اولین مرحله تصفیه روغن می‌باشد که به روش‌های مختلفی با هدف حذف فسفولیپیدها از روغن انجام می‌شود. در این تحقیق فرایند صمغ‌گیری آنزیمی روغن خام سویا به عنوان روشی نوین و با هدف یافتن بهترین شرایط برای کاهش میزان فسفر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: روغن سویای خام با مقادیر مختلف آب (1 ، 2 ، 3 و 4 درصد) صمغ‌گیری شد و مقادیر فسفر، اسید چرب آزاد و زمان پایداری تعیین گردید. با توجه به این که صمغ‌گیری با 3% آب بهترین نتیجه را در کاهش فسفر داشت، در مرحله بعد روغن سویای خام و روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب، با مقادیر 30 و 50 ppm آنزیم لسیتاز اولترا صمغ گیری شد و مقادیر فسفر، اسید چرب آزاد و زمان پایداری قبل و بعد از فرایند تعیین گردید.

یافته‌ها: در روش صمغ‌گیری با آب بیشترین کاهش در مقدار فسفر طی صمغ‌گیری با 3 درصد آب به دست آمد. به طوری که میزان فسفر از ppm 497/22 در روغن خام به ppm 117/82 (76/3 درصد) کاهش یافت. از سوی دیگر نتایج نشان داد که صمغ‌گیری آنزیمی روغن سویای خام که حاوی مقدار قابل توجهی فسفاتید می‌باشد روش مناسبی نبوده اما وقتی روغن سویای صمغ‌گیری شده با آب که حاوی مقادیر کمتری فسفر (ppm117/82) بود با آنزیم لسیتاز اولترا صمغ‌گیری شد صرف نظر از تفاوت در دوز آنزیم (30 یا 50 ppm) میزان فسفر به طور قابل توجهی کاهش یافت و به کمتر از ppm 70 رسید.

نتیجه گیری: صمغ‌گیری آنزیمی برای روغن سویای خام که حاوی مقدار قابل توجهی فسفاتید می‌باشد روش مناسبی نبوده بلکه می‌تواند به عنوان یک روش تکمیلی صمغ‌گیری مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: روغن خام سویا، فسفولیپید، صمغ‌گیری آنزیمی، آنزیم لسیتاز اولترا

• مقدمه

روغن سویا به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب روغن، محصول پروتئینی با ارزش به جا مانده از روغن‌کشی و بازده بالای روغن، از مهم‌ترین منابع روغن گیاهی است (1).

روغن خام سویا حاوی ناخالصی‌هایی می‌باشد که می‌توانند اثرات نامطلوبی بر کیفیت و پایداری روغن داشته باشند. یکی از این ناخالصی‌ها فسفولیپیدها هستند که به دلیل ایجاد مشکلاتی مانند ایجاد رنگ تیره، رسوب کردن و افت کمی در روغن باید طی مرحله صمغ‌گیری از روغن خارج شوند (4-2).

از متداول‌ترین روش‌های صمغ‌گیری روغن می‌توان به صمغ‌گیری با آب اشاره نمود که در این روش تنها فسفاتیدهای هیدراته جدا می‌شوند. برای جدا کردن فسفاتیدهای غیرقابل هیدراته، روش‌های دیگری مانند صمغ‌گیری با اسید، صمغ‌گیری اولترافیلتراسیون، صمغ‌گیری با آنزیم و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (5).

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

در سال 1386 اثر افزودن مقادیر 0/5، 1، 2، 3 و 4 درصد آب جهت صمغ‌گیری روغن سویای خام بررسی شد. با افزایش میزان آب از 0/5% به 3% مقدار فسفولیپید خارج شده از روغن افزایش یافت ولی با افزایش بیشتر میزان آب تا 4% ، راندمان خروج فسفولیپید از روغن کاهش پیدا کرد (4).

اولین صمغ‌گیری آنزیمی در دهه 1990 تحت عنوان فرایند EnzyMax انجام شد. این فرایند که طی آن آنزیم‌ها فسفولیپیدهای غیرقابل هیدراته را به فرم هیدراته تغییر می‌دهند، شامل سه مرحله تنظیم pH روغن با بافر، واکنش آنزیم و جداسازی صمغ از روغن می‌باشد (6).

استفاده از آنزیم جهت صمغ‌گیری روغن دارای مزایایی نظیر باقی ماندن مقادیر کم فسفر (اغلب کمتر از 10 ppm) در روغن، مصرف کمتر مواد شیمیایی مانند اسید فسفریک، سود و آب، ایجاد فاضلاب کمتر، هزینه و افت کمتر می‌باشد (8، 7).

جهت صمغ‌گیری آنزیمی از فسفولیپازها استفاده می‌شود که یک دسته از آنزیم‌های هیدرولیتیک هستند که می‌توانند پیوند استری فسفولیپیدها را هیدرولیز کنند. از مهم‌ترین انواع فسفولیپازها می‌توان به فسفولیپازهای A1, A2, C و D اشاره نمود که هر یک از آنها بر روی مکان خاصی در ساختار فسفولیپید موثر بوده و پیوند خاصی را می‌شکنند.

متداول‌ترین آنزیم جهت صمغ‌گیری Lecitase Ultra است که در گروه فسفولیپاز A1 قرار دارد و فعالیت این آنزیم 9650 LEU/g می‌باشد (9، 6). لسیتاز اولترا یک آنزیم اسیدی است که حداکثر فعالیتش در pH: 5 می‌باشد, این آنزیم هم روی تری گلیسرید و هم روی فسفولیپید عمل می‌کند اما در دمای بالای 40 درجه سانتی‌گراد فعالیت فسفولیپازی آن غالب گشته و فعالیت لیپازی آن کم‌رنگ می‌شود (11، 10، 6).

