



Научная статья
05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов (технические науки)
УДК 54.05
doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.02.025

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ КЕРАТИНА ПУТЕМ ГИДРОЛИЗА СЫРЬЯ В УЛЬТРАЗВУКОВОМ ПОЛЕ

Геннадий Валентинович Алексеев¹, Ксения Олеговна Каршева²,
Роман Олегович Резниченко³, Вячеслав Алексеевич Шанин⁴

^{1, 2, 3, 4} Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

¹ gva2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2867-108X>

² karsheva.888@mail.ru

³ reznichenko320@mail.ru

⁴ shanin.vyacheslav@mail.ru

Аннотация. Одним из механизмов, реализующих ультразвуковое экстрагирование, позволяющее получать химически чистые экстракты биологически активных веществ из природного сырья растительного или животного происхождения, связан с ультразвуковой кавитацией, побуждающей возникновение в жидкости, облучаемой ультразвуковыми волнами, пульсирующих и захлопывающихся пузырьков, заполненных паром, газом или их смесью. Использование ультразвука в производстве значительно ускоряет процесс экстракции, увеличивает выход целевых компонентов в экстракт и снижает себестоимость экстрагируемого вещества. Кавитационные пузырьки образуются при облучении жидкости мощным ультразвуком и расширяются во время полупериодов разрежения и сжимаются после перехода в область повышенного давления. Именно энергия, выделяемая при схлопывании этих пузырьков, приводит к столь значительному ускорению химических реакций. Количество и размер кавитационных пузырьков зависят не только от параметров поля: интенсивности, частоты и звукового давления, но и от характеристик жидкости: вязкости, плотности, температуры, поверхностного натяжения и давления парогазовой смеси. Представляется целесообразным использование этого технологического инструмента для выделения такого ценного продукта, как кератин, при утилизации, например, пухо-перьевых отходов, получаемых в значительных количествах при переработке птицы. В работах, где упоминался метод щелочного гидролиза кератина с целью получения кормовых добавок, авторы применяли достаточно жесткие условия по температуре и давлению, которые приводили к практически полному распаду белковой молекулы на аминокислоты и даже к частичной дегградации аминокислот. Наша цель заключалась в том, чтобы сохранить полимерную структуру кератина, но при этом снизить молекулярную массу.

Ключевые слова: ультразвуковое экстрагирование, биологически активные вещества, сырье животного происхождения, утилизация пухо-перьевых отходов, щелочной гидролиз кератина, сохранение полимерной структуры.

Для цитирования: Совершенствование процесса выделения кератина путем гидролиза сырья в ультразвуковом поле / Г. В. Алексеев [и др.] // Ползуновский вестник. 2021. № 2. С. 182–187. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.02.025.

Original article

IMPROVEMENT OF THE KERATIN RELEASE PROCESS BY HYDROLYSIS OF RAW MATERIALS IN THE ULTRASONIC FIELD

Gennady V. Alekseev¹, Ksenia O. Karsheva², Roman O. Reznichenko³,
Vyacheslav A. Shanin⁴

^{1, 2, 3, 4} National Research University ITMO, Saint Petersburg, Russia

© Алексеев Г. В., Каршева К. О., Резниченко Р. О., Шанин В. А., 2021

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ КЕРАТИНА ПУТЕМ ГИДРОЛИЗА СЫРЬЯ В УЛЬТРАЗВУКОВОМ ПОЛЕ

¹ gva2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2867-108X>

² karsheva.888@mail.ru

³ reznichenko320@mail.ru

⁴ shanin.vyacheslav@mail.ru

Abstract. *One of the mechanisms realizing ultrasonic extraction, which makes it possible to obtain chemically pure extracts of biologically active substances from natural raw materials of plant or animal origin, is associated with ultrasonic cavitation, which induces the appearance in a liquid irradiated by ultrasonic waves of pulsating and collapsing bubbles filled with steam, gas or a mixture of them. The use of ultrasound in production significantly speeds up the extraction process, increases the yield of target components in the extract and reduces the cost of the extracted substance. Cavitation bubbles are formed when a liquid is irradiated with powerful ultrasound and expand during half-periods of rarefaction and contract after the transition to the area of increased pressure. It is the energy released during the collapse of these bubbles that leads to such a significant acceleration of chemical reactions. The number and size of cavitation bubbles depend not only on the field parameters - intensity, frequency and sound pressure, but also on the characteristics of the liquid: viscosity, density, temperature, surface tension and pressure of the vapor-gas mixture. It seems advisable to use this technological tool to isolate such a valuable product as keratin, when disposing, for example, down-feather waste obtained in significant quantities during poultry processing. In the works where the method of alkaline hydrolysis of keratin was mentioned in order to obtain feed additives, the authors used rather stringent conditions for temperature and pressure, which led to almost complete decomposition of the protein molecule into amino acids, and even to partial degradation of amino acids. Our goal was to preserve the polymer structure of keratin while still lowering the molecular weight.*

