

بهینه سازی شرایط تاثیر آنزیمها بر افزایش بازدهی استخراج روغن از دانه های روغنی سویا و آفتابگردان

منوچهر وثوقی
استاد

ایران عالم زاده
استاد

جواد جعفری
کارشناسی ارشد

دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف

چکیده

در این مقاله امکان استفاده از پیش فرایند هیدرولیز آنزیمی جهت تخریب بیولوژیکی دیواره سلولی به منظور افزایش راندمان استخراج روغن از دانه های روغنی سویا و آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم پکتیناز در pH برابر ۵ و دمای ۵۰ °C با غلظتهای (v/w) ۱۰٪ و (v/w) ۱۲٪ بالاترین راندمان روغن را از سویا و آفتابگردان داشت. آنزیم آلفا آمیلاز با غلظت ۱ درصد وزنی در دمای ۵۵ °C و pH برابر ۵ باعث افزایش بازیابی روغن تنها به میزان ۰/۲ درصد شد. مخلوط آنزیمهای پکتیناز و سلولاز با نسبت حجمی ۱:۱ در دمای ۵۰ °C و pH برابر ۴/۸ بر دانه ها تاثیر داده شد. غلظت مجموع آنزیمها (v/w) ۱۴٪ برای هر دو نمونه مقادیر بهینه بود. زمان بهینه برای مخلوط آنزیمها به ترتیب ۱۰ و ۱۲ ساعت برای سویا و آفتابگردان بدست آمد. تحت شرایط بهینه فوق افزایش راندمان بازیابی روغن برابر ۱/۴۳٪ و ۱/۵۶٪ برای سویا و آفتابگردان بدست آمد. همچنین روغن بدست آمده با روشهای آنزیمی دارای مقادیر اندیس پراکسید، اندیس ید و آهن کمتر و اسید چرب آزاد بیشتر نسبت به روغن استخراج شده بدون پیش فرایند آنزیمی می باشد.

کلمات کلیدی

هیدرولیز آنزیمی، پکتیناز، سلولاز، دانه سویا، آفتابگردان

Optimization the Effect of Enzymes on the Increase in Oil Recovery from Soybean and Sunflower Oil Seeds

M. Vossoughi
Professor

A. Alemzadeh
Professor

J. Jafari
Ph. D. Student

BBRC, Department of Chemical and Petroleum Engineering,
Sharif University of Technology

Abstract

In this paper, enzymatic hydrolysis treatment, which cause the biological degradation of cell wall of oil seeds, such as soybean and sunflower before oil extraction for increase in the yield of oil extraction were investigated. Pectinase at pH=5 and 50C in 10 and 12% showed the best results in soybean and sunflower treatment. Alpha amylase at 1% 55C and pH=5 resulted 0.2% increase in oil recovery. Mixture of pectinase and cellulase at equal volume, 50C, pH=4.8 in 14% (v/w) with treatment duration of 10 and 12 hrs for soybean and sunflower respectfully showed high effect and increase in oil yield of 1.43% for soybean and 1.56% for sunflower. Oil extraction after enzymatic treatment had lower iron, peroxide and iodine value and higher free fatty acids compared to direct solvent extraction of oil from seed oils.

Keywords

Enzymatic hydrolysis, pectinase, cellulase, soybean, sunflower

دانه‌های روغنی استفاده شده شامل دانه سویا با وارپته ماندارین^۱ و دانه آفتابگردان با وارپته پردوویک^۲ بودند و این دانه‌های روغنی پس از پوست‌گیری و آسیاب کردن برای تعیین ترکیبات شیمیایی آنها مورد آزمایش قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری مقدار روغن در نمونه‌ها از دستگاه سوکسوله و حلال اتر نفت استفاده شد و برای تعیین مقدار پروتئین دانه‌ها از روش کلدال استفاده شد [۱۱]. نتایج حاصل از آزمایش‌های تعیین ترکیب شیمیایی دانه‌های روغنی سویا و آفتابگردان در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول (۲) ترکیب شیمیایی دانه‌های روغنی سویا و آفتابگردان.