List و همکاران (1981) تأثیر شرایط صمغ‌گیری در کاهش فسفر روغن سویای خام را بررسی کردند. میزان فسفر روغن سویای خام 570 ppm بود، مقادیر 0/5 ، 1 و 2 درصد آب توانست 84/5 ، 89/5 و 92 درصد فسفاتید را از روغن حذف کند. بهترین دما برای صمغ‌گیری 75 درجه سانتی‌گراد بود اگرچه با افزایش دما (بالاتر از 60°C) رنگ لسیتین تیره شد و کیفیت لسیتین کاهش یافت. میزان فسفر روغن صمغ‌گیری شده با 2% آب (60°C – 30 دقیقه) به 46 ppm رسید (12).

Indira و همکاران (2000) روغن سبوس برنج خام با 1/8% فسفولیپید را تحت شرایط آزمایشگاهی متفاوت از نظر میزان آب و دما، صمغ‌گیری کردند. طبق نتایج بدست آمده، افزایش دما اثر منفی بر کاهش میزان فسفر روغن داشت و باعث کاهش جداسازی فسفولیپید از روغن گردید. آب اثر مثبت قابل توجهی در میزان محصول داشت بطوری که هرچه میزان آب بیشتر گردید صمغ بیشتری هیدارته شده و از روغن جدا گشته در نتیجه فسفولیپید کمتری در روغن باقی ماند (13).

Yang و همکاران (2006) در تحقیقی بهینه کردن فرایند صمغ‌گیری آنزیمی روغن کلزا را بررسی کردند. در این تحقیق از آنزیم لسیتاز اولترا استفاده شد و شرایط بهینه برای صمغ‌گیری آنزیمی شامل زمان واکنش 6 ساعت و دمای 48/3 درجه سانتی‌گراد و میزان دز آنزیم 39/6 میلی‌گرم در کیلوگرم تعیین گردید که در این شرایط میزان فسفر از 120/5 mg/kg به کمتر از 3/1mg/kg رسید (9).

Jahani و همکاران (2008) در تحقیقی بهینه کردن فرایند صمغ‌گیری آنزیمی در روغن سبوس برنج را بررسی کردند. در این تحقیق از آنزیم لسیتاز اولترا استفاده شد و شرایط بهینه برای صمغ‌گیری آنزیمی شامل زمان واکنش 4 ساعت، دز آنزیم 50mg\kg ، مقدار آب اضافه شده 1/5 ml/100 g ، دما 49/2°C و pH:5 تعیین گردید. در این تحقیق میزان فسفر باقی مانده در روغن از 196/25 ppm به 10 ppm کاهش یافت (14).

Yang در سال (2008) صمغ‌گیری آنزیمی روغن سویای خام را در دمای 48 درجه سانتی‌گراد، pH 4/8 تا 5 و دز آنزیم 40 mg/kg انجام داد. در این تحقیق میزان فسفر از 121/5 mg/kg به کمتر از 10 mg/kg کاهش یافت (15).

Yu و همکاران در سال 2012 روغن سویای خام را توسط لسیتاز اولترای آزاد و لسیتاز اولترای تثبیت شده روی کلسیم آلژینات، کلسیم آلژینات-کیتوزان و کلسیم آلژینات-ژلاتین صمغ‌گیری کردند. در این تحقیق میزان فسفر توسط لسیتاز اولترای آزاد و لسیتاز اولترای تثبیت شده روی کلسیم آلژینات و همچنین کلسیم آلژینات-کیتوزان از 150 ppm به کمتر از 10 ppm کاهش یافت (16).

با توجه به اهمیت صمغ‌گیری در فرایند تصفیه روغن، در تحقیق حاضر فرایند صمغ‌گیری آنزیمی روغن سویای خام به عنوان روشی نوین و با هدف یافتن بهترین شرایط برای کاهش میزان فسفر مورد بررسی قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده: روغن سویای خام از کارخانه روغن نباتی ورامین و آنزیم لسیتاز اولترا از شرکت نووزایم دانمارک

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان می‌باشد.

روش‌های صمغ‌گیری

صمغ‌گیری روغن سویای خام با درصدهای مختلف آب: 300 گرم روغن سویای خام را به دمای 60 °C رسانده، با مقادیر مشخص آب مقطر در حال جوش (1%، 2%، 3% و 4% وزنی) مخلوط نموده، آن را به مدت 30 دقیقه توسط همزن Ikalabortechnik مدل RW20DZ با سرعت 600 rpm کاملاً مخلوط کرده و سپس به مدت 20 دقیقه با سرعت 3000 rpm توسط دستگاه سانتریفوژ Kokusan-H200AR در دمای محیط (25°C) سانتریفوژ کرده و نهایتاً روغن از فاز بالایی و فسفاتید از فاز پایینی به دست آمد (17).

