

USING THE NEW ENZYME PREPARATIONS IN PROCESSING OF SUNFLOWER OIL WASTE

T. Nosenko, D. Zhupanova

National University of Food Technologies

Key words:

Oil waste
Phospholipids
Phospholipases
Sunflower oil

Article history:

Received 10.11.2023
Received in revised form
23.11.2023
Accepted 07.12.2023

Corresponding author:

T. Nosenko

E-mail:

tamara_nosenko@ukr.net

Citation: Т. Т. Носенко, Д. О. Жупанова (2023). Аналіз тенденцій споживання енергетичних ресурсів харчовою промисловістю України. *Наукові праці НУХТ*, 29(6), 122—133.
DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-6-11

ABSTRACT

Recently, phospholipase enzyme preparations have been increasingly used in the technology of vegetable oil degumming for phospholipids. It was also proposed to use them for processing of waste products from oil degumming. The purpose of this work was to investigate the possibility of using new phospholipase preparations for oil recovery from sunflower oil waste and their effect on oil quality.

The enzyme preparations of the Novozymes company (Denmark) Lecitase® Ultra, Quara® Low P, and Quara® Boost were used in this work. Pre-treatment of sunflower oil waste with phospholipase enzyme preparations increased the efficiency of oil recovery from waste. The yield of oil was approximately the same when using enzyme preparations with both the activity of phospholipase A (Lecitase® Ultra, Quara® Low P) and phospholipase C (Quara® Boost). It was 78—80% for one of the studied samples, which is about 60% higher than the amount of recovered oil from the control sample. The main change in the composition of phospholipids after treatment with phospholipases was the appearance of phosphatidic and polyphosphatidic acids. Treatment of one of the waste samples with preparations with phospholipase A activity (Lecitase® Ultra, Quara® Low P) led to an increase in the content of free fatty acids in the recovered oil compared to the control, increase in acidity was also observed as a result of treatment with an enzyme preparation with phospholipase C activity (Quara® Boost). At the same time, the oil recovered from another sample had lower acid number values after treatment by every three enzyme preparations. The content of peroxide compounds in the oil recovered from the waste was low and according to the requirements for edible oil. The phosphorus content was also insignificant in the recovered oils. The recovered oil had significant antioxidant activity.

The obtained results indicate the prospects of using new enzyme preparations with phospholipase activity for oil recovery from oil waste.

ВИКОРИСТАННЯ НОВИХ ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПЕРЕРОБКИ ФУЗУ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ

Т. Т. Носенко, Д. О. Жупанова

Національний університет харчових технологій

Фосфоліпазні ферментні препарати останнім часом все ширше використовують у технології дегумування рослинних олій з метою вилучення фосфоліпідів і зменшення жирових відходів. Було запропоновано також їх застосування і для переробки відходів гідратації фосфоліпідів рослинних олій — гідратаційних осадів.

У статті досліджено можливості використання нових фосфоліпазних препаратів для вилучення олії з фузів соняшникової олії та їх впливу на показники якості олії.

Використано ферментні препарати компанії Novozymes (Данія) Lecitase® Ultra, Quara® Low P та Quara® Boost. Попередня обробка соняшникового фузу ферментними препаратами призводила до підвищення ефективності вилучення олії. Вихід олії був приблизно однаковий за використання ферментних препаратів з активністю фосфоліпаз А (Lecitase® Ultra, Quara® Low P), так і фосфоліпази С (Quara® Boost) і становив для одного з дослідженого фузу 78—80%, що приблизно на 60% вище за кількість вилученої олії з контролю. Основними змінами в груповому складі фосфоліпідів після обробки фосфоліпазами була поява фракції фосфатидних і поліфосфатидних кислот. Обробка одного зі зразків фузу препаратами з активністю фосфоліпази А (Lecitase® Ultra, Quara® Low P) призводила до підвищення вмісту вільних жирних кислот в олії порівняно з контролем, незначне підвищення кислотності спостерігалось і внаслідок обробки фузу ферментним препаратом з активністю фосфоліпаз С (Quara® Boost). Водночас олія, вилучена з іншого зразка фузу в присутності всіх трьох ферментних препаратів, мала нижчі значення кислотного числа. Вміст пероксидних сполук в олії, вилученій з фузу, був низьким і відповідав вимогам до харчової олії. Масова частка фосфоровмісних речовин у вилучених оліях теж була незначною. Олія, вилучена з фузів, мала суттєву антиоксидантну активність.

