

# ЭНЗИМНАЯ ПЕРЕЭТЕРИФИКАЦИЯ МАСЕЛ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА

*А. В. Зайцева, к. х. н., заместитель директора по техническому регулированию корпорации «СОЮЗ»,  
А. Ю. Юдин, аспирант МГУПП*

При производстве твердых жировых основ для получения маргаринов и различных жиров специального назначения основным является изменение показателей плавления жиров. Для этих целей используют как процессы купажирования различных масел и жиров, так и их модификацию.

Основными методами модификации растительных масел, приводящими к изменению их физико-химических показателей (в частности, кривых плавления), являются процессы гидрогенизации и переэтерификации.

Процесс гидрогенизации впервые был запатентован в Великобритании Норманном в 1903 г. и внедрен в США в 1911 г. В процессе гидрогенизации, в результате взаимодействия с водородом, из жидких растительных масел получают жировые продукты с полужидкой или твердой консистенцией. При этом полученные гидрированные жиры не только имеют низкую стоимость, но и обладают рядом функциональных преимуществ: устойчивостью при жарке, пластичностью, быстрым плавлением, хорошей взбиваемостью и т.д.

Однако процесс гидрогенизации не является простым насыщением двойных связей водородом в растительных маслах в присутствии никелевого катализатора. Этот процесс сопровождается протеканием реакций изомеризации с образованием из природных цис-изомеров ненасыщенных жирных кислот более устойчивых транс-изомеров. Как правило, при производстве маргаринов используются частично гидрированные масла, имеющие необходимые кривые плавления, но при этом характеризующиеся высоким содержанием транс-



изомеров жирных кислот. Исследования по метаболизму промышленных транс-изомеров жирных кислот в организме человека позволили сделать вывод об их полностью атерогенном характере. Доказана связь потребления продуктов с высоким содержанием транс-изомеров с развитием сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, овуляторного бесплодия, ожирения и других болезней [1]. Принятие закона о вынесении сведений о содержании транс-изомеров жирных кислот на маркировку продуктов питания, введенного в США в январе 2006 г., подстегнуло интерес к развитию других методов модификации растительных масел в целях получения бестрансовых масложировых продуктов. В странах ЕС

борьбу с транс-изомерами возглавила Дания, приняв в марте 2003 г. в законодательном порядке ограничение по содержанию транс-изомеров в продуктах питания. В настоящее время в 14 странах ЕС, а также в США и Канаде сведения о содержании транс-изомеров жирных кислот в обязательном порядке указываются на потребительской упаковке наряду с информацией о насыщенных жирных кислотах.

Другим методом модификации растительных масел является переэтерификация. Термин «переэтерификация» относится к реакции жиров и масел, при которой триглицериды обмениваются (внутри- и межмолекулярно) остатками жирных кислот с образованием триглицеридов нового жирнокислотного состава. Процесс обмена остатками жирных кислот носит случайный характер и поэтому часто называется рандомизацией. Процессы переэтерификации, изменяя первоначальное распределение жирных кислот в триглицеридах, изменяют и их физико-химические характеристики. В отличие от гидрогенизации, переэтерификация не влияет на степень насыщения, не вызывает изомеризации двойных связей в жирных кислотах и потому не приводит к образованию опасных для здоровья транс-изомеров. В настоящее время в мире широко используют переэтерификацию взамен гидрогенизации для получе-

ния основ для маргаринов, спредов, альтернатив масла какао, кулинарных и других жиров специального назначения.

По типу используемого катализатора переэтерификацию подразделяют на химическую и энзимную. Первоначальное развитие получила химическая переэтерификация, протекающая при использовании в качестве катализаторов этилатов или метилатов щелочных металлов. Как любой химический процесс, она требует тщательной очистки конечного продукта в целях удаления остатков катализатора и побочных продуктов реакции, требует значительных затрат энергии для проведения всех стадий, связанных с получением (температура процесса 110–125 °С) и очисткой продукта, утилизацией отходов, а следовательно, наносит серьезный урон окружающей среде.

Несмотря на то что ферменты многие годы используются в пищевой промышленности для гидролиза крахмала (амилазы), для расщепления пектинов до пектовой кислоты (пектиназы), для гидролиза белков до пептидов и аминокислот (пептидазы) и т. д., использование ферментов для модификации масел и жиров практически не рассматривалось. Это связано с тем, что перечисленные выше процессы протекают в водной среде, поскольку ферменты, являясь белковыми молекулами, хорошо растворимы в воде, тогда как жиры и масла не растворимы в воде, а растворяются только в неполярных органических растворителях. Долгое время считалось, что ферменты не могут работать в отсутствие воды или в органических растворителях. Однако дальнейшие исследования показали, что сухие порошкообразные ферменты были активны и стабильны в безводной среде при определенных условиях. Иначе говоря, была показана возможность использования ферментов в процессах модификации жиров и масел.

