

УДК 628.54:549.77

УЛЬТРАЗВУК В АНАЛИЗЕ И ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ БЕТА-КАРОТИНА КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ИЗ МАТОЧНЫХ РАССОЛОВ

© 2007 А.Н. Бакланов¹, Ф.А. Чмиленко², Е.А. Белова³

Изучено использование одновременного воздействия УЗ низких и высоких частот 18 – 100 кГц и 1.0-5.0 МГц в анализе и технологии получения бета-каротина из маточных рассолов-отходов производства поваренной соли бассейновым методом. Общий выход бета-каротина – не менее 90 %. Нижняя граница определяемых концентраций по данной методике – 0.5 мкг/л, относительное стандартное отклонение не превышает 0.08.

1. Введение

Наиболее перспективное направление для получения бета-каротина – переработка водоросли "Dunaliella salina" ("DS"), произрастающей в рассолах различного происхождения. При этом "DS", вегетирующая в соляных рассолах, используемых для производства поваренной соли, содержит в пересчете на сухую массу до 1.1 % бета-каротина, а вегетирующая в маточных соляных рассолах – до 1.5 % [1-3]. Маточные рассолы – отходы производства поваренной соли бассейновым и вакуум-выварочным методами, состоят в основном из хлоридов и сульфатов магния и кальция с небольшой примесью сульфата натрия, занимают сотни гектаров земель на юге Украины, ухудшают и без того напряженную экологическую ситуацию в этом районе [2].

Нами ранее была разработана технология получения бета-каротина из рапы соляных озер и бассейнов, основанная на разрушении водоросли "DS" низкочастотным ультразвуком (УЗ) высокой интенсивности, соосаждении бета-каротина на коллекторе – гидроксиде магния с ультразвуковой интенсификацией процесса. Разрушение водоросли является необходимой операцией, так как имеющиеся белкововитаминные связи не позволяют выделять бета-каротин соосаждением и экстракцией [3]. Степень извлечения бета-каротина из рапы соляных озер по сравнению с ранее применяемой технологией, основанной на использовании высокоскоростных дезинтеграторов, повысилась с 30-40 % до 90 % [4].

Однако этот метод оказался малопригодным для маточных рассолов (степень извлечения бета-каротина была менее 50 %), вследствие высокой акустической прочности водоросли, вегетирующей в этом объекте [5].

Описано [6] одновременное воздействие УЗ низких и высоких частот от 18 до 47 кГц и 1.0-2.5 МГц для разрушения комплексов металлов с органическими веществами в поваренной соли и рассолах, показано преимущество этого способа, по сравнению, с использованием УЗ только одной частоты.

Применение одновременного воздействия УЗ высокой и низкой частот для разрушения водоросли "DS" при получении бета-каротина из рассолов не изучено, сведений об этом в литературе не найдено. По-видимому, не имеется также и технологии получения бета-каротина из маточных рассолов. Во всяком случае, об этом свидетельствуют значительные количества земель, занятых маточными рассолами на Украине, США, Австралии и других странах, использующих бассейновый метод для получения поваренной соли и климатические условия которых позволяют произрастать водоросли "DS"[6].

Предлагаемая работа посвящена изучению возможности использования УЗ в технологии получения бета-каротина из маточных рассолов – отходов производства поваренной соли.

¹ Українська інженерно-педагогічна академія

² Дніпропетровський національний університет

³ Донецький національний університет

2. Экспериментальная часть

Разрушение водоросли "DS" проводили в химическом реакторе, позволяющем проводить обработку рассолов одновременно УЗ частотой 18-100 кГц и 1.0-5.0 МГц [6]. Источниками УЗ служили магнитострикционные и пьезоэлектрические излучатели с рабочими частотами от 18 кГц до 5.0 МГц, подключаемые к ламповому генератору 24-УЗГИ-К-1,2 (Россия) и к ультразвуковому модернизированному диспергатору УЗДН -1 М (Украина) [6]. Для разрушения водоросли использовали также лабораторный вариант дезинтегратора 2 ВС-1-6М (Австралия). Экстракцию бета-каротина проводили в атмосфере аргона в боксе 1БП-1ОС (Украина). При кристаллизации бета-каротина использовали морозильник "Nord" (Украина).