Одержані результати свідчать про перспективність використання нових ферментних препаратів з фосфоліпазною активністю для вилучення олії з олійних фузів.

Ключові слова: олійний фуз, фосфоліпіди, фосфоліпази, соняшникова олія.

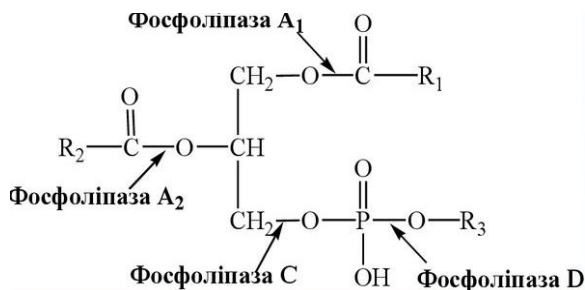
Постановка проблеми Зберігання та переробка рослинних олій супроводжуються утворенням значної кількості жирових відходів. У таких відходах, як правило, міститься частка рослинної олії, супутні рослинним оліям ліпіди та речовини нежирової природи. До жирових відходів олійної галузі відносяться фузи олійні, відходи гідратації олії, соапстоки, відпрацьовані фільтраційні порошки та відбійні глини, відходи дезодорації тощо. Відходи гідратації олії використовуються

для збагачення кормів, сопстоки — для виробництва мила, відпрацьовані фільтраційні порошки — для вилучення восків, деодистиляти — для одержання токоферолів і фітостеролів.

Під час зберігання в баках сирої олії утворюється фуз олійний — осад, що складається з фосфатидів (до 15%), води, нежирових домішок та олії (до 95%). Масова частка олійного фузу може досягати до 10% від маси нерафінованої олії. Переробка таких фузів на олійних підприємствах, зазвичай, не здійснюється. Під час тривалого зберігання фузів на підприємствах значна частка олії вилучається з осаду. Проте внаслідок тривалого зберігання та високого вмісту води така олія має низьку якість і використовується як технічна. Крім того, олійні фузи відповідної якості безпосередньо використовуються для збагачення комбікормів. Зважаючи на значний вміст олії у фузах, вилучення та використання олії з них може зменшити кількість жирових відходів на підприємствах олійної галузі та підвищити рентабельність виробництва рослинних олій.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. До складу олійних фузів входять фосфоліпіди, які в процесі зберігання олії втрачають розчинність у триацилгліцерилах, внаслідок чого випадають в осад. Основними групами фосфоліпідів у рослинних оліях є фосфатидилхоліні (PC), фосфатидилетаноламіни (PE), фосфатидилсерини (PS) і фосфатидилінозитолі (PI) (Dijkstra, 2017). Співвідношення окремих груп фосфоліпідів у різних олій різне і залежить як від видових, так і сортових особливостей.

Фосфоліпіди рослинних олій мають високі емульгувальні властивості і таким чином перешкоджають розділенню олійного фузу на фракції та вилученню олії. Одним із методів зміни емульгувальних властивостей фосфоліпідів є їх частковий гідроліз. Як правило, внаслідок гідролізу утворюються лізофосфати та вільні жирні кислоти. Каталізаторами реакцій гідролізу фосфоліпідів є кислоти або луги. Крім того, гідроліз фосфоліпідів може відбуватись під дією фосфоліпаз. Набір продуктів, що утворюється внаслідок ферментативного гідролізу, залежить від типу фосфоліпази. Відомі чотири типи фосфоліпаз, які каталізують реакції гідролізу складноєфірних зв'язків фосфоліпідів у різних положеннях. Фосфоліпази А (A1 та A2) гідролізують зв'язки з радикалами жирних кислот з утворенням лізофосфоліпідів і вільних жирних кислот (Heinze, & Roos, 2013). Фосфоліпази A1 і A2 від'єднують жирні кислоти в позиції 1 і 2 гліцеролу відповідно (Guiotto, Tomás, & Diehl, 2015). Фосфоліпази типу C гідролізують фосфоліпіди з утворенням диацилгліцеролів та естерів фосфатної кислоти (Sempoli та ін., 2021). Внаслідок гідролізу фосфоліпідів під дією фосфоліпаз типу D утворюються фосфатидні кислоти й аміноспирти, амінокислоти тощо:



