

Ф.Ф.ГЛАДКИЙ, докт. техн. наук, проф., НТУ «ХП», Харків
С.В.ВОЛОШЕНКО, здобувач, УкрНДІОЖ НААН, Харків

МОЖЛИВІСТЬ ПРОВЕДЕННЯ РЕАКЦІЇ ГІДРАТАЦІЇ ФОСФОЛІПІДІВ ОЛІЙ З ВИКОРИСТАННЯМ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ ФОСФОЛІПАЗИ С

Здійснено реакцію пробної гідратації фосфоліпідів олії соняшникової з використанням вітчизняного ферментного препарату фосфоліпази С, виробництва ЗАТ «Ензим». Встановлено, що фосфоліпаза С специфічно каталізує розщеплення естерного зв'язку між диацилгліцерином та залишком заміщеної фосфорної кислоти в молекулі гліцерофосфоліпідів. Тим самим доведена можливість застосування фосфоліпази С в технології гідратації фосфоліпідів олій.

Проведено реакцію пробної гідратації фосфоліпідів масла подсолнечного с использованием отечественного ферментного препарата фосфолипазы С, производства ЗАО «Энзим». Установлено, что фосфолипаза С специфически катализирует расщепление сложноэфирной связи между диацилглицерином и остатком замещенной фосфорной кислоты в молекуле глицерофосфолипида. Таким образом, доказана возможность использования фосфолипазы С в технологии гидратации фосфолипидов растительных масел.

It was realized the reaction of trial degumming of sunflower oil [phospholipides](#) with use of a domestic enzyme preparation of Phospholipase C, which was produced by [private corporation](#) "Enzyme". It was established, that Phospholipase C specifically [catalyzing](#) the splitting [ester group](#) between [diacylglycerol](#) and the residue of the [displaced](#) phosphoric acid in a molecule of glycerolphospholipide. Thus, it was [proved](#) the possibility of use the Phospholipase C in a technology of degumming vegetable oils [phospholipides](#).

Багатьом процесам хімічних перетворювань, що використовуються в різноманітних галузях промисловості, з точки зору економіки та екології притаманні істотні недоліки. Неспецифічний перебіг реакції знижує вихід кінцевих продуктів. Високі температури та/або тиск, кисле чи лужне середовище, що необхідні для проведення реакції, призводять до величезних енерговитрат та потребують великих об'ємів води, великих капіталовкладень, а також застосування спеціального обладнання, що дорого коштує. Утилізація небажаних вторинних продуктів також пов'язана зі значними труднощами та затратами. Високий рівень використання хімічних реактивів та енергії, як і утворення вторинних продуктів, негативно впливають на стан навколишнього середовища. Практично усі перераховані вище недоліки можна усунути з використанням ферментів.

У теперішній час ферментні технології застосовують у виробництві спеціальних жирів, косметичних препаратів, гідратації олій та переетерифікації жирів [1].

У розвитку олійно-переробної промисловості освоєння процесу ферментної гідратації можна вважати принципово новим етапом, що забезпечує різке підвищення якості, розширення асортименту та підвищення біологічної цінності харчових жирів продуктів з одночасним зниженням виробничих затрат [2].

Одними з основних ферментів, що каталізують біохімічні реакції у перетвореннях фосфоліпідів, є фосфоліпази. Молекули фосфоліпідів мають декілька типів зв'язків, які можуть бути модифіковані під дією ферментів типу гідролаз: естерні зв'язки жирних кислот, фосфатидні диестерні зв'язки, одна з яких утворена первинною спиртовою групою гліцерину, інша – залишком R. Існує декілька типів фосфоліпаз (A₁, A₂, B₁, B₂, C, D). B₁, B₂ – це лізоформи фосфоліпаз A₁, A₂. Відрізняються вони характером дії на субстрат, що представлено на рисунку 1 [3,4].

