

весную концентрацию достигали через 1,25 ч. Для извлечения остаточных фикобилипротеинов из твердой фазы использовали повторную экстракцию свежей порцией растворителя в соотношении 1:1 в течение 30 мин и затем объединяли полученные экстракты. Применение двухступенчатой экстракции позволило увеличить выход фикобилипротеинов на операции на 4%.

После экстрагирования в жидкой фазе содержался комплекс водорастворимых фотопигментов (в т.ч. фикоцианин), в твердой фазе – хлорофилл. Полного осаждения твердой фазы и получения плотного осадка без потерь фикоцианина достигли при факторе разделения не менее 900 г и 4 мин центрифугирования.

Фракционирование фикобилипротеинов производили высаливанием сульфатом аммония в присутствии фосфатного буфера при pH 7. В исходном растворе, по результатам спектральных анализов, присутствовали фикоцианин и фикозитрин. При добавлении 80% насыщенного раствора сульфата аммония в осадок выпадал фикоцианин. Процесс проводили при температуре 4°C в темноте. Полное выпадение осадка фикоцианина наблюдали через 2-3 ч. Отделение осадка производили при значении фактора разделения 1240 г в течение 10 мин. При меньших значениях фактора разделения и продолжительности осаждения получили неполное осаждение и неплотный, сильно загрязненный растворенным фикозитрином осадок.

Выделившийся осадок фикоцианина из-за соосаждения примесей содержал значительное, до 20%, количество фикозитрина. Очистку фикоцианина производили методом переосаждения. Осадок суспендировали в равном количестве буферного раствора и при добавлении 80% насыщенного раствора сульфата аммония осаждали повторно.

Полученный осадок имел синюю, характерную для фикоцианина окраску, слабую красную флуоресценцию, содержал незначительное количество фикозитрина и был загрязнен неорганическими солями, в основном сульфатом аммония. Для удаления низкомолекулярных примесей использовали процесс диализа через полупроницаемые мембраны – целлофан и пергамент. В качестве чистого растворителя использовали питьевую воду. Конструкция лабораторной установки для диализа предусматривала создание постоянного притока чистого растворителя в камеру пермеата и постоянный отвод отработанного пермеата. Содержащиеся в растворе низкомолекулярные вещества за счет диффузии через поры мембраны проходили в зону пермеата, через которую непрерывно протекала чистая вода. Фикоцианин как высокомолекулярное соединение оставался в растворе. Таким образом достигали обессоливания. Процесс перехода сульфата аммония в пермеат, а также остаточное количество сульфата аммония в растворе контролировали

качественной реакцией на ионы аммония с реактивом Несслера. Отсутствие белков в пермеате проверяли биуретовой реакцией. Более быстро – в течение 4 ч – полной очистки раствора достигали при использовании пергамента в качестве полупроницаемой мембраны.

Полученный осадок фикоцианина содержал 70% влаги. Для получения готового продукта – порошкообразного фикоцианина применяли процесс сушки осадка в потоке воздуха. Оптимальные результаты были достигнуты при температуре сушки 35°C. При более высокой температуре функциональные свойства фикоцианина, в т.ч. его растворимость, снижались. Полученный после высушивания порошок синего цвета полностью растворялся в воде.

Таким образом, на основе лабораторных методов обоснована технология получения пигмента фикоцианина из биомассы синезеленых водорослей – естественного богатого источника этого вещества. По полученным ранее данным, скорость прироста биомассы термофильных синезеленых водорослей рода *Phormidium* при их искусственном культивировании достигает 50 мг сухого вещества в час с 1 м² поверхности, что позволяет рассматривать этот объект как сырье для промышленного получения ценных компонентов, в том числе фикоцианина.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА ИЗ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ КАК ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ

Ефимов А.А.

*Камчатский государственный технический
университет*

Петропавловск-Камчатский, Россия

Целью проведенной работы являлось определение способов, технологических режимов выделения фотопигмента хлорофилла из синезеленых водорослей и получения из него пищевой добавки – пищевого красителя.

В качестве сырья использовали биомассу термофильных синезеленых водорослей рода *Phormidium*, культивируемых в искусственных условиях. В отличие от других фотосинтезирующих организмов синезеленые водоросли содержат только хлорофилл *a*. Для получения хлорофилла использовали промежуточный продукт, полученный на начальной стадии переработки биомассы синезеленых водорослей при выделении фикоцианина – дезинтегрированный осадок от первичной экстракции.

Хлорофилл – фотопигмент, изменяющий свои свойства при воздействии света. Хлорофилл характеризуется лабильностью к действию различных физических и химических факторов, в том числе повышенной температуры, света. В

процессе получения хлорофилла необходимо обеспечить условия, предотвращающие его изменения, обеспечивающие максимальный выход хлорофилла как готового продукта.