Определение содержания бета-каротина проводили на спектрофотометре СФ-46 (Россия) по методике [7]. Также содержание бета-каротина в рассолах устанавливали гравиметрическим методом после его выделения и взвешивания в виде бета-каротина кристаллического [7].

Исследования проводили на маточных рассолах Геройского и Генического солезаводов. Степень извлечения бета-каротина устанавливали на маточных рассолах, из которых предварительно удаляли бета-каротин, затем в эти рассолы вводили водоросль "DS" и известное количество бета-каротина в виде раствора в ацетоне [6]. При этом использовали бета-каротин кристаллический фирмы Bioscience Pty. Ltd (Австралия) с содержанием основного вещества 98 %.

Пробу рассола с водорослью "DS" обрабатывали УЗ частотой 18-100 кГц, интенсивностью от 1 до 4 Вт/см² в течение 0.5-4.0 мин и одновременно УЗ частотой от 1.0 до 5.0 МГц, интенсивностью 1-12 Вт/см² [4]. Верхний предел интенсивности ультразвука при использовании пьезоэлектрических излучателей ограничен 12 Вт/см², что связано с их механической прочностью [6].

Далее поступали аналогично описанному нами ранее в работе [4]. Содержание бета-каротина определяли по методике [7]. Параллельно проводили опыты с разрушением водоросли путем воздействия УЗ только одной низкой частоты или дезинтегратора [2].

Методика спектрофотометрического определения бета-каротина в маточных соляных рассолах. 1000 см³ рассола обрабатывают УЗ частотой 22 кГц и 1.0 МГц, интенсивностью соответственно 2.5 и 3.0 Вт/см² в течение 2 мин. Приливают 10 см³ раствора гидроксида натрия (3 моль/дм³) и воздействуют УЗ частотой 22 кГц интенсивностью 2.0 Вт/см² в течение 30 с. Дают осадку осесть и отделяют осадок от раствора сифонированием и центрифугированием. Надосадочную жидкость осторожно сливают. К полученному осадку приливают дистиллированную воду и снова центрифугируют. Операцию промывки повторяют. В центрифужную пробирку приливают 10 см³ ацетона и встряхивают осадок с ацетоном. Центрифугируют и сливают ацетон в делительную воронку. Операцию обезвоживания повторяют. Затем экстрагируют бета-каротин 10 см³ петролейного эфира в течение 3-х мин. Экстракцию повторяют. Экстракты сливают в делительную воронку и промывают равным количеством дистиллированной воды. После разделения фаз, нижний водно-ацетоновый слой сливают в другую делительную воронку. Водно-ацетоновый слой промывают 10 см³ петролейного эфира и отбрасывают, а петролейный эфир присоединяют к основному экстракту. Объединенный экстракт осторожно концентрируют на водяной бане при температуре не выше 50 °С до объема 10 см³. После охлаждения до комнатной температуры, его переносят в мерную пробирку и разбавляют петролейным эфиром до 15 см³ и измеряют оптическую плотность при 450 нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно петролейного эфира. Определение проводят методом градуировочного графика или методом стандартных добавок (при анализе малого количества проб). Градуировочные растворы готовят аналогично приготовлению раствора проб на основе рассола, из которого предварительно был удален бета-каротин, при этом водоросль "DS" вновь вводится в рассол [4].

Нижняя граница определяемых концентраций по данной методике – 0.5 мкг/л, относительное стандартное отклонение не превышает 0.08.

Методика получения каротина из маточных рассолов. 5000 см³ маточного рассола обрабатывают УЗ частотой 18-100 кГц, интенсивностью 1.5-2.5 Вт/см² и УЗ частотой 1.0-2.5 МГц, интенсивностью 2.5-4.0 Вт/см² в течение 1-3 мин. Дальше вводят 25 см³ раствора гидроксида натрия (3 моль/дм³), воздействуют УЗ частотой 18 - 44 кГц, интенсивностью $\geq 1,5$ Вт/см² в