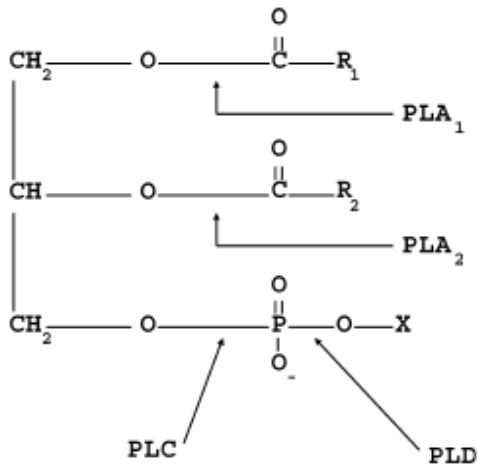


Рис. 1 – Специфічна дія різних типів фосфоліпаз

PLA₁ – фосфоліпаза A₁ (3.1.1.32) фосфатид-1-ацилгідролаза, каталізує гідроліз естерного зв'язку молекули фосфоліпиду в α-положенні;

PLA₂ – фосфоліпаза A₂ (3.1.1.4) фосфатид-2-ацилгідролаза, каталізує гідроліз естерного зв'язку молекули фосфоліпиду в β-положенні;

PLB – фосфоліпаза B (3.1.1.5) лізолецитин-ацилгідролаза, каталізує гідроліз естерного зв'язку молекули лізофосфоліпиду;

PLC – фосфоліпаза C (3.1.4.3) каталізує гідроліз естерного зв'язку між

диацилгліцерином та заміщеною фосфорною кислотою.

Відомі дві підгрупи фосфоліпази C:

- фосфатидилхолін-холінфосфогідролаза – фермент, що каталізує фосфатидилхолін, а також фосфатидилсерин та фосфатидилетаноламін;
- фосфатидилінозитол-інозитфосфогідролаза – фермент, що каталізує гідроліз фосфатидилінозитолу та моно- і дифосфатів фосфатидилінозитолу;

PLD – фосфоліпаза D (3.1.4.4) каталізує гідроліз естерного зв'язку між фосфатною групою та спиртом у молекулі фосфоліпиду [2].

Згідно з літературними даними, фосфоліпази використовуються тільки в деяких галузях харчової промисловості, а саме: у виробництві крохмалю, олій, хлібобулочних виробів та сиру. Фосфоліпази використовують для отримання емульгаторів для виробництва яєчного порошку, майонезу, соусів та ін [4].

Особливо важливим напрямком використання фосфоліпаз є гідратація фосфоліпідів олій з метою видалення супутніх речовин [4]. В наш час в олійно-жировій галузі вже реалізовані способи гідратації фосфоліпідів олій з використанням таких ферментних препаратів, як «Lecitase® Novo and Ultra», виробництва фірми «Новозаймс», що містить фосфоліпазу A₁, та ферментний препарат EnzyMax®, що містить фосфоліпазу A₂. Ферменти гідролізують естерні зв'язки в позиції A₁ та A₂-фосфоліпідів і таким чином надають гідрофільний характер молекулам фосфоліпідів [5,6].

Завдяки гідрофільному характеру фосфоліпиди можуть бути видалені одноступеневим сепаруванням. Гідролізовані фосфоліпиди є прекрасними емульгаторами для використання в різних харчових та нехарчових системах.

Тому ферментна гідратація не тільки видаляє фосфоліпіди, але і перетворює їх у високоефективні емульгатори [5,6].

Істотно новим способом гідратації фосфоліпідів олій є ферментна гідратація з використанням бактеріальної фосфоліпази С, що отримана з бактерій видів *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pichia* та інші [4,7].

