

2. Инфракрасная спектроскопия полимеров [Текст]: монография / И. Дехант, Р. Данц, В. Киммер, Р. Шмольке. – М: Химия, 1976. – 472 с.
3. Гордон, А. Спутник химика [Текст] / А. Гордон, Р. Форд. – М: Мир, 1976. – 271 с.
4. Идентификация органических соединений [Текст] / Р. Шрайнер, Р. Физов, Д. Кертин, Г. Мори. – М: Мир, 1983. – 704 с.
5. Ермоленко И.Н. [Текст] / Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз : монография / И.Н. Ермоленко. – Минск: Изд. АН. БССР, 1959. – 291 с.

Здійснено математичне моделювання кінетики ферментативного ацидолізу жирів. Визначено константи швидкостей прямих і зворотних реакцій, а також їх константи рівноваги

Ключові слова: функціональні продукти, ферментативні технології, структуровані ліпіди, ацидоліз

Выполнено математическое моделирование кинетики ферментативного ацидолиза жиров. Определены константы скоростей прямых и обратных реакций, а также их константы равновесия

Ключевые слова: функциональные продукты, ферментативные технологии, структурированные липиды, ацидолиз

The mathematical kinetic modeling of enzymatic acidolysis of fats was performed. The rate constants of forward and reverse reactions and their equilibrium constants are defined

Key words: functional products, enzymatic technologies, structured lipids, acidolysis

Розвиток харчової промисловості в Україні, і зокрема олійно-жирової галузі, обумовлює необхідність формування інноваційної системи, що полягає в створенні та просуванні нових вітчизняних технологій і розробок, а також розширенні асортименту існуючих продуктів з урахуванням реального попиту та споживчого ринку лікувально-профілактичного і функціонального харчування.

Функціональні продукти – продукти, призначені для систематичного вживання в складі харчових раціонів усіма віковими групами здорового населення, які знижують ризик розвитку захворювань, пов'язаних з харчуванням, зберігають і поліпшують здоров'я за рахунок присутності в їхньому складі фізіологічно функціональних харчових інгредієнтів [1].

УДК 665:664.3

ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО АЦИДОЛІЗУ ЖИРІВ

П. О. Некрасов

Доктор технічних наук, професор*

Кафедра технології жирів та продуктів бродіння

Контактний тел.: (057) 707-63-64

E-mail: nekrasov2007@gmail.com

О. В. Подлісна

Аспірант*

Кафедра технології жирів та продуктів бродіння

E-mail: podlesnayalena@rambler.ru

О. П. Некрасов

Кандидат технічних наук, професор

Кафедра фізичної хімії

*Національний технічний університет «Харківський

політехнічний інститут»

вул. Фрунзе, 21, м. Харків, Україна, 61 002

Контактний тел.: (057) 707-63-64

E-mail: nekrasov@kpi.kharkov.ua

Одним із представників функціональних олійно-жирових продуктів є структуровані ліпіди (СТЛ). Структуровані ліпіди – це нове покоління жирів, які збільшують поживну цінність харчових продуктів та роблять їх корисними для здоров'я, включаючи можливість запобігання та лікування різноманітних хвороб. Вказані властивості забезпечуються за рахунок наявності у складі СТЛ довголанцюгових поліненасичених та середньоланцюгових жирних кислот [2].

Синтез структурованих ліпідів шляхом ферментативного ацидолізу жирів є інноваційною технологією, яка в останні роки плідно розробляється на кафедрі технології жирів та продуктів бродіння Національного технічного університету «ХП».

Знання кінетики процесів, на яких базуються ферментативні технології, є одним із головних факторів при визначенні ефективних технологічних параметрів, спрямованих на максимальний вихід кінцевого продукту.

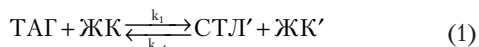
Мета роботи полягала в дослідженні та аналізі кінетики ферментативного ацидолізу жирів, який спрямовано на отримання структурованих ліпідів.

Модельними триацилгліцерином, що містить ацили поліненасичених кислот, та середньоланцюговою жирною кислотою – було обрано відповідно трилінолеїн та каприлову кислоту. Співвідношення вказаних компонентів в модельній суміші становило 1 моль : 6 моль, при якому, за попередніми результатами, спостерігався найбільший вихід цільового продукту. Реакцію каталізували за допомогою ферментного препарату 1,3-специфічної ліпази Lipozyme RM IM виробництва фірми «Novozymes» (Данія). Кількість біокаталізатора – 18 % мас. по відношенню до маси реакційної суміші.