صمغ‌گیری روغن سویا با آنزیم لسیتاز اولترا: 300 گرم روغن خام سویا و روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب (بهترین نتیجه صمغ‌گیری با آب)، به طور جداگانه به دمای 70°C رسانده شد. 4 میلی لیتر اسید سیتریک (45 gr/100ml) به روغن اضافه شد و هموژن کردن روغن با سرعت 10000 rpm به مدت یک دقیقه توسط هموژنایزر Heidolph مدل Siltentcrusher صورت گرفت. روغن در دمای 70°C به مدت 30 دقیقه با دور 600rpm نگه داشته شد. سپس دما به دمای مورد نظر واکنش آنزیمی (50°C) رسانده شد و برای تنظیم pH درحدود 5 ، 2/2 ml هیدروکسید سدیم (4gr/100ml) به نمونه اضافه شد. برای کنترل pH از کاغذ تورنسل استفاده گردید. در مرحله بعدی میزان مناسبی آب (1/5 یا 2/5 درصد آب) به همراه مقدار مشخصی آنزیم (برای روغن سویای صمغ‌گیری شده با 3% آب، 30 و 50 ppm و برای روغن خام 50 ppm) به روغن افزوده شد و نمونه با دور 10000rpm به مدت یک دقیقه همزده شد. سپس روغن در دمای 50°C به مدت 4 ساعت در حمام آب گرم Julabo با دور 600 rpm نگه داشته شد، بعد از سپری شدن این مدت، مجدداً دما به 70°C رسانده شد و نمونه با سرعت 3000 rpm در دمای محیط (25 °C) سانتریفوژ گردید تا روغن از صمغ و آنزیم جدا گردد (14). نمونه‌های روغن صمغ‌گیری شده تا زمان انجام آزمون‌های شیمیایی در ظروف تیره در یخچال (5°C) نگهداری شدند.

آزمون‌های شیمیایی: آزمون‌های تعیین مقدار فسفر، درصد اسید چرب آزاد و زمان پایداری روغن‌ها قبل و بعد از صمغ‌گیری هر یک در 3 تکرار انجام شد.

جهت تعیین فسفر از استاندارد AOCS به شماره Ca-12-25 استفاده شد که این روش بر پایه رنگ سنجی و تعیین مقدار درصد جذب نور در طول موج 650 نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر می‌باشد. از مقدار جذب نور در نمونه می‌توان غلظت فسفر در نمونه را تعیین کرد. برای تعیین مقدار فسفاتید، عدد بدست آمده برای فسفر در عدد 30ضرب می‌شود (18).

درصد اسید چرب آزاد به روش AOCS شماره Cd 3d-63 از طریق تیتراسیون روغن به وسیله پتاس 0/1 نرمال در مجاورت فنل فتالئین تعیین شده است. درصد اسید چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک گزارش گردیده است (18).

زمان پایداری با استفاده از دستگاه رنسیمت مدل Metrohm 743 در درجه حرارت 110 °C و با جریان هوای 20 لیتر بر ساعت ارزیابی گردید (19).

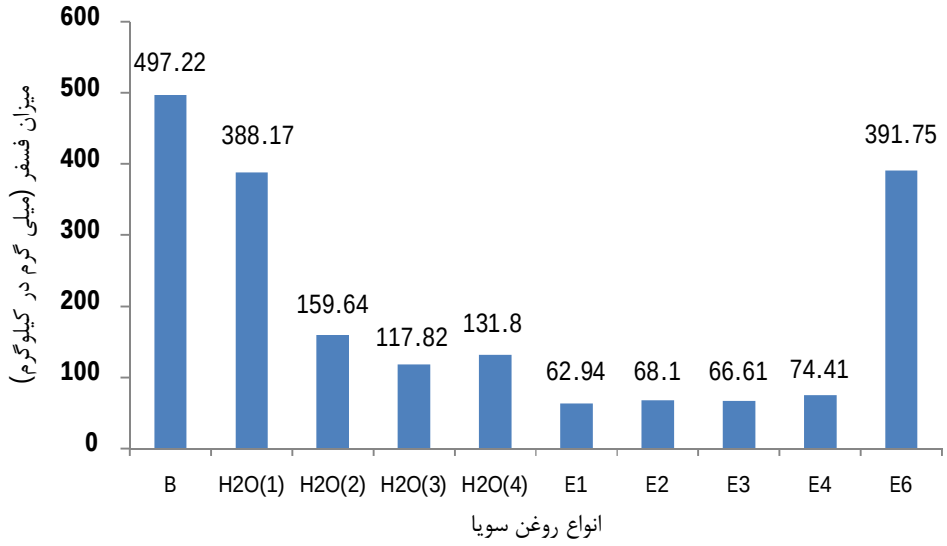
تجزیه و تحلیل آماری: برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS16 استفاده شد.

• یافته‌ها

همان طور که در شکل 1 نشان داده شده است میزان فسفر در روغن سویای خام (B) 3/22 ppm±497/22 به دست آمد.

میزان فسفر روغن سویا پس از صمغ‌گیری با 1% آب به 3/03 ppm±388/17 رسید به عبارت دیگر با افزودن 1% آب به روغن خام، 21/93 درصد فسفاتیدها خارج شده است. با افزودن 2 و 3 درصد آب، میزان فسفر به ترتیب به 4/5 ppm±159/64 و 2/62 ppm±117/82 رسید که راندمان حذف فسفاتیدها در این دو نمونه به ترتیب 67/89% و 76/3% می‌باشد. با افزایش میزان آب به 4% راندمان صمغ‌گیری 73/49% می‌باشد که نسبت به روش صمغ‌گیری با 3% آب، کاهش یافته است.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021



شکل 1. میزان فسفر در نمونه‌های روغن خام سویای صمغ‌گیری شده*

B: نمونه شاهد (روغن سویای خام)، H_2O: روغن صمغ‌گیری شده با (1 ، 2 ، 3 ، 4 درصد آب)، E1 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با 50 ppm آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E2 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با 50 ppm آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد، E3 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با 30 ppm آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E4 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با 30 ppm آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد، E6 : روغن خام که با 50 ppm آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد.

