УДК 665.383:577.152.31

Некрасов П.О., Гладкий Ф.Ф., Чумак О.П., Решетняк Н.В.

ФЕРМЕНТНА ПЕРЕРОБКА ТВАРИННИХ ЖИРІВ

Проблема створення раціональної технології переробки жирів залишається протягом багатьох років актуальною. Для промисловості України ця проблема повинна вирішуватись у двох напрямках – енергозбереження і використання вітчизняної сировини. Одним із шляхів вирішення проблеми енергозберігаючого виробництва модифікованих жирів є використання ліполітичних ферментів.

В 1849 р. фізіолог Клод-Бернар вперше помітив, що сік підшлункової залози емульгує жири, потім швидко розкладає їх на гліцерин та жирні кислоти. Це в 1852 р. підтвердив Бідер і в 1856 р. – Бертелю.

Пелуз в 1855 р. знайшов фермент, який розкладає жири на гліцерин і жирні кислоти, в рослинах. Зігмунд в 1890 р. підтвердив повідомлення Пелуза, виділивши фермент, який гідролізує жири з насіння рапсу, рицини, маку, коноплі, льону, гарбузу та маісу [1]. Фокін виділив сильнодіючий фермент ліпазу з насіння чистотілу та льнянки [2]. В 1906 р. він опублікував умови гідролізу різних жирів та олії (коров'ячого, кокосової, льняної, маслинової, мигдалевої) за допомогою ферментів насіння чистотілу, льнянки, рицини [3].

Технічного значення метод гідролізу жирів, що каталізується ферментами, набув після робіт Контейна, Гойєра, Вартенберга, Фокіна, які встановили оптимальні умови дії використовуваних ензимів [1,4].

Промисловий метод ферментного гідролізу технічних жирів за допомогою препаратів ліпази, одержаних з насіння рицини, був створений на початку XX століття. Проте велика кількість препарату ферменту та його висока вартість, а також велика тривалість процесу і неможливість пристосувати його до високоплавких жирів перешкодили його широкому поширенню [5].

В наш час, коли ензимологія досягла великого успіху на основі фундаментальних досліджень цієї науки в ряді країн, в тому числі в Україні, виробництво ферментних препаратів одержує широкий розвиток [6-8].

Ферменти призначені для роботи в живих клітинах, тому їх можна використовувати в м'яких умовах – атмосферному тиску, відносно низьких температурах, середніх значеннях кислотності. Ферментні технології не потребують жаростійкого, а також стійкого до корозії і високого тиску обладнання, що зменшує обсяг необхідних інвестицій. До того ж висока ефективність, специфічність дії і здатність до біологічного розкладення повинні забезпечити широке використання ферментів в промислових процесах.

Ліпази (триацилгліцеролгідролази К.Ф.3.1.1.3) є універсальними ферментами, що використовуються для перетворення ліпідів. Субстратами ліпаз є гліцериди та інші складні ефіри. Ліпази більш інших представників класу гідролаз мають здатність каталізувати різні типи реакцій.

Головна перевага реакцій, що каталізуються ліпазами, перед реакціями, що використовують хімічні каталізатори, полягає у можливості отримання великої різноманітності продуктів, що мають різний склад і властивості, в залежності від субстратної специфічності, стерео або позиційній специфічності конкретного ферменту [9].

В теперішній час в біотехнологічних процесах поширено застосування іммобілізованих форм ферментів. Іммобілізація дає можливість направлено змінювати каталітичні властивості ліпаз і підвищує ефективність їх використання. Іммобілізація на відповідних носіях підвищує сумісність ліпаз з гідрофобними середовищами, їх операційну стабільність при малому вмісті води, що дозволяє розширити асортимент ферментних препаратів для здійснення реакцій етерифікації та переетерифікації. Іммобілізація підвищує термостабільність ліпаз [9]. Наприклад, іммобілізована на смолі Дауекс MWA-1 ліпаза з Pseudomonas fluorescens зберігає 73 % активності після 160 годин роботи при 60 °С в концентрованому субстраті. Ще однією вагомою перевагою іммобілізованих ферментів у порівнянні з ліпазами, що незв'язані з носієм, є можливість їх повторного застосування у технологічному процесі. Це позитивно впливає на економічну ефективність виробництва.

Для іммобілізації ферментів використовують тверді та гелеобразні носії – діатомит, хітин, церамід, іонообмінні смоли, фотопоперекзшиті полімери, гідрофобні мембрани, альгінат кальцію.

Іммобілізовані ліпази ефективно застосовується при ферментній переетерифікації жирів, що підтверджується здійсненими нами дослідженнями [10,11].