	دانه سویا	دانه آفتابگردان
درصد رطوبت	۹/۴۹	۱۰/۳۳
روغن	۳۲/۲۸	۳۹/۴۷
پروتئین	۴۰/۴	۲۰/۱۶
فیبر	۷/۶	۸/۶
خاکستر	۵/۳۷	۴/۶۱

برای بررسی تاثیر آنزیمها ابتدا دانه‌ها آسیاب شدند سپس با افزودن آب به فلاسکهای حاوی نمونه‌ها، نسبت آب به خوراک در آنها در مقادیر مختلف از ۲ تا ۶ تنظیم شد. برای بررسی تاثیر نوع آنزیم روی راندمان استخراج روغن هر یک از آنزیمهای پکتیناز، سلولاز و آلفا آمیلاز بصورت تک تک بر روی نمونه‌ها تاثیر داده شدند. به‌منظور بهینه سازی غلظت آنزیم، آنزیم پکتیناز با غلظتهای (v/w) % ۱۴ و ۱۲، ۱۰، ۸ به فلاسک حاوی نمونه‌ها اضافه شد و pH نمونه‌ها بوسیله جایگزین کردن آب اضافه شده با محلول ۰/۰۵ M اسید سیتریک در سیترات سدیم در ۴ تنظیم گردید [۹]. فلاسکها در شیکر قرار داده شدند و در دمای ۵۰ °C بمدت ۴ ساعت آنزیم‌ها بر نمونه‌ها تأثیر داده شدند. به هر یک از فلاسکها حدود ۱۰۰ میلی لیتر اتر نفت اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه به منظور از بین بردن امولسیونهای روغن تشکیل شده در فاز آبی و استخراج روغن به اتر نفت بهم زده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند [۱۰ و ۸].

محلول رویی شامل دو فاز می‌باشد. فاز آلی آن که شامل مقدار جزئی روغن در اتر نفت است از محلول آبی جدا سازی شد. فاز جامد نیز که شامل دانه‌های روغنی

پیش فرآیندهای رایج برای استخراج روغن از دانه‌های سویا و آفتابگردان شامل پوست‌گیری، خرد کردن و آسیاب کردن به همراه فرایندهای حرارتی و پختن یا بخاردهی می‌باشد. هیدرولیز آنزیمی روش دیگری برای پیش فرایند دانه‌های روغنی است که از طریق تخریب دیواره سلولی مسیری را برای روغن باز می‌کند. اینکار همچنین باعث شکستن و تخریب مولکولهای لیپوپروتئین و لیپوپولی ساکارید به مولکول‌های ساده‌تر می‌شود که باعث آزاد شدن روغن مازادی جهت استخراج میشود. بطوریکه این کمپلکسها و مولکولهای پیچیده بدون هیدرولیز آنزیمی قابلیت استخراج بوسیله حلال را ندارند [۴ و ۱].

در هیچ یک از پیش فرایندهای مکانیکی و حرارتی دیواره سلولی بطور کامل تخریب نمی‌شود و در استخراج روغن بوسیله حلال همیشه مقداری روغن در کنجاله فرایند شده وجود دارد. استفاده از پیش فرایند هیدرولیز آنزیمی به همراه سایر پیش فرایندها باعث هیدرولیز کامل پلی ساکاریدهای دیواره سلولی شده و موجب افزایش راندمان استخراج روغن می‌شود [۲].

مواد و روشها

آنزیمهای بکار برده شده در این پژوهش از نوع پکتیناز، سلولاز و آلفا آمیلاز از نوع تجاری بوده و از شرکت Novo خریداری شدند. آنزیم پکتیناز بصورت مایع بوده و بطور عمده دارای آنزیم‌های پلی گالاکتوروناز و پکتین استراز است و از قارچ اسپرژیلوس نایجر گرفته شده است. آنزیم سلولاز مورد استفاده بصورت گرانول بوده و از گونه‌های تریکودرما گرفته شده است. آنزیم آلفا آمیلاز استفاده شده بصورت گرانول بوده و از گونه‌های اسپرژیلوس گرفته شده است. فعالیتهای آنزیمهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول (۱) فعالیت آنزیمهای مورد استفاده در استخراج روغن.