Процес проводили в двох паралелях при температурах 50 °С, 60 °С, 70 °С протягом 24 годин при постійному перемішуванні під шаром азоту. Через визначені проміжки часу відбирались проби, ліпідний склад яких аналізувався методом високотемпературної газорідинної хроматографії у відповідності із AOCS Official Method Cd 11b-91 [3]. Використовувався хроматограф Clarus 500 Gas Chromatography (Perkin-Elmer), оснащений полум'яно-іонізаційним детектором (ПД). Колонка Restek Rtx-65TG, капілярна; її геометричні параметри: довжина 30 м, 0,25 мм внутрішній діаметр, 0,2 мкм товщина нерухомої фази. Стационарна фаза Crossbond 35 % диметил – 65 % дифенілполісилоксан. Температурна програма 80 °С(0 хв.), 10 °С/хв. до 320 °С(0 хв.), 5 °С/хв. до 360 °С (15 хв.) Температура інжектора – 320 °С, температура детектора – 370 °С. Газ-носієй – гелій. Швидкість газу-носія 3 см³/хв. Спліт 1 : 50. Витрата повітря для ПД – 450 см³/хв., витрата водню для ПД – 45 см³/хв. Обсяг проби, що вводився, – 0,5 мкл.

Отримані експериментальні дані застосовувались як вихідні для дослідження кінетики процесу з використанням математичного моделювання.

Проведені нами попередні дослідження ферментативного ацидолізу жирів з метою отримання структурованих ліпідів показали, що вказаний процес обумовлен одночасним перебігом двох реакцій:



де k_1, k_2 є константами швидкостей прямих реакцій, і k_{-1}, k_{-2} – відповідні величини для зворотних реакцій. У рівняннях прийняті наступні позначення компонентів:

ТАГ – триацилгліцерин; ЖК – середньоланцюгова жирна кислота; ЖК' – довголанцюгова жирна кислота; СТЛ' – однозаміщений структурований ліпід (монокапрілоділінолеїн); СТЛ'' – двозаміщений структурований ліпід (дікапріломонолінолеїн).

На основі приведених реакцій для математичного моделювання було складено систему нелінійних диференціальних рівнянь, що описують зміну концентрацій вихідних субстратів і продуктів реакцій у часі.

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[\text{ТАГ}]}{d\tau} &= -k_1[\text{ТАГ}][\text{ЖК}] + k_{-1}[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}'] \\ \frac{d[\text{ЖК}]}{d\tau} &= -k_1[\text{ТАГ}][\text{ЖК}] + k_{-1}[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}'] - k_2[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}] + k_{-2}[\text{СТЛ}''][\text{ЖК}'] \\ \frac{d[\text{ЖК}']}{d\tau} &= k_1[\text{ТАГ}][\text{ЖК}] - k_{-1}[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}'] + k_2[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}] - k_{-2}[\text{СТЛ}''][\text{ЖК}'] \\ \frac{d[\text{СТЛ}']}{d\tau} &= k_1[\text{ТАГ}][\text{ЖК}] - k_{-1}[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}'] - k_2[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}] + k_{-2}[\text{СТЛ}''][\text{ЖК}'] \\ \frac{d[\text{СТЛ}'']}{d\tau} &= k_2[\text{СТЛ}'][\text{ЖК}] - k_{-2}[\text{СТЛ}''][\text{ЖК}'] \end{aligned} \right\} (3)$$

Процес моделювання здійснювався в середовищі Mathcad 14 (Parametric Technology Corporation) і полягав в ідентифікації констант швидкостей прямих та зворотних реакцій за допомогою алгоритму випадкового багатомірного пошуку – методу комплексів. У якості чисельної процедури моделювання диференціальних рівнянь було використано метод Рунге-Кутта зі змінним кроком четвертого порядку точності. Отримані з використанням зазначеного методу дані застосовувались для обчислення цільової функції $J(k)$, яка мала вигляд:

$$J(k) = \sum_{i=0}^m \|x_i - \bar{x}(t_i, x^0, k)\|^2 \quad (4)$$

де x_i – значення вектора станів системи, отримані експериментальним шляхом у момент часу t_i ; $\bar{x}(t_i, x^0, k)$

значення вектора станів системи, обчислені з використанням обраної процедури імітаційного моделювання в момент часу t_i з початковими умовами $x^0 = x_0 = \bar{x}(t_0, x^0, k)$; k – вектор параметрів системи; m –

кількість наборів експериментальних даних.

