



УКРАЇНА

(19) UA (11) 44558 (13) A

(51) 7 C11C1/04, C12P7/20, 7/64, C12S3/18

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІД

Видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЖИРОВОГО СУБСТРАТУ

1

2

(21) 2001053456

(22) 22 05 2001

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р

(72) Стахурський Олександр Дмитрович, Гладкий Федір Федорович, Губанова Валентина Андрівна, Ваврик Василь Іванович, Горпинко Юлія Геннадівна, Болоховська Валентина Антонівна, Македонський Олег Олександрович, Шапошник Олександр Васильович, Боханов Дмитро Федорович, Гасюк Лариса Василівна, Усенко Віктор Федорович, Чумак Ольга Петрівна, Ганилова Ольга Миколаївна

(73) ВІДКРИТЕ АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО "АЗОВСЬКІ МАСТИЛА ТА ОЛИВИ"

(57) Спосіб отримання жирового субстрату шляхом ферментативного розщеплення жирів у присутності води та активатора, при температурі, що забезпечує життєздатність ферменту, який відрізняється тим, що як фермент використовують ліпоактин, як активатор - адсорбційно-активну присадку "Амірол-М", узяті відповідно 4-6% мас та 5-9% мас, а процес здійснюють при початковій температурі 15-17°C із наступним екзотермічним підйманням та подальшим підтримуванням її на рівні 34-37°C при рН середовища 5,8-6,3

Винахід відноситься до біотехнологічного способу отримання жирового субстрату, який може бути використаний у різних процесах нафтохімічного синтезу, зокрема, у виробництві мастил, що змащувально-охолоджуючих рідин, жируючих препаратів та інше

Відомий реактивний спосіб гідролізу жиру, що здійснюється у присутності суміші сірчаної та сульфокислот при температурі біля 100°C, а також безреактивний, що реалізується при температурі 200 - 225°C і тиску 2,0 - 2,5МПа ("Химия жиров", изд "Колос", М 1992 г, стр 225-229) Ці способи забезпечують досить високу якість жирних кислот та гліцерину Проте, використання їх замість технічних жирів у ряді виробництв нафтохімічного синтезу економічно не виправдане і не раціональне, оскільки початкова стадія зазначених вище процесів передбачає обов'язкову рафінацію жиру, при якій частина його губиться, як і супутні жирам технічні продукти

Відомий метод виділення жирних кислот шляхом лужного обробки жиру із наступним розкладанням мила сірчаною або соляною кислотою (Тютюнников Б Н, Науменко П В "Технология переработки жиров", изд "Пищевая промышленность", М 1970 г) Незважаючи на громіздкість апаратурного оформлення, енерго- та трудомісткість процесу, втрати неутілізованого гліцерину, наявність великої кількості забруднених стічних вод, а, отже, екологічну проблематичність, цей спосіб і в даний час

використовують у заводській практиці, у тому числі і на ВАТ "АЗМОЛ" (м Бердянськ), де виділені кислоти, як технічний продукт, використовують у багатотоннажному виробництві, наприклад, мастил, змащувально-охолоджувальних рідин, жируючих препаратів та в інших нафтохімічних синтезах

У якості нового різновиду промислової сировини знайшов застосування у гірничорудній промисловості, а також для переробки із метою отримання мастил, фосфатидів та біологічно активних речовин, жир мікробний технічний (ТУ 59 03 045 86-85), що є побічним продуктом біосинтезу кормових дріжджів із вуглеводнів У промисловості мікробний жир отримують екстракцією попередньо підготовленої біомаси мікроорганізмів бензином У залежності від штаму мікроорганізмів, джерела вуглеводневого живлення, умов культивування склад мікробних жирів коливається у деяких межах та характеризується наступними фізико-хімічними показниками

кислотне число, мг КОН/г, не більш	50
відстій по масі, %, не більш	8
число омилювання, мг КОН/г, не менше	130
температура застигання, °С, не вище	5
вміст неомилюємих речовин, %, не більш	45
Стримуючим фактором більш широкого вико-	