*حروف مشابه در ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0/05 می‌باشد.

در روغن خام آنزیم اثر چندانی نداشت و تنها در صورتی میزان فسفاتید را در روغن کاهش داد که از 2/5 درصد آب به همراه آنزیم استفاده شد.

استفاده از آنزیم در روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب، بیشترین کاهش را در میزان فسفاتید روغن نشان داد و به عبارت بهتر صمغ‌گیری روغن را تکمیل نمود.

میزان فسفر از 2/62±117/82 ppm در نمونه $H_2O(3)$ به ترتیب به 2/06±62/94 ppm، 3/23±68/1 ppm، 2/21±66/61ppm و 4/28±74/41ppm در نمونه‌های E3 ,E1 ,E2 و E4 رسید.

راندمان صمغ‌گیری روغن در نمونه‌های E3,E2,E1 و E4 به ترتیب 46/58 ، 42/19، 43/47 و 36/84 درصد نسبت به روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب می‌باشد.

میزان فسفر نمونه E6، از 3/22ppm±497/22 در روغن خام به 5/75ppm±391/75 رسید، راندمان صمغ‌گیری نمونه E6 نسبت به نمونه شاهد 21/21 درصد بوده است.

درصد اسید چرب آزاد روغن سویای خام مورد بررسی 0/028±1/16 درصد بود. همان طور که در شکل 2 ملاحظه می‌گردد، میزان اسید چرب آزاد در روغن‌های صمغ‌گیری شده با 1 ، 2 ، 3 و 4 درصد آب به ترتیب 0±1/18، 0/028±1/20، 1/18±0 و 0/028±1/20 درصد می‌باشد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که میزان اسید چرب آزاد در روغن‌هایی که با آب صمغ‌گیری شدند با یکدیگر و با روغن شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P<0/05).

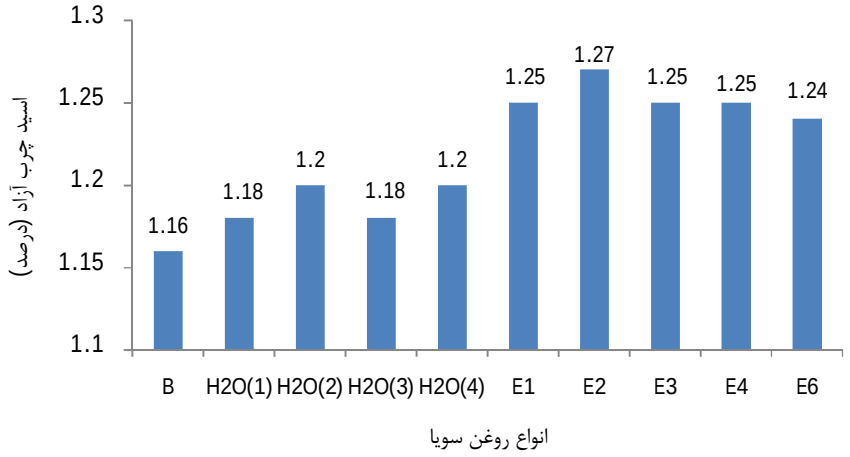
همان طور که در شکل 2 مشاهده می شود بیشترین درصد اسیدهای چرب آزاد مربوط به نمونه‌های E1, E2 , E3 و E4 می‌باشد که به ترتیب دارای 0/024±1/25، 0/023±1/27، 0/024±1/25 و 0/024±1/25 درصد اسید چرب آزاد است. نمونه E6 نیز حاوی 1/24±0 درصد اسید چرب آزاد بوده است.

بیشترین زمان پایداری به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد (B) و $H_2O(1)$ می‌باشد که زمان پایداری این نمونه‌ها به ترتیب 0/21±25/52 و 0/35±24/32 ساعت است (شکل 3).

پس از صمغ‌گیری زمان پایداری روغن کاهش یافته به طوری که در روغن‌های صمغ‌گیری شده با 2 ، 3 و 4 درصد آب زمان پایداری به ترتیب 0/1±6/89 ، 0/13±6/99 و 0/01±6/81 ساعت می‌باشد که دارای اختلاف آماری معنی‌داری نمی‌باشند (p<0/05).

زمان پایداری نمونه‌های E1, E2, E3 و E4 نیز به ترتیب 0/21±6/44، 0/04±5/96، 0/07±6/36 و 0/01±5/98 ساعت بود که دارای اختلاف آماری معنی‌داری نمی‌باشند (p<0/05).