Фосфоліпаза С гідролізує естерний зв'язок між диацилгліцирином та заміщеною фосфорною кислотою [8,9]. Індивідуальним ферментам цієї групи притаманні суттєві вимоги до структури гідрофільного спирту, з яким фосфат утворює другий естерний зв'язок, що не гідролізується під час перебігу реакції [3]. В результаті даної реакції утворюються диацилгліцерини, які залишаються в олії та водорозчинний залишок фосфорної кислоти, що видаляється з олії шляхом відстоювання та центрифугування.

Наразі у світі велику увагу приділяють процесу переробки олій. Метою сучасних досліджень є пошук принципово нових підходів до процесу очищення олій. Згідно з літературними даними американська компанія Verenum розробила спосіб гідратації олій з використанням фосфоліпази С Purifine® С (PLC), продуцентом якої є штам мікроорганізмів *Pichia pastoris* [10,11]. Цей ферментний препарат застосовують для гідратації фосфоліпідів соєвої олії та інших олій з високим вмістом фосфоровмісних речовин. Встановлені оптимальні умови проведення процесу: рН 7 та температура 60 °С. Застосування цього ферментного препарату дає змогу зменшити втрати сирової олії завдяки відсутності виносу її з водорозчинним залишком фосфорної кислоти [12,13]. Ферментний препарат Purifine PLC наразі використовується на заводі в Сан Лоренцо (Аргентина) на устаткованні фірми Alfa Laval [14]. Також існує патент, який передбачає проведення процесу гідратації фосфоліпідів олій з одночасним застосуванням групи фосфоліпаз А та С [15].

Однак відсутні дані щодо механізму перебігу реакції, її кінетики та оптимізації. Тому доцільно дослідити можливість використання ферментного препарату фосфоліпази С для гідратації фосфоліпідів олій вітчизняного виробництва з метою спрощення технології рафінації, зниження матеріалоємності виробництва, скорочення енергетичних затрат, отримання продукту, який збагачений фізіологічно цінними компонентами – диацилгліциринами.

У зв'язку з цим нами було досліджено ферментний препарат фосфоліпаза С виробництва ЗАТ «Ензим» (Вінницька обл.) активністю 500 од/акт. Було виконано пробну гідратацію олії соняшnikової з використанням вказаного препарату.

Застосовувалися різні умови перебігу реакції: варіювалася кількість доданого ферментного препарату, кількість ацетатного буферного розчину, здистильованої води, температура реакції та кількість доданого розчину луку [16]. Умови проведення реакцій надано в таблицях 1,2,3.

В продуктах реакції визначали масову частку диацилгліциринів. Результати наведені в таблиці 4.

Таблиця 1 – Умови реакції № 1

Найменування	Значення
Наважка олії соняшникової	50 г
Об'єм води здистильованої	2 см ³
Температура	55 °С
Об'єм ферментного препарату	5 см ³
Об'єм луку, $c = 1$ моль/дм ³	5 см ³

Таблиця 2– Умови реакції № 2

Найменування	Значення
Наважка олії соняшникової	50 г
Об'єм води здистильованої	2 см ³
Температура	33 °С
Об'єм ферментного препарату	5 см ³
Об'єм луку, $c = 1$ моль/дм ³	10 см ³

Таблиця 3 – Умови реакції № 3

Найменування	Значення
Наважка олії соняшникової	50 г
Об'єм ацетатного буферу	2 см ³
Температура	55 °С
Об'єм ферментного препарату	5 см ³
Об'єм луку, $c = 1$ моль/дм ³	5 см ³

Таблиця 4 – Масова частка диацилгліцеринів в продуктах реакції

Найменування умов реакції	Масова частка ДАГ, %
Вихідна олія	0,874
1	0,921
2	0,899
3	0,876

З даних таблиці 4 можна зробити висновок, що в продуктах реакції, яка проведена в умовах, згідно таблиці 1, збільшилася масова частка ДАГ. Це свідчить про те, що досліджуваний препарат проявляє найбільшу активність за температури 55 °С та додаванні здистильованої води в якості гідратуючого агенту. Таким чином, проведена повторна реакція гідратація фосфоліпідів у вище вказаних умовах з додаванням більшої кількості ферментного препарату у зв'язку з його низькою активністю. В продуктах реакції визначали масову частку фосфоровмісних речовин та ДАГ. Результати надано в таблиці 5.