	سلولاز	پکتیناز	آلفا آمیلاز
فعالیت آنزیمی	$\frac{U}{gr}$ ۱۰۸۳	$\frac{U}{mL}$ ۱۴ ۲	$\frac{U}{gr}$ ۱۴۳۸

هیدرولیز شده است و به آون با دمای 2 ± 103 درجه سانتیگراد انتقال یافت و پس از خشک شدن دوباره بصورت بسیار ریز آسیاب شد و به دستگاه سوکسوله انتقال داده شد و با اضافه کردن فاز آلی جدا شده در مرحله قبلی و مقداری اتر نفت بمدت ۸ ساعت عمل استخراج انجام شد و در نهایت با تبخیر حلال و توزین مقدار روغن استخراج شده راندمان بازیابی روغن بوسیله روش آنزیمی محاسبه شد. از پارامتر $Relative\ oil\ yield$ که نسبت راندمان استخراج روغن با پیش فرایند آنزیمی به راندمان روغن بدون پیش فرایند آنزیمی است، برای مقایسه راندمانها استفاده شد [۵۶].

به منظور بهینه سازی pH و زمان تاثیر آنزیم بر دانه‌های روغنی، مراحل فوق با استفاده از آنزیم پکتیناز در pH های ۴/۵، ۵، ۵/۵ و ۶ و زمانهای ۱۶، ۲، ۱۰، ۱ و ۸ ساعت تکرار شد و شرایط بهینه هیدرولیز آنزیمی تعیین شد.

برای بررسی تاثیر آنزیم سلولاز بر راندمان استخراج روغن این آنزیم با غلظتهای (w/w) ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲٪ بمدت ۴ ساعت با نسبت رقیق سازی ۴ بر نمونه‌ها تاثیر داده شد و راندمان استخراج روغن مطابق روش فوق اندازه گیری شد. برای بهینه سازی شرایط تاثیر این آنزیم نیز آزمایش در pH های ۴/۵، ۵، ۵/۵ و ۶، زمانهای ۱۶، ۲، ۱۰، ۱ و ۸ ساعت و نسبتهای رقیق سازی ۳، ۵ و ۲ تکرار شد.

برای بهینه سازی شرایط تاثیر آنزیم آلفا آمیلاز، این آنزیم با غلظتهای (w/w) ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲٪ در دمای $55^{\circ}C$ pH های ۴/۵، ۵، ۵/۵ و ۶ و نسبت رقیق سازی ۴ بمدت ۸ ساعت بر دانه‌های روغنی تاثیر داده شد.

برای بررسی تاثیر مخلوط آنزیمها بر افزایش راندمان استخراج روغن، مخلوط آنزیمهای پکتیناز و سلولاز با نسبت حجمی ۱:۱ با غلظت مجموع آنزیمها (v/w) ۸٪ و نسبت رقیق سازی ۲ در دمای $50^{\circ}C$ و pH برابر ۴/۸ بمدت ۴ ساعت بر دانه‌ها تاثیر داده شد. به منظور بهینه سازی شرایط تاثیر مخلوط آنزیمها، آزمایش با غلظت مجموع آنزیمها برابر (v/w) ۱۶، ۱۴، ۱۲ و ۱۰ در زمانهای ۱۸، ۱۲، ۱۰ و ۸ ساعت و نسبتهای رقیق سازی ۳، ۴، ۵ و ۶ تکرار شد.

