

УДК 665:664.3

П.О. Некрасов^а, О.М. Гудзь^а, О.П. Некрасов^а, В.А. Кіщенко^б, О.В. Голубець^б

ЖИРОВІ СИСТЕМИ ЗІ ЗНИЖЕНИМ ВМІСТОМ ТРАНС-ІЗОМЕРІВ ЖИРНИХ КИСЛОТ

^а Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»^б «Укрметртестстандарт», м. Київ

Жирові системи є невід'ємною складовою харчування людини. Підвищений вміст транс-ізомерів в їх складі обумовлює низку захворювань, зокрема порушує в організмі роботу ферментів, клітинних мембран, сприяє збільшенню рівня холестерину в крові та підвищує ризик серцево-судинних захворювань. Важливість вказаної проблеми підтверджується прийняттям Європейським Парламентом 26 жовтня 2016 року. Резолюції про обмеження кількості транс-ізомерів у продуктах харчування на території Європейського Союзу – не більше 2% від вмісту загального жиру. Тому створення наукових основ інноваційної технології виробництва жирових систем з мінімальним вмістом транс-ізомерів жирних кислот є актуальною задачею. Авторами роботи пропонується комплексне використання методів модифікування сировини, які не призводять до транс-ізомеризації ацилів жирних кислот – біокаталітична переетерифікація жирів з подальшим фракціонуванням отриманих продуктів. Ацилгліцеріновий склад реакційних сумішей визначався методом високотемпературної газорідної хроматографії. Математичне моделювання кінетики біокаталітичного процесу здійснювалось за допомогою пакета Statistica 10. Теплофізичні дослідження жирових систем здійснювались методом диференційної скануючої калориметрії. На основі отриманих результатів розроблено математичну модель кінетики дії ферменту Novozym 40086, яка є основою для оптимізації технологічних параметрів біокаталітичної переетерифікації жирів. Встановлено раціональні параметри фракціонування продукту біокаталітичної переетерифікації, спрямованого на отримання жирової системи із заданими властивостями.

Ключові слова: транс-ізомери, біокаталіз, кінетика, математичне моделювання, фракціонування.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-124-3-132-138

Вступ

Сталий розвиток виробництва олійно-жирових продуктів для різних галузей харчової промисловості, а також сучасні вимоги до підвищення їх якості та безпеки обумовлюють вдосконалення існуючих та розробки нових технологій. В останні роки в Україні здійснюються дослідження щодо одержання пребіотичних і синбіотичних емульсійних жирових систем оздоровчого призначення [1], а також розробляються біокаталітичні технології синтезу ліпідних систем, збагачених омега-3 поліненасиченими жирними кислотами [2]. Крім того, актуальним напрямом розвитку вітчизняної олійно-жирової галузі є нарощування виробництва та експорту

продукції з високою доданою вартістю, зокрема маргаринів і жирів спеціального призначення. Згідно з даними асоціації «Укроліяпром» вітчизняними підприємствами за підсумками 2017–2018 маркетингового року було вироблено 226 тис. тон маргаринової продукції і у наступному році прогнозується підвищення цього показника. Слід зазначити, що переважна більшість твердих жирів у рецептурах зазначеної продукції виробляється методом часткової гідрогенізації. Цей метод модифікації жирів призводить до утворення у їх складі значної кількості (до 60%) транс-ізомерів жирних кислот [3].

Результати багатьох наукових досліджень показали, що споживання жирів, які у своєму

складі містять надмірну кількість транс-ізомери жирних кислот, негативно впливає на організм людини. Зокрема, доведена наявність зв'язку між споживанням вказаних жирів і підвищенням ризику розвитку серцево-судинних захворювань та хвороб порушення метаболізму [4,5]. Вживання транс-ізомерів призводить до дефіциту незамінних жирних кислот в організмі. Транс-ізомери не тільки не перетворюються в звичайні метаболіти цис-кислот, але й впливають на ефективність їх утворення [6]. Наприклад, із транс-транс-лінолевої кислоти не формується арахідонова кислота – найважливіший компонент біологічних мембран і попередник дуже потрібних організмові регуляторних речовин – ейкозаноїдів. Більш того, транс-ізомери у великих кількостях зменшують швидкість утворення арахідонової кислоти з цис-цис-лінолевої [7].

Важливість вказаної проблеми підтверджується прийняттям Європейським Парламентом 26 жовтня 2016 року Резолюції про обмеження кількості транс-ізомерів у продуктах харчування на території Європейського Союзу – не більше 2% від вмісту загального жиру.

