



Биолог. журн. Армении, 1 (74), 2022

DOI:10.54503/0366-5119-2022.74.1-68

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ ИЗ БЕЛОКСОДЕРЖАЩИХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ

А.Е. АГАДЖАНИЯН, Ф.Н. ТХРУНИ, Г.Ж. ОГАНЕСЯН,  
К.И. ЕГИЯН, А.О. ЦАТУРЯН

НПЦ “Армбиотехнология” НАН Республики Армения,  
aghajanyanarmen@yahoo.com

Исследованы процессы комплексной переработки отхода белоксодержащего сырья. Определен аминокислотный состав полученного кислотного и щелочного гидролизата волос человека и показано, что технологически предпочтительно обработку волос осуществлять солянокислым гидролизом. Впервые показана возможность получения из кислотного гидролизата как смеси аминокислот, так и водорастворимого природного меланина.

Исследованы процесс очистки полученного меланина, его свойства и процесс перевода в водорастворимую форму.

Разработан доступный способ получения смеси белковых аминокислот из куколок тутового шелкопряда и определены оптимальные технологические параметры осуществления процесса.

*Белок – гидролиз – куколки – аминокислота – меланин – электродиализ – обессоливание*

Ուսումնասիրվել են սպիտակուց պարունակող հումքի թափոնների կոմպլեքսային մշակման պրոցեսները: Որոշվել է մարդու մազերի թթվային և հիմնային հիդրոլիզատների ամինաթթվային կազմը ու ցույց տրվել, որ տեխնոլոգիապես նախընտրելի է մազերի մշակումն իրականացնել աղաթթվային հիդրոլիզի եղանակով: Առաջին անգամ ցույց է տրվել թթվային հիդրոլիզատից ինչպես ամինաթթվային խառնուրդի, այնպես էլ ջրալուծ բնական մելանինի ստացման հնարավորությունը:

Զետագոտվել է ստացված մելանինի մաքրման ու նրա ջրալուծելի ձևի փոխարկման պրոցեսը:

Մշակվել է թթենու մետաքսի բոժոժներից սպիտակուցային ամինաթթուների խառնուրդի ստացման մատչելի եղանակ, որոշվել են գործընթացի իրականացման օպտիմալ տեխնոլոգիական ցուցանիշները:

*Սպիտակուց – հիդրոլիզ – ամինաթթուներ – մելանին – էլեկտրադիալիզ – աղազրկում – բոժոժներ*

The processes of complex treatment of wastes of protein-containing raw material have been studied. The amino acid composition of the obtained acidic and basic hydrolysate of human hair was determined and it was established that it is technologically more preferable to process hair with hydrochloric hydrolysate. For the first time the possibility to obtain both a mixture of amino acids and water-soluble natural melanin from acid hydrolysate was shown. The process of the obtained melanin purification, its properties and the process of its transformation into water-soluble form were studied.

An affordable method has been developed for obtaining a mixture of protein amino acids from pupae of a mulberry silkworm and the optimal technological parameters for the implementation of the process have been determined.

*Protein – hydrolysis – amino acid – melanin – electrodialysis – desalination – pupae*

Получение аминокислот из гидролизатов белоксодержащего сырья является традиционным способом, и в современных условиях соответствующий технологический подход используется как для получения некоторых аминокислот [12, 13], так и проведения исследований по усовершенствованию этой технологии [7, 17].

В работах [12, 13] представлены технологии получения смеси аминокислот методом кислотного гидролиза белкового сырья (кератинового или белков крови), из отходов мясоперерабатывающей промышленности с последующим последовательным выделением из смеси отдельных аминокислот и очисткой их до медицинской кондиции. Процесс гидролиза белкового сырья проводили при повышенной температуре ( $115^{\circ}\text{C}$ ) в течение 7-9 часов (дробленое сырье), и 18-20 часов (недробленое сырье), после чего нейтрализацию избытка кислоты осуществляли с помощью анионитов. Далее осветление гидролизатов осуществляли на слабоосновном анионите, а выделение аминокислот из осветленного гидролизата проводили ионообменной сорбцией с последующим вакуум упариванием элюата, кристаллизацией и перекристаллизацией.

В разработанной технологии есть ряд недостатков. Во-первых, для нейтрализации избытка кислоты из гидролизата используется анионит, для регенерации которого расходуется избыток щелочи. В результате этого, в производстве накапливаются солевые стоки, утилизация которых осложняет технологический процесс. Так как в полученном гидролизате содержание некоторых аминокислот относительно мало, то для получения инфузионных растворов целесообразно из него выделять не индивидуальные аминокислоты, а смеси аминокислот с последующей комплектацией этой смеси недостающими аминокислотами. При таком подходе одновременно значительно снизится и расход химикатов и объем образующихся солевых стоков. Из гидролизатов кератинового сырья перспективно получать серосодержащие аминокислоты (цистин, цистеин), так как альтернативный путь их получения практически отсутствует.

