

УДК [665.213 : 664.959.5] : [664.951.013 : 628.3]

## Технология концентрата жирных кислот на основе низкосортного рыбного жира

**Б.Ф. Петров**

*Технологический факультет МГТУ, кафедра технологии пищевых производств*

**Аннотация.** Разработана технология получения концентрата жирных кислот на основе низкосортного рыбного жира. Практическое применение нового продукта предполагает его использование в технических целях для замены традиционных источников жирных кислот.

**Abstract.** The technology of concentrate of fatty acids based on low-grade fish oil has been worked out. Practical application of a new product assumes its use in the technical purposes for replacement of traditional sources of fatty acids.

**Ключевые слова:** технология, концентрат жирных кислот, низкосортные рыбные жиры  
**Key words:** technology, concentrate of fatty acids, low-grade fish oil

### 1. Введение

Рыбный жир, обладая высокой биологической активностью, является ценным сырьем для фармацевтической, пищевой и кормовой промышленности. Однако высокая ненасыщенность углеводородного скелета жирных кислот в молекулах рыбного жира часто служит причиной его глубоких гидролитических и окислительных превращений. Это обстоятельство делает невозможным широкое использование его в указанных областях. Жир с измененной молекулярной структурой целесообразно использовать для получения концентрата жирных кислот (КЖК), который является сырьем для получения поверхностно-активных и пленкообразующих материалов технического назначения (*Bimbo, Crowther, 1990*).

### 2. Выбор способа гидролиза рыбного жира

КЖК получают гидролизом смесей глицеридов. Гидролиз жира можно проводить в гетерогенных дисперсных средах типа "жир-вода", однако скорость процесса в этом случае сравнительно невелика. Для повышения взаимной растворимости жира в воде и увеличения скорости его гидролиза обычно используют подогрев, повышенное давление, катализаторы (сульфоокислотный контакт, минеральные кислоты, оксиды щелочных металлов) и ферменты. Гидролиз триглицеридов идет ступенчато с образованием промежуточных продуктов: ди- и моноглицеридов. По мере образования этих продуктов, обладающих по сравнению с триглицеридами большей растворимостью в воде, скорость расщепления глицеридов повышается. Конечными продуктами гидролиза жира являются смеси жирных кислот и глицерин (*Тютюников, 1974*).

Существуют различные способы гидролиза жира: контактный (в присутствии сульфокислотного контакта и серной кислоты), с использованием окисей щелочноземельных металлов (цинка, кальция, магния), безреактивный и ферментативный (энзиматический) (*Арутюнян и др., 1985*).

Для расщепления рыбных жиров ни один из указанных способов пока не нашел применения в промышленности. Наиболее перспективным для этих целей следует считать ферментативный (энзиматический) способ. Он не требует сложного оборудования и больших энергозатрат. Однако основным его недостатком является высокая стоимость катализатора процесса – липолитических ферментных препаратов. Для обеспечения рентабельности энзиматического способа в нем следует применять ферментные препараты с минимальной степенью очистки, а также создать условия многократного использования биокатализатора.

Возможность применения в биотехнологических процессах ферментных препаратов без глубокой степени очистки обусловлена высокой избирательностью действия содержащегося в них активного белка – фермента. Это позволяет интенсифицировать реакцию даже в присутствии различных сопутствующих ферменту примесей (*Fullbrook, 1983*). Многократное использование фермента, сохранение его нативных свойств обеспечивает метод иммобилизации, т.е. реакция взаимодействия фермента с матрицей полимера-носителя с образованием биологически-активного полимерного материала, обладающего липолитической активностью. В результате не только продлевается срок

действия биокатализатора, но обеспечиваются условия для проведения непрерывного производственного процесса (Janshekar, Feichter, 1982).

### 3. Исследование процесса ферментативного гидролиза рыбного жира

Ферментативный гидролиз рыбного жира проводили с помощью панкреатической липазы в свободном и иммобилизованном состоянии.

Препарат свободной липазы представлял собой 10 %-ый глицериновый раствор измельченной поджелудочной железы свиньи.

Иммобилизацию ферментного препарата осуществляли на поливиниловом спирте марки 16/1 по ГОСТ 10779-78 по методике, предложенной специалистами проблемной лаборатории полимеров Московского государственного университета прикладной биотехнологии.