Исследования в этой области в начале 80-х гг. XX века возглавили такие компании, как «Юнилевер» и «Новозаймс», а также «Фуджи Ойл». Основное внимание уделялось производству эквивалентов масла какао (ЭМК) с использованием 1,3-специ-

фических липаз, продуцируемых некоторыми штаммами грибов. А. Р. Макреа было описано использование липазы, адсорбированной на кизельгуре, для конвертации смеси средней фракции пальмового масла со стеариновой кислотой в продукт, похожий на ЭМК, имеющий повышенное содержание желаемых 1(3)-пальмитоил-3(1)-стеариол-2-олеоилглицеринов и 1,3-дистеариол-2-олеоилглицеринов [2]. Катализатор активировался путем внесения воды (до 10 %), стеариновая кислота вносилась в петролейном эфире. Недостатками являлись невысокий выход продукта из-за частичного гидролиза триацилглицеринов, а также необходимость дополнительного внесения воды для поддержания активности фермента. При этих условиях помимо реакции переэтерификации протекала реакция гидролиза масел, приводящая к образованию свободных жирных кислот, что снижало выход конечного продукта.

Дальнейшие работы в развитии процессов энзимной переэтерификации были сосредоточены на поиске методов иммобилизации ферментов для решения таких задач, как:

- увеличение термической стабильности и времени жизни фермента;
- максимальное сохранение активности фермента в течение всей процедуры иммобилизации;
- воспроизводимость и экономическая эффективность процесса.

Для нового поколения ферментов в качестве неорганического абсорбента стали применять ионообменные смолы. Их применение было лишено недостатка, присущего иммобилизации на кизельгуре. При использовании ионообменных смол не требовалось дополнительно вносить воду, так как они удерживали достаточное количество воды, необходимой для активности фермента. Один из таких продуктов, Novozyme 435, широко используется во всем мире в различных реакциях синтеза. В этом препарате использована самая распространенная среди 23 000 известных на настоящий момент липаз – липаза *Candida Antarctica B*. Эта иммобилизованная форма липазы способна работать как в присутствии органических растворителей, так и в

их отсутствие. Однако дороговизна материала-носителя и сложность процедуры иммобилизации приводят к высокой стоимости конечных продуктов и ограничивают их использование в синтезе косметических эфиров или при производстве омега-3 обогащенных масел.

Развитие процесса энзимной переэтерификации продолжалось по пути поиска как новых продуцентов липаз, так и новых способов их иммобилизации. С применением генной инженерии был создан стабильный, экономически эффективный препарат липазы на основе продуцента *Thermomyces lanuginosus* с встраиванием гена из штамма *Aspergillus*. Исследования по иммобилизации этой липазы на силикагеле в целях получения бестрансовых маргаринов методом энзимной переэтерификации показали, что полученный препарат стабилен при температурах 55–85 °С и исходной влажности 3 %. Использование его в реакторах периодического действия в течение 9–11 циклов не требовало дополнительного внесения воды для поддержания активности, что значительно снижало образование свободных жирных кислот в процессе реакции [3].

В настоящее время иммобилизованная на силикагеле липаза *T. lanuginosus* выпускается компанией Novozymes в виде промышленного препарата под торговой маркой Lipozyme TL IM.

В сентябре 2001 г. совместными усилиями компаний Novozymes и Karlshamns (сейчас ААК) в Швеции впервые был запущен процесс энзимной переэтерификации в промышленном масштабе с использованием препарата Lipozyme TL IM для производства маргаринов. Разработанный для этих целей периодический реактор был включен в систему уже имеющегося на заводе оборудования. Реактор был заполнен 400 кг иммобилизованной липазы, а масло подавалось сверху через специальную распределительную тарелку, при этом снизу располагалась сетчатая пластина, поддерживающая частицы фермента и одновременно являющаяся фильтром.

Реактор проработал более года. Это был первый реактор, который

показал, что высокая продуктивность работы фермента может быть достигнута только за счет высокого качества используемых исходных масел. Эта разработка продемонстрировала экономическую пригодность процесса энзимной переэтерификации для производства таких недорогих жировых продуктов, как маргарины.

