

УДК 665.334.9:663.15

EFFECT OF PREVIOUS ENZYMATIC TREATMENT OF RAPESEED MEAL ON THE LIPASE ACTIVITY AND OIL QUALITY

T. Nosenko, A. Cherstva, T. Korolyuk
National University of Food Technologies

<p>Key words:</p> <p><i>Rape seeds</i> <i>Cellulases</i> <i>Proteases</i> <i>Lipase</i> <i>Peroxid number</i> <i>Anisidine number</i> <i>Meal</i> <i>Oil</i></p> <hr/> <p>Article history: Received 15.09.2017 Received in revised form 06.10.2017 Accepted 19.10.2017</p> <hr/> <p>Corresponding author: T. Nosenko E-mail: npnuht@ukr.net</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>The effect of previous enzymatic treatment of rapeseed meal on the lipase activity and the quality indices of the extracted oil was investigated in this study. The mixture of enzyme preparations with cellulolytic and proteolytic activity CELIULAD and PROTOLAD (Enzim, Ukraine) was used for the previous enzymatic treatment of rapeseed meal. It was shown that lipase activity in rapeseed meal, which was subjected to previous enzymatic treatment, was lower compared to control and amounted to approximately 66% of the lipase activity in the control sample. The content of free fatty acids and carbonyl compounds in rapeseed oil after the previous enzymatic treatment of the meal was significantly lower compared to the control oil sample. At the same time, the peroxide value of the oil extracted from the processed meal was significantly higher compared to the control sample; however, it was within the values regulated by the standard. The use of enzyme pretreatment in the preparation of rape seeds to the pressing allows the obtaining of high quality oil with antioxidant stability.</p> <hr/> <p>DOI: 10.24263/2225-2924-2017-23-5-1-28</p>
---	---

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНЬОЇ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ОБРОБКИ РІПАКОВОЇ М'ЯТКИ НА АКТИВНІСТЬ ЛІПАЗИ ТА ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ОЛІЇ

Т.Т. Носенко, А.О. Черства, Т.А. Королюк
Національний університет харчових технологій

У статті досліджено вплив попередньої ферментативної обробки ріпакової м'ятки на активність ліпази та показники якості вилученої олії. Для попередньої ферментативної обробки ріпакової м'ятки було використано суміш ферментних препаратів із целюлозолітичною та протеолітичною активністю целюлад та протолад («Ензим», Україна). Відповідно до отриманих результатів, активність ліпази у ріпаковій м'ятці, яка піддавалася попередній ферментативній обробці, була нижчою порівняно із контролем, і становила приблизно 66% від активності ліпаз у необробленому зразку

м'ятки. Вміст вільних жирних кислот і карбонільних сполук у ріпаковій олії після попередньої ферментативної обробки м'ятки був суттєво нижчим порівняно із контрольним зразком олії. У той же час пероксидне число олії, вилученої з обробленої м'ятки, було значно вищим порівняно із контрольним зразком, проте знаходилося у межах значень, регламентованих стандартом. Використання комбінованих ферментних препаратів під час підготовки насіння ріпаку до стадії пресування дає змогу вилучити олію високої якості та антиокиснювальної стабільності.

Ключові слова: насіння ріпаку, целюлази, протеази, ліпази, пероксидне число, анізидинове число, м'ятка, олія.

Постановка проблеми. Одним із найпоширеніших методів вилучення олії із олійної сировини є пресовий метод. На ефективність пресування олійної сировини впливає значна низка факторів, які, у свою чергу, залежать від параметрів обробки олійного матеріалу. Стан сучасних технологій видобування рослинних олій спонукає науковців до розробки та впровадження технологій, які б забезпечували збільшення виходу пресової олії та були екологічними і безпечними. Одним із способів підвищення ефективності пресування є використання попередньої ферментативної обробки олійного матеріалу як методу підготовки до пресового вилучення олії.

Згідно з робочою гіпотезою ферментні препарати із целюлозолітичною та протеолітичною активністю спричиняють ферментативний гідроліз клітинних стінок насіння, внаслідок чого клітинна оболонка обробленого матеріалу буде мати вищу проникність для олії. Проте біохімічні зміни, які відбуваються у сировині під впливом такої обробки, потребують більш ретельних досліджень.

Практичне значення одержаних результатів для олійножирової галузі полягає у розробленні технології обробки ріпакової м'ятки ферментними препаратами із целюлозолітичною та протеолітичною активністю для підвищення ефективності пресового вилучення олії.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Попередніми дослідженнями встановлено, що низка ферментів з целюлолітичною, геміцелюлазною чи пектиназною активностями можуть бути ефективно використані на різних стадіях процесу вилучення олії [1—6].