Використання фосфоліпаз для дегумування (вилучення фосфоліпідів та інших супутніх речовин) рослинних олій було вперше запропоновано компанією Лургі (European patent 0513709. An enzymatic method for reducing the amount of phosphorus-containing components in vegetable and animal oils). Унаслідок гідролізу фосфоліпідів під дією фосфоліпаз негідровані форми фосфоліпідів перетворюються в гідровані та переходять в гідратаційний осад (Sampaio та ін., 2015). Перевагою ферментативного дегумування рослинних олій є зменшення кількості відходів гідратації та вмісту фосфору в олії, підвищення виходу олії й рентабельності виробництва (Lamas, Constenla, & Raab, 2016). Для ферментативного дегумування рослинних олій використовують фосфоліпази А та С (Dijkstra, 2010). Першими ферментними препаратами, які були використані для гідратації фосфоліпідів, були Lecitase® 10L (панкреатична фосфоліпаза А2) та Lecitase® Novo — фосфоліпаза А1 мікробіологічного походження, продуцентами якої є *Fusarium oxysporum* та *Thermomyces lanuginose*. Розвиток біотехнології сприяв появі на ринку нових ферментних препаратів із фосфоліпазною активністю (Qun An та ін., 2016, Claudia Elena та ін., 2017). Зокрема, доступними стали такі ферментні препарати, як фосфоліпаза С (Purifine®) й ацилтрансфераза LysoMax® з активністю фосфоліпази А2. Особливістю препарату LysoMax® є те, що продуктами реакції є лізофосфатиди та стеролові естери жирних кислот. Компанія Novozymes (Данія) розробила цілу низку ферментних препаратів з фосфоліпазною активністю. Зокрема, препарат Lecitase® Ultra представлений на ринку з 2003 р. і є генетично модифікованою фосфоліпазою з використанням мікроорганізмів *Thermomyces lanuginose* та *Fusarium oxysporum* (Virgen-Ortíz та ін., 2019). У 2016 р. Novozymes був представлений новий термостабільний і кислотостійкий препарат Quara® LowP з активністю фосфоліпази А1, вилученої із *Talaromyces leycettanus*, має часткову активність також щодо естерного зв'язку у положенні sn-2. У 2020 р. на ринку з'явився новий препарат компанії Quara® Boost з активністю фосфоінозитол фосфоліпази С та фосфоліпази С, отриманий ферментацією генетично модифікованого мікроорганізму *Bacillus licheniformis*. Препарат специфічний до трьох із чотирьох основних груп фосфоліпідів, присутніх у рослинних оліях: фосфатидилхолінів, фосфатидилетаноламінів і фосфатидилінозитолів.

Крім ферментативного дегумування рослинних олій, було запропоновано також використання ферментних препаратів для вилучення олії з гідратаційних осадів і переробки інших жирових відходів (Baena, Orjuela, Rakshit, & Clark, 2022). Так, зокрема, компанія DeSmet Ballestra запропонувала використання ферментного препарату Lecitase® Ultra (Novozyme, Данія) для вилучення олії із гідратаційних осадів (Gibon, De Greyt, & Kellens, 2019). Для цієї мети запропоновано використовувати фосфоліпази А1, А2, та С як індивідуально, так і їх суміші. Вилучення олії з гідратаційного осаду соєвої олії за допомогою фосфоліпази А1 або А2 призводило до збільшення виходу олії на 1,1—1,2% від маси сирової олії. У той же час застосування суміші фосфоліпаз А та С надає можливість збільшити вихід олії на 1,4—1,5%.

Мета статті: дослідження можливості використання нових фосфоліпазних препаратів для вилучення олії з фузів соняшникової олії та їх впливу на показники якості олії.

Матеріали і методи. Використано фуз олійний соняшниковий, наданий ПрАТ «Київський маргариновий завод» (Фуз 1), та фуз, придбаний на місцевому ринку (Фуз 2). Ферментні препарати Lecitase® Ultra, Quara® Low P та Quara® Boost одержані від компанії Novozymes (Данія).

Визначення масової частки нежирових домішок у фузі. 8—10 г соняшникового фузу зважували в конічну колбу об'ємом 250 см³ та розчиняли його у 50 см³ пертолейного ефіру. Суспензію фільтрували через висушений до постійної маси і зважений на аналітичних вагах фільтр. Залишок на фільтрі промивали тричі, використовуючи 5—10 см³ петролейного ефіру. Промитий осад разом із фільтром висушували в бюксі за температури 100—105 °С до постійної маси.

Масову частку нежирових домішок (у %) в аналізованій пробі розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m}, \quad (1)$$

де m_1 — маса фільтра з висушеним осадом, г; m_2 — маса пустого висушеного фільтра, г; m — наважка фузу, г.

