

УДК 663.18

В. М. Гуляєв, канд. техн. наук, доц.;

А. С. Анацький

УДОСКОНАЛЕННЯ ПРОМИСЛОВОГО СПОСОБУ ОЧИЩЕННЯ КРИСТАЛІВ β -КАРОТИНУ

Визначено вміст жирних кислот у складі кристалів β -каротину. Наведено рекомендації щодо підвищення ефективності процесу очищення кристалічної форми цільового продукту.

Вступ

Каротинвмісна біомаса міцеліального гриба *Blakeslea trispora* як вихідного продукту для твердофазного екстрагування β -каротину є багатокомпонентною системою, що містить, крім цільового метаболіту, інші, властиві грибу біополімери та низькомолекулярні сполуки, які беруть участь в процесах життєдіяльності. Зокрема, під час утилізації зеленої патоки, рослинної олії — складових компонентів поживного середовища для культивування (джерела вуглецю), продуцент з безпосереднього попередника у метаболічних шляхах синтезу ізопреноїдів, жирних кислот, ліпідів — коферменту ацетилювання (Ас-КоА) поряд з утворенням β -каротину здійснює біосинтез жирних кислот, які в клітині знаходяться у вільному стані і у формі триглицеридів [1]. Ці речовини відносяться до жиророзчинних, тому під час екстракції β -каротину з біомаси вони також вилучаються розчинником, переходять у рідинну фазу і потім під час кристалізації основного компонента кристалізуються разом з ним, становлячись, таким чином, домішкою до нього. Схожість хімічної будови молекул β -каротину і жирних кислот (наявність довгого вуглецевого ланцюга, подвійних зв'язків) обумовлює близькість їх фізико-хімічних характеристик, таких як розчинність в органічних розчинниках, температура плавлення, ступінь насичення розчинів та ін., тому у виробничих умовах практично неможливо організувати процес отримання кристалів селективно по відношенню лише до β -каротину [2]. У зв'язку з необхідністю отримання кристалічного β -каротину високого ступеня чистоти (не менше 80 %) для виготовлення харчових продуктів, лікарських засобів (суспензій, паст, проти опікових та радіопротекторних препаратів) потрібно проводити очищення його від домішок після розділення фільтруванням кристалічної фази і маточного розчину.

Мета роботи — визначити склад неочищеної кристалічної суміші й на підставі властивостей домінуючих компонентів-домішок розробити відповідний технологічний режим очищення кристалів β -каротину.

Результати досліджень

Дослідження проводили в умовах промислового виробництва мікробіологічного β -каротину ТОВ «НВП«Вітан» (смт. Дніпровське, Дніпропетровська область).

Якісний і кількісний склад жирних кислот в неочищених кристалах β -каротину визначали на газорідинному хроматографі HRGC-5300 (Випробувальний біологічний центр Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України) [3—5]. Об'єктом досліджень був зразок типової кристалічної суміші з вмістом β -каротину 25 %, одержаної після фільтрування кристалізаційного розчину на вакуумному фільтрі.

Згідно з результатами хроматографічного аналізу (табл. 1) у складі домішок до кристалів β -каротину переважають лінолева, олеїнова, пальмітинова і стеаринова кислоти, вміст яких становить 86,5 % від загальної кількості жирних кислот у кристалічній масі, меншою мірою представлені арахідонова і бегенова, концентрація інших карбоксикислот не перевищує 1 % — серед них присутні ерукова, каприлова та лауринова. Послідовність збільшення частки окремих цих речовин аналогічна такій для соняшникової олії: так, згідно з відомими даними, у складі олії найбільше лінолевої (46...72 %) та олеїнової (24...40 %) кислот, менше — пальмітинової (8...9 %) і стеаринової (2...5 %). Таким чином, під час утилізації джерела жиру протягом промислового біосинтезу β -каротин, продуцент синтезує жирні кислоти, близькі за походженням і кількісним співвідношенням до таких у складі олії.

Кількісний склад жирних кислот у неочищеній кристалічній суміші

№ п/п	Найменування жирних кислот	Вміст, %
1	Лінолева	33,44
2	Олеїнова	27,75
3	Пальмітинова	15,23
4	Стеаринова	10,07
5	Арахідонова	3,70
6	Бегенова	2,70
7	Пальмітолеїнова	1,42
8	Арахісова	0,97
9	Ейкозадієнова	0,80
10	Докозатриєнова	0,74
11	Інші	< 0,50