течение ≥ 30 с. Дают осадку осесть и отделяют его от раствора сифонированием и центрифугированием. Осадок трижды промывают дистиллированной водой и после каждой промывки центрифугируют. Затем осадок промывают охлажденным до $< 5^{\circ}\text{C}$ этиловым спиртом для обезвоживания. Из полученного концентрата экстрагируют каротин 30 см^3 смеси ацетона с петролейным эфиром в соотношении 10:1 -7:1 при температуре $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$ при воздействии УЗ частотой 18-46 кГц, интенсивностью $0.5\text{-}2.0\text{ Вт/см}^2$ в течение времени > 2 мин. Далее кристаллизуют каротин охлаждением до температуры от -1 до -5°C при воздействии УЗ частотой 35-46 кГц, интенсивностью $0.5\text{-}1.5\text{ Вт/см}^2$ в течение 5-10 с. Полученный бета-каротин отделяют от раствора фильтрованием и запаивают в ампулы. Хранят в холодильнике. Операции кристаллизации и фильтрования бета-каротина проводят в атмосфере аргона. При необходимости получения бета-каротина высокой степени чистоты ($\geq 95\%$), его вновь растворяют в предложенном растворителе и повторно кристаллизуют

3. Результаты и обсуждение

При использовании одновременного воздействия УЗ высокой и низкой частот для разрушения водоросли "DS" в маточных рассолах извлечение бета-каротина было выше на 40-50 % по сравнению с использованием УЗ только одной низкой частоты или дезинтеграторов (табл.1). Правильность полученных результатов подтверждается хорошим совпадением результатов спектрофотометрического и гравиметрического определения содержания бета-каротина в маточных рассолах (табл.1).

Более высокая эффективность одновременного воздействия УЗ высокой и низкой частот объясняется особенностями образования и схлопывания кавитационных пузырьков при двухчастотном воздействии УЗ при котором преимущественно (более 90 %) образуются малые сферические кавитационные пузырьки. При схлопывании малых сферических кавитационных пузырьков разрушаются белково-витаминные связи в водоросли "DS" и бета-каротин становится доступным для соосаждения и экстрагирования [1].

Изменение частоты низкочастотного УЗ от 18 до 100 кГц не оказало влияния на величину степени извлечения бета-каротина. Сравнение результатов, полученных с использованием высокочастотного УЗ частотой 1-5 МГц показало, что лучшие результаты были получены при использовании УЗ частотой 1.0-2.5 МГц (табл. 2). При этом интенсивность низкочастотного УЗ должна быть $1.5\text{-}2.5\text{ Вт/см}^2$, а высокочастотного – $2.5\text{-}4.0\text{ Вт/см}^2$ (табл. 2). Время воздействия УЗ должно быть не менее 2 мин.

Таблица 1. Результаты определения бета-каротина в соляных рассолах после разрушения водоросли

Проба	Введено бета-каротина. мкг/л	Найдено бета-каротина после разрушения водоросли "DS" и определения спектрофотометрическим методом, мкг/л						Найдено бета-каротина после разрушения водоросли "DS" УЗ 22 кГц+1 МГц гравиметрическим методом, мкг/л	
		УЗ 22 кГц		УЗ 22 кГц+ 1 МГц		Дезинтегратор		X	S _r
		X	S _r	X	S _r	X	S _r		
Рассол Генического1) солезавода	0	10.0	0.10	22.5	0.07	9.2	0.11	20.0	0.08
	1) 10.00	20.0	0.07	32.0	0.05	17.0	0.09	19.1	0.07
	2) 0.00	23.8	0.09	48.8	0.05	18.0	0.10	45.2	0.06
	2) 20.00	41.0	0.07	65.1	0.05	36.4	0.09	61.1	0.06
Рассол Геройского1) солезавода	0	14.2	0.10	31.24	0.04	12.7	0.11	27.1	0.08
	1) 10.00	22.0	0.07	40.0	0.05	20.0	0.09	32.2	0.06
	2) 0.00	31.1	0.08	76.1	0.05	24.5	0.09	68.6	0.07
	2) 20.00	47.0	0.06	97.0	0.06	41.0	0.07	87.0	0.07

В этой таблице и последующих представлены усредненные результаты шести опытов.

1)-пробы отбирались в зоне минимально-возможного содержания водоросли (в середине бассейна в глубинном слое рассола); 2) —пробы отбирались в зоне максимально-возможного содержания водоросли (вблизи углов бассейна, в среднем слое рассола).