Способ получения аминокислотной смеси из белкового гидролизата также изложен в работе [18]. В предложенном способе вначале проводят обесцвечивание кислотного гидролизата пропусканием гидролизата через ионсорбент ИА-1р в СГ-форме, а затем из обесцвеченного раствора сорбцию аминокислотной смеси осуществляют на сульфокатионите КУ-2х8 в  $\text{H}^{+}$ -форме. Со смолы сорбированные аминокислоты элюируют аммиачным раствором. Из аммиачного элюата смесь аминокислот получают вакуум упариванием и высушиванием.

Получение смеси аминокислот из автолизата дрожжей изложены в работах [8, 16].

Получение смеси аминокислот по этому способу имеет некоторые недостатки. Во-первых, после ферментативного гидролиза биомассы дрожжей в растворе, в отличие от кислотного гидролизата, помимо свободных аминокислот остаются негидролизированные пептиды и нуклеиновые кислоты, наличие которых отрицательно влияет на нормальную жизнедеятельность организма.

В работах [9, 10] предложен способ утилизации отходов, содержащих животные белки путем смешивания отходов, воды и щелочи в соотношении 1: (1,8-2,0): (0,09-0,46). Приготовленную смесь подвергают термической обработке при температуре  $120-180^{\circ}\text{C}$  в течение 25-90 мин с получением гидролизата. Полученный продукт - щелочной раствор натриевых или калиевых солей смеси аминокислот используется для детоксикации осадков очистных сооружений.

Способ получения белкового гидролизата путем термической обработки недубленых коллагенсодержащих отходов кожевенного и мехового производства в присутствии водного раствора гидроксида натрия представлен в работе [6]. Во время гидролиза гидроксида натрия берут в количестве 3-5 % от массы отходов, при жидкостном коэффициенте равном 1, а обработку ведут в течение 2-3 ч при

температуре 90-110<sup>0</sup>С. Полученный продукт предусматривается применять в подготовительных процессах кожевенного и мехового производства.

Исследования показали, что при проведении щелочного гидролиза белоксодержащего сырья при высоких температурах (120-180<sup>0</sup>С) происходит дезаминирование образующихся аминокислот и пептидов с выделением аммиака и образованием в качестве примесей различных карбоновых кислот. Кроме того, высокая температура приводит к деструкции отдельных аминокислот, например: цистеина, цистина, серина, треонина [11]. Поэтому щелочной гидролиз волос проводили при сравнительно низкой температуре раствора (95-97<sup>0</sup>С).

Целью предлагаемой работы являлась разработка малоотходной технологии комплексной переработки белоксодержащего сырья для получения аминокислотной смеси медицинского назначения и природного водорастворимого меланина.

**Материал и методика.** Эксперименты по гидролизу волос проводили в круглодонной колбе, снабженной мешалкой, обратным холодильником и термометром, который был помещен в термостат.

Исследования показали, что оптимальным условием кислотного гидролиза белоксодержащего сырья (волос человека) является использование 6 N раствора соляной кислоты, при соотношении твердой фазы к жидкой (т:ж) 1:6 в течение 5 часов, при температуре раствора равной 95-97<sup>0</sup>С.

Щелочной гидролиз волос проводили с использованием 2 н раствора едкого натрия при соотношении т:ж 1:3, при температуре 95-97<sup>0</sup>С в течение 6 часов.

**Способы обессоливания кислотного и щелочного гидролизата** [2, 5].

Опыты по обессоливанию кислотного и щелочного гидролизатов волос и разделение аминокислот из гидролизатов по основности проводили в изготовленном нами прямоточном циркуляционном электродиализном аппарате с межмембранным расстоянием 3 мм. Камеры электродиализатора были разделены катионообменными мембранами МК-40 и анионообменными мембранами МА-40 (Россия). Рабочая площадь мембран составляла 46,4 см<sup>2</sup>. Объем циркулируемых растворов составлял 500 см<sup>3</sup>, линейная скорость потока жидкости через камеры 6,5 см/сек. Скорость подачи жидкости регулировали перистальтическими насосами типа "Masterflex" (США).

**Способы обессоливания гидролизата куколок** [ 4 ].

Обессоливание обезжиренного гидролизата куколок тутового шелкопряда проводили ионообменным способом с использованием сульфокатионита КУ-2х8 в NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - форме, а обезжиривание и обесцвечивание смеси активированным бентонитом и углем взятых в соотношении 1:1.

**Способы определения концентрации меланина** [1, 3].

Концентрацию меланина определяли измерением оптической плотности (ОП) раствора при 315 нм и сравнением полученной величины со значением ОП стандартного раствора синтетического меланина фирмы Sigma.