На підставі проведених досліджень запропоновано сукупний вміст домішок до β-каротину характеризувати кислотним числом, яке використовувати для коригування технологічного режиму і контролю процесу очищення кристалів. Зокрема, показано (рис. 1), що введення трикратної гідратації кристалічної суміші для гідролітичного розщеплення зв'язаних жирних кислот дозволяє, видаливши частку домішок, знизити кислотне число кристалів на 5 одиниць. Разом із тим відмічений певний інтервал значень цього показника, знизити який лише подальшим збільшенням одиничних гідратацій неможливо, що підтверджує наявність у суміші високомолекулярних водонерозчинних сполук. Складний поліноміальний вид функції зміни кислотного числа від кількості гідратацій пояснюється складним механізмом взаємодії води з триглицеридами кристалічної маси: спочатку відбувається первинний розклад зазначених речовин на простіші компоненти (моно- та дигліцериди), з яких під час другої, третьої гідратації вивільняються жирні кислоти, тому і зниження кислотного числа суміші при цьому більше, ніж після однократної обробки водою.

Для подальшого видалення жирнокислотної складової з кристалів проводять обробку гідратованої суміші водним розчином лугу під час нагрівання — спосіб «омилення», перейнятий з технології переробки рослинних олій і жирів, заснований на гідролітичному розщепленні триглицеридів, переведенні нерозчинних у воді жирних кислот в розчинні натрієві солі з подальшим відділенням їх фільтруванням від твердої фази. У виробничих умовах температура гідролізу обмежена 50 °С для запобігання можливій інактивації термолабільного β-каротину. Однак враховуючи, що плавлення окремих компонентів маси (пальмітинової, стеаринової кислот) відбувається за 60...70 °С, для збільшення глибини гідролізу і ефективності очищення температура омилення повинна складати 90...100 °С (рис. 2). При цьому термоінактивацію цільового компонента можна попередити за рахунок скорочення часу витримки реакційної суміші.

Ступінь чистоти кристалів, досягнутий у процесі омилення, є функцією не тільки температури гідролізу, але й часу витримки і початкового вмісту β-каротину у кристалах, що може бути виражено таким рівнянням, отриманим під час обробки експериментальних даних:

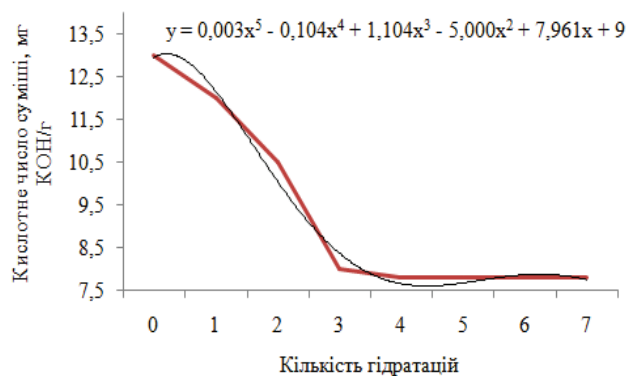


Рис. 1. Зниження кислотного числа кристалічної суміші в процесі гідратації

У виробничих умовах температура гідролізу обмежена 50 °С для запобігання можливій інактивації термолабільного β-каротину. Однак враховуючи, що плавлення окремих компонентів маси (пальмітинової, стеаринової кислот) відбувається за 60...70 °С, для збільшення глибини гідролізу і ефективності очищення температура омилення повинна складати 90...100 °С (рис. 2). При цьому термоінактивацію цільового компонента можна попередити за рахунок скорочення часу витримки реакційної суміші.

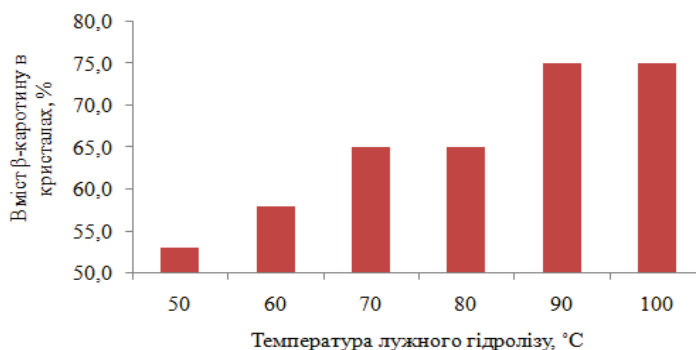


Рис. 2. Ступінь чистоти кристалічного β-каротину за різних температурних режимів процесу омилення

$$C_{\beta} = 11,2 + 21,4LgC_0 + 28,7LgT - 15,6Lgt; \quad R^2 = 0,987, \quad (1)$$

де C_0 , C_{β} — вміст β-каротину в кристалах до та після омилення, %; T — температура гідролізу, °С; t — час витримки кристалічної маси при температурі гідролізу, хв.