Як критерій закінчення ітерацій було використано наступну умову:

$$\frac{1}{z} \sqrt{\sum_{i=1}^z (J(k)_i - J(k)_c)^2} \leq \epsilon \quad (5)$$

де $J(k)_c$ – значення функції, що мінімізується, в центрі комплексу; z – кількість вершин гіперсфери; ϵ – точність рішення ($\epsilon=10^{-3}$).

У результаті було розроблено програму (додаток А), що дозволила визначити чисельні значення констант прямих і зворотних реакцій (1–2), які протікають у процесі ферментативного ацидолізу

жирів, а також їх констант рівноваги. Отримані результати зведено в табл. 1 і 2.

Константи швидкостей (моль·ч⁻¹·год⁻¹)

Реакція	Значення констант швидкостей при різних температурах					
	50 °С		60 °С		70 °С	
	Пряма	Зворотна	Пряма	Зворотна	Пряма	Зворотна
$ТАГ + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} СТЛ' + ЖК'$	0,0080	0,0014	0,0124	0,0019	0,0201	0,0025
$СТЛ' + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-2}]{k_2} СТЛ'' + ЖК'$	0,0029	0,0018	0,0051	0,0023	0,0087	0,0032

Таблиця 2

Константи рівноваги (КР)

Реакція	Значення констант рівноваги при різних температурах		
	50 °С	60 °С	70 °С
$ТАГ + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} СТЛ' + ЖК'$	5,71	6,53	8,04
$СТЛ' + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-2}]{k_2} СТЛ'' + ЖК'$	1,61	2,22	2,72

Аналіз даних, представлених в таблицях 1 та 2, дозволяє зробити висновок, що прямі реакції перевищують зворотні, тобто спостерігається спрямованість в бік отримання продуктів. Чисельні значення констант швидкостей прямих та зворотних реакцій, а також констант рівноваги збільшуються з підвищенням температури ацидолізу. Крім того, взаємодія однозаміщеного структурованого ліпиду з жирною кислотою є лімітуючою стадією процесу в цілому, про що свідчить відношення чисельних значень констант швидкостей прямих реакцій при температурах проведення експерименту, тобто $k_1 > k_2$.

Для перевірки адекватності отриманої моделі за формулою (6) обчислювалося середнє значення помилки між експериментальними та розрахунковими даними.

$$\bar{J}(k) = \frac{\sum_{i=0}^m \|x_i - \bar{x}(t_i, x^0, k)\|^2}{m} \quad (6)$$

Обчислене значення склало 0,014, коефіцієнт детермінації дорівнював 0,9897. Зазначені величини свідчать про те, що розроблена математична модель адекватно описує експериментальні дані.

Для створення цілісної картини кінетики ферментативного процесу ацидолізу жирів, спрямованого на отримання структурованих ліпідів, на підставі

даних, представлених у табл. 1 і 2, було обчислено термодинамічні параметри реакцій (1) та (2).

Спочатку в напівлогарифмічних координатах були побудовані залежності $\ln K_p = f(1/T)$ (рис. 1).

Залежності, що приведені на рис. 1, для кожної реакції підпорядковуються рівнянням прямих ліній з відповідними кутовими коефіцієнтами.

Це дозволило розрахувати чисельні значення теплових ефектів ΔH за формулою:

$$\Delta H = -\text{tg}\alpha \cdot R, \quad (7)$$

де $\text{tg}\alpha$ – кутовий коефіцієнт, R – універсальна газова стала, Дж/(моль·К).

Енергію Гіббса ΔG та ентропію ΔS в інтервалі температур 50 – 70 °С (323–343К) визначали за формулами (8) та (9) відповідно:

$$\Delta G = -RT \ln K_p, \quad (8)$$

де KP – константа рівноваги при відповідній температурі T .