Субстратом для расщепления служил рыбный жир с кислотным числом ( $60.9 \pm 0.3$ ) мгКОН/г и числом омыления ( $196 \pm 1.0$ ) мгКОН/г. Изучение методом тонкослойной хроматографии фракционного состава жира показало наличие в нем (%): триглицеридов  $62.1 \pm 0.5$ ; диглицеридов  $11.3 \pm 0.1$ ; моноглицеридов и оксикислот  $5.3 \pm 0.2$ ; свободных жирных кислот  $21.3 \pm 0.4$ .

Процесс гидролиза вели при непрерывном перемешивании реакционной смеси, соотношении жира и воды 1:0.5, температуре смеси  $37^\circ\text{C}$ , pH смеси 7.0.

Активность ферментных препаратов определяли по методике ВНИРО, основанной на количественном определении жирных кислот, отщепляемых от триглицеридного субстрата – очищенного медицинского рыбного жира. О количестве отщепляемых жирных кислот судили по приросту кислотного числа реакционной смеси.

Эффективность процесса гидролиза рыбного жира оценивали по изменению его степени расщепления – глубине гидролиза. Глубину гидролиза ( $G$ ) рассчитывали по формуле:

$$G = (KЧ / ЧО) \cdot 100, \quad (1)$$

где КЧ – кислотное число жира, мгКОН/г; ЧО – число омыления, мгКОН/г.

Изучение активности ферментных препаратов показало, что они обладают невысокой способностью к расщеплению триглицеридного субстрата. Активность липазы в свободном состоянии составила ( $44.7 \pm 0.2$ ) ед/10 г препарата, иммобилизованной липазы ( $48.4 \pm 0.2$ ) ед/10 г препарата. В связи с этим для увеличения активности ферментов в процессе гидролиза использовали желчные соли и хлорид кальция.

Ферментные препараты вносили в реакционную смесь в количестве 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 % от массы гидролизуемого жира. Количество вносимой иммобилизованной липазы пересчитывали на площадь ее поверхности, что соответственно составило 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 см<sup>2</sup>/г гидролизуемого жира.

Желчные соли вводили в реакционную смесь в виде консервированной медицинской желчи. Количество вводимой желчи составило 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 % от массы смеси "жировой объект-вода-фермент".

Хлорид кальция добавляли к смеси "жировой объект-вода-фермент" в количестве 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 %.

Процесс гидролиза контролировали через 2, 4, 6, 8, 10, 12 ч после его начала.

Исследованиями установлено, что желчные соли оказывают стимулирующее действие только на свободную липазу (рис. 1а, кривая 1), а хлорид кальция только на иммобилизованную липазу (рис. 1б, кривая 2). Активность свободной липазы в присутствии 25 % желчи сохранялась в течение 10 ч (рис. 2а, кривая 1), иммобилизованной в присутствии 1 % хлорида кальция в течение 8 ч (рис. 2а, кривая 2). Инактивация ферментов при отсутствии в реакционной смеси соответствующего активатора наступала через 4 ч (рис. 2а, кривые 3,4).

Иммобилизованная липаза по сравнению со свободной формой показала способность глубже гидролизовать глицериды субстрата (рис. 2б, кривая 2), а также возможность ее многократного использования – до 90 раз.

Отмечена необходимость промывки раствором детергента и водой иммобилизованного фермента от остатков гидролизованного жира после каждой реакции ферментализации. В противном случае активность липазы постепенно снижается, и через 10 циклов она полностью утрачивает способность к расщеплению глицеридов субстрата. По-видимому, это явление связано с блокировкой активных центров фермента образующимися в ходе реакции гидролиза свободными жирными кислотами.

Результаты эксперимента показали целесообразность использования для гидролиза низкосортного рыбного жира панкреатической липазы в иммобилизованном состоянии.

Рис. 1. Изменение глубины гидролиза технического полуфабриката рыбного жира в зависимости от дозы вносимой желчи (вверху) и хлорида кальция (внизу) при продолжительности ферментализации 6 ч в присутствии:

- 1 – свободной липазы (10 %);
- 2 – иммобилизованной липазы (20 см<sup>2</sup>/г)