Keywords: *ultrasonic extraction, biologically active substances, raw materials of animal origin, utilization of down and feather waste, alkaline hydrolysis of keratin, preservation of the polymer structure.*

For citation: Alekseev, G. V., Karsheva, K. O., Reznichenko, R. O. & Shanin, V. A. (2021). Improvement of the keratin release process by hydrolysis of raw materials in the ultrasonic field. *Polzunovskiy vestnik*, (2), 182-187. (In Russ.). doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.02.025.

Ультразвук в диапазоне частот от самых низких и примерно до 100 кГц чаще всего получают, применяя магнитострикционные преобразователи, представляющие собой сердечник с навитой на него обмоткой. Переменный ток, протекающий по обмотке, создает переменное магнитное поле, преобразующееся в энергию магнитных колебаний сердечника. Следует отметить, что эффект обратим, то есть если деформировать сердечник, то в нем возникает магнитное поле, которое вызывает в обмотке появление электрического тока [1–2].

Все ферромагнитные материалы подвергаются механической деформации при попадании в магнитное поле. С помощью магнитострикционного осциллятора можно создавать продольные волны. Ультразвуковое экстрагирование (экстракция) позволяет получать химически чистые экстракты биологически активных веществ из природного сырья растительного или животного происхождения. Экстракция – процесс извлечения одного или нескольких компонентов из сложного по составу сырья с помощью растворителя – экстрагента.

Экстрагирование биологически активных веществ – наиболее продолжительная стадия переработки сырья. Традиционные методы экстракции нередко занимают часы, сутки и

даже недели. Использование ультразвука позволяет значительно ускорить процесс экстракции, увеличить выход и снизить себестоимость экстрагируемого вещества, улучшить условия труда и повысить его производительность [3–5].

Воздействие ультразвука создает кавитацию и турбулентные потоки в жидком экстрагенте, в результате происходит быстрое набухание материала и растворение содержимого клетки, увеличивается скорость обтекания частиц сырья, в пограничном диффузионном слое возникают турбулентные и вихревые потоки. Молекулярная диффузия внутри частиц материала и в пограничном диффузионном слое практически заменяется конвективной, что приводит к интенсификации массообмена. В результате кавитации происходит разрушение клеточных структур, что ускоряет процесс перехода полезных веществ в экстрагент за счет их вымывания.

Сильные турбулентные течения, гидродинамические потоки способствуют переносу масс, растворению веществ, происходит интенсивное перемешивание содержимого даже внутри клетки, чего невозможно достичь другими способами экстракции. Кроме того, изменение давления при сжатии и разряжении при

прохождении волны ультразвука может вызывать эффект губки, при котором улучшается проникновение экстрагента в материал.

В результате время замачивания сырья под действием ультразвука значительно сокращается. На выход действующих веществ влияют интенсивность и продолжительность ультразвукового облучения, температура экстрагента, соотношение сырья и экстрагента.

При использовании ультразвука наблюдается не только значительное ускорение производственного процесса, но и увеличение по сравнению с другими способами экстрагирования выхода основного продукта. Если озвучиваемое сырье представляет собой группы сильно одревесневших клеток плотной структуры, то для процесса экстракции определяющим параметром становится число разрушенных клеток. С увеличением степени дисперсности частиц сырья коэффициент отражения звуковой энергии на границе раздела фаз ввиду быстрой пропитки мелкоизмельченного сырья экстрагентом будет минимальным, интенсивнее происходит растворение и вымывание содержимого из разрушенных клеток. Следовательно, при озвучивании время экстрагирования сокращается.