З даних таблиці 5 можна зробити висновок про те, що відбувається зменшення масової частки фосфоровмісних речовин та збільшення масової частки диацилгліцеринів в олії після реакції ферментної гідратації (у зразку №4 збільшення масової частки ДАГ відбулося на 68 %), тобто встановлено, що досліджуваний ферментний препарат фосфоліпаза С каталізує розщеплення

складноестерного зв'язку між диацилгліцирином та залишком заміщеної фосфорної кислоти.

Таблиця 5 – Масова частка фосфоровмісних речовин та ДАГ в продуктах реакції

№ зразка	Масова частка фосфоровмісних речовин в прерахунку на стеароолеолецитин, %	Масова частка ДАГ, %
Вихідна олія	0,22	0,874
1	0,08	0,876
2	0,09	0,870
3	0,10	1,175
4	0,13	1,465

Однак, з даних таблиці 5 витікає, що для достатньо повного видалення фосфоровмісних речовин з олії у зв'язку із специфічністю дії ферменту необхідно використовувати одночасно з фосфотидилхолін - фосфоліпазою С, фосфатидилінозітол-фосфоліпазу С, а також фосфоліпази С, різних штамів мікроорганізмів. Оскільки, наприклад, фосфоліпаза С, отримана зі штаму мікроорганізмів *Pichia Pastoris*, каталізує розщеплення тільки фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну [11,14], а фосфоліпаза С, отримана зі штаму мікроорганізмів *Bacillus cereus*, каталізує розщеплення фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилгліцерину, дифосфатидилгліцерину та фосфатидилсерину [9].

Таким чином, доведена можливість використання фосфоліпази С виробництва ЗАТ «Ензим» в технології гідратації фосфоліпідів олій. Істотною перевагою нової технології може бути збільшення виходу гідратованої олії, пропорційно вмісту фосфоліпідів, збагачення її фізіологічно цінними компонентами – диацилгліциринами, зменшення ресурсо- та енергозатрат.

Подальші дослідження будуть присвячені вивченню кінетики та механізму дії вказаних ферментів, а також визначанню раціональних умов проведення реакції ферментної гідратації фосфоліпідів олій з використанням ферментних препаратів вітчизняного виробництва.

Список літератури: 1. Ключникова Л.В. Ферментные технологии – будущее масложировой промышленности / Л.В. Ключникова, И.Ю. Блинкова // Масложировая промышленность. – 2006. – № 4. – С. 30 – 31. 2. Ферментативная (энзимная) гидратация растительных масел – ГК «Союзснаб» за технологии XXI века // Масложировая промышленность. – 2011. – № 2. – С. 22 – 24. 3. Арутюнян Н.С. Фосфолипиды растительных масел / Н.С. Арутюнян Е.П. Корнена. М.: Агропромиздат, 1986. – 256 с. 4. Maria L. De Phospholipases and their industrial applications / [L. De Maria J. Vind, K. M. Oxenbull, A. Svendsen, S. Patkar] // Appl. Microbiol Biotechnol. 2007. – Vol. 74. – P. 290 – 300. 5. Ферментативная (энзимная) гидратация с применением ферментов компании «Новозаймс А/С // Масложировая промышленность. – 2004. – № 3. – С. 44 – 45. 6. Dijkstra A.J. Enzymatic degumming / A.J. Dijkstra // European Journal of Lipid Science and Technology. 2010. – Vol. 112, № 11. – P. 1178– 1189. 7. Диксон М. Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. М.: Изд-во «Мир», 1966. – 816 с. 8. Самнер Дж. Б. / Химия ферментов Дж. Б. Самнер, Г.Ф. Сомерс. – М.: государственное издательство иностранной литературы, – 1948. – 584 с. 9. Брокерхоф Х. Липолитические ферменты / Х. Брокерхоф, Р. Дженсен. М.: Изд-во «Мир», –