Таблица 2. Влияние частоты УЗ на степень извлечения бета-каротина из маточных рассолов

ПРОБА	Степень извлечения бета-каротина, %					
	1 МГц	2 МГц	2.5 МГц	3 МГц	4 МГц	5 МГц
Маточный рассол Геройского солезавода	91	92	90	85	78	34
Маточный рассол Генического солезавода	91	91	90	83	69	29

В рассолы было введено 20 мкг/л бета-каротина. Частота низкочастотного УЗ – 22 кГц, интенсивность 2.5 Вт/см². Интенсивность высокочастотного – 3.0 Вт/см². Время воздействия УЗ – 3 мин.

Таблица 3. Влияние интенсивности ультразвука на степень разрушения органических соединений в растворах поваренной соли

Интенсивность низкочастотного УЗ, Вт/см ²	Степень извлечения бета-каротина, % при интенсивности УЗ высокой частоты, Вт/см ²					
	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0	6.0
Маточный рассол Геройского солезавода						
1.0	65	66	71	74	75	77
1.5	85	90	91	90	86	87
2.5	87	91	92	91	84	85
3.0	84	87	85	83	80	79
Маточный рассол Геройского солезавода						
1.0	60	62	65	70	72	74
1.5	78	89	90	90	84	85
2.5	79	91	90	90	83	84
3.0	76	78	83	80	78	75

Частота низкочастотного УЗ – 22 кГц, частота высокочастотного УЗ – 1 МГц. Время воздействия УЗ – 3 мин.

4. Выводы

Таким образом, результаты работы свидетельствуют об эффективности одновременного действия УЗ высокой и низкой частот для разрушения водоросли "DS" в маточных рассолах. Это может быть использовано в технологии получения бета-каротина из маточных рассолов. При этом общий выход бета-каротина составляет около 90 %, что в два раза выше, чем при использовании УЗ только одной частоты.

На этой основе разработана методика получения бета-каротина из маточных рассолов и новая методика анализа рассолов на содержание бета-каротина, основанная на разрушении водоросли, соосаждении, экстракции бета-каротина петролевым эфиром и измерении оптической плотности полученного раствора при 450 нм.

Литература

1. Бендт В.П. Опытнo-промышленное получение каротина из рапы, содержащей водоросль дюналиеллу солевую солоноводную //Хим.промышленность Украины. -1988. - № 4. - С. 49-51.
2. Бакланов А.Н., Чмиленко Ф.А. Получение бета-каротина // Экотехнологии и ресурсосбережение (Химическая технология).-2000.- № 4.- С.32-35.

3. Гелескул Ю.Ф. Технология производства препаратов каротина из водоросли соляных водоемов "Dunaliella Salina" для животноводства и пищевой промышленности//Хим.технология.-1982.-№ 6-С.40-43.
4. Бакланов О.М., Бакланова Л.В., Чмиленко Ф.О. Спосіб одержання каротину кристалічного з водорості, що вегетує у соляних озерах та басейнах. С01D 3/00. Патент України на винахід UA №39830 А від 28.09.1999.–Надрук.15.06.2001. Бюл.№7–II.
5. Чмиленко Ф.А., Бакланов А.Н. Получение бета-каротина кристаллического из рассолов с использованием ультразвука// Экологические и ресурсосбережение (Химическая технология).-2001.- №5.- С.32-36.
6. Чмиленко Ф.А., Бакланов А.Н. Ультразвук в аналитической химии. Теория и практика. – Днепропетровск: Изд-во Днепропетр. ун-та, 2001.– 264 с.
7. Бакланов А.Н., Чмиленко Ф.А. Ультразвук в анализе соляных рассолов на содержание бета-каротина // Вісник Дніпропетровського університету. - 2000. Вип.5 –Хімія.- С.23-28.

Поступила в редакцію 4 апреля 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). A.N. Baklanov, F.A. Chmilenko, E.A. Belova. Ultrasonic in analysis and technology of receipt of crystalline beta-carotin from mother brines.

The use of simultaneous influence of ultrasonic of low and high frequencies (18 – 100 kHz 1.0-5.0 MHz) in the analysis and technology of receipt of beta-carotin from the mother brines, waste of production of salt by pool-type method, is studied. The main yield of beta-carotin is not less than 90 %. The lower limit of determination concentration of beta-carotin is equal 0.5 mkg/l, relative standard deviation does not exceed 0.08.