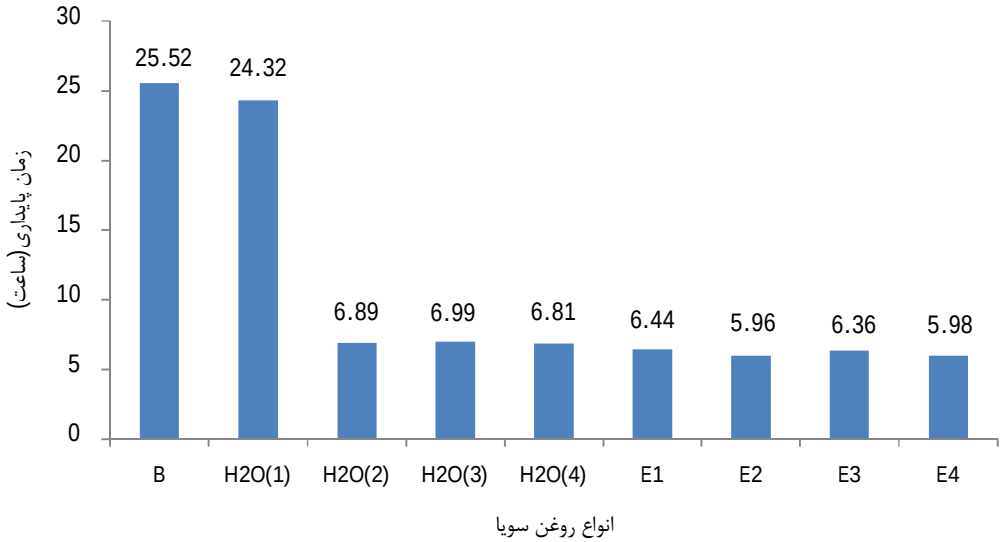
Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021



شکل 2. درصد اسید چرب آزاد در نمونه‌های روغن خام سویای صمغ‌گیری شده*

B: نمونه شاهد (روغن سویای خام)، H_2O: روغن صمغ‌گیری شده با (1 ، 2 ، 3 ، 4 درصد آب)، E1 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 50 آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E2 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 50 آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد، E3 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm30 آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E4 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 30 آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد، E6 : روغن خام که با ppm 50 آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد.

*حروف مشابه در ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0/05 می‌باشد.



شکل 3. زمان پایداری نمونه‌های روغن خام سویای صمغ‌گیری شده*

B: نمونه شاهد (روغن سویای خام)، H_2O: روغن صمغ‌گیری شده با (1 ، 2 ، 3 ، 4 درصد آب)، E1 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 50 آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E2 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm50 آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد، E3 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 30 آنزیم به همراه 1/5% آب صمغ‌گیری شد، E4 : روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب که با ppm 30 آنزیم به همراه 2/5% آب صمغ‌گیری شد.

*حروف مشابه در ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0/05 می‌باشد.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

• بحث

معمولاً روغن سویای خام حاوی 1/5 تا 2/5 درصد فسفاتید می‌باشد که به واریته دانه سویا، نحوه نگهداری دانه روغنی و روش استخراج روغن بستگی دارد (1). در تحقیق حاضر میزان فسفاتید روغن سویای خام مورد بررسی 1/49% به دست آمد، که با توجه به وارداتی بودن روغن مورد استفاده احتمالاً بخشی از صمغ آن پس از استخراج خارج گردیده است.

در فرایندهای تجاری مقدار آب مورد نیاز جهت صمغ‌گیری روغن خام سویا، معادل فسفاتید روغن خام می‌باشد. کمتر از این مقدار عمل صمغ‌گیری به طور کامل انجام نشده و بیشتر از آن موجب تشکیل امولسیون آب و روغن می‌گردد در نتیجه راندمان عمل صمغ‌گیری کاهش پیدا می‌کند (17، 1).

در تحقیق حاضر طی صمغ‌گیری با آب با افزودن 30% آب بیشترین کاهش در میزان فسفاتیدها حاصل شد که با توجه به سایر شرایط به کار رفته (دمای $60^{o}C$ و 30 دقیقه همزدن در دور 600rpm) راندمان 76/3 درصد به دست آمده که بالاترین میزان در این تحقیق بوده و نشان دهنده نقش آب به عنوان عامل هیدراته کننده و محدود کننده می‌باشد. نتایج نشان داد طی صمغ‌گیری روغن خام سویا اگر مقدار آب از 3 درصد بیشتر گردد احتمالاً به دلیل تشکیل امولسیون آب و روغن، موجب کاهش راندمان صمغ‌گیری خواهد شد که این یافته همسو با نتایج مطالعه صفری در سال 1387 می‌باشد (4).

نتایج مطالعه Indira و همکاران که به منظور بهینه سازی شرایط صمغ گیری روغن سبوس برنج با مقادیر مختلف 0.5 تا 4 درصد آب انجام گرفت، نشان داد که بهترین میزان آب اضافه شده 4 درصد می‌باشد (13).

در مطالعه Zufarov و همکاران در سال 2008 روغن کلزا و آفتابگردان را در دمای $80^{o}C$ با 5% آب، صمغ‌گیری کردند. در این تحقیق میزان فسفر در روغن کلزای به دست آمده از طریق حلال، از 863/6 به70/4 ppm و در روغن کلزای به دست آمده با پرس از 156/4 به60/9 ppm رسید و در روغن آفتابگردان به دست آمده از طریق حلال از 293/5 به 56/9 ppm و در روغن آفتابگردان به دست آمده با پرس از 95/7 به 50/1 ppm کاهش یافت (5).

در صمغ‌گیری آنزیمی، آنزیم به روغن سویای خام و روغن سویایی که با 3% آب صمغ‌گیری شده بود اضافه شد. نتایج نشان داد افزودن آنزیم جهت صمغ گیری روغن خام تأثیر چشمگیری بر کاهش میزان فسفر نداشت.