1978. – 387 с. 10. Матеріали компанії Verenium [Електронний ресурс]: Purifine® PLC: Improving the Degumming of Edible Vegetable Oil. Режим доступу: http://www.verenium.com/prod_purifine.html. 11. Hitchman T. Purifine^R PLC: Industrial application in oil degumming and refining / T. Hitchman // Oil Mill Gazetteer. 2009. – Vol. 115. P. 2 – 4. 12. Матеріали компанії Diversa [Електронний ресурс]: Corporation GRAS Notification Concerning BD16449 Phospholipase C Enzyme Preparation From *Pichia pastoris*. Режим доступу: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:j6XKUreVbbsJ:www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn000204.pdf+PLC+BD+16449&cd=1&hl=ru&ct=clnk&gl=ua&client=firefox. 13. Verenium and Alfa Laval announce collaboration on Purifine PLC Enzyme // Chemical Business Newsbase. – 2009. – march 24. – P. 15. 14. Матеріали компанії Verenium [Електронний ресурс]: World's Largest Soybean Processing Plant Converts to Usage of Verenium's Purifine^R PLC Enzymatic Degumming Process. Режим доступу: <http://ir.verenium.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=448847>. 15. Пат. США № 0069587 А1. Enzymatic degumming utilizing a mixture of PLA and PLC phospholipases with reduced reaction time / Dayton C., E.M. Rosswurm, F. de S. Galhardo; 11.09.2007; publ. 12.03.2009. 16. Дятловицкая Э. В. Количественное определения фосфохолина и активности фосфолипазы С / [Э. В. Дятловицкая. В.И. Волкова, М.В. Исполатовская, Л.Д. Бергельсон] //Химия природных соединений. – 1966. – №. 3. – с. 233 – 235.
Поступила в редколлегию 30.08.2011

УДК 661.321

В.Ф.РАЙКО, канд. техн. наук, проф., НТУ «ХПИ», Харьков
М.А.ЦЕЙТЛИН, докт. техн. наук, проф., НТУ «ХПИ», Харьков
В.А.ПАНАСЕНКО, докт. техн. наук, проф., НИОХИМ, Харьков

ТЕПЛОПЕРЕДАЧА ПРИ ГАЗОЖИДКОСТНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ НА КОНТАКТНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ С КОНУСНЫМИ ТЕЛАМИ

Приведены результаты исследования интенсивности теплопередачи на контактных элементах каскадного типа состоящих из конической воронки и расположенного над ней конического тела. Для системы раствор поваренной соли – воздух получены уравнения зависимости коэффициента передачи энтальпии от скорости газа в полном сечении тарелки, плотности орошения и температуры жидкости

Наведено результати дослідження інтенсивності теплопередачі на контактних елементах каскадного типу складаються з конічною воронки і розташованого над нею конічного тіла. Для системи розчин кухонної солі - повітря отримані рівняння залежності коефіцієнта передачі ентальпії від швидкості газу в повному перерізі тарілки, щільності зрошення і температури рідини

The results of investigation of heat transfer intensity on the contact elements of the cascade-type consisting of a conical funnel, and located above the conical body. For a system of salt solution - air equations are obtained dependence of the enthalpy of transfer from the gas velocity in the entire cross-section plates, the density of irrigation fluid temperature

1. Введение

Одним из направлений утилизации теплоты сбросных топочных газов является концентрирование технологических жидкостей, которое из-за относительно низкой температуры этих газов должно осуществляться при прямом контакте взаимодействующих сред. Если оборудование для упаривания светлых жидкостей хорошо разработано и изучено (см., например, [1]), то подбор