Результати досліджень фізико-хімічних параметрів сезамової олії свідчать про те, що показник заломлення, число омилення, йодне число і кількість неомілюваних речовин залишаються незмінними для олій, незважаючи на спосіб вилучення з олійного матеріалу [7]. Було встановлено, що пероксидне число після процесу водно-ферментативного екстрагування знаходиться в межах від 0,64 до 0,72 ммоль $\frac{1}{2}$ O/кг, а після екстрагування з використанням органічного розчинника — 1,29 ммоль $\frac{1}{2}$ O /кг [7].

Досліджено, що вміст α -токоферолу у олії після водно-ферментативної і традиційної екстракції значно вищий, ніж у контрольному (без додавання ферментного препарату) зразку. Концентрація α -токоферолу, залежить від обра-

ного ферменту і може різко коливатися. Збільшення вмісту токоферолів в олії є однією з причин більш низького вмісту первинних продуктів окиснення [8; 9].

Вихід пресової лляної олії, отриманої методом холодного віджиму з використанням попередньої обробки сировини ферментами, був вищим порівняно з олією, вилученою розчинником [2; 10], та із контролем. Відмінностей значень числа омилення, вмісту неомилюваних речовин і вільних жирних кислот не виявлено. Олія, отримана методом попередньої ферментативної обробки, мала кращі органолептичні показники, нижче значення анізидинового числа та більш тривалий період індукції окиснення. Олія, отримана у такий спосіб, мала більшу антиоксидантну активність, а також загальну кількість фенолів та індувальних фенольних кислот.

Більш висока окиснювальна стійкість, визначена за значенням пероксидного, анізидинового чисел та індукційного періоду окиснення, олії, одержаної методом водно-ензимного екстрагування, була виявлена також авторами досліджень [11—14].

Мета статті: дослідити вплив попередньої ферментативної обробки ріпакової м'ятки на ензиматичну активність м'ятки й антиоксидантні властивості пресової ріпакової олії.

Матеріали і методи. У дослідженні використано низькоерукове низькоглюкозинолатне насіння ріпаку *Brassica napus* та ферментні препарати целюлад (комплексний ферментний препарат целюлази для гідролізу некрохмальних полісахаридів сировини, «Ензим», Україна) та протолад (ферментний препарат бактеріальної протеази, «Ензим», Україна).

Визначення фракційного складу частинок ріпакової м'ятки. Розділення виконували методом просіювання матеріалу через комплект сит, який складався з 4 сит з розміром отворів: 0,25; 0,5; 1; 2 мм. Просіювання виконували протягом 3—5 хв, визначали масу сходу із кожного сита, а також прохід через найнижче сито.

Визначення активності ліпази ріпакової м'ятки. Наважку м'ятки ($16,0 \pm 0,1$) г ретельно розтирали у фарфоровій ступці з невеликою кількістю води. Отриману суспензію переносили в мірну колбу ємністю 200 см^3 і доводили водою до мітки. Піпеткою відбирали 25 см^3 добре перемішаної суспензії в колбу ємністю 250 см^3 , додавали 20 см^3 10-відсоткової емульсії ріпакової олії у воді і 10 см^3 фосфатного буферного розчину з рН 5. До суміші додавали декілька крапель толуолу для запобігання мікробіологічних процесів, закривали колбу корком і ставили в термостат за температури $35\text{—}38^\circ \text{C}$. Після експонування проби протягом доби до вмісту колби додавали 50 см^3 спирто-ефірної суміші (4:1) і титрували 0,1 н. розчином КОН за наявності фенолфталеїну. Контрольне визначення проводили аналогічно, для попередньої інактивації ліпази суспензію м'ятки кип'ятили декілька хвилин перед термостатуванням. Всі визначення повторювали тричі, відбираючи по 25 см^3 із 200 см^3 суспензії.

Активність ферменту визначили за формулою:

$$x = \frac{(V_1 - V_0) \cdot K \cdot 800}{P(100 - B)},$$

де x — активність ліпази в см^3 0,1 н. розчину КОН витраченого на нейтралізацію вільних жирних кислот, які утворилися під дією ліпази, що містилася в 1 г сухої м'ятки; V_1 — кількість см^3 0,1 н. розчину КОН, витраченого на титрування робочої проби; V_0 — кількість см^3 0,1 н. розчину КОН витраченого на титрування контрольної проби; K — поправка до нормальності розчину лугу; 800 — коефіцієнт, отриманий в результаті скорочення $\left(\frac{200 \cdot 100}{25}\right)$; P — наважка м'ятки в г; B — вологість м'ятки в %.

Пероксидне число визначали згідно з ДСТУ ISO 3960-2001 (ISO 3960:1998, IDT) [15], анізидинове — за ДСТУ ISO 6885-2002 [16].