Уникнути утворення при гідрогенізації транс-ізомерів можна тільки одним шляхом – переходом до технології одержання повністю гідрованих жирів. Однак вони мають дуже високу температуру плавлення, що ускладнює їх безпосереднє використання при виробництві харчових продуктів. Тому більш виправданим вирішенням проблеми мінімізації вмісту транс-ізомерів жирних кислот у складі жирів є застосування процесів, які не ведуть до їх утворення, а саме хімічної та біокаталітичної переетерифікації, а також фракціонування.

Основною особливістю переетерифікації є обмін ацилами між молекулами триацилгліцеринів, що веде до зміни окремих фізико-хімічних характеристик жирів і олій. Хімічну переетерифікацію в промисловому масштабі здійснюють під дією лужних каталізаторів (наприклад, CH_3ONa або CH_3OK) [3]. Недоліками цього процесу є відносно висока температура протікання реакції (до 120°C), забруднення продуктів реакції каталізатором і утворення мил як побічних продуктів [8]. Таким чином, при хімічній переетерифікації необхідно подальше промивання водою олії для видалення натрієвого або калієвого мила. Ці мила, окрім втрати олії, підвищують рівень біохімічної потреби в кисні в стічних водах, що підвищує собівартість їх очищення. Крім того, під час здійснення хімічної переетерифікації відбувається потемніння олії, що обумов-

лює необхідність її подальшої адсорбційної рафінації. Біокаталітична переетерифікація дозволяє усунути вказані вади хімічного процесу [9]. З використанням вказаної технології можливо не тільки виробляти жири спеціального призначення з низьким вмістом транс-ізомерів, але й бажаними фізичними характеристиками, обумовленими sn-1,3-специфічністю певних ліпаз до ацилів жирних кислот у триацилгліцерилах. Додатковими перевагами біокаталітичного процесу є відносно низькі температури проведення реакції ($40\text{--}80^\circ\text{C}$), енергоефективність і екологічність [10].

Метою дослідження стало створення наукових основ комплексної технології біокаталітичної переетерифікації жирів з подальшим фракціонуванням одержаних продуктів, яка спрямована на одержання жирових систем з мінімальним вмістом транс-ізомерів жирних кислот.

Експериментальна частина

Для дослідження біокаталітичної переетерифікації жирів як вихідну сировину було використано високоолеїнову соняшникову олію («DANKEN», Україна), що виконувала роль постачальника мононенасичених жирних кислот, та повністю гідровану рослинну олію («DuPont Danisco», Данія). Остання завдяки повному насиченню подвійних зв'язків не містила транс-ізомерів жирних кислот. Застосування високоолеїнової соняшникової олії замість традиційної спрямоване на підвищення окисної стійкості кінцевого продукту.

Масове співвідношення жирових компонентів у реакційній суміші складало 1:1. Процес переетерифікації відбувався під вакуумом при температурі 60°C та перемішуванні зі швидкістю 450 об./хв. Реакція протікала під каталітичною дією ферментного препарату Novozym 40086 («Novozymes», Данія). Вказаний препарат є іммобілізованою на силікагелі sn-1,3-позиційно специфічною ліпазою Rhizomucor miehei. Вміст препарату у реакційній суміші дорівнював 10% від маси жирів.

Через визначені проміжки часу відбирались проби, триацилгліцериновий склад яких аналізувався методом високотемпературної газорідної хроматографії за наступною методикою. Наважку досліджуваного зразка масою 20 мг розчиняли в 2 см^3 хлороформу. Після цього пробу одержаного розчину в кількості 1 мкл за допомогою мікрошприца вводили в хроматограф HP 7890B (Agilent Technologies), які було оснащено полум'яно-іонізаційним детектором (ПІД)

та капілярною колонкою CP-TAP CB for triglycerides. Геометричні параметри колонки: довжина 25 м, внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина нерухомої фази 0,10 мкм. Програма термостата колонок: 100°C (1 хв), 30°C/хв до 340°C, 340°C (31 хв) Температура інжектора 360°C, температура детектора 360°C. Газ-носіє – гелій. Швидкість газу-носія 1,8 см³/хв. Всі аналізи виконувались у двох паралелях. Ідентифікацію піків і калібрування було виконано за стандартами Sigma-Aldrich.

Фракціонування продуктів біокаталітичної переетерифікації жирів здійснювали методом кристалізації із розплаву. Контроль за змінами фізичних показників жирової системи в процесі кристалізації на кожній стадії процесу здійснювали в основних періодах, а саме до початку кристалоутворення, при досягненні заданої температури кристалізації і в процесі витримання при заданій температурі кристалізації до припинення зміни фізичного показника рідкої фракції.