**Способы определения концентрации неспаренных электронов в молекуле меланина и снятия ИК-спектры** [3].

Спектры ЭПР регистрировали при 20<sup>0</sup>С на спектрометре типа SE/X-2543 ("Radiopan", Польша) с высокочастотной модуляцией 100 кГц на частоте 9,4 ГГц.

ИК-спектры снимали на спектрометре Nexus Nicolet FT-IR ("Thermo Nicolet", США) с призмой из ZnSe (4000-650 см<sup>-1</sup>) с однократным отражением, число сканирований 32, разрешение 4 см<sup>-1</sup>.

Содержание аминокислот в растворе определяли методом тонкослойной хроматографии и на аминокислотном анализаторе "ААА-339" (Республика Чехия).

Представленные в работе данные являются средними значениями не менее трех измерений в каждой точке. Средние отклонения представлены в таблицах.

**Результаты и обсуждение.** *Получение аминокислот и меланина из волос человека кислотным гидролизом.*

Исследования показали, что для снижения расхода щелочи при доведении рН кислотного гидролизата до 6,0-6,2 избыток соляной кислоты из него предпоч-

тительно отгонять с помощью вакуум выпаривания при температуре 68-75<sup>0</sup>С и остаточном давлении 0,01 МПа.

После отгонки избытка соляной кислоты, для снижения солевого состава упаренного до СВ= 60-65 % гидролизата, рН аминокислотного раствора с помощью насыщенного раствора едкого натра доводили до 3,0, и подтитрованный раствор при 18<sup>0</sup>С выдерживали 10 часов. При этом из раствора выпадает осадок хлорида натрия, который из раствора отделяли фильтрацией. Осадок отжимали на фильтре и промывали охлажденной водой в количестве 0,5 объема от объема осадка. Солевой состав упаренного гидролизата составлял 6,45 г-экв/л, а раствора после отделения выпавшей соли - 3,48 г-экв/л.

Установлено, что в выделенном осадке хлорида натрия обнаружены лишь две аминокислоты в суммарном количестве 0,05 % от веса осадка.

Исследования показали, что в выбранном режиме при кислотном гидролизе нерастворенное количество волос составляет 2,1 % от массы исходного сырья, который имеет темно-коричневый цвет. Из полученного нерастворенного осадка выделение меланина проводили его растворением в щелочном растворе и осаждением соляной кислотой (рН=1,5-2,0). Для освобождения от сопутствующих примесей процесс растворения и осаждения меланина проводили два раза. Осадок меланина на фильтре промывали органическими растворителями. В результате этого получили нерастворимую в воде темно-коричневую аморфную массу с металлическим блеском. Выход меланина составлял 0,7 % от массы исходных волос [2]. В щелочном растворе волосы полностью растворяются.

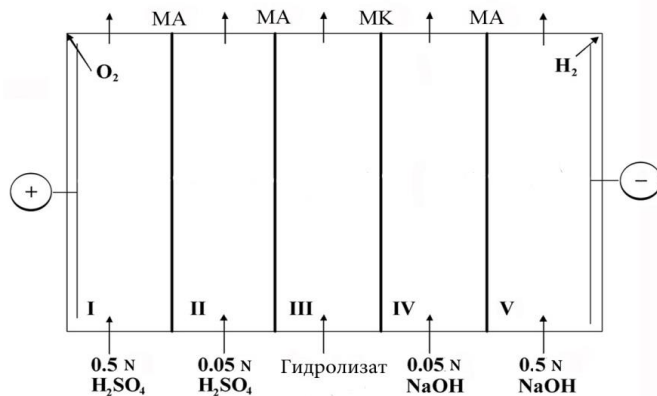
Таким образом, с помощью вакуум упарки и нейтрализации раствора до рН 3,0, без образования кислотных стоков и с меньшими потерями целевого продукта несложным технологическим подходом удастся примерно на 50% снизить минерализованность кислотного гидролизата. Отогнанная соляная кислота возвращается на стадию гидролиза белоксодержащего отхода.

Далее для освобождения от окрашенных компонентов упаренный раствор два раза разбавляли водой, подвергали обесцвечиванию обработкой активированным углем при 60 <sup>0</sup>С в течение одного часа. Расход угля составлял 2,0 % от массы аминокислотного раствора. Уголь от раствора отделяли фильтрацией с последующей промывкой горячей водой (65-70 <sup>0</sup>С). Промывные воды присоединяли к основному раствору. С целью очистки от высокомолекулярных компонентов, обесцвеченный раствор подвергали ультрафильтрации, пропуская раствор через капроновую мембрану с диаметром пор 0,01 микрон. В полученном пермеате суммарное количество минеральных ионов составляло 1,02 г-экв/л, которое примерно в 2,3 раза меньше, чем в пермеате, полученном без отгонки свободной соляной кислоты из исходного гидролизата. В полученном пермеате суммарное количество аминокислот составляет 2,48 моль/л (табл. 1).

