

# Исследование Влияния Ультразвука на Выделение из Сои Сорта «Алтом» Жировой Фракции и Лецитина

Юрий А. Кошелев, Марина Э. Ламберова, Анна А. Ламберова  
Бийский Технологический Институт (филиал) ГОУВПО «Алтайский Государственный  
Технический Университет имени И. И. Ползунова»

## Abstract

**О**дним из современных методов интенсификации экстракции является ультразвуковая обработка. Необходимо учитывать, что с одной стороны ультразвук может изменить активность ферментов липидного обмена, с другой - может способствовать разрушению компонентов липидной фракции. Максимальное количество суммарных липидов было извлечено при УЗ – обработке мощностью 80 Вт в течение 10 минут. Увеличение активности липазы наблюдалось при воздействии ультразвуком на водные экстракты из соевых бобов, которая выражалась в более интенсивном гидролизе растительных жиров. Параллельно была установлена зависимость степени разложения растительного масла (без липазы из соевых бобов) от длительности термостатирования и воздействия ультразвука. Предварительная УЗ - обработка ускоряет разложение масла на 30 минут и стабилизирует процесс на более высоком уровне. При выделении лецитина из соевых бобов наиболее эффективным экстрагентом был кипящий этиловый спирт, а предварительная ультразвуковая обработка разрушала выделенный лецитин.

**Index Terms**— Ultrasonic extraction, lecithin, lipid fraction.

## I. ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время является актуальным интенсификация экстракции растительных масел и их компонентов из сои.

К ценным компонентам соевого масла относится лецитин, на основе которого создаются биологически активные добавки к пище и кормам. Лецитин является фосфотидилхолином. Это широко распространенный фосфолипид клеточных мембран и входит в состав мозговой ткани человека и животных. В растениях они встречаются в соевых бобах, семенах подсолнечника, зародышах пшеницы и участвуют в липидном обмене.

Одним из основных ферментов липидного обмена является липаза, которая гидролизует эфирные связи в триглицеридах жировой фракции. Значение липазы в катаболизме триацилглицеролов подтверждается тем, что в семенах существенно возрастает ее активность по мере их прорастания.

Одним из современных методов интенсификации экстракции является ультразвуковая обработка. При его использовании необходимо учитывать, что, с одной стороны, ультразвук может изменить активность ферментов липидного обмена, с другой - может способствовать неферментативному разрушению компонентов липидной фракции. Среди

продуктов распада липидов, и в частности лецитина, есть витаминоподобные вещества и стимуляторы роста растительных клеток в культуре клеток и тканей *in vitro*.

Целью данного исследования является изучение влияния ультразвука на выделение из сои сорта «Алтом» жировой фракции и лецитина.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов от мощности и длительности ультразвукового воздействия;
- изучить влияние ультразвука на активность липазы в водных экстрактах из соевых бобов в реакции гидролиза растительных жиров;
- исследовать влияние экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина из соевых бобов.

Суммарное содержание липидов в тканях, выделенных в экстракт, определяли методом длительного настаивания навесок ткани в хлороформ-этанольной смеси. По разности масс образца до и после экстракции находили процентное содержание липидов в экстракте.

## II. ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ В ЭКСТРАКТАХ ИЗ СОЕВЫХ БОБОВ ОТ МОЩНОСТИ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКА

Суммарное содержание липидов в тканях, выделенных в экстракт, определяли методом длительного настаивания навесок ткани в хлороформ-этанольной смеси. По разности масс образца до и после экстракции находили процентное содержание липидов в экстракте.

1,5 г сухих соевых бобов взвешивали на аптечных весах, растирали в ступке, затем переносили в высушенные (при 105 °С) и взвешенные на аналитических весах пакеты из плотной фильтровальной бумаги (их делали из листов размером 10 x 18 см по типу обычных аптечных пакетов для порошков). Взвешивали материал вместе с пакетом на аналитических весах, и по разности между полученной массой и массой пустого пакета вычисляли величину навески. Количество материала зависит от содержания в нем масла. При содержании в семенах масла ниже 30 % - 1,5 г пакет с навеской вкладывали в пакет большего размера (его делали из фильтровальной бумаги размером 20x12 см) и помещали в коническую колбу емкостью 250 мл,

заливали 20 мл этанола и затем приливали в нее 20 мл хлороформа. Содержимое колбы перемешивали, закрывали корковой пробкой и оставляли на неделю в темном месте при  $20 \pm 2$  °С. Пакеты с навесками из одного и того же материала помещали в общую склянку.