با توجه به مطالعات انجام شده و نتیجه تحقیق حاضر به نظر می‌رسد هرچه روغن فسفاتید کمتری داشته باشد راندمان فعالیت آنزیم بالاتر خواهد بود. به طوری که کاهش فسفر در صمغ‌گیری آنزیمی روغن خام (حاوی 497/22 ppm فسفر) نسبت به صمغ‌گیری آنزیمی روغن صمغ‌گیری شده با 3% آب کمتر بوده است. از طرف دیگر نتایج نشان می‌دهند که در صمغ‌گیری تکمیلی آنزیمی، در هر دو غلظت آنزیم، بیشترین کاهش در مقدار فسفر زمانی بدست آمده است که آب کمتری (1/5%) همراه آنزیم استفاده شده است در عین حال مقدار فسفر باقیمانده در نمونه‌های صمغ‌گیری شده با 50 ppm آنزیم کمتر از 30 ppm آنزیم می‌باشد، لذا با توجه به این که تفاوت آماری معنی‌داری بین مقدار کاهش فسفر در نمونه‌های صمغ‌گیری شده با آنزیم مشاهده نمی‌گردد شاید بکارگیری روش صمغ‌گیری آنزیمی با 30 ppm آنزیم به همراه 1/5% آب، از نظر اقتصادی توجیه بهتری داشته باشد.

Yang و همکاران در سال 2006 تحقیقی بر روی صمغ‌گیری روغن‌های کلزا و سویا با آنزیم لسیتاز اولترا انجام دادند، مقدار فسفر این دو روغن با صمغ‌گیری اسیدی در روغن‌های کلزا و سویا به ترتیب از 123/1 وppm 150/4 به 35/4 وppm 34/5 به ترتیب کاهش یافت و سپس صمغ‌گیری آنزیمی بر روی این دو روغن انجام گرفت که مقدار فسفر روغن کلزا به 8ppm و روغن سویا به 6ppm رسید (6). همچنین در تحقیق دیگری Yang و همکاران دو نوع روغن کلزا با مقادیر 212/4 و 120/5 ppm فسفر را توسط لسیتاز اولترا صمغ‌گیری کردند و توانستند میزان فسفر را به کمتر از 10 ppm کاهش دهند (9).

Yu و همکاران نیز در سال 2012 از طریق صمغ‌گیری آنزیمی توسط لسیتاز اولترا آزاد و لسیتاز اولترا تثبیت شده روی کلسیم آلژینات و کلسیم آلژینات-کیتوزان میزان فسفر روغن سویای خام را از 150 ppm به کمتر از 10 ppm رساندند (16).

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

Jahani (2008) شرایط صمغ‌گیری روغن سبوس برنج با آنزیم لسیتاز اولترا را بر اساس میزان فسفر باقی مانده در روغن و درصد اسیدهای چرب آزاد بهینه سازی کرد. میزان فسفر روغن در این تحقیق تحت شرایط بهینه (دما 49/2 درجه سانتی‌گراد، زمان 4/07 ساعت، میزان آنزیم 50 ppm و میزان آب اضافه شده 1/5 میلی لیتر در 100 گرم) از 196/25ppm به 10ppm کاهش یافت. با افزایش زمان صمغ‌گیری، میزان فسفر باقی مانده در روغن کاهش و درصد اسید چرب آزاد نیز افزایش یافت، بهترین زمان برای کمترین میزان فسفر و درصد اسید چرب آزاد 4/07 ساعت بود. با افزایش دما از 45°C به 50°C میزان فسفر باقی مانده در روغن کاهش یافت ولی افزایش دما به بالای 50 درجه سانتی‌گراد میزان فسفر در روغن افزایش یافت، در نتیجه افزایش دما از 45 به 50 درجه سانتی‌گراد، فعالیت هیدرولیتیکی آنزیم افزایش یافته اما وقتی دما به بالای 50°C میرسد، احتمالاً مقداری از آنزیم دناتوره و غیر فعال شده در نتیجه میزان فسفر باقی مانده در روغن افزایش می‌یابد. در این تحقیق میزان آب مصرفی همراه با آنزیم نیز مورد بررسی قرار گرفت بدین صورت که با افزایش میزان آب از 0/50 ml/100gr به 1/50 ml/100gr میزان فسفر باقی مانده در روغن کاهش یافت که به علت دخالت مستقیم آب در هیدرولیز فسفولیپیدها می‌باشد (14).

Yang در سال 2008 صمغ‌گیری روغن خام سویا که حاوی 121/5 mg/kg فسفر بود را با آنزیم لسیتاز اولترا انجام داد و روغن سویایی با کمتر از 10 mg/kg فسفر به دست آورد (15).

میزان اسید چرب آزاد روغن خام به شرایط نگهداری دانه، روش استخراج روغن و شرایط نگهداری آن بستگی دارد (20، 7).

میزان بالای اسید چرب آزاد در این نمونه‌ها به علت فعالیت آنزیم می‌باشد. فسفولیپازها یک دسته از آنزیم‌های هیدرولیتیک هستند که می‌توانند پیوند استری فسفولیپیدها را هیدرولیز کنند. آنزیم لسیتاز اولترا جزء فسفولیپازهای گروه A1 است که اسید چرب را در موقعیت یک از فسفولیپید جدا می‌کند (6).

استفاده از آنزیم در صمغ‌گیری روغن اختلاف معنی‌داری را بین درصد اسید چرب آزاد نمونه‌های E1, E2, E3 و E4 با نمونه شاهد و نمونه H_2O(3) ایجاد کرد که این اختلاف، به دلیل آزاد کردن اسید چرب از فسفولیپید به دنبال فعالیت آنزیم در روغن می‌باشد، درصد اسید چرب آزاد نمونه E6 نیز با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری است ($P<0/05$).