Визначення вмісту вологи у фузі проводили стандартним методом.

Ферментативну обробку фузу проводили протягом 1 год за температури 20 °С, додаючи 5% 0,05-відсоткового водного розчину ферментного препарату. Зразки фузу відстоювали за тієї ж температури протягом 30 хв. Частку вилученої з фузу олії визначали після розділення олійної фракції та осаду центрифугуванням протягом 10 хв за 1500—2000 об/хв.

Частку вилученої з фузу олії (у % від маси фузу) розраховували за формулою:

$$B = \frac{(m - m_o) \cdot 100}{m}, \quad (2)$$

де m — маса фузу, г; m_o — маса осаду, г.

Кислотне та пероксидне число олії визначали стандартними методами.

Визначення вмісту фосфоровмісних сполук. Вміст фосфоровмісних сполук визначали після озолення зразків фузу або олії фотометричним методом за вмістом неорганічного фосфору. Для цього до наважки масою 0,7 г у фарфоровому тиглі додавали 0,75 г оксиду магнію. Суміш нагрівали протягом 10 хв у сушильній шафі за температури 110 °С та обвуглювали на електричній плитці. Залишок озолювали в муфельній печі за температури 800 °С. До охолодженої золи додавали 10—12 см³ дистильованої води та 20 см³ розчину сірчаної кислоти концентрацією 2 моль·екв/дм³ і нагрівали до повного розчинення оксиду магнію, розчини переносили у мірні колби об'ємом 100 см³. До розчинів додавали 20 см³ молібденового реагенту і нагрівали протягом 30 хв на киплячій водяній бані. Після охолодження до кімнатної температури об'єм колб доводили дистильованою водою до мітки. Одночасно готували контрольну пробу. Для цього таку ж наважку оксиду магнію розчиняли в 20 см³ розчину сірчаної кислоти концентрацією 2 моль·екв/дм³, розчин переносили в мірну колбу ємністю 100 см³ та проводили аналогічну реакцію із молібденовим реагентом.

Вимірювали оптичну густину аналізованих розчинів відносно контрольного розчину на фотоколориметрі КФК-3. Масову частку фосфору (мкг/см^3) в досліджуваних розчинах визначали за градувальним графіком, побудованим з використанням стандартних розчинів KH_2PO_4 концентрацією від 0,05 до 5,0 мкг/см^3 .

Вміст фосфору ($y\%$) у зразку розраховували за формулою:

$$P = 0.01 \frac{d}{m}, \quad (3)$$

де d — масова частка фосфору в розчині, визначена за градувальним графіком, мкг/см^3 ; m — маса зразка, г.

Масову частку фосфоровмісних речовин ФОЛ (%) в перерахунку на стеароолеолецитин розраховували за формулою:

$$\text{ФОЛ} = 25,44 \cdot P, \quad (4)$$

де 25,44 — коефіцієнт перерахунку масової частки фосфору на стеароолеолецитин.

Визначення антиоксидантної активності олії методом гасіння радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH). Визначення антиоксидантної активності олії проводили за реакцією гасіння радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH) (Носенко, Музика, Циганкова, Левчук, & Маринченко, 2019). Для реакції використовували розчин 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу концентрацією 3 мг/100 мл в етилацетаті, який мав значення оптичної густини на довжині хвилі 520 нм в межах 0,7—0,9.

Для приготування реакційної суміші до 100 мг олії додавали розчин DPPH в етилацетаті, ретельно перемішували та визначали початкове значення оптичної густини реакційної суміші на довжині хвилі 520 нм (D_0). Реакційну суміш витримували без доступу світла протягом 30 хв та визначали оптичну густину на 520 нм (D_1). Антиоксидантну активність (A) розраховували за зміною оптичної густини протягом 30 хв :

$$A = (1 - D_1/D_0) \cdot 100. \quad (5)$$

Визначення групового складу фосфоліпідів методом тонкошарової хроматографії (ТШХ). Наважку осажденного фузу після сепарування олії масою приблизно 1 г розчиняли в 40 см^3 ацетону і фільтрували через паперовий фільтр, який двічі промивали 5 см^3 ацетону.

Закриту колбу струшували на механічному струшувачі протягом 1 год, а потім поміщали в холодильник і витримували за температури 5 $^{\circ}\text{C}$ протягом 72 годин. Світлий осад, що виділився, фільтрували за температури 5 $^{\circ}\text{C}$, промивали холодним ацетоном до повного знежирення, яке визначали за відсутністю жирної плями на фільтрувальному папері. Пробу концентрували, відганяючи розчинник.