Заключним етапом очищення кристалів є промивання їх гарячою водою (70 °С) для видалення надлишку луку, «омилених» кислот. Критерієм закінчення процесу слугує досягнення нейтральних значень рН промивних розчинів, що свідчить про відсутність лужної реакції кінцевого продукту. Для скорочення числа одиничних обробок запропоновано замість води використовувати нейтралізуючі розчини слабких органічних кислот, дозволених до використання у харчовій промисловості. Так, замінюючи воду розчином аскорбінової кислоти із рН 4—5, вдається зменшити вдвічі кількість промивань продукту (рис. 3).

Таким чином, під час реалізації зазначених заходів, які полягають у коригуванні технологічного режиму очищення кристалів, досягнуто ступінь чистоти кінцевого продукту 75 % (в контролі — 53 %), що відповідає збільшенню обсягів виробітку кристалічного β -каротину на 33 % з однієї технологічної операції переробки вихідної суміші. Крім того, за рахунок попередньої гідратації зменшено на 20 % витрати соди каустичної для процесу лужного гідролізу домішок до β -каротину, оскільки частина їх видаляється з кристалів до початку омилення.

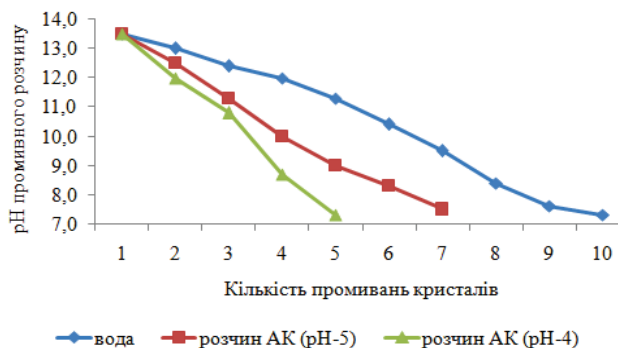


Рис. 3. Зміна рН промивних розчинів під час обробки кристалів водою та аскорбіновою кислотою (АК)

Висновки

1. У складі вільних жирних кислот — домішок до кристалічного β -каротину переважають одноосновні карбонові кислоти алифатичного ряду (пальмітинова, стеаринова) і ненасичені (лінолева, олеїнова), кількісне співвідношення між ними близьке до такого для соняшникової олії — компонента поживних середовищ для культивування продуцента. Сумарний вміст зазначених «супутників» до кристалів метаболіту та його зміну в процесі очищення найточніше відображає кислотне число кристалічної суміші, тому необхідний його контроль під час проведення окремих технологічних процедур.

2. Удосконалення промислового способу очищення кристалічного β -каротину полягає у введенні гідратації триглицеридів, підвищенні температури омилення до 100 °С (проти 50 °С) для збільшення глибини лужного гідролізу, заміні промивань кристалів гарячою водою на обробку водними розчинами органічних кислот.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Somashekar D. Efficacy of extraction methods for lipid and fatty acid composition from fungal cultures / [D. Somashekar, G. Venkateshwaran, C. Srividya et al.] // World Journal Microbiology, Biotechnology. — 2001. — № 5. — P. 317—320.
2. Treszczanowicz T. Solubility of beta-carotene in binary solvents formed by some hydrocarbons with cyclohexane and 1-octanol / T. Treszczanowicz, A. J. Treszczanowicz, T. Kasparzycka-Guttman // Journal of Chemical Engineering Data. — 2001. — № 8. — P. 1494—1496.
3. Spitzer V. Structure analysis of fatty acids by gas chromatography — low resolution electron impact mass spectrometry of their 4,4-dimethyloxazoline derivatives / V. Spitzer // Progressive Lipids Responses. — 1997. — № 3. — P. 387—408.
4. Sharpless K. E. Preparation and Characterization of Standard Reference Material 3276 Carrot Extract in Oil / [K. E. Sharpless, S. A. Wise, T. Yarita et al.] // Analytical, Bioanalytical Chemistry. — 2007. — № 4. — P. 207—217.
5. Sander L. C. Standard Reference Materials to Support measurement of fatty acids / L. C. Sander, S. A. Wise, K. E. Sharpless // Lipid Technology. — 2009. — № 1. — P. 7—12.

Рекомендована кафедрою хімії та хімічної технології

Стаття надійшла до редакції 31.05.11
Рекомендована до друку 21.06.11

Гуляєв Віталій Михайлович — доцент, **Анацький Андрій Сергійович** — старший викладач.

Кафедра промислової біотехнології загальної та фізичної хімії, Дніпродзержинський державний технічний університет, Дніпродзержинськ