**Таблица. 1.** Аминокислотный состав пермеата

Аминокислота	Концентрация, ммоль/л	Аминокислота	Концентрация, ммоль/л
Аспарагиновая к-та	200 ± 20	Валин	102 ± 13,4
Глутаминовая	330 ± 32	Метионин	14 ± 1,3
Фенилаланин	27 ± 2,3	Цистин	17 ± 1,9
Серин	420 ± 41	Лейцин	51 ± 5,5
Гистидин	26 ± 3,1	Изолейцин	30 ± 3,2
Глицин	230 ± 2,5	Лизин	65 ± 6,8
Аргинин	205 ± 22	Тирозин	15 ± 1,4
Треонин	220 ± 23,4	Пролин	285 ± 31
Аланин	230 ± 21,5		

Для обессоливания полученного пермеата и разделения аминокислот по основности раствор аминокислот пропускали через пятикамерный электродиализатор. В электродиализаторе распределение ионообменных мембран между камерами и циркулируемых через камеры растворов представлены на рис 1.



**Рис.1.** Схема расположения мембран и движения растворов в пятикамерном электродиализаторе.

I - V камеры; МА и МК – типы мембран соответственно МА-40 и МК-40.

Плотность тока в процессе обессоливания составляла  $32 \text{ mA/cm}^2$ .

Так как в зависимости от величины pH, аминокислоты в растворе могут находиться как в катионной и цвиттерионной форме, так и анионной, то при электро-мембранном способе обессоливания растворов, аминокислоты можно разделять по основности.

В процессе обессоливания электродиализным способом нейтральные аминокислоты в цвиттер-ионной форме остаются в дилуатной камере, а основные аминокислоты (лизин, аргинин, гистидин) через катионообменную мембрану под действием электрического тока вместе с минеральными ионами из дилуатной камеры переходят в соседнюю концентрационную (IV) камеру.

Кислые аминокислоты (глутаминовая и аспарагиновая кислоты) в этом процессе вместе с неорганическими анионами через анионообменную мембрану МА-40 переходят в следующую (II) концентрационную камеру.

Исследования показали, что при 97 % обессоливания пермеата в дилуатной камере остается всего 5-7 % от основных аминокислот, присутствующих в исходном пермеате. Количество оставшихся в дилуатной камере кислых аминокислот после обессоливания составляло 17-20 % от их исходного количества. Это обусловлено тем, что в процессе обессоливания pH раствора в дилуатной камере снижается до 4,05, вследствие диффузии протонов из анодной камеры в дилуатную, что приводит к частичному переходу кислых аминокислот из анионной формы в цвиттерионную.

Удельный расход электроэнергии для переноса ионов через мембраны в процессе обессоливания пермеата обесцвеченного кислотного гидролизата и разделения аминокислот по основности составлял  $0,3 \text{ A} \cdot \text{ч} \cdot \text{кг}^{-1}$ , а выход по току - 89,6 %.

Таким образом, электродиализным способом удастся минимальными расходами химических веществ и с малыми энергетическими затратами осуществлять как обессоливание обесцвеченного гидролизата белкового сырья, так и разделение аминокислот по основности.

Из раствора дилуатной камеры вакуум упариванием до содержания СВ в растворе 48-55 % и двухступенчатой изогидрической кристаллизацией удалось выделять смесь нейтральных аминокислот, которую после докомплектации отсут-

ствующими аминокислотами можно использовать для приготовления инфузионных растворов медицинского назначения.

Извлечение диффундировавших в концентрационную камеру основных аминокислот можно осуществлять с помощью ионообменной хроматографии. Так как при  $\text{pH}=1,0-1,2$  основные аминокислоты в растворе находятся в двухзарядной форме, а сопутствующие им неорганические ионы и нейтральные аминокислоты в основном в однозарядной форме, то с помощью ионообменной сорбции на сульфокатионите в  $\text{NH}_4^+$  - форме основные аминокислоты отделяли от монозарядных ионов. После водной промывки смолы сорбированные на ионите основные аминокислоты элюировали 4 %-ным раствором аммиака. Из аммиачного элюата выделение основных аминокислот осуществляли вакуум упариванием и изогидрической кристаллизацией.

Выделение кислых аминокислот из раствора другой концентрационной камеры проводили снижением  $\text{pH}$  раствора до изоэлектрической точки этих аминокислот ( $\text{pH}=2,9-3,1$ ), вакуум упариванием и кристаллизацией. При необходимости выделенные смеси кислых и основных аминокислот подвергали перекристаллизации из водно-спиртовой смеси.

Для сравнения процесса кислотного гидролиза с щелочным проводили щелочной гидролиз волос человека по вышеуказанному режиму.