Однако в реакторе периодического действия активность фермента, являясь функцией времени и количества пропущенного через фермент масла, постепенно снижалась практически до нуля, что недопустимо для широкомасштабного промышленного производства. Логическим решением этой проблемы стал переход на несколько последовательно соединенных реакторов непрерывного действия (4–6 шт.).

Это было осуществлено в июле 2002 г. компанией ADM (Archer Daniels Midland Company). В США был построен первый завод по энзимной переэтерификации, использующий препарат Lipozyme TL IM компании Novozymes для производства бестрансовых маргаринов и шортенингов. Построенный завод является моделью для всех последующих заводов по энзимной переэтерификации жиров и масел с применением нескольких реакторов непрерывного действия.

При последовательном использовании серии реакторов нет необходимости полной конверсии масла в первом из них, так как далее масло подвергается воздействию фермента и в последующих реакторах. Это дает возможность увеличить скорость потока масла через реакторы и повысить производительность процесса. Даже если в первом реакторе активность фермента снизится до нуля, общая экономическая эффективность серии агрегатов выше, чем использование отдельного проточного реактора. В этом случае первый реактор может быть отключен от общей системы для перезагрузки фермента без ущерба для работы всей остальной системы. За счет системы трубопроводов реактор, который был первым и в котором фермент быстрее всего истощился и потребовалась его полная

замена, становится последним в общей цепочке. Отработанный фермент, утративший свою активность, может быть легко удален из реактора. Более того, этот фермент можно далее использовать в качестве реагента на стадии отбелки исходных масел.

Для развития процесса энзимной переэтерификации также тщательно изучаются факторы, которые могут оказать негативное действие на активность фермента. Известно, что активность любого фермента в первую очередь зависит от температуры и pH среды.

Установлено, что для осуществления процесса переэтерификации оптимальной температурой для липазы является 70 °С. Эта температура также достаточна для расплавления многих жировых смесей. На небольшой промежуток времени, если

оказывает негативного влияния на стабильность ферментов, но вызывает увеличение потребления катализатора на один килограмм загружаемого масла и снижает конечный выход продукта из-за образования мыл, которые также захватывают и часть нейтральных липидов. Поэтому лучше изначально использовать исходные масла и жиры с низкими значениями кислотных чисел.

Содержание фосфатидных веществ и никеля (при использовании гидрированных жиров) в жирах и маслах для энзимной переэтерификации также негативно сказывается на процессе. В этом случае иммобилизованный фермент работает как фильтрующее вещество – это снижает его эффективность для процесса переэтерификации.

Стабильность фермента снижается и в присутствии продуктов окис-

В сентябре 2001 г. совместными усилиями компаний Novozymes и Karlshamns в Швеции впервые был запущен процесс энзимной переэтерификации в промышленном масштабе для производства маргаринов.

это необходимо, температура может быть увеличена до 80 °С без потери активности фермента.

Было установлено, что сильное негативное действие на активность липазы оказывают неорганические кислоты из отбелочной глины, применяемой для удаления красящих и некоторых других веществ масел, а также лимонная кислота, используемая в процессах дезодорации масел. Эти кислоты из очищенного масла попадают в гранулу с иммобилизованным ферментом и снижают pH внутри нее, тем самым уменьшая активность липазы, имеющей оптимум в щелочной зоне. Необходимо также отметить, что при щелочных значениях pH наблюдается и наибольшая термостабильность фермента. Следовательно, снижение pH внутри гранулы снижает и термостабильность липазы, сокращая время ее жизни.

Количество образующихся в реакции свободных жирных кислот не

ления масел и жиров, характеризующихся перекисным и анизидиновым числами [4]. Наилучшие результаты достигаются, если суммарное значение этих чисел не превышает 2.

Таким образом, низкие значения кислотного, перекисного и анизидинового чисел для исходных масел и жиров являются залогом более высокой эффективности проведения процесса энзимной переэтерификации. Снизить содержание продуктов окисления в маслах, а также содержание низкомолекулярных жирных кислот можно, пропуская масла через молекулярные сита, активированный уголь или отработанный иммобилизованный фермент, утративший свою активность. Показано, что такая обработка увеличивает продуктивность фермента (в килограммах переэтерифицированного масла на килограмм фермента) в 3,1; 7,4 и 4,1 раза соответственно [5].