Дослідження фазових перетворень вихідної жирової сировини, а також продуктів біокаталітичної модифікації та фракціонування здійснювались методом диференційної скануючої калориметрії (ДСК). Використовувався прилад DSC Q-20 (TA Instruments, США). Роздільність калориметрії 0,04 мкВт, точність $\pm 0,1\%$, відтворю-

ваність $\pm 1\%$. Динамічний діапазон ± 350 мВт. Калібрування приладу було виконано за індієм (In). Камера продувалась азотом для запобігання окиснення зразків. Швидкості охолодження та нагріву зразків – від 5°C до 20°C/хв. Керування приладом та обробка експериментальних даних здійснювались за допомогою персонального комп'ютера, обладнаного програмним забезпеченням TA Universal Analysis. Всі аналізи здійснювались у двох паралелях.

Результати та обговорення

Кінетику процесу переетерифікації досліджували за зміною вмісту тристеарину – головної складової вихідної повністю гідрованої рослинної олії. Для цього протягом першої години реакції через кожні 15 хв відбирали зразки продукту переетерифікації, які далі аналізувалися методом газорідної хроматографії. Типові хроматограми, отримані для вихідної жирової суміші та продукту біокаталітичної переетерифікації через 60 хв реакції, наведено на рис. 1 та 2, відповідно.

Комплексна обробка отриманих результатів хроматографічних досліджень дозволила побудувати залежність концентрації тристеарину від часу реакції, яка наведена на рис. 3.

Наведена залежність має вигляд спадної експоненти і описується загальним рівнянням:

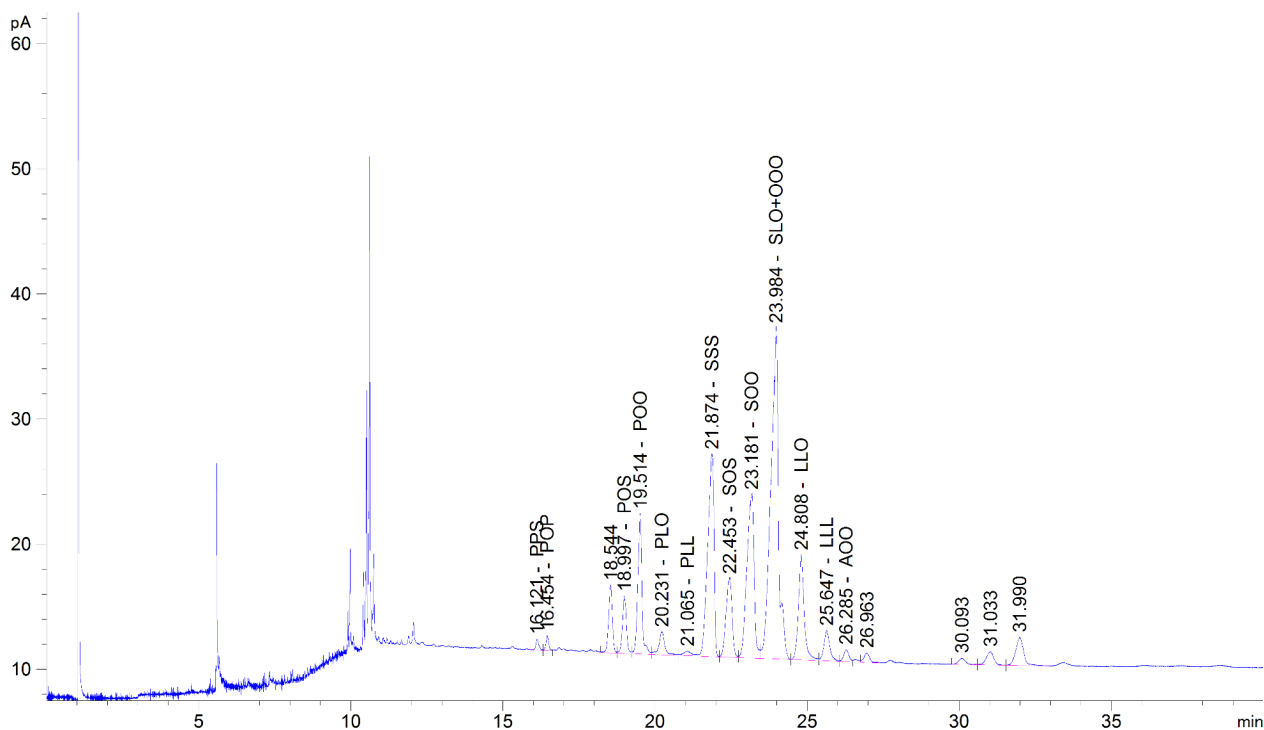


Рис. 1. Триацилгліцеринний склад вихідної жирової суміші

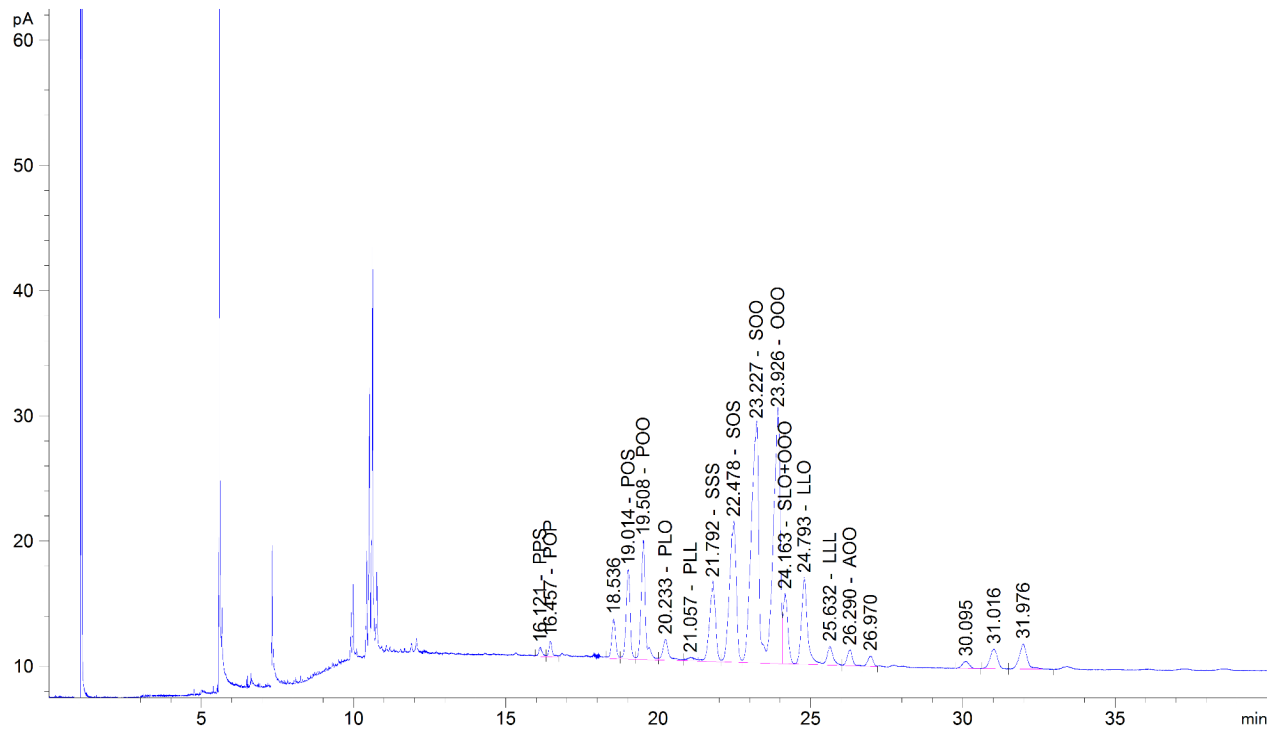


Рис. 2. Триацилгліцеринний склад продукту біокаталітичної переетерифікації

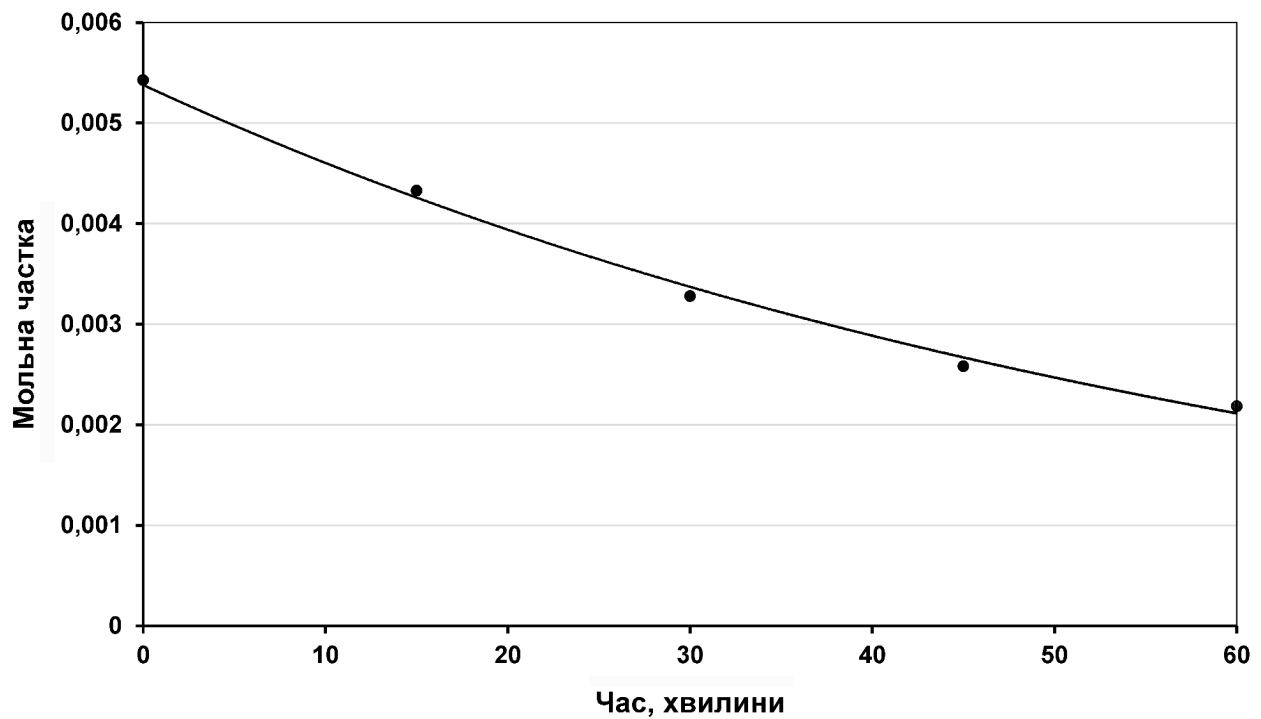


Рис. 3. Зміна концентрації тристеарину в реакційній суміші

$$C(\tau) = C_0 \cdot e^{-k\tau}, \quad (1)$$

де $C(\tau)$ – концентрація тристеарину в реакційній суміші через визначений час (мольна частка); C_0 – початкова концентрація три стеарину (мольна частка); k – константа швидкості (хв^{-1}); τ – час реакції (хв).

Визначення константи швидкості здійснювалось методом нелінійної регресії за допомогою пакета Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). Обчислене значення було наступним: $k=0,016 \text{ хв}^{-1}$. Початкова швидкість реакції визначалась шляхом диференціювання рівняння (1) за часом та знаходження швидкості в нульовий момент часу реакції: $v_0=8,5 \cdot 10^{-5}$ мольна частка/хв.

Результати дослідження кінетики переетерифікації жирів під каталітичною дією ферментного препарату Novozym 40086 дозволяють здійснювати якісне та кількісне оцінювання складу реакційних сумішей та є основою для оптимізації технологічних параметрів виробництва жирів спеціального призначення.

Характеристики продуктів біокаталітичної переетерифікації жирів поряд з умовами проведення процесу суттєво лімітовані складом та властивостями вихідної сировини. Зокрема безпосереднє використання високоплавких жирів,

які не розплавляються при температурі $35\text{--}36^\circ\text{C}$, у складі харчових продуктів погіршує якісні показники останніх, надаючи їм салістий присмак. Для подолання вказаного обмеження та надання можливості виробництва широкого спектра спеціальних жирів з заданими властивостями були здійснені дослідження щодо фракціонування продукту переетерифікації, спрямованого на видалення високоплавкої компоненти. З метою встановлення умов фракціонування методом диференційної скануючої калориметрії було досліджено теплофізичні характеристики жирових систем. На рис. 4 наведено термограму кристалізації продукту біокаталітичної переетерифікації.

Як можна побачити (рис. 4), температура $+44,14^\circ\text{C}$ відповідає початку процесу кристалізації високоплавких триацилгліцеринів, який закінчується при температурі $+41,05^\circ\text{C}$. Останню температуру було обрано як раціональний параметр кристалізації для видалення високоплавкої фракції з продукту переетерифікації. Ефективний час фракційної кристалізації становив 180 хв.