Дослідженню переетерифікації жирів за допомогою ліполітичних препаратів приділяється увага у багатьох розвинених країнах світу. Вивчена можливість застосування ферментної переетерифікації до олії каноли та її сумішам з лауриновою кислотою, трилаурином чи модифікованим жиром на основі ріпакової олії з високим вмістом ерукової кислоти [12]. Біокаталітична переетерифікація може використовуватися для підвищення виходу токоферолів з одержуваного після дезодорації олій дистиляту [13]. Спільне використання іммобілізованої ліпази з фосфоліпазою дає можливість здійснити переетерифікацію фосфоліпідів із триацилгліцерином, що містить насичені ацильні групи C_2–C_{12} [14]. У дослідженні [15] наведено результати ферментної переетерифікації сумішей пальмового стеарину та олеїну з метою одержання властивостей, аналогічних маргариновим жирам. Як каталізатор переетерифікації цих сумішей при 60 °С використовували ліпазу з Rhizomucor miehei (Lipozyme IM 60). Було проведено порівняння характеристик отриманих жирів із властивостями комерційних маргаринів. Результати показали велику перспективність застосування переетерифікованих сумішей пальмового стеарину та олеїну для виробництва твердих жирів.

Впровадження технології переетерифікації жирів за допомогою ферментів дозволить вирішити цілу низку задач. Однією з них, приймаючи до уваги шлях нашої країни до європейського ринку, є виробництво жирів з низьким вмістом транс-ізомерів.

Природні органічні сполуки ненасиченого ряду, у тому числі неграничні жирні кислоти природних рослинних олій і тваринних жирів, у переважній більшості мають цис-будову. Сучасні дослідження [16] свідчать, що спожиті у великих кількостях транс-ізомери порушують в організмі людини роботу ферментів, клітинних мембран, сприяють збільшенню рівня холестерину в крові та підвищують ризик серцевих захворювань.

У цей час вивченню впливу транс-ізомерів на організм людини та їх вмісту в харчових продуктах приділяється дуже пильна увага у багатьох розвинених країнах світу. Досліди на тваринах [16] виявили головні особливості обміну ізомерів жирних кислот. Транс-ізомери не тільки не перетворюються в звичайні метаболіти цис-кислот, але й впливають на ефективність їхнього утворення. Наприклад, із транс-транс-лінолевої кислоти не формується арахідонова кислота – найважливіший компонент біологічних мембран і попередник дуже потрібних організмові регуляторних речовин – ейкозаноїдів. Транс-ізомери у великих кількостях зменшують швидкість утворення арахідонової

кислоти з цис-цис-лінолевої. Було доведено, що уведення тварині одних лише транс-ізомерів приводить до дефіциту незамінних жирних кислот.

У вітчизняній олійно-жировій промисловості при виробництві маргарину як один з рецептурних компонентів використовують жир з наступними характеристиками: температура плавлення 35-37 ºС, твердість за Камінським при 15 ºС – 90-150 г/см. В традиційній технології його виробляють методом гідрогенізації рослинних олій. Поряд із відносно високою вартістю цей метод призводить до появи в складі ацилгліцеринів продукту значної кількості транс-ізомерів жирних кислот. Виправданим вирішенням проблеми транс-ізомерів є застосування технології, яка не веде до їх утворення, – переетерифікації жирів.

В роботі вивчалась можливість отримання зазначеного вище рецептурного компоненту маргарину на основі тваринного (яловичого) жиру за допомогою ферментної переетерифікації. Відомо, що в олійно-жировій промисловості найбільша частка в собівартості кінцевого продукту належить саме сировині. Тваринні жири мають нижчу ціну, ніж рослинні. Тому залучання до складу сировини яловичого жиру дозволяє підвищити економічні показники виробництва в цілому.

Для пошуку рецептури вихідної жирової суміші, ферментна модифікація якої дала б продукт з подібними до цільового жиру характеристиками, було здійснено низку лабораторних випробувань з використанням як вихідної сировини сумішей яловичого жиру з соняшниковою олією «Олейна» та пальмовим олеїном у різних співвідношеннях. Дані табл. 1 свідчать, що до складу цих жирів входять корисні для організму людини біологічно активні ненасичені жирні кислоти – олеїнова, лінолева та ліноленова.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад компонентів вихідної суміші, %

Жирні кислоти	Яловичий жир	Соняшникова олія	Пальмовий олеїн
C_{12}	0,1	—	0,3
$C_{14:0}$	4,3	—	1,0
$C_{16:0}$	27,1	8,2	39,8
$C_{16:1}$	5,3	—	0,2
$C_{18:0}$	15,7	5,2	4,4
$C_{18:1}$	38,6	28,6	42,4
$C_{18:2}$	3,4	55,3	11,2
інші	до 100 %	до 100 %	до 100 %

Як біокаталізатор було застосовано новітню розробку фірми «Novozymes» – іммобілізований препарат Ліпозим TL IM.

Ліпозим TL IM являє собою гранульований силікатний препарат продовольчого класу, виготовлений із мікробної 1,3-специфічної ліпази (ЄС 3.1.1.3) з Thermomyces lanuginosa.

Реакція здійснювалась у тригорлій скляній колбі, яка була обладнана механічною мішалкою, контактним термометром, електронагрівачем з терморегулятором та барботером для подавання азоту. Вміст ферментного препарату Ліпозим TL IM у реакційній суміші складав 10 % від маси жирів. Процес переетерифікації тривав 5 годин при швидкому перемішуванні. Реакції здійснювались у двох паралелях при температурі 70 °С в атмосфері N_2. Розчинник не використовувався.