(19) UA (11) 44558 (13) A

ристання мікробного жиру є значний вміст неомілованих речовин і речовин різної хімічної природи під загальною назвою "відстій по масі"

У технічній літературі зазначається перспективність ферментативного розщеплення ряду продуктів, у тому числі і жирів (К Д Неницеску "Органическая химия", изд иностранной литературы, М 1963 г, П Каррер "Курс органической химии", Тосхимиздат", Л 1960 г, Б Н Тютюнников, Ф Ф Гладкий, "Химия жиров", изд "Колос", М 1992 г)

Найбільше близьким технічним рішенням до передбачуваного винаходу є спосіб ферментативного розщеплення жирів, що здійснюється у присутності 30 - 35%мас води, при температурі 25 - 35°C, із використанням 5 - 10% ферменту ліпази, виділеної із рицини

Активатором процесу ферментативного розщеплення служить оцтова кислота (0,06 - 0,1%) та/або сульфат марганцю (0,15 - 0,2%). Тривалість розщеплення жиру до 80% складає 24 години і більш

До недоліків цього способу слід віднести його тривалість, недостатню глибину розщеплення, труднощі, пов'язані із переробкою проміжного прошарку, який утримує значну кількість важко виділяємих із нього жирних кислот та гліцерину, (Н И Козин "Химия и товароведение пищевых жиров", Топстопиздат", М 1958 г, стр 102)

В основу винаходу поставлено завдання удосконалення способу ферментативного розщеплення жирів шляхом використання у якості ферменту ліполактину (4 - 6%мас), як активатору - адсорбційно-активної присадки "Амірол - М" (5 - 9%мас), при здійсненні процесу в інтервалі початкових температур 15 - 17°C із наступним екзотермічним підйманням та подальшим підтриманням її на рівні 34 - 37°C при рН середовища 5,8 - 6,3, що дозволяє забезпечити отримання нової, більш дешевої омилуваної сировини - жирового субстрату, призначеного для використання у нафтохімічному синтезові, економічно вигідним, технологічно простим та екологічно безпечним способом переробки натуральних жирів

У залежності від призначення жирового субстрату ферментативному розщепленню можуть бути піддані як низькоплавкі жири, так і суміші їх із високоплавкими жирами за умови, щоб температура плавлення жирової суміші не перевищувала температурного оптимуму для діяльності ферменту

Ліполактин - ТУ оп 42-5800665-3-92 - ферментний препарат, що отримують при поглибленому культивуванні грибною культурою *Cospora lactis* шт узЛМ-2 Ліполактин широко використовують для знежирювання шкряної сировини та здійснення ряду біотехнологічних процесів

Амфол-М - адсорбційно-активна присадка - пат України № 20862, ТУ 38 301-48-49-97 Використовують як додаток до мила (заявка № 95111792/13/020306 від 07 07 95 р), рішення про видачу патенту РФ від 04 02 97 р, самостійно використовують як концентрат водозмішуваних змащувально-охолоджувальних рідин у процесах металобробки, як присадку до масил та олив, як компонент способу для очищення металевої поверхні (заявка № 2000063496 від 15 06 00 р), рішення про видачу патенту України від 22 01 01 р

Шляхом постановки спеціальних експериментів була визначена оптимальна кількість води, стехіометрично необхідна для виконання функції донору іонів водню Допоміжним донором іонів водню є присадка Амірол-М, що містить у своєму складі ряд сполук, при дисоціації яких в умовах можливого впливу ферменту можна спрогнозувати наявність значної кількості іонів водню

Спосіб отримання жирового субстрату включає стадію розщеплення жиру, відстоювання продуктів реакції, їх наступне розділення та використання за цільовим призначенням Одним із визначальних факторів ефективності процесу ферментативної деструкції жиру, поряд із складом реакційної суміші і співвідношенням компонентів, є температурний режим, що відображено у наведених нижче прикладах Запропонований спосіб отримання жирового субстрату полягає у наступному