В начале века разработана технология получения водного экстракта прополиса с использованием ультразвукового воздействия [6–8]. Данный способ позволяет получить водный экстракт прополиса с максимальным сохранением биологически активных веществ в экстракте. Согласно изобретению, проведение экстракции ультразвуком в режиме кавитации в течение 2,5 ч непрерывно позволяет наиболее полно извлечь биологически активные соединения, комплекс которых обеспечивает необходимый уровень и спектр специфической активности целевого продукта. При меньшем времени экстракции не обеспечивается полнота извлечения. При этом процесс экстракции идет не только значительно быстрее, но и при гораздо более низких температурах, что важно для веществ, разлагающихся или окисляющихся при высоких температурах, в частности, для сохранения биологической активности белковых соединений исходного сырья. Применение ультразвуковой установки для получения водного экстракта прополиса позволяет проводить активную экстракцию ультразвуком на протяжении всего процесса, при этом создается возможность получать водный экстракт прополиса с любыми фракциями при разных температурах [9].

В экспериментах по ультразвуковой водной экстракции БАВ из элеутерококка было

установлено, что при использовании ультразвука из одного и того же количества сырья в раствор переходит в 2,45 раза больше экстрактивных веществ за время, в 6 раз меньшее.

Проведенные исследования по применению ультразвука для осветления спиртованного яблочного сока с использованием «оклеивающего» материала бентонита показали, что скорость осаждения взвешенных частиц повышается в 5–6 раз.

Вместе с тем, при ультразвуковой экстракции наблюдается повышенная мутность и очистка с помощью обычного процесса фильтрования через фильтр-картон вызывает трудности. Кроме того, установлено, что применение ультразвука более эффективно при обработке разбавленных более обычного суспензий, хотя для этого требуется достаточно сложное оборудование [10].

Были проведены эксперименты по гидролитическому разложению пухо-перьевых отходов в диапазоне от 20 °С до 80 °С при обычном давлении без ультразвуковых колебаний и при помещении заранее подготовленных образцов в зону действия источника ультразвука в виде лабораторной модели аппарата «Волна-М» (модель УЗТА-1/22-Орв), работающий с амплитудой 10–40 мкм, частотой $22 \pm 1,5$ кГц., интенсивностью до 2,0 Вт/см². Использовалась колебательная система в виде электроакустического преобразователя с потребляемой мощностью до 1 кВт. Излучающая поверхность в реакторе аппарата имела площадь $S = 11,3$ см², рабочее давление в реакторе $p = 1$ атм, мощность электроакустического преобразователя регулировалась в пределах от 300 до 500 Вт, а электроакустический КПД составлял $\eta_{\text{эа}} = 0,5$. Интенсивности ультразвука при его излучении в жидкость 2,0 Вт/см².

Такие ограничения были выбраны потому, что мы ориентировались на возможность практической реализации процесса в наиболее простых условиях, без применения оборудования типа автоклавов, а также применения оборудования из специальных коррозионно-устойчивых материалов.

Полученный в ходе эксперимента гидролизат кератина был использован в качестве структурообразователя. Такой вариант применения является новым, поскольку поиск аналогов биоразлагаемого структурообразователя не дал результатов. На сегодняшний день активно используются синтетические структурообразователи, которые могут оказать негативное воздействие на экологическую обстановку после своего разложения. Качество синтетических структурообразователей определяется процентным содержанием

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ КЕРАТИНА ПУТЕМ ГИДРОЛИЗА СЫРЬЯ В УЛЬТРАЗВУКОВОМ ПОЛЕ

водопрочных агрегатов в обработанном образце. Такой же вариант определения качества гидролизата кератина был выбран нами. Водопрочные агрегаты – неразмываемые водой частицы, находящиеся в структуре почвы.

Расчет содержания водопрочных агрегатов проводился по формуле.

$$BA (\%) = \frac{m_{BA}}{m_{исх}} \cdot 100\%,$$

где $m_{исх}$ – изначальная масса образца почвы, m_{BA} – масса высушенной обработанной почвы, оставшейся после растворения в воде, процеживания через сито с размером ячейки 0,25 мм и высушивании до постоянной влажности.

Ниже представлена таблица зависимости доли водопрочных агрегатов в обработанном полученным гидролизатом образце, от вида обработки пухо-перьевых отходов.