У результаті фракціонування було одержано цільовий продукт, термограму кристалізації якого надано на рис. 5.

Аналіз наведеної термограми (рис. 5) по-

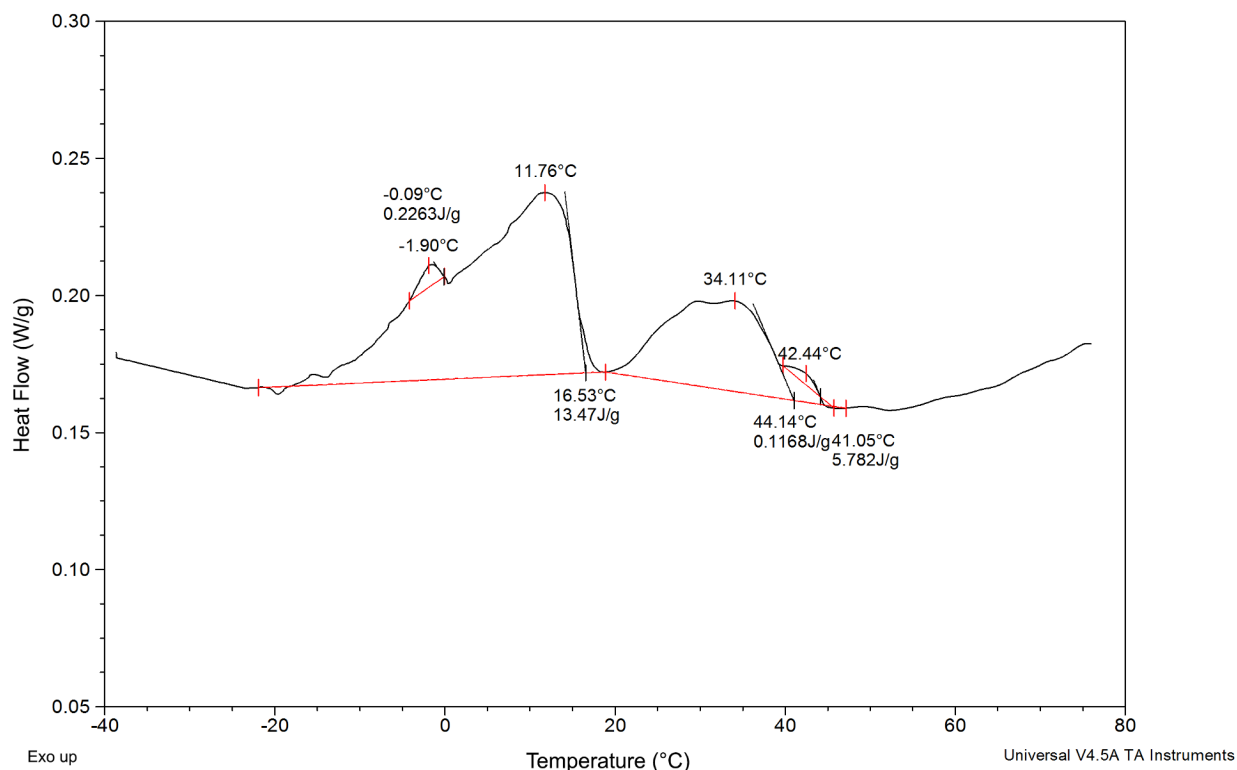


Рис. 4. Термограма кристалізації продукту переетерифікації

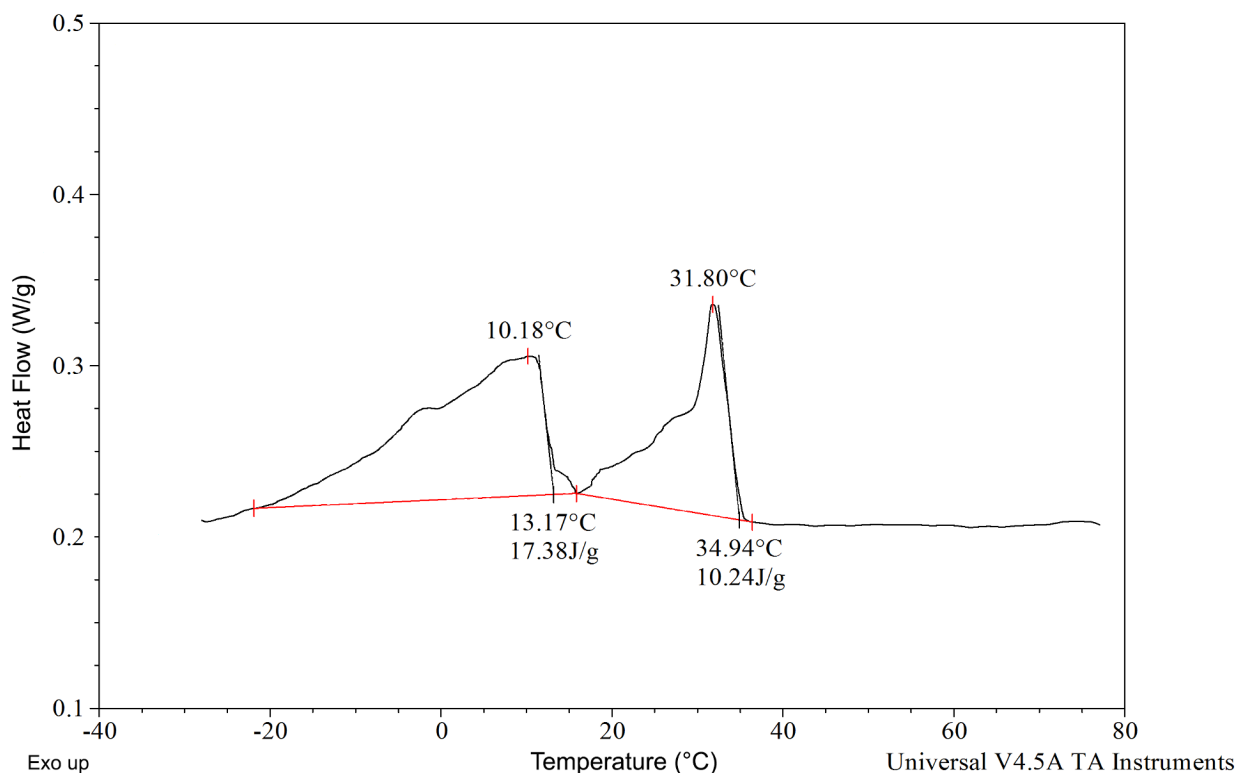


Рис. 5. Термограма кристалізації цільового продукту після видалення високоплавкої фракції

казує відсутність екзотермічного піка кристалізації високоплавких триацилгліцеринів, який спостерігався на відповідній термограмі для продукту переетерифікації (рис. 4). Це свідчить про ефективність процесу фракціонування, спрямованого на одержання цільового продукту з заданими властивостями.

Висновки

1. Показано можливість одержання жирових систем із заданими властивостями та мінімальним вмістом транс-ізомерів комплексним методом біокаталітичної переетерифікації жирів під впливом препарату Novozym 40086 з подальшим фракціонуванням одержаних продуктів.

2. Досліджено кінетику дії ферменту Novozym 40086 та визначена її математична модель, яка є основою для оптимізації технологічних параметрів біокаталітичної переетерифікації жирів.

3. Встановлено раціональні параметри фракціонування продукту біокаталітичної переетерифікації.

4. Отримані результати слугуватимуть науковим підґрунтям для розробки гнучкої технології одержання жирових систем нового покоління.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Optimization of formulation composition of the low-calorie emulsion fat systems* / N. Tkachenko, P. Nekrasov, T. Makovska, L. Lanzhenko // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – 2016. – Vol.81. – No. 3/11. – P.20-27.