Приклад 1

До реактору, спорядженому пристроєм, що перемішує, та сорочкою для підігріву або охолодження реакційної маси, подають (у розрахунку на 1тону маси продуктів) 370кг води (конденсат), 500кг жиру, 80кг адсорбційно-активної присадки "Амірол-М" та перемішують при температурі 15 - 17°C протягом 20 - 30хвилин Потім додають 50кг ліполактину та підсилюють перемішування, вмикаючи систему циркуляції Температура 15 - 17°C є достатньою для початку процесу ферментативного розщеплення жиру, який у наступному протікає в екзотермічному режимі У наступні 1,5 - 2 години температура суміші досягає 34 - 37°C та зберігається на протязі 5 - 7 годин активної фази деструкції жиру, глибина якої складає 65 - 70% Надалі активність процесу розщеплення жиру декілька слабшає і для забезпечення його глибини 82 - 85% оптимальну температуру підтримують шляхом нагрівання ще протягом 2 - 3 годин Згідно із запропонованим способом процесозщеплення жиру на цій стадії вважають закінченим, але, у залежності від призначення жирового субстрату, глибина розщеплення жиру може коливатися від 45 до 90% Після закінченні ферментативного розщеплення жиру температуру у реакторі підіймають до 80 - 85°C Під впливом цієї температури білки зсідуються, фермент руйнується Потім перемішування припиняють та продукт відстоюють протягом 1,5 - 2 години, після чого окремо зливають нижній водяно-гліцеринний прошарок, проміжний та жировий субстрат На цьому процес ферментативного розщеплення жиру вважають закінченим Загальна тривалість процесу отримання жирового субстрату складає 10 - 14 годин, причому власне деструкція жиру здійснюється за 8,5 - 12 годин

Даний спосіб дозволяє, при декілька змінених умовах, досягти повної деструкції жиру, але одним із завдань передбачуваного винаходу є отримання, при сприятливих техніко-економічних показниках, такого продукту, який може бути більш раціонально використаний у великопромисловому масштабі із великим ефектом

Приклад 2

Аналогічно прикладу 1, до реактору завантажують ті ж сировинні компоненти, у такому ж співвідношенні, здійснюють інтенсивне перемішування маси при початковій температурі процесу 10 -

11°C Розщеплення жирів у такому режимі протікає мляво. Екзотермічно температура протягом 1,5 - 2 годин підвищується на 5 - 7°C та далі інтенсивність реакції практично не зростає. Підтримування температури в межах 34 - 37°C шляхом нагрівання суміші декілька активізує процес розщеплення жиру. Але за 14 годин деструкція останнього складає 30 - 35%.

Приклад 3

Не змінюючи складу і співвідношення компонентів, узятих для здійснення ферментативного розщеплення жиру відповідно до прикладу 1, при тій же інтенсивності перемішування, реакційну суміш нагрівають до 25°C, уводять ліполактин і обігрів припиняють. Температурне активування процесу супроводжується бурхливим плином реакції розщеплення жиру, різким, некерованим підвищенням температури вище 40°C, що утримується на цьому рівні протягом 1 - 1,5 години, і на стільки ж різким її падінням. Наступне штучне підтримування температурного режиму на рівні 34 - 37°C практично не дає позитивних результатів. За 14 годин процесу жир розщеплюється на 37 - 42%.

Таким чином, при реалізації запропонованого способу отримання жирового субстрату шляхом розщеплення жиру з використанням ферменту ліполактину, оптимальною є температура початку процесу 15 - 17°C із наступним екзотермічним під-

йманням та наступним підтримуванням її на рівні 34 - 37°C. Запропонований спосіб дозволяє вдвічі скоротити час деструкції жиру у порівнянні з прототипом та отримати кінцеві продукти, подальша переробка яких не викликає утруднень.