Хранение биомассы синезеленых водорослей до переработки проводили после предварительного промывания. Исследовали такие способы хранения до обработки как охлаждение, замораживание, сушка. Изменения в биомассе определяли по содержанию небелкового азота как показателю порчи белка и по содержанию хлорофилла. Для предотвращения изменений хлорофилла хранение проводили в темноте. Предельный срок хранения без охлаждения при температуре 20°C определяли по органолептическим показателям и по содержанию небелкового азота; он составил не более 6 ч. При хранении в охлажденном до 4-9°C состоянии в течение 5 сут. содержание хлорофилла не изменялось, однако уже через 3 сут. повышение содержания небелкового азота и появление неприятного запаха свидетельствовало о начальной стадии порчи. Предельный срок хранения при температуре 4-9°C составил 48 ч.

При хранении биомассы в замороженном состоянии при температуре минус 18°C не только не снизилось содержание хлорофилла, но и увеличился его выход до 94% от начального содержания в биомассе за счет дезинтеграции субклеточных чехлов и клеточных стенок при замораживании-размораживании. Сушка биомассы потоком воздуха температурой 35°C приводила к снижению последующего выхода хлорофилла до 81%.

Оптимальным вариантом с точки зрения предотвращения порчи, выхода хлорофилла как готового продукта, снижения затрат являлось хранение биомассы до обработки в охлажденном до 4-9°C состоянии в течение 48 ч.

Отличия последующих технологических операций процесса получения хлорофилла от операций технологии получения фикоцианина появлялись после выделения осадка дезинтегрированной массы клеток синезеленых водорослей от первичной экстракции.

Для извлечения из осадка оставшихся водорастворимых веществ, в т.ч. водорастворимых фотопигментов, использовали повторное экстрагирование свежей порцией растворителя – питьевой воды в соотношении 1:1 в течение 30 мин и последующее центрифугирование в течение 4 мин при 900 g. После экстракции в жидкой фазе содержался комплекс водорастворимых фотопигментов, в осадке – хлорофилл и каротиноиды. Полноту извлечения водорастворимых пигментов в лабораторных условиях контролировали спектрофотометрическим методом, хотя данный показатель хорошо определялся органолептически по цвету жидкой фазы. Использование в качестве сырья дезинтегрированного осадка, очищенного от водорастворимых веществ, вместо сырой био-

массы благоприятно сказывалось на чистоте, качестве готового продукта, ускоряло последующий процесс экстракции хлорофилла.

Хлорофилл хорошо растворим в органических растворителях. Существующие способы выделения хлорофилла из растений предусматривают его одностадийную экстракцию наиболее эффективными растворителями – метанолом, этанолом, ацетоном, смесью полярных и неполярных растворителей.

В полученном нами после повторного экстрагирования водой осадке спектрофотометрическим методом определили присутствие каротиноидов. В готовом продукте – пищевом красителе хлорофилле (E140) не должно быть примесей. Однако при использовании самых эффективных полярных растворителей (ацетона, спирта) наблюдались денатурация белков водорослей, нарушение связей пигментов с липопротеидными комплексами и быстрая экстракция всех пигментов, в том числе нецелевых (каротиноидов).

Для удаления из осадка каротиноидов нами предложена предварительная экстракция неполярным растворителем – петролейным эфиром. Процесс экстракции проводился при температуре 4-9°C. Для сокращения продолжительности процесс проводили при перемешивании с частотой 60 об/мин. Продолжительность процесса определяли по скорости накопления продуктов экстракции – каротиноидов. Этот показатель контролировали по оптической плотности раствора и по достижению равновесной концентрации в жидкой фазе. Качественный состав экстракта определяли спектрофотометрически. В экстракт также переходило небольшое количество хлорофилла – 1,2%. Продолжительность экстракции составляла 1,5 ч.

Очищенный от каротиноидов осадок подвергали экстрагированию полярным растворителем для выделения хлорофилла. При выборе экстрагента учитывали факторы эффективности и приемлемости для получения пищевого продукта. Эффективность оценивалась в серии экспериментов по определению времени достижения равновесной концентрации хлорофилла в экстракте и по полноте экстракции. Более эффективным экстрагентом оказался метанол, вторым по эффективности – ацетон. Наименьшей эффективностью характеризовался этанол. Однако по фактору приемлемости в производстве пищевого продукта в качестве экстрагента нами был выбран этанол. Процесс экстракции проводили при температуре 4-9°C при соотношении рафината и экстрагента 1:1. Процесс вели при перемешивании с частотой 60 об/мин. Равновесная концентрация хлорофилла в экстракте достигалась через 1,25 ч.