После окончания процесса гидролиза  $\text{pH}$  гидролизата снижали до 2,0 и образовавшийся темно-коричневый осадок меланина от раствора отделяли фильтрацией. Далее для очистки от примесей органического характера осадок меланина обрабатывали концентрированной соляной кислотой при соотношении т:ж 1:1 и температуре  $80^\circ\text{C}$  в течение 1 часа. Во избежание процессов окисления кислотную обработку осадка меланина проводили в присутствии сульфита натрия [13]. Для перевода отфильтрованного и промытого водой и органическими растворителями (ксилол, ацетон) осадка ДОФА-меланина в водорастворимую форму его растворяли в аммиачной воде и подвергали вакуум упариванию до образования аморфного осадка.

Перевод меланина в водорастворимую форму повышает возможность его применения в сельском хозяйстве и в медицине.

Количество полученного меланина составляло 1,1 % от массы исходных волос, а содержание основного вещества в нем - 96 %.

Исследования показали, что для освобождения от сопутствующих примесей предпочтительно до гидролиза исходное сырье обработать 1,5 N раствором соляной кислоты в соотношении т:ж 1:2 при  $80-85^\circ\text{C}$ .

Изучены некоторые физико-химические свойства меланинов, полученных из волос. В частности, ИК-спектры полученного образца меланина по основным областям колебания совпадают с синтетическим и полученным микробным синтезом меланинами, приведенные в работах [1,3]. Образцы полученных меланинов дают также приведенные в литературе [15] характерные для меланинов качественные реакции.

Особенностью меланинов, как природных полимеров, содержащих развитые системы сопряженных связей, является наличие неспаренных электронов. ЭПР-спектры полученного меланина, так же как и спектры синтетического и микробного меланинов имеют вид слегка асимметричного синглетного сигнала без сверхтонкой структуры [3, 15]. Содержание парамагнитного центра в нем равно  $0,19 \times 10^{18}$  спин/г.

Полученные препараты меланина были испытаны в области сельского хозяйства в качестве биостимулятора роста растений и получены обнадеживающие результаты.

### Получения аминокислот и меланина из волос человека щелочным гидролизом.

Недостатком получения аминокислотной смеси и меланина из белоксодержащего сырья с помощью щелочного гидролиза является то, что в щелочной среде происходит частичное разрушение аминокислот, особенно серосодержащих, и кроме этого выделенный аморфный осадок меланина содержит серу и нерасщепленные пептиды. Поэтому, для освобождения от указанных примесей, полученный осадок меланина обрабатывали различными органическими растворителями и концентрированной соляной кислотой.

После извлечения меланина из щелочного гидролизата, для выделения аминокислотной смеси, раствор подвергался обесцвечиванию контактированием с активированным углем при 55-60 °С в течение 2 часов. Расход угля составлял 1,0-1,5 % от массы раствора. В обесцвеченном растворе суммарное количество аминокислот составляло 1,38 мол/л, а солевой состав аминокислотного раствора - 0,6 г-экв/л. Содержание аминокислот в щелочном гидролизате представлено в табл. 2.

Таблица. 2. Аминокислотный состав щелочного гидролизата

Аминокислота	Концентрация, ммоль/л	Аминокислота	Концентрация, ммоль/л
Аспарагиновая к-та	88 ± 10,1	Валин	60,5 ± 7,1
Глутаминовая	215 ± 23	Метионин	7,8 ± 0,8
Фенилаланин	15,4 ± 1,7	Цистин	6,3 ± 0,8
Серин	210 ± 23,4	Лейцин	24,2 ± 3,1
Гистидин	14,3 ± 1,6	Изолейцин	20,1 ± 2,2
Глицин	153 ± 17,2	Лизин	34,2 ± 3,9
Аргинин	130 ± 14,1	Тирозин	10,1 ± 1,1
Треонин	103 ± 9,8	Пролин	145,1 ± 15,6
Аланин	143 ± 15,3		

Электромембранный способ обессоливания щелочного гидролизата и разделение аминокислот по основности проводили аналогично кислотному гидролизату.

Исследования показали, что для получения аминокислот из волос человека перспективным является его кислотный гидролиз, так как при щелочном гидролизе количество аминокислот в гидролизате примерно в 1,8 раз меньше по сравнению с кислотным.

Так как по составу кислотный гидролизат волос человека существенно не отличается от кислотного гидролизата волос животных, то разработанный технологический подход обработки гидролизата человеческих волос можно применять для гидролизатов волос животных.

Таким образом, с помощью использования комбинированного способа (электродиализ, ионный обмен, ультрафильтрация, кристаллизация и перекристаллизация) удалось из белоксодержащего сырья сравнительно меньшим расходом электрической энергии, химических веществ и меньшим количеством образовавшихся жидких отходов получить смеси как нейтральных, так и основных и кислых аминокислот, которые после комплектации недостающими аминокислотами можно использовать для приготовления инфузионных растворов.