Знежирену суміш фосфоліпідів, що не містить механічних домішок і нейтральних ліпідів, зважували на аналітичних вагах, розчиняли в 5 см^3 хлороформу для отримання 1-відсоткового розчину. Для тонкошарової хроматографії використовували аналітичні пластини марки Sorbfil розміром 10×20 см на полімерній основі з розміром часток сорбенту 5—17 мкм . На пластинку мікрошприцем наносили аліквоту отриманого розчину фосфоліпідів так, щоб у плямі містилося приблизно

100 мкг фосфоліпідів. Пластину поміщали в хроматографічну камеру, насичену парами суміші розчинників хлороформ : метанол : вода у співвідношенні 65 : 25 : 4.

Після міграції розчину до лінії фінішу пластинку виймали з камери, швидко висушували у витяжній шафі і проявляли парами йоду в ексікаторі, насиченому парами йоду, протягом 20—30 с. Груповий склад фосфоліпідів визначали за стандартними значеннями R_f (відношення відстані, що пройшов індивідуальний компонент (a) до відстані, що пройшов розчинник (e)) (AOCS метод Са 12—55 (1997)):

$$R_f = a/e. \quad (6)$$

Статистична обробка результатів. Усі дослідження проводили у трьох повторностях, результати виражали як середнє арифметичне $\pm$ стандартне відхилення, валідність результатів розраховували при рівні достовірності $\alpha = 0,95$.

Викладення основних результатів дослідження. Дослідження складу та властивостей зразків фузу олійного соняшникового засвідчило, що основним компонентом фузів є сира олія, її вміст коливався від 76,4 до 87,7% (табл. 1). У одному зі зразків фузів (Фуз 1) виявлено високий вміст вологи, що, як правило, пов'язано із високим вмістом нежирових домішок і фосфоліпідів, які є гідрофільними сполуками та здатні утримувати надлишок вологи.

Високий вміст вологи у зразку Фуз 1 призводить до високого вмісту вільних жирних кислот в олії, показником чого є кислотне число олії. Вміст пероксидних сполук в олії, вилученій із цього зразка фузу, був невисоким. Олія, вилучена з Фузу 2, мала низьке значення кислотного числа — 1,52 мг КОН/г, та низький вміст пероксидних сполук.

Таблиця 1. Фізико-хімічні показники досліджуваних зразків фузу

Показник	Зразок фузу	
	Фуз 1	Фуз 2
Масова частка нежирових домішок, %	5,2 $\pm$ 0,3	9,9 $\pm$ 0,1
Масова частка вологи, %	17,7 $\pm$ 0,02	3,2 $\pm$ 0,05
Масова частка фосфоровмісних сполук, в перерахунку на стеароолеолецитин, %	1,65 $\pm$ 0,03	1,5 $\pm$ 0,05
Масова частка сирої олії, %	76,4 $\pm$ 0,2	87,7 $\pm$ 0,1
Кислотне число олії, мг КОН/г	5,67 $\pm$ 0,02	1,52 $\pm$ 0,1
Пероксидне число мМоль $\frac{1}{2}$ О/кг	4,2 $\pm$ 0,2	1,04 $\pm$ 0,06

Одержані результати свідчать про доцільність використання таких відходів олійного виробництва для вилучення олії та зменшення кількості жирових відходів. Робочою гіпотезою дослідження була можливість використання ферментативних препаратів із фосфоліпазною активністю для підвищення ефективності вилучення олії з олійних фузів.

Для обробки зразків олійних фузів було використано ферментні препарати компанії Novozymes (Данія) Lecitase® Ultra, Quara® Low P та Quara® Boost. Експозиція зразків олійних фузів у присутності трьох досліджуваних ферментних препаратів призводила до збільшення виходу виділеної із Фузу 1 олії порівняно з контролем (рис. 1). Контролем був зразок олії, отриманий із фузу олійного без ферментативної обробки. При цьому вихід олії був приблизно однаковий за використання ферментних препаратів як з активністю фосфоліпаз А (Lecitase® Ultra,

Quara® Low P), так і фосфоліпази С (Quara® Boost), і становив 78—80%, що приблизно на 60% вище за кількість вилученої олії із контрольного зразка фузу. Кількість олії, вилученої з Фузу 2, була вищою в контролі порівняно з Фузом 1. Проте збільшення виходу олії під впливом ферментативної обробки було суттєво нижчим порівняно з Фузом 1 і становило 18 та 9% для ферментних препаратів Lecitase® Ultra та Quara® Boost, відповідно. Обробка Фузу 2 ферментним препаратом Quara® Low P не призводила до збільшення виходу олії з фузу порівняно з контролем, навпаки, кількість олії, вилученої із фузу, була нижчою і становила лише 22%.