Таблица 1 – Влияние основных параметров на процесс гидролиза при получении β-кератина

Table 1 - Influence of the main parameters on the hydrolysis process when obtaining β-keratin

Вид обработки пухо-перьевых отходов	Доля водопрочных агрегатов (% мас)					
	5 % КОН		3 % КОН		1 % КОН	
	60°C	80°C	60°C	80°C	60°C	80°C
УЗ (22кГц; 1,0Вт/см ²)	48,6	60,5	74,6	80,3	10,1	14,5
Без УЗ	42,3	52,1	62,8	66,1	8,2	10,4

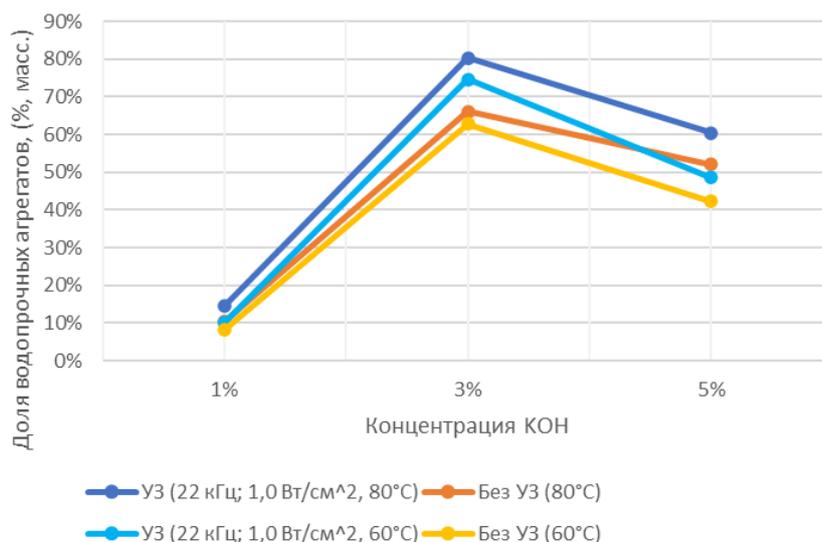


Рисунок 1 – Влияние параметров процесса гидролиза на свойства получаемого β-кератина

Figure 1 - The influence of the parameters of the hydrolysis process on the properties of the obtained β-keratin

На графике заметно, что не только температура и концентрация существенно влияют на конечный результат, но это воздействие существенно увеличивается при наличии УЗ, который частично разрушает структуру сырья за счет кавитации. Внешняя структура полученных таким способом кератиновых волокон практически не изменялась при температуре ниже 60 °С. Заметное набухание волокон, а также появление вязкостных свойств раствора наблюдалось по достижении 60 °С и выше. Раствор приобретал гелеобразную однородную структуру, что свидетельствует о разрушении поперечных связей между полипептидными цепями молекулы кератина и перехода

в линейную форму. Дальнейшее повышение температуры приводило к постепенному снижению вязкости раствора. Причиной этого явления может быть дальнейшее разрушение пептидных связей, приводящих к укорочению полипептидных цепей и снижению молекулярной массы полимера. Но поскольку нашей целью было сохранение оптимальной молекулярной массы полимера, то, как показали результаты эксперимента, повышение температуры свыше 80 °С не желательно, так как приводит к глубокой деградации белковой молекулы.

На глубину гидролиза так же существенное влияние оказывает концентрация щелочи.

Явные признаки разрушения структуры кератина наблюдаются при концентрации 1 %. Но скорость процесса при этом очень медленная. Мы изменяли концентрацию КОН в диапазоне от 1 % до 5 %. При концентрации 5 % при условии нагревания скорость сильно возросла, что затрудняло регулирование вязкости раствора, то есть контроль изменения молекулярной массы.

Таким образом, на основании полученных результатов можно определить оптимальные условия проведения гидролиза. Оценку структурообразующих свойств продукта производили по измерению количества водопрочных агрегатов, в таблице видно, что оптимальные результаты для пухо-перьевых отходов достигаются в условиях воздействия ультразвука при температуре 80 °С и концентрации КОН 3 %.