Исследования по влиянию исходного состава переэтерифицируемых

смесей не выявили зависимости снижения активности фермента от содержания твердых триглицеридов или определенных жирных кислот и их распределения в молекуле триглицерида. Между тем при использовании некоторых смесей наблюдалась более высокая эффективность применения фермента [6].

Огромным плюсом использования энзимной переэтерификации для модификации растительных масел является возможность максимального сохранения в них токоферолов и других биологически активных веществ. Это обусловлено применением умеренных температур проведения процесса и меньшего количества стадий очистки конечного продукта, также осуществляемых при умеренных температурах, в отличие от химических методов модификации масел. Сохранение исходных токофе-

казано, что добавление Lipozyme RM IM или Novozyme 435 к Lipozyme TL IM в реакциях переэтерификации улучшает общий выход продукта [8]. Наибольший эффект достигается с использованием в качестве второго фермента Lipozyme RM IM на гидрофильном носителе. Синергический эффект наблюдается также при внесении второго фермента в неиммобилизованной форме. Это подтверждает, что иммобилизованный фермент выступает в роли носителя для дополнительного внесенного неиммобилизованного фермента.

Негативное влияние на здоровье человека трансизомеров жирных кислот привело к необходимости разработки процессов получения жиров с определенными температурами плавления методами переэтерификации. В свете последней тенденции снижения использова-

дом энзимной переэтерификации обеспечивает этим продуктам свойства, эквивалентные таковым в альтернативных технологиях. При этом сам процесс проще в исполнении, доступен в широких масштабах и является экологически чистым.

В настоящее время в мире действует 25 заводов по получению маргаринов, заменителей масла какао, шортенингов и других жиров специального назначения с использованием технологии энзимной переэтерификации.

В России в июне 2009 г. Корпорацией «СОЮЗ» был запущен первый крупномасштабный комбинат по переработке растительных масел с применением технологии энзимной переэтерификации, способный производить до 1 млн т продукции в год. Используя в качестве основ энзимно переэтерифицированные масла, комбинат выпускает различные виды жиров специального назначения, а также заменители масла какао, жиры для производства кремов, сливок и мороженого на растительных маслах. Так, например, применение энзимной переэтерификации для получения заменителей масла какао лауринового типа позволяет получать продукт, содержащий менее 1 % трансизомеров жирных кислот, в отличие от заменителей масла какао нелауринового типа, получаемых на основе частично гидрированных растительных масел и содержащих свыше 37 % трансизомеров жирных кислот [9]. Бестрансовые заменители масла какао могут дальше использоваться при производстве как твердых кондитерских плиток, так и корпусов для конфет и полых фигур, различных видов глазури.

Пуск комбината по переработке растительных масел с применением технологии энзимной переэтерификации открыл в России новую эру по использованию в промышленном масштабе экологически чистых процессов при переработке не только белково- и углеводосодержащего сырья, но также растительных масел и жиров. 🟡

Список литературных источников находится в редакции.

В настоящее время в мире действует 25 заводов по получению маргаринов, заменителей масла какао, шортенингов и других жиров специального назначения с использованием технологии энзимной переэтерификации.

ролов в энзимно переэтерифицированных маслах позволяет сократить использование других антиоксидантов при производстве маргаринов и жиров специального назначения на их основе.

Исследования по совершенствованию процесса энзимной переэтерификации масел и жиров продолжаются. Так, при использовании sn-1,3-специфических липаз из *Rhizomucor miehei* для получения эквивалентов масла какао проблема заключается в поиске не очень дорогого носителя для иммобилизации фермента, позволяющего максимально сохранить его стереоспецифичность. Имеются обнадеживающие результаты в данном направлении при использовании силикагеля в качестве носителя [7].

Развитие процессов иммобилизации ферментов открывает возможности одновременного использования двух и более липаз из различных источников. Эта область исследований сейчас активно развивается. По-

ния химических процессов при производстве продуктов питания по всему миру энзимная переэтерификация является наилучшей альтернативой. Использование иммобилизованной липазы ограничивает применение химических реагентов не только в самом процессе переэтерификации, но и в последующих процессах очистки продукта и утилизации отходов. Энзимная переэтерификация оказывает меньшее воздействие на окружающую среду, чем любой процесс химической модификации растительных масел по совокупности всех сопутствующих процессов. Это связано как с незначительным образованием побочных продуктов, так и с соответствующим снижением затрат на их удаление, использованием более низких температур, меньшим расходом воды и электроэнергии суммарно по всем процессам.

Производство маргаринов и жиров специального назначения мето-