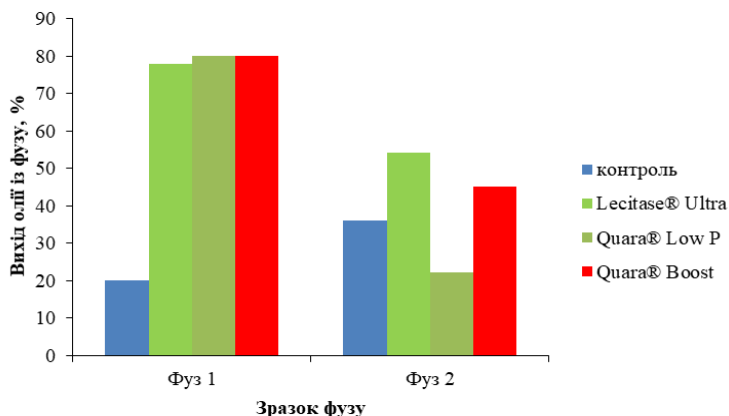


Рис. 1. Вплив ферментативної обробки на вилучення олії з фузу

Якісний аналіз групового складу фосфоліпідів у складі фузів виявив, що основними фракціями фосфоліпідів у зразку Фуз1 були фосфатидилінозитолі, фосфатидилсерини та фосфатидилетаноламіни (табл. 2). У Фузі 2 було виявлено фосфатидилсерини, фосфатидилетаноламіни та фосфатидилгліцерини. Після обробки фосфоліпазними препаратами та вилучення олії майже у всіх зразках осадженого фузу зникала фракція фосфатидилсеринів, за винятком осадженого Фузу 1 після обробки препаратом Lecitase® Ultra. Під дією препаратів з активністю фосфоліпази А1 (Lecitase® Ultra, Quara® Low P) у Фузі 2 зникали також фосфатидилетаноламіни. У зразку Фузу 1 ця фракція зникала під дією препарату Quara® Low P, при цьому з'являлись фосфатидні і поліфосфатидні кислоти. Останні були виявлені також у залишку фузу після обробки фосфоліпазою С (Quara® Boost). Фракцію фосфатидні і поліфосфатидні кислоти виявлено і в залишку Фузу 2 після обробки препаратами Quara® Low P та Quara® Boost. Під дією ферментного препарату Quara® Boost, який містить фосфоінозит фосфоліпазу С, у залишку Фузу 1 зникала фракція фосфатидилінозитолів.

Показники складу і якості вилученої з фузу олії наведені у табл. 3. Одержані дані свідчать, що якість олії у двох досліджених зразках фузу суттєво відрізнялась. Зокрема, значення кислотного числа олії, вилученої з Фузу 1, було високе, проте знаходилося в межах, встановлених ДСТУ 4535:2006 для олійного фузу, призначеного для виробництва комбікормів. Значення пероксидного числа олії в обох зразках фузу було низьким і відповідало вимогам до харчової олії. Масова частка фосфоровмісних речовин в оліях теж була незначною.

Таблиця 2. Груповий склад фосфоліпідів фузу соняшникового до та після ферментативної обробки

Фракція фосфоліпідів	Значення Rf (AOCS метод Са 12—55 (1997))	Зразок фузу до та після обробки ферментним препаратом							
		Фуз 1				Фуз 2			
		До обробки	Lecitase Ultra	Quara Low P	Quara Boost	До обробки	Lecitase Ultra	Quara Low P	Quara Boost
Лізофосфати дилхоліни	0,06—0,07								
Фосфатидилінозитолі	0,15—0,16	+		+				+	
Фосфатидилхоліни	0,20—0,22								
Фосфатидилсерини	0,30—0,33	+	+			+			
Фосфатидилетаноламіни	0,38—0,42	+	+		+	+			+
Фосфатидилгліцерини	0,54—0,57			+		+	+		
Фосфатидні і поліфосфатидні кислоти	0,82—0,84			+	+		+		+
Нейтральні ліпіди	0,94—0,96								

Під дією фосфоліпази А (Lecitase® Ultra, Quara® Low P) олія, вилучена із Фузу 2, мала вищий вміст вільних жирних кислот порівняно з контролем, що є очевидним, оскільки ця фосфоліпаза руйнує естерні зв'язки гліцеролу та жирних кислот. Для цього зразка олії незначне підвищення кислотності спостерігалось і внаслідок обробки фузу ферментним препаратом з активністю фосфоліпаз С (Quara® Boost). У той же час олія, вилучена з Фузу 1, в присутності всіх трьох ферментних препаратів, мала нижчі значення кислотного числа. Такий феномен, очевидно, пояснюється переходом речовин кислотної природи в осад після обробки фузу ферментними препаратами.