Через 5 суток настаивания пакет с обезжиренным материалом извлекали из колбы, промывали 2...3 раза хлороформом, затем помещали в широкий кристаллизатор и ставили в вытяжной шкаф, чтобы испарился растворитель. Затем сушили в течение 2,5 ч в термостате при 100...105 °С. Затем пакет помещали в бюкс, охлаждали в эксикаторе в течение 45 минут и взвешивали. Если после высушивания на пакетах проступали желтые или коричневые полосы, то это объяснялось окислением масла, которое было плохо извлечено. В этом случае анализ повторяли, увеличивая объем растворителя и продолжительность извлечения масла.

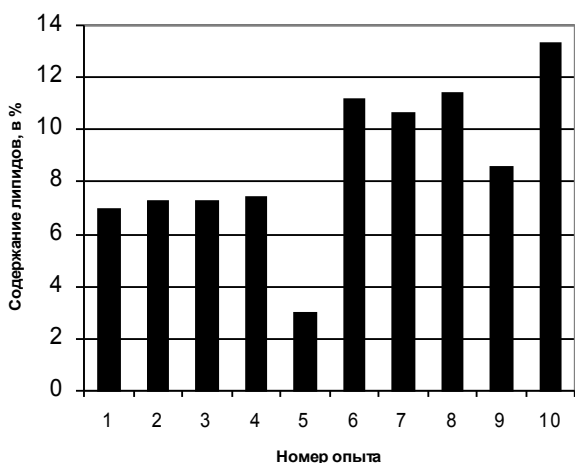
Вычисление процентного содержания липидов осуществляли по разности в массе навески до и после их экстракции. Расхождения между двумя параллельными определениями не должны превышать 1,0...1,5 %.

Расчет процентного содержания липидов в экстракте производим по формуле:

$$C = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (1)$$

где  $m_1$  – масса материала с пакетом до экстракции, г;

$m_2$  – масса материала с пакетом после экстракции, г.



Номер опыта 1 ÷ 5 – при длительности УЗ – воздействия 1 минута.

Номер опыта 6 ÷ 10 – при мощности УЗ – воздействия 80 Вт.

Температура  $20 \pm 2$  °С.

Рисунок 1 – Зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов от мощности и длительности ультразвукового воздействия

На диаграмме видно, что при увеличении мощности ультразвукового воздействия от 20 до 80 Вт содержание липидов в экстрактах было близким по значению. Воздействие при 100 Вт резко уменьшает их содержание, видимо, в связи с их разрушением. Оптимальным можно считать 80 Вт. Увеличение длительности УЗ – воздействия от 1 до 3 минут повышает суммарное содержание липидов

в экстрактах с 7,4 до 11,2 %. При дальнейшем увеличении длительности воздействия до 7 минут меняет содержание липидов незначительно. Возрастание длительности до 9 минут заметно снизило сумму липидов до 8,5 %, а затем суммарное содержание липидов в экстракте резко повышается до 13,3 % при УЗ – воздействии в течение 10 минут, которое было принято оптимальным (при мощности 80 Вт).

### III. Исследование влияния ультразвука на активность липазы в водных экстрактах экстрактах из соевых бобов в гидролизе растительных жиров

В результате действия липаз жиры (триглицериды) подвергаются гидролизу, расщепляясь на глицерин и жирные кислоты.

Большое значение в процессе переваривания жиров имеет желчь, содержащая соли желчных кислот. Желчные кислоты, воздействуя на жиры и масла, переводят их в чрезвычайно тонкую эмульсию, диаметр частиц которой не превышает 0,5 мкм. Эмульгирование жира приводит к значительному увеличению поверхности соприкосновения жира с водным раствором липазы, что облегчает ферментативный гидролиз жира. Соли желчных кислот, кроме того, активируют малоактивную липазу сока поджелудочной железы, переводя ее в активный фермент. Механизм активации липазы желчными кислотами остается не вполне выясненным. Желчные кислоты также взаимодействуют со свободными жирными кислотами с образованием растворимых соединений, способных всасываться.

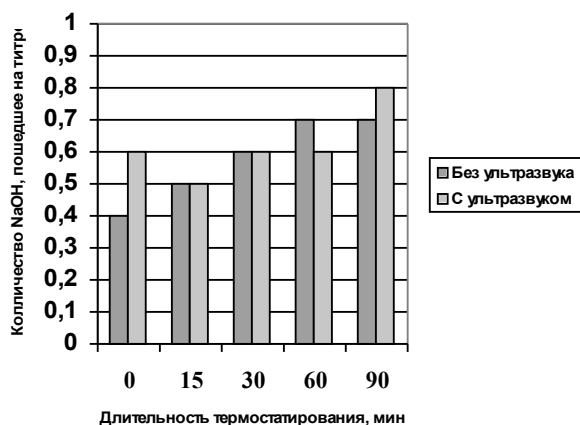
Лучше всего наблюдать гидролиз жира под влиянием липазы сока поджелудочной железы. Активатором липазы является желчь (желчные кислоты). В качестве субстрата обычно брали молоко, жир которого, находясь в эмульгированном состоянии, быстро расщепляется на глицерин и жирные кислоты. Об активности липазы судили по количеству жирных кислот, образовавшихся за определенный промежуток времени в результате гидролиза жира. Количество жирных кислот определяли титрованием раствором щелочи отдельных проб молока, взятых до гидролиза и в процессе гидролиза.