2. *Kinetics and thermodynamics of biocatalytic glycerolysis of triacylglycerols enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids* / Nekrasov P.O., Piven O.M., Nekrasov O.P., Gudz O.M., Kryvonis N.O. // *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. – 2018. – No. 5. – P.31-36.
3. *Shahidi F.* *Bailey's industrial oil and fat products*. – Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2005. – 3616 pp.
4. *Booker C.S., Mann J.I.* *Trans fatty acids and cardiovascular health: Translation of the evidence base* // *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. – 2008. – Vol.18. – No. 6. – P.448-456.
5. *Neonatal and fetal exposure to trans-fatty acids retards early growth and adiposity while adversely affecting glucose in mice* / Kavanagh K., Sajadian S., Jenkins K.A. Wilson M.D., Carr J.J., Wagner J.D., Rudel L.L. // *Nutrition Research*. – 2010. – Vol.30. – No. 6. – P.418-426.
6. *Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial* / Kummerow F.A., Zhou Q., Mahfouz M.M., Smiricky M.R., Grieshop C.M., Schaeffer D.J. // *Life Sciences*. – 2004. – Vol.74. – No. 22. – P.2707-2723

7. Kwon Y. Effect of trans-fatty acids on lipid metabolism: Mechanisms for their adverse health effects // *Food Reviews International*. – 2016. – Vol.32. – No. 3. – P.323-339.