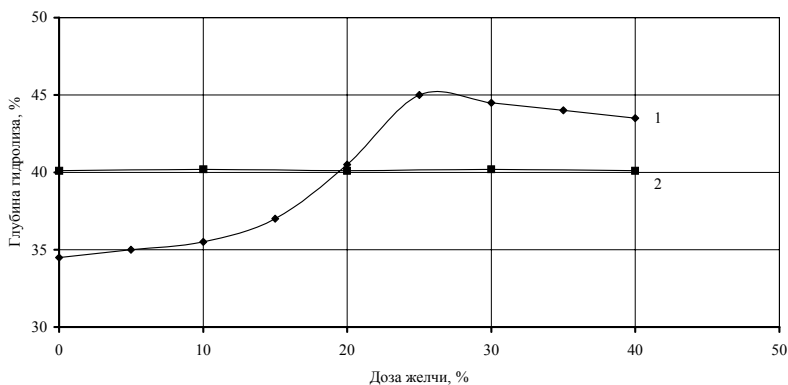
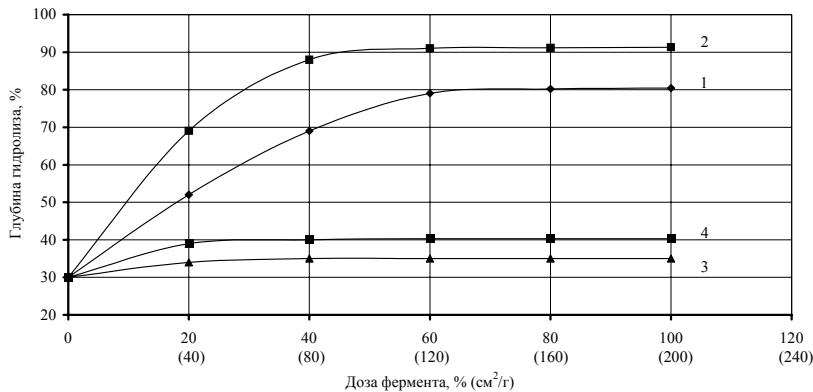
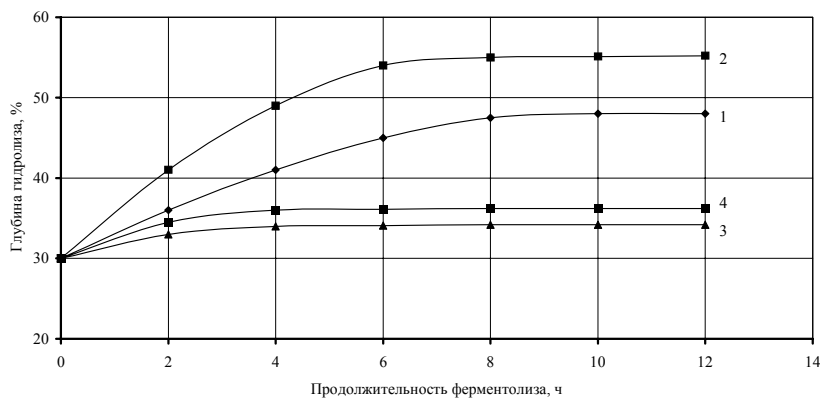


Рис. 2. Изменение глубины гидролиза технического полуфабриката рыбного жира в зависимости от продолжительности ферментализации (вверху) и от дозы фермента при продолжительности ферментализации 6 ч (внизу):

- 1 – свободная липаза (10 %) с 25 % желчи;
- 2 – иммобилизованная липаза (20 см<sup>2</sup>/г) с 1 % хлорида кальция;
- 3 – свободная липаза (10 %) без активатора;
- 4 – иммобилизованная липаза (20 см<sup>2</sup>/г) без активатора



Поиск оптимальных условий протекания процесса гидролиза жира иммобилизованным ферментом осуществляли путем построения математической модели в предполагаемой области нахождения оптимума по методу Бокса-Уилсона с использованием ротатабельных планов второго порядка (Адлер, 1976). Поверхность отклика эксперимента аппроксимировали полиномами второго порядка. Расчет коэффициентов уравнений регрессии осуществляли на ПЭВМ по методу наименьших квадратов. Адекватность полученных математических зависимостей оценивалась с помощью критерия Фишера.

Критерием оптимизации процесса ферментации являлась глубина гидролиза жира ( $y$ ). Факторами, оказывающими существенное влияние на процесс, считали дозу хлорида кальция, дозу фермента, продолжительность процесса ферментации.

Аппроксимация экспериментальных данных полиномиальной моделью второго порядка позволила получить уравнение регрессии следующего вида:

$$y = -31x_1^2 - 0.0023x_2^2 - 0.42x_3^2 + 72x_1 + 0.63x_2 + 7.5x_3 + 0.3x_1x_3 - 0.009x_2x_3 - 17, \quad (2)$$

где  $x_1$  – доза хлорида кальция, %;  $x_2$  – доза иммобилизованного фермента, см<sup>2</sup>/г;  $x_3$  – продолжительность процесса ферментации, ч.