Загальний вміст токоферолів визначали спектрофотометричним методом [17]. Для цієї мети 0,5 г олії омилювали в спиртовому розчині гідроксиду калію протягом 30 хв. Неомилені речовини екстрагували тричі диетиловим ефіром. Об'єднаний екстракт промивали дистильованою водою і висушували сульфатом натрію протягом 30 хв. Після цього ефір відганяли на роторному випарювачі при температурі 40—50° С, а залишок розчиняли в метанолі об'ємом 5 см^3 . До 1 см^3 розчину додавали 3 см^3 метанолу, 1 см^3 0,1-ідсоткового розчину о-фенантроліну в метанолі і 1 см^3 0,25 %-вого розчину хлориду заліза (III) у метанолі. Реакцію проводили 3 хв у темному місці, оптичну густину розчину вимірювали на довжині хвилі 490 нм і визначали концентрацію токоферолів за калібрувальним графіком, побудованим із використанням стандартних розчинів токоферолу концентрацією від 1 до 100 $\text{мг}/\text{см}^3$.

Результати та їх обговорення. Ступінь подрібнення олійного насіння впливає на технологічні властивості (пластичність, розмір пор) підготовленої мезги. Збільшення ступеня подрібнення олійного насіння може вплинути також на активність ліпази. Згідно з традиційною технологією, в олійній м'ятці повинні переважати частинки із розмірами 1 мм.

Одержана ріпакова м'ятка мала оптимальний ступінь подрібнення і складалась більш ніж на 60% з однорідних за розміром частинок, що проходять крізь сито з отворами 1 мм (табл. 1), містила невеликий відсоток цілих незруйнованих насінин (2,5%), частка надто дрібних (борошнистих) частинок у ній складала 6,6%.

Таблиця 1. Фракційний склад частинок ріпакової мятки

$d_{\text{отворів}}$, мм	Масова частка фракції, % від загального вмісту
0,25	6,6±0,5
0,50	14,1±0,6
1,00	76,8±1,2
2,00	2,5±0,4
Разом	100

Відомо, що внаслідок подрібнення насіння в процесі приготування м'ятки в ній зростає активність таких гідролітичних ферментів, як ліпази. Насамперед дія цього ферменту призводить до гідролізу триацилгліцеролів і таким чином

до погіршення якості одержаної олії (збільшення кислотного числа). За тривалої обробки зі збільшеною вологістю матеріалу ймовірність активації ліпаз олійної м'ятки суттєво зростає.

У зв'язку з цим нами були проведені дослідження активності ліпаз м'ятки насіння ріпаку, яка піддавалася попередній ферментативній обробці.

Дослідження активності ферменту проводили у ріпаковій м'ятці після її оброблення комплексом ферментних препаратів (Целюлад 24,0 од/г; Протолад 39,7 од/г) протягом 2 год, за температури (40 ± 5) °С. Активність ліпаз порівнювали із контрольним зразком, який піддавався нагріванню за такої ж температури протягом 2 год без додавання суміші ферментних препаратів. Наведені результати визначення активності ліпази (табл. 2) свідчать, що ліпазна активність у контрольному зразку була вищою, а саме — $6,85 \text{ см}^3 0,1 \text{ Моль КОН/г}$. Активність ліпази у ріпаковій м'ятці, що піддавалася попередній ферментативній обробці, була нижчою порівняно з контролем.

Незважаючи на те, що ліпаза ріпакового насіння хоча і належить до класу гідролітичних ферментів, але цей фермент має оптимум рН 4,7—5,0, у той час як використані у дослідженні ферментні препарати мали оптимальне значення рН у нейтральному середовищі.

Таблиця 2. Активність ліпази ріпакової м'ятки

Спосіб обробки м'ятки	Активність ліпази, $\text{см}^3 0,1 \text{ Моль КОН/г м'ятки}$
Ріпакова м'ятка (контроль) без ферментативної обробки	$6,85 \pm 0,2$
Ріпакова м'ятка, оброблена комплексом ферментних препаратів (Целюлад 24,0 од/г; Протолад 39,7 од/г) протягом 2 год, (40 ± 5) °С, рН=6,8	$4,49 \pm 0,5$

Використання ферментних препаратів у технології пресового вилучення ріпакової олії ставить актуальним питання щодо її якості та антиокиснювальної стабільності. Для з'ясування даного питання було проведено дослідження впливу попередньої ферментативної обробки м'ятки на значення основних показників якості ріпакової олії (кислотного, пероксидного та анізидинового числа, вмісту токоферолів).

Як свідчать одержані дані, кислотне число ріпакової олії було нижчим за значення цього показника для контрольного зразка олії (табл. 3). Більш низькі значення кислотного числа олії, одержаної після ферментативної обробки м'ятки, очевидно зумовлені нижчою активністю ліпаз у м'ятці. Значення пероксидного числа зразків олії, одержаної після ферментативної обробки м'ятки, були вищі від значень контрольного зразка олії, проте пероксидне число олії не перевищувало значень, регламентованих стандартом. У той же час вміст вторинних продуктів окиснення, визначений за значенням анізидинового числа, у ріпаковій олії, одержаній після попередньої ферментативної обробки, був нижчим порівняно з контрольним зразком олії.