8. Casas A., Perez A., Ramos M.J. Catalyst removal after the chemical interesterification of sunflower oil with methyl acetate // *Organic Process Research & Development*. – 2017. – Vol.21. – No. 9. – P.1253-1258.

9. Holm H., Cowan D. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry // *European Journal of Lipid Science and Technology*. – 2008. – Vol.110. – No. 8. – P.679-691.

10. Kadhum A., Shamma M. Edible lipids modification processes: a review // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2015. – Vol.57. – No. 1. – P.48-58.

Надійшла до редакції 21.01.2019

FATTY SYSTEMS WITH REDUCED CONTENT OF TRANS-FATTY ACIDS

P.O. Nekrasov ^{a,*}, O.M. Gudz ^a, O.P. Nekrasov ^a, V.A. Kishchenko ^b, O.V. Holubets ^b

^a National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute», Kharkiv, Ukraine

^b Government Enterprise Ukrmetrteststandard, Kyiv, Ukraine

* e-mail: nekrasov2007@gmail.com

Fatty systems are essential for human diet. Fatty systems with high trans-isomers content may cause poor functioning of enzymes and cell membranes, increase blood cholesterol level, and raise the risk of cardiovascular diseases. The Resolution adopted on October 26, 2016 by the European Parliament on the restriction of trans-isomers in food products within the European Union (no more than 2% of the total fat content) confirms the importance of this issue. That is why it is crucial to create scientific foundations of innovative technology for the production of fatty systems with low trans-fatty acids content. We offer a complex usage of methods of raw material modification that prevent trans-isomerization of fatty-acid acyls: biocatalytic interesterification of fats with further fractionation of the products derived. To determine the acylglycerol composition of the reaction mixtures, the method of high-temperature gas-liquid chromatography was used. The kinetics of the biocatalytic process was mathematically modeled using the Statistica 10 package. The thermophysical study of fatty systems was performed by the method of differential scanning calorimetry. Based on the results obtained, a mathematical model of the kinetics of biocatalytic interesterification was developed which involves enzyme Novozym 40086. The model can be used for optimization of the technological parameters of biocatalytic interesterification of fats. The effective parameters of fractionation of the product fabricated via biocatalytic interesterification have been determined to obtain fatty systems with specified properties.

Keywords: trans-isomers; biocatalysis; kinetics; mathematical modeling; fractionation.

REFERENCES

1. Tkachenko N., Nekrasov P., Makovska T., Lanzhenko L. Optimization of formulation composition of the low-calorie emulsion fat systems. *Eastern-European Journal of Enterprise*

Technologies, 2016, vol. 81, no. 3/11, pp. 20-27.

2. Nekrasov P.O., Piven O.M., Nekrasov O.P., Gudz O.M., Kryvonis N.O. Kinetics and thermodynamics of biocatalytic glycerolysis of triacylglycerols enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, 2018, no. 5, pp. 31-36.

3. Shahidi F., *Bailey's industrial oil and fat products*. John Wiley & Sons, Hoboken, USA, 2005. 3616 pp.

4. Booker C.S., Mann J.I. Trans fatty acids and cardiovascular health: translation of the evidence base. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 2008, vol. 18, pp. 448-456.

5. Kavanagh K., Sajadian S., Jenkins K.A. Wilson M.D., Carr J.J., Wagner J.D., Rudel L.L. Neonatal and fetal exposure to trans-fatty acids retards early growth and adiposity while adversely affecting glucose in mice. *Nutrition Research*, 2010, vol. 30, pp. 418-426.

6. Kummerow F.A., Zhou Q., Mahfouz M.M., Smiricky M.R., Grieshop C.M., Schaeffer D.J. Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells. *Life Sciences*, 2004, vol. 74, pp. 2707-2723.

7. Kwon Y. Effect of trans-fatty acids on lipid metabolism: mechanisms for their adverse health effects. *Food Reviews International*, 2016, vol. 32, pp. 323-339.

8. Casas A., Perez A., Ramos M.J. Catalyst removal after the chemical interesterification of sunflower oil with methyl acetate. *Organic Process Research & Development*, 2017, vol. 21, pp. 1253-1258.

9. Holm H., Cowan D. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2008, vol. 110, pp. 679-691.

10. Kadhum A.A.H., Shamma M.N. Edible lipids modification processes: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015, vol. 57, pp. 48-58.