Пероксидне число олії, вилученої з фузів, зменшувалось в усіх зразках після обробки ферментними препаратами. Причиною цього явища може бути гідрофільність пероксидних сполук і перехід їх в осад, що утворювались після сепарування олії.

Масова частка фосфоровмісних речовин у контрольних зразках олії була дуже низькою. У той же час вміст фосфоровмісних сполук зменшувався ще понад 30% у зразках олії, вилученої з Фузу 1 після обробки ферментними препаратами. Одночасно, цей показник суттєво не змінювався після обробки ферментами Фузу 2, що, очевидно, пов'язано з груповим складом фосфоліпідів і досить ефективним їх вилученням внаслідок сепарування олії.

Таблиця 3. Фізико-хімічні показники олії, вилученої із фузу до та після обробки ферментним препаратом

Показник	Олія, вилучена із фузу до та після обробки ферментним препаратом							
	Фуз 1				Фуз 2			
	Контроль	Lecitase Ultra	Quara Boost	Quara Low P	Контроль	Lecitase Ultra	Quara Boost	Quara Low P
Кислотне число, мг КОН/г	5,67±0,02	4,74±0,02	3,9±0,03	4,4±0,03	1,52±0,1	3,05±0,2	1,86±0,3	2,44±0,1
Пероксидне число мМоль ^{1/2} O/кг	4,2±0,2	2,7±0,1	2,5±0,3	2,0±0,2	1,04±0,06	0,96±0,03	0,14±0,03	0,54±0,04
Вміст фосфоровмісних речовин (%) в перерахунку на стеароолеоліцидин	0,06±0,004	0,039 ± 0,001	0,04±0,002	0,04±0,004	0,015±0,002	0,022±0,001	0,015±0,003	0,025±0,005

Оцінку антиоксидантної активності досліджуваних зразків олії проводили визначенням швидкості гасіння вільних радикалів DPPH. Антиоксидантна активність зразків олії, вилученої з фузів, була досить високою (рис. 2). Її значення були порівняні з антиоксидантною активністю гарбузової (Вовк, & Носенко, 2023) та конопляної олії (Носенко, Музика, Циганкова, Левчук, & Маринченко, 2019). Олія, що була вилучена з Фузу 1 після обробки фосфоліпазами, мала близькі значення до антиоксидантної активності контролю. Проте антиоксидантна активність зразків олії, вилученої з Фузу 2, після ферментативної обробки суттєво зменшувалась порівняно з контролем. Можливо, виявлена закономірність пояснюється низькою кількістю олії, вилученої з Фузу 2, обробленого ліпазами. Очевидно, що збільшення масової частки вилученої з фузу олії призводить до збільшення кількості вилучених жиророзчинних антиоксидантів, зокрема, токоферолів.