در استاندارد BS 7207 عدد اسیدی روغن سویای خام حداکثر 3 بیان شده است، این مقدار نسبت به عدد اسیدی نمونه E2 (1/27% اسید چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک که معادل عدد اسیدی2/52 است) که دارای بیشترین عدد اسیدی است، بیشتر بوده در نتیجه درصد اسید چرب آزاد نمونه‌های صمغ‌گیری شده در حد استاندارد است. اگرچه در طی صمغ‌گیری ممکن است درصد اسید چرب آزاد افزایش یابد اما در مراحل بعدی تصفیه یعنی خنثی سازی، اسید چرب آزاد از روغن خارج می‌گردد (21).

در تحقیقی که در سال 2008 توسط جهانی بر روی صمغ‌گیری آنزیمی (لسیتار اولترا) روغن سبوس برنج صورت گرفت، نتایج نشان داد که هنگام صمغ‌گیری آنزیمی درصد اسیدهای چرب آزاد از 1/6% در روغن خام سبوس برنج به 2/01 % افزایش یافت که این افزایش به علت واکنش هیدرولیزکنندگی آنزیم روی فسفولیپیدها بوده و می‌توان با بهینه کردن شرایط صمغ‌گیری، میزان افزایش درصد اسید چرب آزاد را به حداقل رساند. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش زمان صمغ‌گیری، میزان درصد اسید چرب آزاد در روغن افزایش می‌یابد و بهترین زمان برای کمترین میزان فسفر و درصد اسیدهای چرب آزاد 4 ساعت می‌باشد (14).

نتایج تحقیق دیگری که تأثیر آنزیم لسیتاز اولترا بر درصد اسید چرب آزاد روغن کلزا و سویا بررسی شد، نشان داد درصد اسیدهای چرب آزاد طی صمغ‌گیری آنزیمی افزایش می‌یابد. به طوری که درصد اسید چرب آزاد در روغن کلزا از 2/26% به 2/41 % و در روغن سویا از 1/04% به 1/20 % رسید (6). در این تحقیق اثر دما بر فعالیت فسفولیپازی و لیپازی آنزیم لسیتار اولترا نیز بررسی شد، وقتی دمای واکنش کمتر از 40°C باشد فعالیت لیپازی بیشتر از فعالیت فسفولیپازی آنزیم بوده اما با افزایش دما به بالای 40°C فعالیت فسفولیپازی بیشتر شده و در دمای 50°C به حداکثر رسیده و فعالیت لیپازی کاهش می‌یابد (6).

اختلاف بین زمان‌های پایداری روغن سویا قبل و بعد از صمغ‌گیری می‌تواند به دلیل حضور مقادیر مختلف

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

فسفولیپید، ترکیب فسفولیپیدها و ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده روغن باشد.

کاهش زمان پایداری روغن متناسب با کاهش میزان فسفولیپیدها می تواند بدلیل خاصیت سینرژیستی فسفولیپیدها باشد. نظر به اینکه روغن سویای خام، مورد بررسی قرار گرفته و بدلیل عدم فرایند تصفیه حاوی مقادیر قابل توجهی توکوفرول می باشد

فسفولیپیدها در روغن سویای خام که حاوی مقادیر قابل توجهی توکوفرول می باشد دارای خاصیت سینرژیستی هستند. بعبارت بهتر خاصیت آنتی اکسیدانی توکوفرول‌ها را تشدید نموده و باعث افزایش زمان پایداری روغن می گردند. اما طی فرایند صمغ گیری که مقدار فسفولیپیدها کاهش می‌یابد، این خاصیت سینرژیستی نیز از بین رفته و زمان پایداری روغن کاهش می یابد (17).

در تحقیقی اثر آنتی اکسیدانی لسیتین تجاری بر روی روغن تصفیه شده پریلا که دارای 39/3 میلی گرم بر گرم توکوفرول است بررسی شد. نتایج نشان داد که خواص آنتی‌اکسیدانی لستین تجاری بسته به نوع آن متفاوت است و خواص آنتی اکسیدانی در بخش محلول در الکل، که دارای فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانول آمین بیشتری است، نسبت به بخش نامحلول در الکل افزایش می‌یابد، به علاوه اثر آنتی اکسیدانی لستین تجاری با افزایش اسکوربیل پالمیتات و اسید سیتریک افزایش می‌یابد که به نظر می‌رسد مربوط به خواص سینرژیستی این دو ترکیب با لسیتین باشد (22).

Hudson و قوامی (1983) خواص سینرژیستی فسفولیپیدها در اتواکسیداسیون روغن‌های خوراکی را بررسی کرده و نشان دادند برخی فسفولیپیدهای خاص به ویژه فسفاتیدیل اتانول آمین، یک اثر سینرژیستی را با آنتی‌اکسیدان‌های اولیه توکوفرول‌ها در اتواکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیر اشباعی در یک سیستم مدل بر پایه روغن خوک و سویا دارا هستند. آنان نشان دادند که این تأثیر مربوط به ترکیب شیمیایی فسفولیپیدها است که فسفاتیدیل کولین در مقایسه دارای اثر کمتر و فسفاتیدیل اینوزیتول بدون تأثیر و حتی اثر منفی بوده است (11).

افزایش درصد اسید چرب آزاد در نمونه‌های صمغ‌گیری شده با آنزیم می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش زمان پایداری این نمونه‌ها باشد.

در مجموع یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که صمغ‌گیری آنزیمی برای روغن سویای خام که حاوی مقدار قابل توجهی فسفاتید می‌باشد روش مناسبی نبوده و بهتر است صمغ‌گیری آنزیمی به عنوان یک روش تکمیلی مورد استفاده قرار گیرد.