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T}. \quad (9)$$

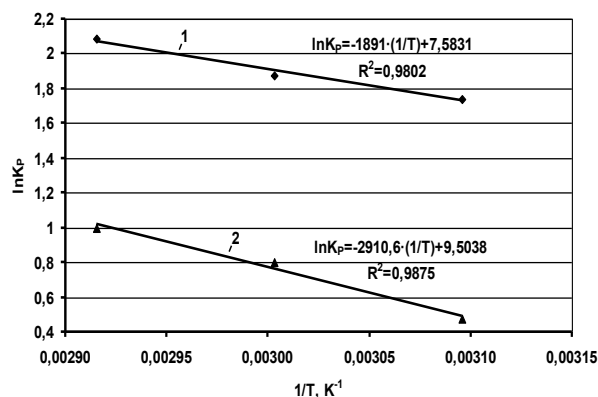


Рис. 1. Залежність логарифмів констант рівноваги від зворотних значень температури: 1 – залежність $\ln K_p = f(1/T)$ для реакції $ТАГ + ЖК \rightleftharpoons СТЛ' + ЖК'$; 2 – залежність $\ln K_p = f(1/T)$ для реакції $СТЛ' + ЖК \rightleftharpoons СТЛ'' + ЖК'$.

Величину енергії активації для прямих та зворотних реакцій в області температурних режимів 60 – 70 °С (333–343К) розраховували за формулою:

$$E_{\text{акт}} = \frac{RT_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{k_{T_2}}{k_{T_1}}, \quad (10)$$

де k_{T_1} та k_{T_2} – константи швидкості при температурах T_1 та T_2 .

Чисельні значення термодинамічних характеристик досліджуваних реакцій та їх енергій активації представлено в табл. 3 та 4 відповідно.

Термодинамічні характеристики

Реакція	ΔH , кДж/ моль	ΔG , кДж/моль			ΔS , кДж/(моль·К)		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
$ТАГ + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} СТЛ' + ЖК'$	15,72	-4,68	-5,20	-5,94	0,06	0,06	0,06
$СТЛ' + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-2}]{k_2} СТЛ'' + ЖК'$	24,20	-1,28	-2,21	-2,85	0,08	0,08	0,08

Таблиця 3 ΔG першої реакції набагато менше аналогічного показника для другої реакції. Це підтверджує раніше зроблений висновок про те, що друга реакція більш утруднена і є лімітувальною для всього процесу в цілому.

Висновки

Таблиця 4

Енергія активації (кДж/моль)

Реакція	Пряма	Зворотна
$ТАГ + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} СТЛ' + ЖК'$	45,87	26,06
$СТЛ' + ЖК \xrightleftharpoons[k_{-2}]{k_2} СТЛ'' + ЖК'$	50,72	31,36

Аналізуючи дані, наведені в табл. 3 і 4, необхідно відзначити, що для обох реакцій чисельне значення теплового ефекту ΔH позитивне і енергії активації в прямому напрямку суттєво більше відповідних величин

для зворотних. Це свідчить про те, що зазначені реакції ендотермічні, тобто протікають із поглинанням тепла.

Зі зростанням температури для обох реакцій значення ΔG зменшується, тобто тим переважніше реакції йдуть у бік утворення продуктів. У той же час при всіх температурах значення

Вперше досліджено кінетику ферментативного ацидолізу жирів, спрямованого на синтез структурованих ліпідів.

Розроблено математичну модель кінетики процесу отримання структурованих ліпідів шляхом ферментативного ацидолізу, яка дозволяє здійснювати якісну та кількісну оцінку складу реакційної суміші при заданих співвідношеннях субстратів.

Визначено константи швидкостей прямих і зворотних реакцій, що протікають у реакційній системі, а також константи рівноваги кожної з них. На основі отриманих даних розраховано термодинамічні параметри та зроблено висновки про внесок кожної з реакцій, що протікають при ферментативному ацидолізі жирів, в загальний процес у цілому.

Література

1. Shibamoto T. Functional food and health / T. Shibamoto. – American Chemical Society, Division of Agricultural and Food Chemistry, Washington, USA, 2008. – 514 pp.
2. Chow C. K. Fatty acids in foods and their health implications, 3rd ed./ C. K. Chow. – Boca Raton: CRC Press, 2008. – 1281 pp.
3. Firestone D. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, 5th ed. / D. Firestone. – Champaign, IL, USA: American Oil Chemists' Society (AOCS), 2003.