Ефективність способу розщеплення жирів, склад та властивості кінцевого продукту, крім технологічних чинників, значною мірою залежать від обраного ферменту та активатора (так званого коферменту) із урахуванням їхньої оптимальної концентрації.

Визначальним фактором у використанні ліполактину в якості ферменту при розщеплюванні жирів, стала його специфічність, що виявилась у вибіркового впливові на жири при знежирюванні шкіри.

Комплекс специфічних властивостей адсорбційно-активної присадки "Амірол-М" послужив підставою для застосування її у поєднанні з ліполактином в якості активатора процесу розщеплення жирів.

Шляхом ставлення ряду експериментів (таблиця 1), в яких залишалися незмінними технологічні параметри процесу, описані у прикладі 1, були визначені граничні концентрації ферменту та активатора, що забезпечували оптимальні умови перебігу процесу розщеплення жирів, а також склад та властивості кінцевих продуктів.

Таблиця 1
Приклади зразків реакційної суміші

Компоненти реакційної суміші	Кількість, % мас, в зразках									
	1	1а	2	2а	3	3а	4	4а	5	5а
Жир	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Вода	37	42	37	46	37	45	37	44	37	48
Фермент "Ліполактин"	8	8	4	4	5	5	6	6	2	2
	5	-	9	-	8	-	7	-	11	-

В результаті експериментальної перевірки було встановлено, що тривалість розщеплення жиру в перших чотирьох зразках мало відрізняється та складає в середньому 12 - 14 годин, а у п'ятому зразку процес загасає, не досягнувши оптимальної температури для перебігу реакції. При концентрації ферменту 4 - 5 - 6% мас (зразки 2 - 3 - 4) у присутності відповідно 9 - 8 - 7% мас присадки "Амірол-М" розщеплення жиру відбувається у екзотермічному режимі та необхідність у підігріванні продукту настає після деструкції його на 65 - 70%.

У п'ятому зразку, навіть при постійному підтримуванні температури в реакторі 34 - 37°C шляхом підігрівання, не вдається досягти деструкції жиру, що має практичний інтерес.

У першому зразку розщеплення жиру протікає у початковій стадії досить активно та супроводжується, в низці випадків, підйомом температури вище оптимальної межі, у зв'язку з чим, для запобігання критичної позначки, виникає необхідність у охолодженні реакційної суміші. Проте, із зниженням температури до оптимальної величини після припинення охолодження, екзотермічна реакція практично не відновлюється та розщеплення жиру відбувається тільки при підігріванні. Таким чином ускладнюється технологічний процес. Та, хоча глибина розщеплення жиру декілька вища у порівнянні із іншими зразками, використання ферменту у

більш високій концентрації є технологічно та економічно нераціональним.

У відсутності присадки "Амірол-М" в реакційній суміші (зразки 1а, 2а, 3а, 4а, 5а) тривалість реакції розщеплення жиру зростає та складає 16 - 18 годин.

Після закінчення процесу розщеплення жиру продукти у реакторі розподіляються пошарова. Одним із чинників, що впливають на регульованість агрегатного стану цих продуктів у загальному об'ємові, є присутність у оптимальній кількості присадки "Амірол-М".

У зразках 1, 2, 3, 4 відбувається чіткий розподіл після реакційної суміші на три прошарки: верхній - жировий субстрат, середній - згущений, вміщуючий адсорбовані присадкою "Амірол-М" супутні жири домішки, дезактивовані фермент, деяка кількість жиру, нижній - розчин гліцерину у воді.

У п'ятому зразку продукти часткового розщеплення жиру, адсорбовані присадкою "Амірол-М", агломеративно розподіляються по всьому об'ємові суміші.