Разделение экстракта и осадка производили центрифугированием. Полное осаждение твердой фазы, отсутствие в экстракте взвеси было достигнуто при факторе разделения не менее 1100 g и продолжительности центрифугирования

5 мин. Полноту выделения целевого вещества и содержание загрязняющих пигментов, каротиноидов, определяли спектрофотометрически. Полученный экстракт содержал хлорофилл, имел яркий изумрудно-зеленый цвет. Каротиноиды полностью отсутствовали. Осадок содержал 40% влаги и до 2% хлорофилла (от сухого вещества).

Для извлечения остаточного количества хлорофилла осадок подвергали повторной экстракции чистым этанолом и центрифугированию. Полученные на первой и на второй ступени экстракты объединяли. Избыток этанола из экстракта удаляли отгонкой под вакуумом.

Экстракт хлорофилла в этаноле смешивали с рафинированным, дезодорированным растительным маслом.

Готовый продукт – масляный раствор хлорофилла темно-зеленого цвета с содержанием хлорофилла *a* 1,5% соответствует СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов», ГОСТ Р 52481-2005 «Красители пищевые» как пищевой краситель хлорофилл (E140).

Таким образом, на основе лабораторных исследований обоснована технология получения пищевой добавки хлорофилла (E140) из биомассы синезеленых водорослей. По полученным ранее данным, скорость прироста биомассы термофильных синезеленых водорослей рода *Phormidium* при их искусственном культивировании достигает 50 мг сухого вещества в час с 1 м² поверхности, что позволяет рассматривать этот объект как сырье для промышленного получения ценных компонентов, в том числе хлорофилла.

ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ИЗ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Ефимов А.А., Ефимова М.В.

Камчатский государственный технический университет

Петропавловск-Камчатский, Россия

Целью проведенной работы являлось определение способов, технологических режимов получения пищевой белковой добавки из термофильных синезеленых водорослей рода *Phormidium*, характеризующихся высоким (35,08% органической части) содержанием протеина.

В качестве сырья использовали биомассу водорослей, культивированных в искусственных условиях. При оптимальных условиях культивирования накопление биомассы достигало 50 мг сухого вещества в час с 1 м² поверхности.

Существующие технологии получения белковых продуктов из синезеленых водорослей в основном предусматривают выделение белков из биомассы путем их последовательной экстракции водой, растворами солей, раствором щелочи. При этом в раствор переходит до 70% содержа-

щихся в биомассе белков, т.е. наблюдается потеря значительной части белков и других биологически активных компонентов.

Ценность белковых продуктов заключается в высоком содержании белка и его полноценности. Синезеленые водоросли отличаются от других видов сырья, помимо наличия полноценного белка, наличие в составе богатого комплекса разнообразных биологически активных веществ. Поэтому, на наш взгляд, целесообразно получать белковые продукты из синезеленых водорослей по технологии, обеспечивающей максимальное сохранение биологически активных компонентов.

Биохимический состав синезеленых водорослей рода *Phormidium* характеризуется незначительным содержанием липидов, соответственно, технология получения белковой добавки не требует операции удаления липидов.

Предлагаемая нами технология предусматривает отделение биомассы от питательной среды, удаление загрязнений, дезинтеграцию клеток, тепловую детоксикацию и денуклеизацию, удаление влаги высушиванием и измельчение до порошкообразного состояния.

Поступающая из культиватора на обработку суспензия содержала от 5 до 10 г/дм³ сухого вещества биомассы. На поверхности клеток, волокон биомассы находилось большое количество жидкого субстрата, содержащего неорганические соли, продукты метаболизма водорослей. Биомассу отделяли от жидкости на сите с размером ячеек 1,0x1,0 мм и промывали для удаления компонентов питательной среды питьевой водой, соответствующей требованиям СанПиН 2.1.4.1074. Расход воды составлял 10:1.

Размер ячеек оказывает влияние на потери биомассы за счет потери отдельных клеток, целых трихомов с промывными водами. Для выбора размера ячеек сита промывание проводили на ситах с размером ячеек 1,5x1,5, 1,0x1,0, 0,5x0,5 мм. Синезеленые водоросли рода *Phormidium* образуют длинные нити (трихомы), связанные между собой полисахаридной слизью. Такие структуры хорошо задерживаются на сите с крупной (1,5x1,5 мм) ячейкой. Минимальные потери – 0,5% от массы исходного сырья получили при использовании сита с размером ячеек 0,5x0,5 мм. Однако при этом из-за забивания ячеек сита биомассой резко возросла продолжительность промывания. Оптимальным оказалось промывание биомассы на сите с размером ячеек 1,0x1,0 мм. Температура воды в начале промывки не должна превышать 25-30°C для предотвращения коагуляции загрязнений белковой природы. Последующую промывку можно вести горячей водой.

Промывание вели до исчезновения в промывной воде следов сульфат-ионов, определяемых реакцией с ионами бария, т. к. содержание сульфат-ионов в питательной среде при культивировании синезеленых водорослей наибольшее. Для равномерности протекания процесса промыв-