Исследования показали, что по разработанной технологии из волос человека можно получить как смеси белковых аминокислот, так и водорастворимого ДОФА-меланин, который можно использовать в медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

### **Получение смеси аминокислот из животного сырья.**

При переработке коконов тутового шелкопряда для получения шелковой нити, образуется большое количество отходов (куколок), которые и служили сырьем для получения белковых аминокислот, не содержащих пептиды.

Наиболее близким к разработанному способу по характеру использованного сырья является способ получения кормового белкового препарата из кератинового и другого белоксодержащего сырья путем солянокислого гидролиза с последующим контактированием кислого гидролизата с активированным углем [12, 13].

Для полного обесцвечивания кератинового гидролизата и снятия специфического запаха расходуется большое количество активированного угля, который становится отходом производства. Кроме того, активированный уголь плохо поглощает жиры и является дорогим адсорбентом.

Целью разработанного способа является устранение вышеперечисленных недостатков при получении смеси аминокислот из белоксодержащего сырья различного происхождения.

Указанная цель достигается тем, что после завершения процесса солянокислотного гидролиза куколок по вышеуказанному режиму, реакционную массу охлаждают до 16-20<sup>0</sup>С и фильтруют через кислотностойкую плотную ткань. При этом раствор очищается от негидролизованного исходного сырья и от части жира. Далее для удаления избытка свободной соляной кислоты фильтрат подвергается вакуум упариванию до содержания СВ=40-45 %. Затем для освобождения от оставшегося жира и от части окрашенных компонентов, упаренный раствор контактируется с активированным бентонитом при 60-65<sup>0</sup>С в течение 60 мин. Применение активированного бентонита обусловлено тем, что оно по сравнению с другими минеральными адсорбентами обладает высокой адсорбционной способностью, хорошо поглощает жиры, полисахариды, пигменты и недорогой. Кроме того отработанный бентонит можно использовать как составную часть корма для животных.

В случае проведения процесса ионообменного метода обессоливания гидролизата без обезжиривания присутствующие в растворе жиры обволакивают по верхность смолы и ухудшаются ее физико-химические свойства. Обессоливание обезжиренного гидролизата проводили путем пропускания раствора через катионит КУ-2х8 в NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- форме. Принцип предлагаемого способа обессоливания основан на том, что не изменяя pH гидролизата присутствующие в растворе аминокислоты (как основные, так и кислые и нейтральные) сорбируются на смоле, а ионы минеральных солей (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> и т.д.) и основное количество примесей неаминокислотного характера (окрашенные компоненты, полисахариды и т.д.) переходят во внешний раствор. Далее после отмывки смолы водой до pH выходящей колонны жидкости равной 3,5-4,0, сорбированные аминокислоты с фазы смолы элюируются 4,0 % -ным раствором аммиака. Для отгонки свободного аммиака и концентрирования раствора собранный элюат подвергается вакуум упариванию до СВ раствора равной 20-25 %. Затем pH раствора соляной кислотой доводят до 5,0-6,0 и подтитрованный раствор подвергается обесцвечиванию контактированием раствора при 60-65 °С со смесью активированного бентонита и угля взятых в соотношении 1:1. Расход обесцвечивающего компонента составляет 2,5-3,0 % от веса раствора. Малый расход обесцвечивающей смеси по сравнению с углем, обусловлен тем, что основное количество окрашенных компонентов от целевого продукта отделяется на стадии обезжиривания и обессоливания.

Осветленный раствор подвергается вакуум упариванию до СВ раствора равной 55-60 % (до появления первых кристаллов в растворе) и двухступенчатой кристаллизацией из раствора выделяются кристаллы смеси аминокислот.



Первые и вторые порции кристаллов объединяются и подвергаются вакуум высушиванию, а маточный раствор подвергается катионообменному обессоливанию и смешивается со свежим обезжиренным исходным раствором последующего процесса.

Для получения препарата кормовых целей упаренный до СВ = 25-30 % и подтитрованный до pH 5,0-6,0 аммиачный элюат подвергается распылительной сушке при температуре входящего воздуха 200-210<sup>0</sup>С и выходящего 85-90<sup>0</sup>С.

Выбор соотношения бентонита и угля в обесцвечивающем компоненте (1:1) обусловлен тем, что при снижении количества угля в этом соотношении наблюдается ухудшение показателей обесцвечивания раствора, а увеличение количества угля в этом соотношении приводит к ухудшению процесса обезжиривания и удорожению процесса.

Использование разработанного способа получения смеси аминокислот из различного белоксодержащего сырья позволит значительно снизить себестоимость полученного продукта, так как активированный бентонит по сравнению с углем более дешевый продукт, а использование катионита в NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - форме на стадии обессоливания исключает регенерацию смолы в последующем цикле.

Технологический процесс получения смеси аминокислот из тутового шелкопряда иллюстрируется следующим примером.