Оборудование и реактивы: термостат на 37 °С; колбы конические на 100 мл (6 шт.), пипетки с одной меткой на 1 мл и на 10 мл; ступка (диаметр 110 мм) с пестиком (высота 110 мм); воронка стеклянная; цилиндр мерный на 50 мл; марля; водный экстракт белка из соевых бобов; растительное масло; фенолфталеин (1 %-ный); гидроксид натрия (0,1 N).

Для приготовления водного экстракта из соевых бобов взвешивали 1 г муки из соевых бобов и заливали 20 мл дистиллированной воды. Полученную смесь отфильтровывали через 2...3 слоя марли.

В три конические колбы, емкостью 100 мл каждая, отмеривали цилиндром по 50 мл растительного масла и добавили в колбу 1 и 2 по 2 мл вытяжки липазы из соевых бобов, в колбу 3 (контроль) — столько же предварительно прокипяченной водной вытяжки из

соевых бобов. Быстро перемешивали содержимое каждой колбы, сейчас же отбирали пипеткой по 10 мл жидкости и переносили их в три другие колбы (для титрования). Первые колбы (1, 2 и 3) ставили в термостат или в водяную баню при 37...40 °С. В колбы для титрования добавляли по 2...3 капли раствора фенолфталеина. Оттитровывали содержимое каждой колбы 0,1 Н раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания при непрерывном и тщательном помешивании.



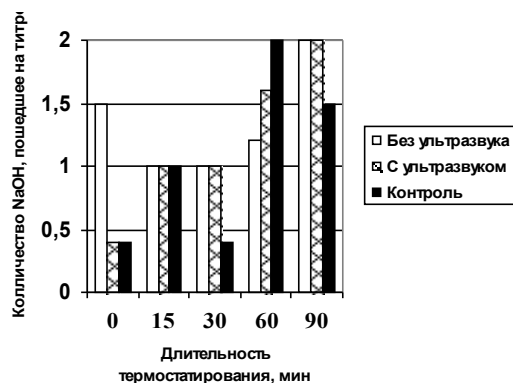
Температура  $37 \pm 1$  °С.

Длительность УЗ – воздействия.

Мощность УЗ–воздействия– 40 Вт.

Рисунок 2 - Зависимость степени разложения масла (без липазы из соевых бобов) от длительности термостатирования и воздействия ультразвука в течение 1 минуты

На диаграмме видно, что в колбе с ультразвуковым воздействием мощностью 40 Вт активность липазы выше на.... Оптимальным можно считать длительность термостатирования в течение 90 минут, так как активность липазы в озвученной колбе выше. При длительности термостатирования от 15 до 30 минут активность липазы была одинакова. Возрастание длительности термостатирования до 60 минут заметно снизило активность липазы в озвученной колбе, а затем активность липазы повышалась.



Температура  $37 \pm 1$  °С.

Длительность УЗ – воздействия – 1 минут.

Мощность УЗ – воздействия – 40 Вт.

Рисунок 3 - Зависимость активности липазы в водных экстрактах из соевых бобов от длительности термостатирования и воздействия ультразвука

На диаграмме видно, что в отсутствии УЗ – обработки идет равномерное разложение масла в термостате после 15, 30 и 60 минут в термостате. После этого наблюдается стабилизация процесса на уровне 0,7. Иная картина наблюдается после УЗ – обработки. В колбе с ультразвуковым воздействием степень разложения масла выше сразу после озвучивания без выдержки в термостате и достигает значения 0,6, то есть такого же, как без ультразвуковой обработки через 30 мин выдержки в термостате. Затем после УЗ – обработки степень разложения в термостате практически не менялась (0,6) вплоть до 60 мин и возросла до 0,8 через 90 мин выдержки при  $37 \pm 1$  °С.

Об активности липазы судят по количеству жирных кислот, образовавшихся за определенный промежуток времени в результате гидролиза жира. Количество жирных кислот определяют титрованием раствором щелочи отдельных проб масла, взятых до гидролиза и в процессе гидролиза. Предварительная УЗ - обработка ускоряет разложение масла и стабилизирует его на более высоком первоначальном уровне.