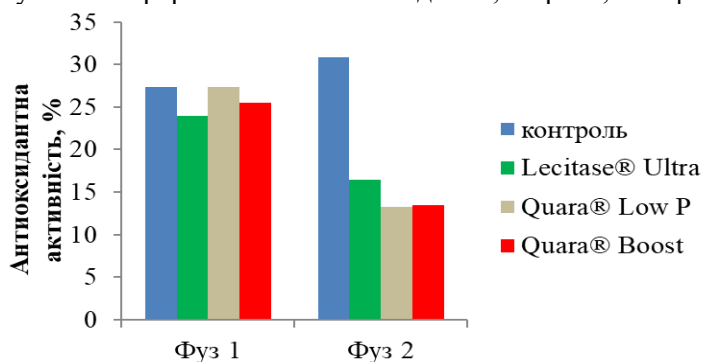


Рис. 2. Антиоксидантна активність зразків олії, вилученої із фузу

Висновки

Результати дослідження доводять ефективність використання нових ферментних препаратів із фосфоліпазною активністю для вилучення олії з олійних фузів. В обох досліджених зразках фузів підвищення виходу олії спостерігалось при обробці ферментними препаратами Lecitase® Ultra та Quara® Boost. У більшості зразків фузів після обробки фосфоліпазами з'являлась фракція фосфатидні і поліфосфатидні кислоти. Якість олії, вилученої з фузів після обробки ліпазами, була високою, її кислотність зростала суттєво тільки в одному зразку фузу після обробки препаратом Lecitase® Ultra, а вміст пероксидних і фосфоровмісних сполук зменшувався в усіх зразках. Олія, вилучена з олійних фузів, мала суттєву антиоксидантну активність. Проте невисокий вихід олії з Фузу 2, очевидно, призводить до нижчої антиоксидантної активності зразків олії, вилученої після ферментативної обробки.

Література

- Вовк, Г. О., Носенко, Т. Т. (2023). Вплив параметрів ферментативної обробки на вихід преової гарбузової олії та її властивості. *Наукові праці НУХТ*, 29(1), 108—118. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-1-10.
- Носенко, Т. Т., Музика, О. С., Циганкова, Г. А., Левчук, І. В., Маринченко, І. О. (2019). Особливості складу олії із насіння ненаркотичних конопель вітчизняної селекції. *Наукові праці НУХТ*, 25(5), 173—180. DOI: 10.24263/2225-2924-2019-25-5-20.
- Baena, A., Orjuela, A., Rakshit, S. K., Clark, J. H. (2022). Enzymatic hydrolysis of waste fats, oils and greases (FOGs): Status, prospective, and process intensification alternatives. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 175, 108930. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108930>.
- Dijkstra, A. J. (2010). Enzymatic degumming. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(11), pp. 1178—1189, doi.org/10.1002/ejlt.201000320.
- Dijkstra, A. J. (2017). About water degumming and the hydration of non-hydratable phosphatides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(9), 1600496—1600511. DOI: 10.1002/ejlt.201600496.
- Elena, C., Cerminati, S., Ravasi, P., Rasia, R., Peiru, S., Menzella, H. G., Castelli, M. E. (2017). *Cereus* phospholipase C engineering for efficient degumming of vegetable oil. *Process Biochemistry*, 54, (67—72). 10.1016/j.procbio.2017.01.011.
- Gibon, V., De Greyt, W., Kellens, M. (2019). Enzymes in oil processing: a search for milder, more sustainable, and economical solutions. *INFORM*. June, 30 (6), 12—16. DOI: 10.21748/inform.06.2019.12.
- Guiotto, N. E., Tomás, M. C., Diehl, B. W. K. (2015). Sunflower Lecithin. In: *Polar Lipids*, pp. 57—73, DOI: 10.1016/B978-1-63067-044-3.50007-8.
- Heinze, M., Roos, W. (2013). Assay of phospholipase A activity. *Methods of Molecular Biology*, 1009, 241—219. DOI: 10.1007/978-1-62703-401-2_22.
- Qun An, Fanghua Wang, Dongming Lan, FaezIqbal Khan, Rabia Durrani, Bo Yang, Yonghua Wang. (2016). Improving phospholipase activity of PLA1 by protein engineering and its effects on oil degumming. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(2) 1—18. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600110>.
- Lamas, D. L., Constenla, D. T., Raab, D. (2016). Effect of degumming process on physicochemical properties of sunflower oil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16(6) 138—143. DOI: 10.1016/j.bcab.2016.03.007.
- Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, AOCS, Champaign (1997), Ca 12—55.

Sampaio, K. A., Zyaykina, N., Wozniak, B., Tsukamoto, J., Greyt, W. D., Stevens, C. V. (2015). Enzymatic degumming: degumming efficiency versus yield increase. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(1), 81—86. DOI: 0.1002/ejlt.201400218.

Semproli, R., Robescu, M. S., Cambò, M., Mema, K., Bavaro, T., Rabuffetti, M., Ubiali, D., Speranza, G. (2021). Chemical and enzymatic approaches to esters of sn -glycero-3-phosphoric acid. *European Journal of Organic Chemistry*, 29, 4027—4037, DOI: 10.1002/ejoc.202100235.

Virgen-Ortíz, Jose J., dos Santos, José C. S., Ortiz, Claudia, Berenguer-Murcia, Ángel, Barbosa Oveimar, Rodrigues Rafael C., Fernandez-Lafuente Roberto. (2019). Lecitase Ultra: A phospholipase with great potential in biocatalysis. *Molecular Catalysis*, 473(1), 10—16. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110405>.