Солянокислый гидролиз белкового сырья (куколок тутового шелкопряда) ведут путем добавления к 750 г куколок 3,75 л воды и столько же концентрированной соляной кислоты и выдержкой реакционной массы при давлении 2 ати в течение 6-7 часов. В результате гидролиза получают 7,2 л гидролизата коричневого цвета с СВ= 12,5%. Полученную горячую массу охлаждают до 18<sup>0</sup>С и отфильтровывают через кислотостойкую плотную ткань. Осадок промывают водой и промывные воды присоединяют к основному раствору. Для отгонки свободной соляной кислоты объединенный раствор (V= 8,5 л) подвергается вакуум упариванию при 68-75<sup>0</sup>С и остаточном давлении 0,015 МПа до объема раствора 2,3 л. К отогнанной массе добавляют 1,5 л воды и разбавленный раствор в статических условиях при 65-68<sup>0</sup>С в течение 60 мин контактируют с 70 г активированного бентонита. Твердую фазу от раствора отделяют фильтрацией. Осадок на фильтре промывают водой до СВ фильтрата равной ~ 0,5%. Промывные воды объединяют с основным раствором, а отмытый отработанный бентонит используется в производстве корма для животных.

Обессоливание обезжиренного раствора (V= 5,0 л, СВ= 18,7%) осуществляется путем пропускания раствора через сульфокатионит КУ-2х8 в NH<sub>4</sub><sup>+</sup> форме в направлении снизу вверх со скоростью 0,5 об/об смолы в час. Объем смолы в колонке составляет 2,5 л. После завершения подачи раствора смола промывается водой до СВ выходящей с колонны жидкости равной ~ нулю и pH=3,0- 3,2. Сорбированные аминокислоты со смолы элюируют 4,0 %-ным раствором аммиака. Сбор элюата начинается при значениях СВ выходящей с колонны жидкости равной 1,5 % и заканчивается при тех же пороговых значениях СВ раствора.

Отгонка свободного аммиака из “богатого” аминокислотами элюата осуществляется вакуум упариванием раствора до СВ=18-20%. Затем pH отогнанного элюата с помощью соляной кислоты доводят до 5,0-6,0, и очистка раствора от остаточных окрашенных компонентов, жира и запаха осуществляется контактированием раствора (V= 0,95 л) с 30 г смеси активированного бентонита и угля взятых в соотношении 1:1. Твердую фазу из раствора отделяют фильтрацией. Промытую твердую фазу смешивают с отработанной твердой фазой со стадии обезжиривания и используют в производстве корма для животных, а фильтрат подвергается вакуум упариванию до СВ раствора 63-67 % (до появления кристаллов в растворе). Суспензия кристаллов переводится в кристаллизатор, и перемешиванием масса охлаждается до 8-10<sup>0</sup>С и выдерживается при этой температуре в

течение 4-5 часов. Выпавшие кристаллы из раствора отеляются фильтрацией. Маточный раствор вновь упаривается и из него аналогично первой ступени кристаллизации выделяются вторые порции кристаллов смеси аминокислот [19].

Выделенные первые и вторые порции кристаллов объединяют и подвергают вакуум высушиванию, а маточный раствор обессоливается аналогично вышеуказанному способу.

Обессоленный маточный раствор смешивается с исходным обессоленным раствором последующего опыта и из него упариванием и кристаллизацией получают кристаллы смеси аминокислот, которые смешиваются с кристаллами предыдущего опыта и подвергаются вакуум высушиванию. Выход кристаллов смеси белковых аминокислот от веса исходного сырья составляет 23,8 %.

Опыты показали, что упаренной до СВ равной 21-23% обессоленного, обесцвеченного и подтитрованного до pH равной 5,0-6,0 аммиачного элюата смеси аминокислот можно выделять путем распылительной сушки при температуре входящего воздуха 200-210<sup>0</sup>С и выходящего 78-85<sup>0</sup>С. Выход целевого продукта, от веса исходного сырья составляет 35 %.

Качество полученных продуктов приведено в табл. 3.

**Таблица. 3.** Характеристики полученных продуктов

Наименование показателей	Название полученных веществ		
	Смесь аминокислот полученная кристаллизацией	Смесь аминокислот полученная распылительной сушкой	Смесь аминокислот полученная без обесцвечивания, распылением
Внешний вид	Белый порошок	Белый или желтый	Светло-коричневого цвета
Растворимость	Хорошо растворяется	Хорошо растворяется	Хорошо растворяется
pH 10% р-ра	6,0-7,5	6,0-7,5	6,0-7,5
Содержание общего азота, %	12,8 ± 1,5	13,2 ± 1,6	13,1 ± 1,4
Содержание аминного азота, %	10,8 ± 1,2	10,7 ± 1,3	10,5 ± 1,3
Содержание иона аммония, %	0,06 ± 0,003	0,08 ± 0,004	0,1 ± 0,003
Содержание тяжелых металлов, %	0,0001	0,0002	0,0002

Исследования показали, что в зависимости от природы применяемых белоксодержащих отходов, получение из них смеси белковых аминокислот необходимо осуществлять различными технологическими подходами.