• References

1. Hui YH. Bailey's industrial oil and fat products. 6th Edition. John wiley and sons. New York. 2005; 2: 577-578.
2. Zufarov O, Schmidt S, Sekretár S. Degumming of rapeseed and sunflower oils. Acta Chimica Slovaca, 2008; 1:321-328.
3. Fatemi H. A textbook of food chemistry. 5nd ed. Sahami enteshar company. 2008. p. 164-166 [in Persian].
4. Safari M, A textbook of technology of edible oil and fat. 3nd ed. Tehran University, 2008; p.187-191[in Persian].
5. Whitehurst R J , Oort M. editors. Enzymes in Food Technology. 2th ed. Wiley-Blackwell. 2010. p. 344-351.
6. Yang JG, Wang YH, Yang, B, Mainda, G, Guo, Y. Degumming of Vegetable Oil by a New Microbial Lipase. Food Technol Biotechnolo 2006; 44: 101-104.
7. Malek F. A text book of edible oils and fats processing technology, 2nd ed. Gholami. 2008. p.190-193[in Persian].
8. Buchold. Process for enzymatically degumming vegetable oil. U. S. Patent 5, 1996; 558, 781.
9. Yang B, Yong HW, Yang JG. Optimization of enzymatic degumming process for rapeseed oil. J Am Oil Chem Soc 2006; 83: 653-658.
10. Clausen K. Enzymatic oil-degumming by a novel microbial phospholipase. Eur J Lipid Sci Tech 2001; 103: 333-340.
11. Hudson BJF, Ghavami M. Phospholipids as Antioxidant Synergists for Tocopherol in the Autoxidation of Edible Oils. University of Reading, 1983; 191-194.

12. List G, Avellaneda J, Mounts T. Effect of Degumming conditions on Removal and Quality of Soybean Lecithin. J Am Oil Chem Soc 1981; 58: 892-901.

13. Indira T, Hemavathy J, Gopala Krishna AG . Water degumming of rice bran oil: a response surface approach. J Food Eng 2000; 43: 83-90.

14. Jahani, M, Alizadeh M, Pirozifard M, Qudsevali A. Optimization of enzymatic degumming process for rice bran oil using response surface methodology**.** LWT-FOOD Sci Technol 2008; 41: 1892-1898.

15. Yang B, Zohn R, Yang JG, Wang Y, Wang W. Insight into the Enzymatic Degumming Process of Soybean Oil,. J Am Oil Chem Soc 2008; 85; 421-425.

16. Yu D, Jiang L, Li Z, Shi J, Xue J, Kakuda Y. Immobilization of Phospholipase A1 and its Application in Soybean Oil Degumming. J Am Oil Chem Soc 2012; 89: 649-656.

17. Eshratabadi P, Fatemi H, Ghavami, M. Synergistic effect of soybean oil phospholipids. J Food Technol and Nut 2007; 4:42-46 [in Persian]

18. AOCS, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.1998. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL

19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Stability measurement of edible oils and fats against oxidation. ISIRI no 3734., Karaj: ISIRI; 1996 [in Persian].

20. Gunstone F. The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, properties and Uses. Blackwell. 2004

21. British Standard. Specification for crude vegetable fats. BS. 7207, British Standard Institute.1990.

22. Shin HS, Jang KW. Antioxidant effects of commercial lecithin on perilla oil. Food Sci Biotechnol 1997; 6: 5-7.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 11:09 +0330 on Saturday February 13th 2021

Enzymatic Degumming of Crude Soybean Oil with Lecitase Ultra

*Mirnejad Khabaz S[*1], Gharachorloo M [2], Azin M[3], Ghavami M[4], Ghiassi Tarzi B[2]*

*1-*Corresponding Author: M.Sc. in Food Science & Technology, Faculty of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran .Email:* sanaz.mirnejad@yahoo.com

2-Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Associate Prof, Dept. of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science & Technology, Tehran, Iran

4- Associate Prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received 9 Jan, 2014 **Accepted 30 Apr, 2014**

Background and Objective: Degumming is the first step of oil refining, and aims to remove phospholipids from oil that can be done in several ways. In this study, enzymatic degumming of soybean oil was carried out as a novel method with the aim of finding the best conditions to reduce the amount of phosphorus.

Materials and Methods: Crude soybean oil was degummed with different amounts of water (1, 2, 3 and 4%), and the amount of phosphorus, free fatty acid content and induction period were determined. Since degumming with 3% water makes the best result in the reduction of phosphorus amount, crude and degummed (with 3% water) soybean oils were degummed by using 30 or 50 ppm enzyme; Lecitase Ultra. Phosphorus, free fatty acid content and stability were determined before and after the treatments.

Result: The greatest decrease in phosphorus content was obtained by degumming with 3% of water such that the amount of phosphorus increased from 497.22 ppm in crude oil to 117.82 ppm in the degummed oil; which indicates 76.3% decline. The results indicated that enzymatic degumming of crude soybean oil, containing a significant amount of phospholipids, is not an appropriate method, while the oil degummed with 3% water, containing lower amounts of phospholipids (117.82 ppm), was further degummed with Lecitase Ultra. Regardless of differences in enzyme dose (30 or 50 ppm), the amount of phosphorus reduced to less than 70 ppm.

Conclusion: Enzymatic degumming of crude soybean oil, which contains a significant amount of phospholipids seemingly is not a suitable method; however, it might be used as a supplementary method for additional degumming.

Keywords: Crude soybean oil, Phospolipids, Enzymatic degumming, Lecitase Ultra