Таблиця 3. Показники якості зразків пресової ріпакової олії

Параметри	Кислотне число, мг КОН/г	Пероксидне число, ммоль ½ О/кг	Анізидинове число	Масова частка токоферолів, мг/100 г
Контроль	0,9±0,06	1,8±0,31	1,8±0,1	20,9±0,4
Ріпакова олія після попередньої ферментативної обробки (Целюлад 24,0 од/г; Проголад 39,7 од/г) 2 год, (40±5) °С	0,2±0,03	4,7±0,43	1,1±0,2	21,4±0,5

В одержаних зразках пресової ріпакової олії також було визначено вміст токоферолів, сполук, що мають виражені антиоксидантні властивості. Загальний вміст токоферолів у досліджених зразках олії практично не відрізнявся. Наведені дані можуть свідчити про потенційну окиснювальну стійкість ріпакової олії, одержаної після попередньої ферментативної обробки.

Висновки

Таким чином, одержані результати активності ліпаз і показників якості ріпакової олії, які визначають антиокиснювальну стабільність олії, свідчать, що олія, одержана методом попередньої ферментативної обробки ріпакової м'ятки, має низький вміст вільних жирних кислот і карбонільних сполук.

На основі одержаних результатів можна рекомендувати технологію пресового вилучення ріпакової олії із використанням попередньої ферментативної обробки до практичного застосування.

Література

1. *Abdulkarim S, Long K, Lai M, Muhammad S, Ghazali H.* (2005), Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods, *Food Chem.* 93, pp. 253—263.
2. *Anwar F, Zreen Z, Sultana B, Jamil A.* (2013), Enzyme-aided cold pressing of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): Enhancement in yield, quality and phenolics of the oil, *Grasas y aceites*, 64 (5), octubre-diciembre, pp. 463—471.
3. *Che Man Y, Suhardiyono A, Asbi A, Azudin M, Wei L.* (1996), Aqueous enzymatic extraction of coconut oil, *Journal of American Oil Chemist's Society*, 73, pp. 683—686.
4. *Dominguez H, Nunez M, Lema J.* (1993), Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: range of operational variables, *Food Chemistry*, 46, pp. 277—284.
5. *Dominguez H, Nunez M, Lema J.* (1994), Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review, *Food Chemistry*, 49, pp. 271—286.
6. *Zhang S, Wang Z, Xu S.* (2007), Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates, *J. Am Oil Chem. Soc.*, 84, pp. 97—105.
7. *Latif S, Anwar F.* (2011), Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chem.*, 125, pp. 679—684.
8. *Koroliuk T, Usatiuk S, Popova A, Cherstva A.* (2015), Technology of making walnut oil using enzyme preparation, *Scientific Works of NUFT*, 21(2), pp. 231—234.
9. *Latif S, Anwar F, Hussain A, Shahid M.* (2011), Aqueous enzymatic process for oil and protein extraction from Moringa oleifera seed, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 11, pp. 1012—1018.
10. *Latif S, Anwar F, Ashraf M.* (2007), Characterization of enzyme-assisted cold-pressed cottonseed oil, *Jornal of Food Lipids*, 14, pp. 424—436.

11. *Rosenthal A, Pyle D, Niranjana K.* (1996), Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction, *Enzyme Microbial Technology*, 19, pp. 402—420.
12. *Smith D, Agrawal Y, Sarkar B, Singh B.* (1993), Enzymatic hydrolysis pretreatment for mechanical expelling of soybeans, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, pp. 885—890.
13. *Sosulski K, Sosulski F.* (1993), Enzyme-aided vs. two-stage processing of canola: technology, product quality and cost evaluation, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, pp. 825—829.
14. *Soto C, Chamy R, Zuniga M.* (2007), Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing, *Food Chemistry*, 102, pp. 834—840.
15. Жири та олії. Тваринні і рослинні. Визначання пероксидного числа. (ISO 3960:1998, IDT) : ДСТУ ISO 3960-2001. — [Чинний від 01.01.2003]. — Київ : Державний комітет України з питань технічного регулювання та споживчої політики, 2002. — 6 с.
16. Жири та олії тваринні і рослинні. Визначання анізидинового числа (ISO 6885:1998, IDT) : ДСТУ ISO 6885-2002. — Введ. в дію 01.10.03. — Київ : Держспоживстандарт України, 2003. — 11 с.
17. Масла растительные. Методы определения массовых долей витаминов А и Е: ГОСТ 30417-96. — Дата введ. 01.01.1999. — Київ: ГОССТАНДАРТ України, 1998. — 12 с.