Разработанная технология получения смеси белковых аминокислот из животного сырья запатентована в Республике Армения [19] и апробирована в лабораториях Армении и Китая.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Е. Хроматографическая очистка водорастворимого меланина из ферментационного раствора и изучение некоторых его свойств. Биотехнология, N 1, сс. 36-42, 2006.
2. Агаджанян А.Е., Оганисян Г.Ж., Вардамян А.А., Егиян К.И. Получение аминокислот в результате комплексной переработки белоксодержащего сырья. Биотехнология, N 3, сс. 55-62, 2014.

3. Aghajanyan A.E., Hambardzumyan A.S., Hovsepyan R.A., Asaturian A.A., Vardanyan A.A., Saghiyan A.S. Isolation and Purification of Water-Soluble Bacillus thuringiensis Melanin and its Physicochemical Characterization. *Pigment Cell Res.*, 18, pp. 130-135, 2005.
4. Агаджанян А.Е., Оганесян Г.Ж., Егиян К.И., Сагиян А.С. Исследование сорбционного процесса выделения смеси аминокислот из ферментационного раствора L-пролина. *Хим. жур. Армении*, 54, 3-4, с. 112-124, 2001.
5. Aghajanyan Armen, Saribekyan Zhaklina, Saghyan Ashot. Development of the efficient technology for isolating proline from culture liquid. *Separation Science and Technology*, 54, Feb., pp. 1-8, 2019.
6. Букетова Т.С., Шалбуев Д.В. Способ получения белкового гидролизата / Патент РФ N 2375385C1, C08H 1/06, 2009.
7. Grib H., Bonnal L., Sandeaux J., Gavach C. Extraction of amphoteric amino acid by an electromembrane process. pH and electrical state control by electrodialysis with bipolar membranes. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 73, pp. 64-90, 1998.
8. Joch, Elrbieta M., Serefko Anna, Ziaja Maria, Kieliszek Marek. Yeast protein asan Easily Accessible Food Source Metabolites, 2022,12,63. <https://doi.org/10.3390/meabo120100630>.
9. Жерноклеев И.А., Нефедов Б.К., Горлов Е.Г., Короткова М.Э., Антонов А.Е. Способ получения реагента для детоксикации осадков очистных сооружений и способ детоксикации осадков очистных сооружений/ Патент РФ N 2282642, C08H1/06, C07C 227/28, 2006.
10. Жерноклеев И.А., Нефедов Б.К., Горлов Е.Г., Короткова М.Э., Антонов А.Е. Способ утилизации отходов, содержащих животные белки, и устройство для его осуществления / Патент РФ N 2291164, C08 1/06, C07K1/12. 2007.
11. Ленинджер А. Биохимия. М., Мир, 106 -110 с, 1974.
12. Мулярчук М.Д., Портнова М.С., Радовец Л.В., Плиско Е.Г., Камалян М.Г., Поливаний П.Х. Способ получения белкового гидролизата из кератинсодержащего сырья /АС СССР N 556776, А 23J 1/10, 1977.
13. Никифоров И.В., Литовченко Л.Б., Погорелая Л.Б. Ионообменная технология фракционирования белковых гидролизатов. Теория и практика сорбционных процессов, вып. 18, с. 111-112, 1986.
14. Поляков В.С., Ермилов В.В. Способ переработки белоксодержащих материалов в смеси природных аминокислот, низкомолекулярных пептидов и олигопептидов / Patent Family Members WO 2012087177 A1, Russian, C08H, 2012,
15. Prota G. Melanins and Melanogenesis. N.-Y. Acad. Press, 215-228p, 1992.
16. Renato Alberto, Norres Inca-, Anabell Urbina Salazar, et al. Obtaining Protein Hydrolyzates By-products of Agaricus Bisprus. ESPOCH Congresses: The Ecuadoria Journal of S.T.E.A.M. /volum 1, Issue 2, p. 969-980, Aug 29, 2021.
17. Sandeaux J., Sandeaux R., Gavach C., Grib H. Extraction of amino acids from protein hydrolysates by electrodialysis. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 71, pp. 267-273, 1998.
18. Тер-Саркисян Э.М., Кисель Н.Н. Способ получения аминокислотной смеси и белкового гидролизата // [https://edrid.ru.>219.016\\_bef1.html](https://edrid.ru.>219.016_bef1.html), 20 феврал., 2019.
19. Աղաջանյան Ա., Չուրաբյան Ա., Տիրումի Ֆ. Սպիտակուց պարունակող հունքից ամփնաթթվային խառնուրդի ստացման եղանակ, ՀՀ Արտոնագիր N 539 A2, C12 D 13/06, 1999.

Поступила 16.11.2021