پس از بهینه سازی تک تک کلیه پارامترهای هیدرولیز آنزیمی و بدست آوردن شرایط بهینه استخراج داده‌های تجربی حاصل با استفاده از روش سطح پاسخ^۳ (RSM) و

تکنیکهای برازش سطح، برای مدلسازی بوسیله روشهای آماری مورد استفاده قرار گرفتند [۳]. روش سطح پاسخ یک تکنیک آماری بسیار مفید برای تحقیق بر روی فرآیندهای پیچیده و مرکبی است که شامل چندین پارامتر و متغیر مستقل هستند. این روش متشکل از گروهی از روشهای آماری و ریاضی است و می‌تواند برای مطالعه ارتباط بین یک یا چند متغیر وابسته و متغیر مستقل استفاده شود. در این مقاله با استفاده از نرم افزار TC 3D و داده‌های تجربی، یک منحنی سطح پاسخ برای بدست آوردن مقدار ماکزیمم روغن آزاد شده قابل استخراج در شرایط بهینه بدست آمد و مقادیری که به وسیله مدل پیشگویی شده بود به وسیله نتایج آزمایشات تجربی تأیید شد [۳۷].

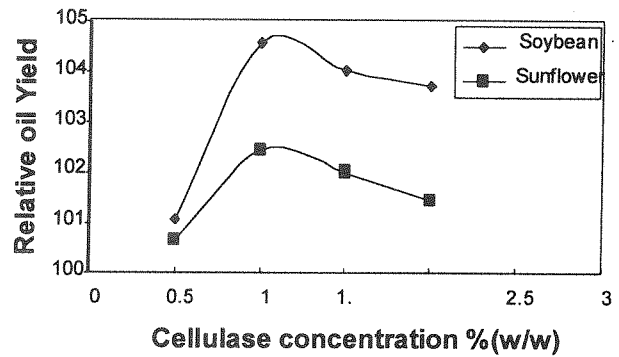
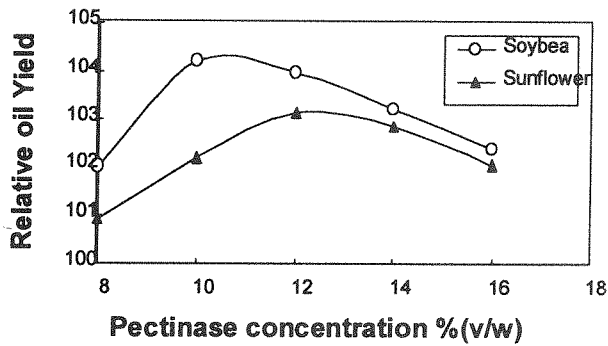
برخی از خواص شیمیایی روغنهای استخراج شده به روش آنزیمی مانند اسیدهای چرب آزاد، اندیس پراکسید، اندیس یدی و مقدار آهن تعیین شدند و مقادیر آنها با روغن استخراج شده با حلال اتر نفت و بدون پیش فرایند آنزیمی مقایسه شدند [۱۲].

نتایج و بحث

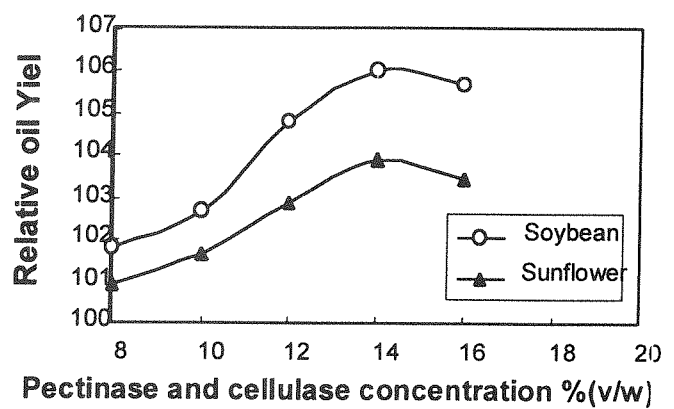
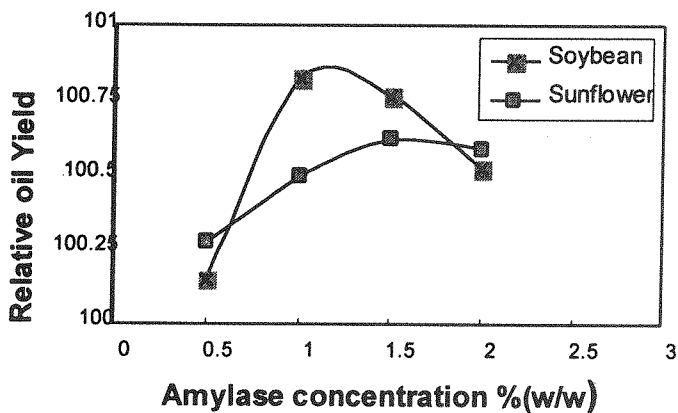
نتایج حاصل از بهینه سازی شرایط تاثیر آنزیم پکتیناز نشان می‌دهد که این آنزیم در pH برابر ۵ و دمای $50^{\circ}C$ با غلظت (v/w) ۱۲٪ بالاترین راندمان استخراج روغن از دانه آفتابگردان که بمدت ۱۲ ساعت و با نسبت رقیق سازی ۴ آنزیم بر روی آن تاثیر داده می‌شود را بدست می‌دهد. شرایط بهینه برای سویا شامل غلظت آنزیم ۱۰ درصد حجمی وزنی و زمان ۸ ساعت بود. استفاده از این آنزیم در شرایط بهینه باعث افزایش راندمان استخراج روغن به میزان ۱ و ۱/۳ درصد به ترتیب برای سویا و آفتابگردان شد.