Анализ поверхности отклика функции показал, что оптимальными для протекания процесса ферментации рыбного жира являются следующие условия: доза хлорида кальция 1 %, доза иммобилизованного фермента 120 см<sup>2</sup>/г, продолжительность процесса 8 ч.

Значение критерия оптимизации в точке оптимума составляет 93.4 %. Экспериментальное значение глубины гидролиза жира при оптимальных условиях равно (93.6±1.1) %.

Анализ фракционного состава липидов рыбного жира до и после гидролиза показывает, что изученный процесс способствует повышению содержания свободных жирных кислот в объекте от 20 до 70 %. Жирнокислотный состав липидов при этом меняется незначительно и составляет (%): насыщенных жирных кислот – 22, мононенасыщенных – 32; полиненасыщенных – 46.

Химический состав гидролизованного рыбного жира характеризуется наличием в нем значительного количества воды (в среднем 47 %). Данное обстоятельство препятствует последующему использованию полученного продукта в различных химико-технологических процессах. С целью удаления избыточной влаги и повышения концентрации жировых веществ водно-жировую систему подвергали тепловой обработке в делительной воронке, помещенной в водяной термостат. Температуру процесса варьировали от 20 до 95 °С, продолжительность от 0 до 1 ч.

В ходе нагрева наблюдалось расслоение водно-жировой системы на два слоя – водный и жировой. По-видимому, этот процесс связан с разрушением дисперсной структуры объекта за счет уменьшения вязкости входящих в ее состав ингредиентов с последующим разделением образующихся фаз под действием силы тяжести. По окончании тепловой обработки водный слой отделяли от жирового.

Исследованиями установлено, что степень обезвоживания жирового слоя увеличивается с повышением температуры нагрева. Однако температура процесса не должна превышать 100 °С, в противном случае возможен переход водной фазы реакционной смеси в парообразное состояние и выброс ее из реактора. Продолжительность разделения фаз в реакционной смеси составляет 10 мин.

Анализ химического состава обезвоженного объекта показал, что по содержанию воды (не более 5 %), кислотному числу (порядка 180 мгКОН/г продукта) он может быть отнесен к КЖК.

КЖК из рыбного жира апробирован для флотации апатито-нефелиновой руды в качестве замены традиционных жирнокислотных собирателей – талловых масел, масляного гудрона, синтетических жирных кислот, соапстока после рафинации растительных масел. Эксперименты показали, что введение указанных кислот в состав флотационной смеси позволяет при сохранении качества получаемого концентрата увеличить выход фосфатных соединений (оксида фосфора P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) из исходной руды. Это свидетельствует о более высокой избирательности действия кислот рыбного жира как флотационного реагента по сравнению с традиционными собирателями.

#### 4. Заключение

Результаты представленной работы позволяют решить две важные технические задачи, связанные с рациональной переработкой низкосортных рыбных жиров в КЖК, и использованием полученного продукта в технических целях в качестве замены традиционных источников жирных кислот.

Показана возможность использовать в качестве источника липолитических ферментов для гидролиза рыбного жира измельченную поджелудочную железу без дополнительной очистки. Иммобилизация панкреатической липазы на полимере поливинилового спирта сохраняет продолжительное время ее нативные свойства, что обеспечивает многообразие использования

фермента в процессе гидролиза. Присутствие хлорида кальция в реакционной смеси стимулирует активность иммобилизованной липазы и позволяет существенно повысить степень расщепления рыбного жира.

#### Литература

- Bimbo A.P., Crowther J.B.** The industrial uses of marine oils. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, v.1, N 4, p.295, 1990.
- Fullbrook P.D.** The use of enzymes. *Upgrad. Waste for Feed and Food*, p.133-140, 1983.
- Janshekar H., Feichter A.** Biochemical engineering. *New Trends Chem.*, p.97-126, 1982.
- Адлер Ю.П.** Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. М., Наука, 280 с., 1976.
- Арутюнян Н.С., Аришева Е.А.** Технология переработки жиров. М., Агропромиздат, 368 с., 1985.
- Тютюнников Б.Н.** Химия жиров. М., Пищевая промышленность, 448 с., 1974.