

## ВЫБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ ГИДРОЛИЗА ЖИРОВОЙ ФРАКЦИИ ОТХОДОВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ГИДРИРОВАНИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

П. С. Репин, О. В. Карманова, О. С. Корнеева

*Воронежская государственная технологическая академия*

Поступила в редакцию 26.10.10 г.

**Аннотация.** Осуществлен выбор ферментного препарата для гидролиза гидрированного растительного масла; изучено влияние основных физико-химических факторов на выход жирных кислот, определены оптимальные параметры гидролиза триглицеридов дрожжевой липазой: pH 6,5, температура 34 °С, дозировка фермента 10 ед/г жира. Исследована динамика изменения липидного состава гидролизата.

**Ключевые слова:** ферментативный гидролиз триглицеридов, липаза, биокатализ.

**Abstract.** The election of enzyme for hydrolysis of hydrogenated vegetable oil was made, the effects of basic physical and chemical factors on the yield of fatty acids was studied. We determined the optimum parameters of hydrolysis of triglycerides by yeast lipase: pH 6,5, temperature 34 °С, enzyme dosage of 10 units/g fat. the dynamics of change in lipid composition of the hydrolysed fat was investigated.

**Keywords:** enzymatic hydrolysis of triglycerides, lipase, biocatalysis.

### ВВЕДЕНИЕ

Гидрирование растительных масел сопровождается образованием крупнотоннажных жиросодержащих отходов, которые в основном утилизируют путем захоронения их на полигонах твердых бытовых отходов. В тоже время жир и продукты его гидролиза — ценное сырье для различных отраслей промышленности: пищевой, резинотехнической, лакокрасочной и других. В связи с этим поиск способов гидролиза жировой фракции данных отходов является актуальной задачей.

Цель работы — выбор условий биокатализа жировой фракции отходов, образующихся при гидрировании растительных масел, на основе липазы микробного происхождения.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами исследования служили спиртоосажденные ферментные препараты липаз микробного происхождения, синтезируемые различными микроорганизмами из музея чистых культур кафедры микробиологии и биохимии ВГТА (г. Воронеж) и Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ГосНИИгенетика, г. Москва), а также отход масложирового производства, образующийся при гидрировании растительных масел (ОАО «Евдаковский МЖК»).

Липолитическую активность ферментных препаратов определяли по модифицированному мето-

ду Ота и Yamada. За единицу активности липазы принимали такое количество фермента, которое при температуре 37 °С и pH среды 7,0 в течение 60 минут катализирует гидролиз водной эмульсии с массовой долей оливкового масла 40 % с образованием 1 мкмоль жирной кислоты [1].

С целью исключения влияния на липазу минеральных компонентов, содержащихся в отходах гидрирования растительных масел [2], выбор условий ферментативного гидролиза проводили на саломасе, концентрация которого в отходе достигает 60 %.

Выбор ферментного препарата, эффективно гидролизующего жировую фракцию отхода, проводили, используя реакционную смесь, состоящую из 5 мл водной эмульсии с массовой долей саломаса 40 %, стабилизированной поливиниловым спиртом, 4 мл фосфатного буферного раствора (pH 7,0) и 1 мл ферментного раствора. Дозировка ферментного препарата составляла 5 ед/г жира. Время гидролиза 120 мин. О степени гидролиза судили по выходу жирных кислот, W, % от теоретического.

С помощью высокоактивной липазы проводили выбор оптимальных условий для гидролиза жировой фракции отходов, изменяя pH реакционной смеси в интервале 5,0—8,0, температуру 25—40 °С.

Оценку липидного состава гидролизатов осуществляли методом тонкослойной хроматографии. Анализ проводили на пластинках марки «Sorbfil-ПТСХ-АФ-А» (100×100 мм). Система растворителей состояла из петролейного эфира (40—70),

диэтилового эфира, уксусной кислоты в соотношении 80 : 20 : 1, соответственно [3]. Проявление хроматограмм осуществляли в эксикаторе, насыщенном парами йода. Проявленные хроматограммы сканировали при разрешении 600 dpi (точек на дюйм). Обработку хроматограмм проводили с использованием программы «ТСХ-Менеджер 4.0.1».

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из литературных данных известно, что к активным продуцентам липаз относятся бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, актиномицеты *Streptomyces* и *Thermoactinomyces*, дрожжи *Candida* (*Yarrowia*), а также мицелиальные грибы *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Geotrichum* [4, 5]. Из исследуемых нами микроорганизмов — продуцентов липаз были выбраны наиболее активные (рис. 1). Из рис. 1 видно, что все представленные липазы обеспечивали высокий выход (до 80 %) жирных кислот при гидролизе оливкового масла (стандартный субстрат для определения липолитической активности). Однако не все ферментные препараты эффективно гидролизуют саломас, что можно объяснить различием жирнокислотного состава оливкового масла и саломаса и, следовательно, различной субстратной специфичностью исследуемых липаз. Наибольший выход кислот отмечен при гидролизе липазой *Yarrowia lipolytica*, с которой и проводили дальнейшую работу.