У вихідних сумішах та продуктах реакцій визначались показники температури плавлення та твердості за Камінським при 15 ºС. Дані експериментів (середні арифметичні двох паралелей) представлено в табл. 2.

Таблиця 2 – Характеристики вихідних сумішей та продуктів переетерифікації

Співвідношення компонентів жирової суміші, % (мас.)	Вихідна суміш		Продукт реакції	
	Температура плавлення, ºС	Твердість за Камінським, г/см	Температура плавлення, ºС	Твердість за Камінським, г/см
60% яловичого жиру 40% соняшникової олії	44,9	274	39,2	153
55% яловичого жиру 40% соняшникової олії 5% пальмового олеїну	44,9	265	39,1	174
40% яловичого жиру 50% соняшникової олії 10% пальмового олеїну	42,7	218	35,9	76
45% яловичого жиру 45% соняшникової олії 10% пальмового олеїну	43,4	240	36,6	128

Аналіз даних табл. 2 дозволяє зробити висновок, що температура плавлення та твердість за Камінським продукту ферментної переетерифікації останньої рецептури (45 % яловичого жиру: 45 % соняшникової олії: 10 % пальмового олеїну) повністю відповідають характеристикам цільового жиру.

Таким чином, одержані дані доводять можливість застосування ферментної переетерифікації сумішей тваринних та рослинних жирів для отримання модифікованих жирів, що використовуються для виробництва маргаринів.

Література

1. Любавин Н.Н., Техническая химия. т. VI. Органические вещества. 2ч. – М., Типография « Русская печатная » С.К. Попова, 1914. – 1099 с.

2. О нахождении липазы в семенах растений /Фокин С. // Журнал химического общества. – 1903.–№1. – С.831 и С.1197.

3. Ферментативное расщепление жиров /Фокин С. // Журнал химического общества. – 1906.–№1. – С.858-878.

4. Технология жиров. – М., Пищепромиздат – 1940. – 653 с.

5. Технология переработки жиров / Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена, А.И. Янова и др. Под ред. проф. Н.С.Арутюняна.–3-е изд. – М.: Пищепромиздат, 1999.– 452 с.

6. Boyce C.O.L. Developing a new industrial enzyme application a strategy. JAOCS, 1984, 61, №11. – P.1750-1753.

7. Posozske L.H. Industrial-scale application of enzymes to the fats and oil industry.– JAOCS, 1984, 61, №11. – P. 1758-1760.

8. Nielsen T. Industrial application possibilities for lipase. – Fette, Seifen, Annstr., 1982, 87, №1. – P.15-19.

9. Кислухина О.В. Ферменты в производстве пищи и кормов. – М.: ДеЛи принт, 2002. – 336 с.

10. Некрасов П.О., Гладкий Ф.Ф. Одержання замінника молочного жиру за допомогою ферментативної переетерифікації // Вісник Національного технічного університету «ХПІ». –Харків: НТУ «ХПІ», 2003.– №11, т.2. – С. 70-73.

11. Некрасов П.О., Гладкий Ф.Ф. Ферментна переетерифікація жирів // Харчова і переробна промисловість. – Київ, 2004. – №1. – С. 24-25.

12. Thomas K.C., Magnuson B., McCurdy A.R. Enzymatic interesterification of canola oil // Can.Inst. Food Sci. and Technol. J. – 1988.– Vol. 21, № 2. – P.167-173.

13. Shimada Y., Nakai S., Suenaga M., Sugihara A., Kitano M., Tominaga Y. Facile purification of tocopherols from soybean oil deodorizer distillate in high yield using lipase // JAOCS.– 2000.– Vol. 77, №10.– P.1009-1013.

14. Пат. 5989599 США, МПК^6 A 23 D 3/00. Process for the interesterification of phospholipids: Пат. 5989599 США, МПК^6 A 23 D 3/00. Nestec S. A., Chmiel Oliver, Melachouris Nicholas Traitler Helmut. – № 08/427544; Заявл. 24.04.1995 Опубл. 23.11.1999; НПК 426/33.– 2 с.

15. Zainal Z., Affandi Yusoff M.S. Enzymatic interesterification of palm stearin and palm kernel olein // JAOCS.– 1999.– Vol. 76, №9.– P. 1003-1008.

16. Valenzuela Alfonso, Morgado Nora. Trans fatty acid isomers in human health and in the food industry // Biol. Res.– 1999.– Vol. 32, №4.– P.273-287.

УДК 665.383:577.152.31

Некрасов П.А., Гладкий Ф.Ф., Чумак О.П., Решетняк Н.В.

ФЕРМЕНТНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ЖИВОТНЫХ ЖИРОВ

Доказана возможность получения жиров для производства маргарина путем ферментной переэтерификации смесей животных жиров с растительными. В качестве биокатализатора использовался ферментный препарат Липозим TL IM («Novozymes», Дания). Выполнен анализ исходных смесей и продуктов реакций.