#### IV. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАГЕНТА И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ВЫДЕЛЕНИЕ ЛЕЦИТИНА ИЗ СОЕВЫХ БОБОВ

Реактивы: соевая мука; хлороформ – этанольная жировая вытяжка полученная в опыте; этиловый спирт; ацетон; хлористый кадмий, насыщенный спиртовой раствор; КОН 10 %-ный раствор; кислый сернокислый калий или натрий ( $\text{KHSO}_4$  или  $\text{NaHSO}_4$ ); кристаллическая борная кислота ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ).

В небольшой стаканчик вносили около 4 г соевой муки и, помешивая стеклянной палочкой, добавляли 10 мл горячего спирта. После остывания содержимое стаканчика отфильтровывали в сухую пробирку. Фильтрат должен быть прозрачным.

Со спиртовым раствором лецитинов проводят ряд реакций.

##### A. Осаждение ацетоном

В сухую пробирку наливали 2...3 мл ацетона и по каплям прибавляли спиртовой раствор лецитинов. Выпадал осадок, так как лецитины в ацетоне не растворяются.

##### B. Получение эмульсии лецитинов

Для получения эмульсии к 2...3 мл спиртового раствора лецитинов добавляли по каплям дистиллированную воду. Образовывалась устойчивая эмульсия лецитинов в воде.

### С. Осаждение хлористым кадмием

В сухой пробирке к 1 мл спиртового раствора лецитинов добавляли по каплям насыщенный раствор хлористого кадмия. Выпадал белый осадок соединения лецитинов с хлористым кадмием.

### Д. Гидролиз лецитинов и исследование их состава

К спиртовому раствору лецитинов прибавляли ацетон до выпадения осадка, с которым производили дальнейшие реакции. Часть осадка лецитинов нагревали с несколькими миллилитрами 10 % - ного раствора едкого калия или натрия. Лецитины гидролизировались на свои компоненты. При гидролизе происходит частичный распад холина с отщеплением триметиламина, обладающего селедочным запахом.

### Е. Проба на жирные кислоты

К части гидролизата добавляли по каплям

10 % - ный раствор  $H_2SO_4$  – выделялись свободные жирные кислоты. Содержимое пробирки фильтровали через бумажный фильтр, на котором задерживались жирные кислоты. К фильтрату

Таблица I

Исследование влияния экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина из соевых бобов

Номер опыта	Качественные реакции					
	Осаждение ацетон ом	Получение эмульсии лецитинов	Осаждение хлористым кадмием	Гидролиз лецитинов	Проба на жирные кислоты	Проба на глицерин
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—
Спиртовый экстракт	+	+	+	+	+	+

Таблица II

Постановка опытов по изучению влияния УЗ – обработки на выделение лецитина из соевых бобов кипящим этиловым спиртом

Режимы УЗ - обработки	Номер опыта п/п				
	11	12	13	14	15
Мощность УЗ, Вт	20	40	60	80	100
Длительность обработки, мин	1	1	1	1	1

### Ф. Проба на глицерин

Сухой остаток сплавляли с порошком серноокислого калия или натрия, или борной кислоты. Образовывался акролеин, который обнаруживался по резкому запаху.

По результатам из таблицы 1 был выбран кипящий этиловый спирт в качестве единственного эффективного экстрагента, совместно с которым

Таблица III

Изучение влияния УЗ – обработки на выделение лецитина из соевых бобов кипящим этиловым спиртом

Номер опыта	Qualitative reactions					
	Осаждение ацетон ом	Получение эмульсии лецитинов	Осаждение хлористым кадмием	Гидролиз лецитинов	Проба на жирные кислоты	Проба на глицерин
11	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—

применялась УЗ – обработка в опытах с 11 по 15. Результаты приведены в таблице 2.

По результатам из таблиц 1, 2, 3 видно, что ультразвуковая обработка в кипящем этиловом спирте разрушает выделенный лецитин.

### V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам данной работы можно сделать следующие выводы:

- исследована зависимость содержания суммарных липидов в экстрактах из соевых бобов от мощности и длительности ультразвукового воздействия. Оптимальными режимами УЗ – обработки можно считать 80 Вт в течение 10 минут;
- изучено влияние ультразвука на активность липазы в водных экстрактах из соевых бобов в гидролизе растительных жиров. Оптимальной можно считать длительность термостатирования в течение 90 минут, так как активность липазы в этом случае в колбе после УЗ-обработки была выше;
- установлена зависимость степени разложения растительного масла (без липазы из соевых бобов) от длительности термостатирования и воздействия ультразвука. Предварительная УЗ - обработка ускоряет разложение масла на 30 минут и стабилизирует процесс на более высоком уровне;
- исследовано влияние экстрагента и ультразвуковой обработки на выделение лецитина из соевых бобов. Эффективным экстрагентом является кипящий этиловый спирт. Предварительная ультразвуковая обработка разрушает выделенный лецитин.

### ЛИТЕРАТУРА