Нами предлагается простая конструкция экстрактора. Работает устройство следующим образом. Сырье и экстрагент через загрузочный патрубок 2 поступают в корпус 1 и, проходя через коаксиальный цилиндр 10, подвергаются обработке источником ультразвука 6. Лопастная мешалка 4 дополнительно дробит сырье, предварительно разрушенное кавитацией от ультразвука, после чего обеспечивает равномерное перемешивание смеси. Смесь, обогащенная мицеллами экстрагированного белка, поднимается к верхним слоям смеси, где попадает в рециркуляционную воронку 12, откуда по трубопроводу 7 перекачивается насосом 8 в накопительную емкость 9. Из накопительной емкости 9 через отборник проб 13 периодически производится отбор продукта для определения стадии процесса. На начальных стадиях процесса смесь из накопительной емкости 9 по трубопроводу 16 поступает в загрузочный патрубок 2 и проходит повторную обработку ультразвуком. Поток смеси, поступающий на повторную обработку через трубопровод 16, регулируется заслонкой 17, управляемой поплавковым регулятором 18. Когда анализ проб показывает удовлетворительный результат, открывается кран 15, и обогащенная смесь выгружается через патрубок 14. Твердые остатки кератинсодержащего сырья удаляются из корпуса 1 через сливной патрубок 3.

При получении экстрактов из сырья различного происхождения ультразвуковым экстрагированием нужно учитывать следующие общие условия:

- на эффективность и длительность процесса экстрагирования оказывает влияние дисперсность сырья, поэтому перед экстракцией сырье измельчают;
- высушенное сырье необходимо замо-

чить перед экстрагированием, процесс замачивания зависит от скорости вытеснения воздуха из клетки, удерживаемого до тех пор, пока не произойдет его растворение в экстрагенте;

- при применении ультразвука за счет звукокапиллярного эффекта ускоряется вытеснение пузырьков воздуха и создаются условия для их растворения в жидкости – время, необходимое для получения сырья нужной кондиции сокращается в десятки раз;
- при проведении экстрагирования необходимо обеспечить доступ экстрагента к каждой частице – это достигается перемешиванием во время обработки, а также уменьшением соотношения сырье / экстрагент;
- подогрев экстрагента в допустимых пределах интенсифицирует экстрагирование, однако не следует перегревать экстрагент, поскольку с увеличением температуры начинается интенсивное образование газовых пузырьков и интенсивность передачи ультразвуковой энергии падает.

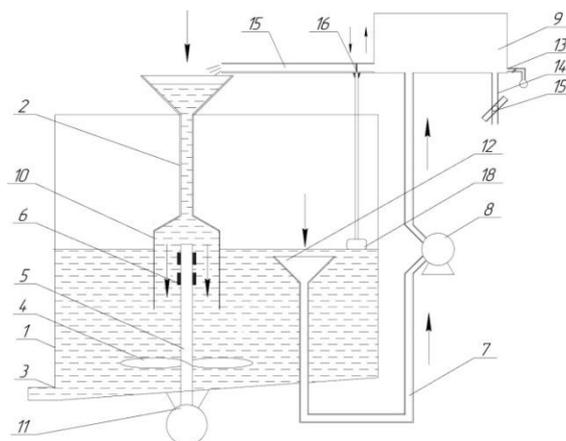


Рисунок 2 – Ультразвуковой экстрактор

Figure 2 - Ultrasonic extractor

Экспериментальные данные, полученные в ходе исследования, говорят о перспективности применения ультразвуковой обработки для гидролиза кератина из пухо-перьевых отходов птицеперерабатывающих предприятий. Ультразвуковой экстрактор, разработанный для осуществления процесса гидролиза кератинсодержащего сырья, может использоваться при технологической переработке отходов птицефабрик для получения побочного продукта производства, который можно применять в качестве кормовой добавки и органических удобрений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с «биологическими объектами» (ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии). М. : Изд-во РГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. 300 с.
2. Алексеев Г.В. Компьютерные технологии при проектировании и эксплуатации технологического оборудования : учеб. пособие. СПб. : Изд-во ГИОРД, 2012. 256 с.
3. Патент № 2055842. РФ. Способ выделения фикоцианина из клеток цианобактерий / Гордеев К.Ю. ; опубл. : 10.03.1996.
4. Патент № 2369410. РФ. МПК А61М1/36. Способ очистки биологической жидкости организма (крови) от вирусной инфекции путем сорбции на магнитоуправляемых наночастицах и устройство для его осуществления / Данилин А.Н., Загребин Л.В., Шестов С.С., Яновский Ю.Г. ; опубл. : 10.10.2009.
5. Патент № 2402923. РФ. МПК А23Л1/076. Способ получения водного экстракта прополиса / Г.И. Сержантов ; опубл.: 10.11.2010.
6. Заявка № 94017993/ 14(017613). РФ. Способ выделения липидов: / Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А. Решение о выдаче патента от 17.06.96.
7. Patent US № 7,300,566. Intern'l Class C10G 15/00. Conversion of petroleum resid to usable oils with ultrasound / Townsend and Townsend and Crew LLP Heines; M. Henry. March 17, 2004.
8. Patent US № 7,504,075. Intern'l Class B06B 1/00у Ultrasonic reactor and process for ultrasonic treatment of materials / Ladas & Parry LLP. December 11, 2003.
9. Patent US № 7,504,026. Intern'l Class B01D 33/70. Ultrasonic solution separation apparatus / Birch, Stewart, Kolasch & Birch, LLP. July 3, 2007.
10. Patent US № 7,501,094. Intern'l Class B01L 3/02. Preparation and characterization of formulations in a high throughput mode / Teoli Jr., William A. September 15, 2003.