آنزیم سلولاز در pH برابر ۴/۵ و دمای $50^{\circ}C$ با غلظت (w/w) ۱٪ بالاترین راندمان استخراج روغن را نشان داد. زمان بهینه هیدرولیز آنزیمی برای آفتابگردان ۱۲ ساعت و برای نمونه سویا ۸ ساعت بدست آمد و نسبت رقیق سازی مناسب برای نمونه سویا برابر ۴ و برای نمونه آفتابگردان ۳ بود.

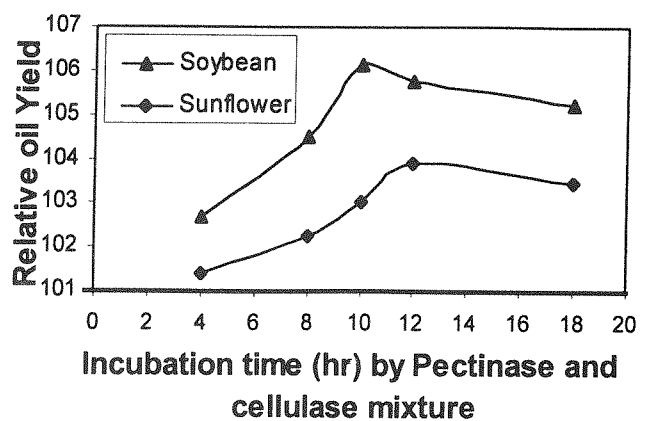
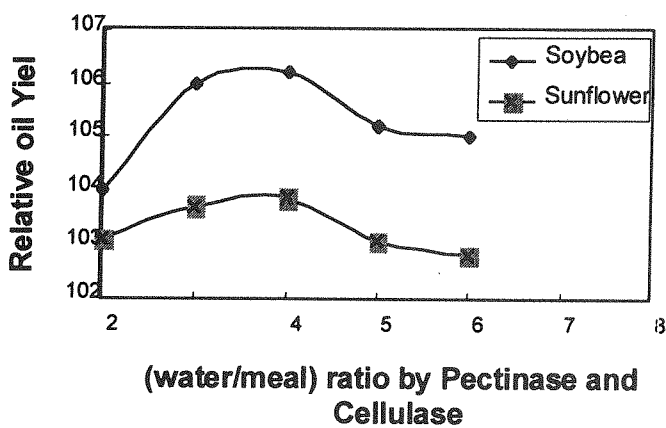
آنزیم آلفا آمیلاز با غلظت ۱ درصد وزنی در دمای $55^{\circ}C$ و pH برابر ۵ باعث افزایش راندمان بازیابی روغن تنها به میزان ۰/۲ درصد در نمونه‌ها شد.