У зразках 1а, 2а, 3а, 4а, 5а, що не містять присадки "Амірол-М", чіткого пошарового розподілу речовин, що утворилися в процесі деструкції жиру, не відбувається. Функція присадки "Амірол-М", як прискорювача процесу ферментативного розщеплення жиру, обумовлена, значною мірою, спромо-

жністю вхідних до її складу з'єднань, в тому числі і кислото мила, при дисоціації у воді підтримувати кислотність середовища у межах рН 5,8 - 6,3, що є найбільше сприятливою для регулювання активності ферменту

В результаті здійснення запропонованого способу ферментативного розщеплення жиру отримують жировий субстрат, що характеризується показниками якості, наведеними у таблиці 2

Таблиця 2

Якісна характеристика жирового субстрату

Показники якості	Величина у зразках									
	1	1а	2	2а	3	3а	4	4а	5	5а
Кислотне число, мг КОН/г	168	131	149	119	162	130	156	124	55	39
Число омилювання, мг КОН/г	46	50	54	59	41	46	49	53	134	148
Гідроксильне число, мг КОН/г	27	21	31	25	39	32	40	36	19	15

Дані, приведені в таблиці 2, показують, що жировий субстрат, отриманий відповідно до запропонованого способу, характеризується високою кислотністю, обумовленою вмістом біля 70 - 82% жирних кислот. Компонентом, що омиляється, в субстраті виявляються гліцериди. Гідроксильне число свідчить про наявність гідроксилвміщуючих з'єднань, які можуть бути подані моно- та дігліцеридами, що є продуктами неповного розщеплення жиру

В якості оптимального прийнято зразок № 3 із достатньою глибиною розщеплення жиру та найкращим агрегатним станом продуктів реакції, що сприяє більш чіткому їхньому поділу та наступній ефективній утилізації. Відхилення кількісного співвідношення компонентів від заявлених меж (зразки 2, 3, 4) у зразку 5 не забезпечує енергетичного розвитку процесу ферментативного розщеплення жиру, а склад зразку 1 - технологічно та економічно не виправданий

У зразках 1а, 2а, 3а, 4а, 5а, за відсутності активатора - присадки "Амірол-М", кількість розщепленого жиру зменшується

Сукупність властивостей жирового субстрату визначила можливість його використання у якості нового джерела жирової сировини як у традиційних, так і у нових напрямках нафтохімічного синтезу. Інформація, наведена у патентних джерелах, дозволила виявити нові тенденції у розвитку промислового виробництва, наприклад, мастил, змащувально-охолоджуючих рідин, жируючих препаратів, у основу яких покладено використання біоруйнованих продуктів (US 5595965 А, 6С10М

117/00, 21 01 97 р, US 5641734 А, 6С10М 161/00, 24 06 97 р), у тому числі синтезованих жирів (WO 9617909 А1, 6С10М 105/38, 13 06 96 р, US 5658863 А, 6С10М 129/70, 19 01 97 р), гідроксилвміщуючих з'єднань (В А Вайншток, Н Абдул-Бари Касем "Влияние гидроксилсодержащих соединений на свойства литиевых смазок на основе растительного омыляемого сырья", "Нефтепереработка и нефтехимия", М №7 1999 г), моно-, да- та тригліцеридів різних органічних кислот. Та якщо кожен із цих компонентів призначений для поліпшення окремих характеристик кінцевого продукту, то використання жирового субстрату, що включає комплекс різновидів подібних з'єднань у різноманітному сполученні, до того ж із урахуванням синергетичного ефекту, дозволяє розширити можливості нафтохімічного синтезу та отримати продукт із декілька покращеними показниками якості

У промислових умовах на ВАТ "АЗМОЛ" запропонованим способом ферментативної деструкції соняшникової олії отримані три зразки (по одній тонні) жирового субстрату із різною глибиною розщеплення для застосування у трьох різних напрямках. Побічні продукти даного процесу утилізують в тих же виробництвах. Отримані практичні результати підтвердили доцільність використання жирового субстрату, як нового виду сировини, можливість спрощення та скорочення при цьому технологічного процесу його виробництва, поліпшення якості цільових продуктів та послужили матеріалом для оформлення трьох самостійних заявок на передбачувані винаходи