В ходе исследований по оптимизации условий гидролиза саломаса липазой *Yarrowia lipolytica* было установлено, что максимальный выход жир-

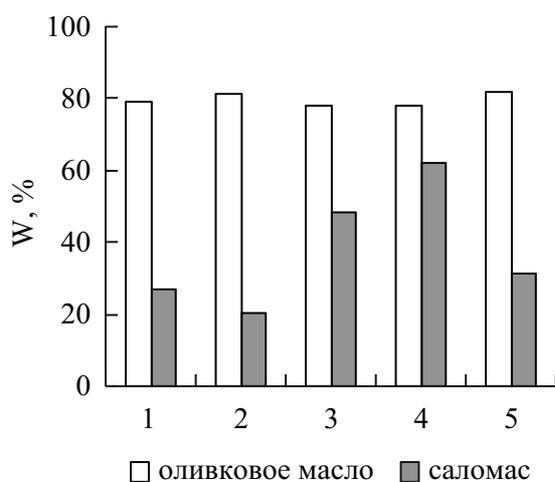


Рис. 1. Результаты ферментативного гидролиза триглицеридов различными препаратами липазы: 1 — *Bacillus subtilis* 1727; 2 — *Geotrichum candidum* 267; 3 — *Rhizopus oryzae* 1403; 4 — *Yarrowia lipolytica* 3260; 5 — *Aspergillus awamori* 963

ных кислот отмечался при температуре 34 °С, рН 6,5 и дозировке ферментного препарата 10 ед/г жира.

Учитывая сложность выделения гидролизатов из водной среды, изучали динамику ферментативного гидролиза саломаса в условиях обратной эмульсии, т.е. при низком содержании воды в реакционной среде, где соотношение жира к воде составляло 4 : 1. Процесс проводили в стационарных условиях в течение 120 ч. Установлено (рис. 2), что процентное содержание свободных жирных кислот в гидролизате достигало практически максимального значения к 72 ч гидролиза, а концентрация триглицеридов к этому времени гидролиза снижалась до минимума.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности ферментативного гидролиза жировой фракции отходов, образующихся при гидрировании растительных масел, дрожжевой липазой *Yarrowia lipolytica* 3260. Условиями эффективного гидролиза триглицеридов являются: дозировка ферментного препарата 10 ед/г жира, температура 34 °С, рН реакционной смеси 6,5. При этом степень гидролиза жировой фракции отхода составила 80 %. Результаты исследований легли в основу дальнейшей работы по разработке технологии применения отходов масложировой промышленности в качестве вторичных материальных ресурсов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Определение активности ферментов: Справочник / Г. В. Полюгалина [и др.] — М. : ДеЛи принт, 2003. — 375 с.

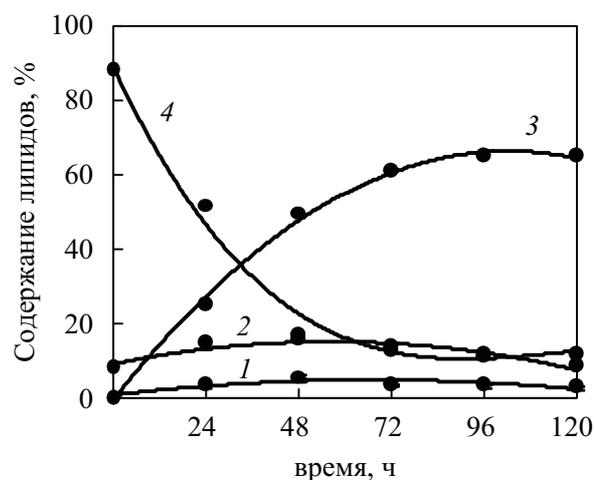


Рис. 2. Динамика изменения липидного состава саломаса в результате ферментативного гидролиза в условиях обратной эмульсии: 1 — моноглицериды, 2 — диглицериды; 3 — жирные кислоты; 4 — триглицериды

2. *О'Брайен Р.* Жиры и масла. Производство, состав, свойства, применение / Р. О'Брайен; пер. с англ. 2-го изд. В. В. Широкова, Д. А. Бабейкиной, Н. С. Селивановой, Н. В. Магды. — СПб. : Профессия, 2007. — 752 с.

3. Лабораторный практикум по химии жиров / Н. С. Арутюнян [и др.]; под ред. проф. Н. С. Арутюняна и проф. Е. П. Корненой. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб. : ГИОРД, 2004. — 264 с.

4. *Синеокий С. П.* Разработка эффективных продуцентов липаз и новых технологий их использования // В мире науки, 2006, № 7. — (<http://sciam.ru/masterest.ru/2006/7/Sciencerf.shtml>)

5. Lipases and esterases: a review of their sequences, structure and evolution / H. W. Anthonthen [et al.] // Biotechnol. Annu. Rev, 1995 — Vol. 1. — P. 315—371.

---

*Репин Павел Сергеевич* — аспирант кафедры микробиологии и биохимии Воронежская государственная технологическая академия, тел.: (4732) 555557, e-mail: rps85@bk.ru

*Репин Павел S.* — post-graduate student of microbiology and biochemistry department, Voronezh State Technological Academy; tel.: (4732) 555557, e-mail: rps85@bk.ru

*Карманова Ольга Викторовна* — к.т.н., доцент кафедры технологии переработки полимеров Воронежская государственная технологическая академия; тел.: (4732) 499237, e-mail: karolga@mail.ru

*Karmanova Olga V.* — Ph.D., assistant professor of polymer processing technology department, Voronezh State Technological Academy; tel.: (4732) 499237, e-mail: karolga@mail.ru

*Корнеева Ольга Сергеевна* — д.б.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и биохимии ГОУ ВПО «Воронежская государственная технологическая академия»; тел.: (4732) 555557, e-mail: korneeva-olga@vmail.ru

*Korneeva Olga S.* — Doctor of biology, professor, head of the microbiology and biochemistry department, Voronezh State Technological Academy; tel.: (4732) 555557, e-mail: korneeva-olga@vmail.ru