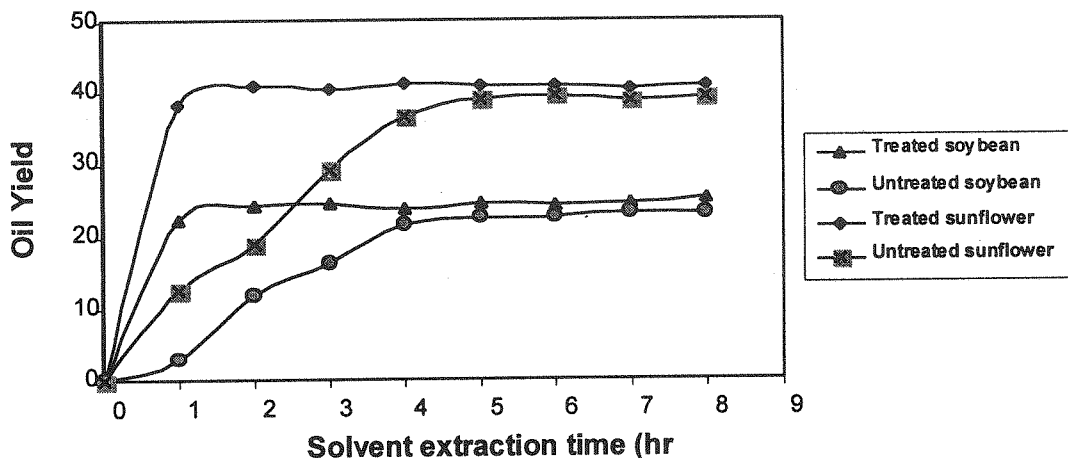
شکل (۱) تاثیر غلظت آنزیمهای پکتیناز و سلولاز بر راندمان استخراج روغن.



شکل (۲) تاثیر ترکیب آنزیمهای پکتیناز و سلولاز و آنزیم آلفا آمیلاز بر راندمان استخراج روغن.



شکل (۳) تاثیر پارامترهای هیدرولیز آنزیمی بر راندمان روغن با مخلوط آنزیمهای پکتیناز و سلولاز.



شکل (۴) تاثیر پیش فرایند هیدرولیز آنزیمی بر زمان استخراج روغن بوسیله حلال.

پکتیناز (۱۳/۷۴ (v/w)٪، زمان هیدرولیز آنزیمی ۱۲/۸۴ ساعت و فاکتور رقیق سازی بهینه ۳/۵۸. طبق این روش ماکزیم راندمان استخراج روغن ۴۱/۱۶٪ بدست آمد. به منظور ارزیابی میزان اعتبار این مدل یک آزمایش دیگر تحت شرایط پیشگویی شده بوسیله مدل انجام گرفت و راندمان بازیابی کل روغن طبق شرایط هیدرولیز آنزیمی فوق برابر ۴۱/۱۱٪ بدست آمد.

همچنین روغن بدست آمده با روشهای آنزیمی دارای مقادیر اندیس پر اکسید، اندیس ید و آهن کمتر و اسید چرب آزاد بیشتر نسبت به روغن استخراج شده بدون پیش فرایند آنزیمی می باشد. در جدول ۳ خصوصیات شیمیائی روغنهای استخراج شده با دو روش مقایسه شده است.

برای مخلوط آنزیمهای پکتیناز و سلولاز با نسبت حجمی ۱:۱، دمای ۵۰°C، pH برابر ۴/۸، غلظت مجموع آنزیمها ۱۴٪ (w/w) و نسبت رقیق سازی ۴ در هر دو نمونه مقادیر بهینه بودند. زمان بهینه برای مخلوط آنزیمها به ترتیب ۱۰ و ۱۲ ساعت برای سویا و آفتابگردان بدست آمد. تحت شرایط بهینه فوق افزایش راندمان بازیابی روغن برابر ۱/۴۳٪ و ۱/۵۶٪ برای سویا و آفتابگردان بدست آمد.

همانطور که در نمودار ۴ نشان داده شده است زمان لازم برای بازیابی روغن در مرحله استخراج با حلال برای نمونههای پیش فرایند شده با هیدرولیز آنزیمی ۱ ساعت و برای نمونههای پیش فرایند نشده ۵ ساعت بدست آمد.