Информация об авторах

Г. В. Алексеев – д.т.н., профессор факультета биотехнологий Национального исследовательского университета ИТМО.

К. О. Каршева – магистрант факультета биотехнологий Национального исследовательского университета ИТМО.

Р. О. Резниченко – магистрант факультета биотехнологий Национального исследовательского университета ИТМО.

В. А. Шанин – аспирант факультета биотехнологий Национального исследовательского университета ИТМО.

REFERENCES

1. Akopyan, V.B. & Ershov, Yu.A. (2005). *Fundamentals of the interaction of ultrasound with "biological objects" (ultrasound in medicine, veterinary medicine and experimental biology)*. Moscow : Publishing house of RGTU im. N.E. Bauman (in Russ).
2. Alekseev, G.V. (2012). *Computer technologies in the design and operation of technological equipment. Tutorial*. SPb.: Publishing house GIORД. (in Russ).
3. Gordeev, K.Yu. (1996). Method of isolating phycocyanin from cyanobacterial cells. *RF patent 2055842*, publ. 10.03.1996. (in Russ).
4. Danilin, A.N., Zagrebina, L.V., Shestov, S.S. & Yanovskiy, Yu.G. (2009). A method for purifying a biological fluid of an organism (blood) from a viral infection by sorption on magnetically controlled nanoparticles and a device for its implementation. *RF Patent No. 2369410. IPC A61M1 / 36*, publ. 10.10.2009. (in Russ).
5. Sergeantov, G.I. (2010). Method of obtaining an aqueous extract of propolis. *RF patent No. 2402923 IPC A23L1 / 076*, publ. 10.11.2010. (in Russ).
6. Kuchin, A.V., Karmanova, L.P. & Koroleva, A.A. (1996). Method of lipid isolation. *The decision to grant a patent of application No. 94017993/14 (017613)*, publ. 06/17/96. (in Russ).
7. Townsend and Townsend & Crew LLP Heines & M. Henry. (2004). Conversion of petroleum resid to usable oils with ultrasound. *Patent US No. 7,300,566. Intern'l Class C10G 15/00*, publ. March 17, 2004.
8. Ladas & Parry LLP (2003). Ultrasonic reactor and process for ultrasonic treatment of materials. *Patent US No. 7,504,075. Intern'l Class B06B 1*, publ. December 11, 2003.
9. Birch, Stewart, Kolasch & Birch, LLP (2007). Ultrasonic solution separation apparatus. *Patent US No. 7,504,026. Intern'l Class B01D 33/70*, publ. July 3, 2007.
10. Teoli, Jr. & William, A. (2003). Preparation and characterization of formulations in a high throughput mode. *Patent US No. 7,501,094. Intern'l Class B01L 3/02*, publ. September 15, 2003.

Information about the authors

G. V. Alekseev – Doctor of Technical Sciences, Professor of the Faculty of Biotechnology at the National Research University ITMO.

K. O. Karsheva – master's degree student at the Faculty of Biotechnology at the National Research University ITMO.

R. O. Reznichenko – Master's student at the Faculty of Biotechnology at the National Research University ITMO.

V. A. Shanin – postgraduate student at the Faculty of Biotechnology at the National Research University ITMO.

Статья поступила в редакцию 01.03.2021; одобрена после рецензирования 14.05.2021; принята к публикации 24.05.2021.

The article was submitted to the editorial board on 01 Mar 21; approved after review on 14 May 21; accepted for publication on 24 May 21.