با استفاده از روش RSM شرایط بهینه پارامترهای هیدرولیز آنزیمی برای استخراج روغن از دانه آفتابگردان بدست آمد که عبارتند از: مجموع غلظت آنزیمهای سلولاز و

جدول (۳) خصوصیات شیمیائی روغنهای استخراج شده.

		اسید چرب آزاد (اولئیک)	اندیس پر اکسید	اندیس ید	آهن (ppm)
روغن آفتابگردان	با پیش فرایند آنزیمی	۱/۳	۴/۳ (meqO ₂ /kg)	۱۳۷	۱/۷ ppm
	بدون پیش فرایند	۱/۲	۴/۵	۱۴۱	۲
روغن سویا	با پیش فرایند آنزیمی	۰/۴۵	۳/۶	۱۲۶	۱/۱
	بدون پیش فرایند	۰/۶	۳/۹	۱۳۲	۱/۴

نتیجه گیری

هیدرولیز آنزیمی دانههای روغنی باعث کاهش زمان استخراج روغن بوسیله حلال می شود. روغن بدست آمده با روشهای آنزیمی دارای کیفیت بهتر نسبت به روغن استخراج شده بدون پیش فرایند آنزیمی می باشد.

با توجه به نتیجه آزمایشات مخلوط آنزیمهای پکتیناز و سلولاز بهترین نتیجه را برای افزایش راندمان استخراج روغن از دانههای سویا و آفتابگردان دارد. استفاده از مخلوط آنزیمها در شرایط بهینه باعث افزایش راندمان بازیابی روغن برای هر دو نمونه میشود. همچنین پیش فرایند

- 1- Mandarin
- 2- Peredovik
- 3- Response Surface Method

مراجع

- [1] D. Shankar, Y. C. Agrawal, Enzymatic Hydrolysis in Conjunction with Conventional Pretreatments to Soybean for Enhanced Oil Availability and Recovery, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Vol. 74, no 12, (1997).
- [2] Dominguez, H., M. J. Nunez, and J.M. Lema, Oil Extractability from Enzymatically Treated Soybean and Sunflower, *Food Chem.* 40: 277-286 (1993).
- [3] Smith, D. D., Y. C. Agrawal, B. C. Sarkar, Enzymatic Hydrolysis Pretreatment for Mechanical Expelling of Soybeans, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, vol. 70, no. 9 (1993).
- [4] Fullbrook, P. D., The Use of Enzymes in the Processing of Oilseeds, *JAOCs* vol. 60, no.2, (1983).
- [5] Paul D. Fullbrook, Imperial Biotechnology Ltd, The use of Enzymes in the Processing of Oilseeds, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Vol. 60, no. 2, February 1983.
- [6] Badr F. H., Sithohy M. ZSO, Optimizing Conditions for Enzymatic Extraction of Sunflower Oil, *Grasas -y- Aceites*, 1992, 43 (5) 281 - 283.
- [7] Dominguez H., Nunez M. J. Lema J. M. Enzymatic Pretreatment to Enhance Oil Extraction from Fruits and Oil seeds; A review, *Food Chemistry*, 1994, Vol. 49, no. 3.
- [8] Sithohy M. Z., Badr F. H., Characterization of Enzymatically Extracted Sunflower Seed Oil as well as Protein Residues, *Grasas - y - Aceites*, Vol. 44, no. 6, pp. 345-347, (1993).
- [9] Dominguez H., Sineiro J., Nunez M. J., Lema J. M., enzymatic Treatment of sunflower Kernels before Oil Extraction, *Food Research International*, Vol. 28, no. 6, (1996).
- [10] Sinerio J., Dominguez H., Nunez M. J., Lema J.M., Optimization of the Enzymatic Treatment during Aqueous Oil Extraction from sunflower Seeds, *Food Chemistry*, 1998, vol. 61, no. 4, pp. 467-474.
- [11] Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists Society, vol.1, third ed., Aocs, (1964).
- [12] Dominguez H., Nunez M. J., Lema J. M., Aqueous Processing of Sunflower Kernels with Enzymatic Technology, *Food Chemistry*, vol. 53, no. 4, (1995).