



УКРАЇНА

(19) UA (11) 78066 (13) C2  
(51) МПК (2006)  
C11B 3/00  
C11B 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ РОСЛИННИХ СТЕРОЛІВ І ТОКОФЕРОЛІВ З ДЕЗОДОРОВАНИХ ДИСТИЛЯТІВ

1

(21) а200500511  
(22) 02.07.2002  
(24) 15.02.2007  
(86) РСТ/HU2002/000062, 02.07.2002  
(31) Р 0202024  
(32) 19.06.2002  
(33) HU  
(46) 15.02.2007, Бюл. № 2, 2007 р.  
(72) Суппон Тібор, HU, Кемені Жолт, HU, Кьоварі Ендрене, HU, Речег Каталін, HU  
(73) БУНГЕ РТ., HU  
(56) US, 5512691, А, 30.04.1996  
US, 5703252, А, 30.12.1997  
US, 3153055, А, 13.10.1964  
US, 5424457, А, 13.06.1995  
(57) 1. Спосіб виділення рослинних стеролів і токоферолів з дезодорованих дистилятів, що утворюються в процесі хімічної чи фізичної рафінації рослинних олій шляхом дистиляції чи омилення присутніх компонентів, який **відрізняється** тим, що:  
1) вільні жирні кислоти видаляють з дезодорованого дистиляту вакуумною перегонкою чи безупинним омиленням у середовищі розчинника,  
2) після видалення вільних жирних кислот отримана сировина, основними компонентами якої є стероли, токофероли, вуглеводні, моно-, ди- і тригліцериди, піддають реакції з ангідридом ароматичної карбонової кислоти, що має щонайменше 7 атомів вуглецю, при температурі 50-150°C при зниженому тиску протягом 0,5-2 годин,  
3) після обробки ангідридом токофероли видаляють із суміші шляхом молекулярної перегонки,  
4) кристалічні вільні стероли витягають з кубового залишку від дистиляції, що містить складні ефіри стеролів, ди- і тригліцериди, шляхом трансетерифікації.

2

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що дезодорований дистилят, який використовували як сировину, одержують у процесі рафінації соняшникової, рапсової, соєвої і кукурудзяної олії.  
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вільні жирні кислоти відганяють у дистиляційній колоні чи в плівковому випарнику при тиску 0,1-8 мбар при температурах, що варіюють від 180 до 250°C.  
4. Спосіб за п. 1, де вільні жирні кислоти омилюють у середовищі полярного і/чи неполярного розчинника при температурі 10-40°C протягом 0,5-5 хвилин у присутності невеликого надлишку луку і видаляють шляхом відділення полярної фази.  
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як ангідрид карбонової кислоти використовують ангідрид бензойної, бензилової, феноксіоцтової, фталевої, заміщеної фталевої кислоти.  
6. Спосіб за п. 1 чи 5, який **відрізняється** тим, що ангідриди використовують у надлишку до 5 мол. % стосовно кількості стеролів, обумовленому газохроматографічним методом.  
7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що молекулярну перегонку токоферолів здійснюють при тиску 0,01-0,1 бар при температурі 200-260°C.  
8. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що стероли виділяють з кубового залишку від дистиляції токоферолів, що містить 20-60 мас. % складних ефірів стеролів, шляхом трансетерифікації переважно в присутності каталізатора метилату натрію.  
9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що в процесі трансетерифікації складних ефірів стеролів кубовий залишок від дистиляції, збагачений складними ефірами стеролів, безупинно додають до розчину метилату натрію, що нагрівається, і реакцію проводять протягом 2-4 годин.

Винахід відноситься до виділення рослинних стеролів і інших цінних компонентів, таких як токофероли, з побічних продуктів, що утворюються при очищенні рослинних олій, дезодорованого дистиляту, що складається зі стеролів, складних

ефірів стеролів, токоферолів, чи жирів олій і їхніх похідних, а також жирних кислот.

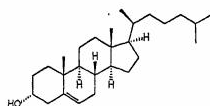
Стероли зустрічаються як у рослин, так і у тварин і являють собою групу природних сполук,

(19) UA (11) 78066 (13) C2

найбільш важливі з яких представлені в наступній таблиці:

Основні фітостероли

| R | $\Delta^5$ -  | R | $\Delta^7$ - |
|---|---------------|---|--------------|
|   | Бвасікастерол |   | Стігмастерол |
|   | Стігмастерол  |   | Стігмастерол |
|   | Кампестерол   |   | Стігмастерол |
|   | Сітостерол    |   | Стігмастерол |
|   | Авенастерол   |   |              |



Холестерин

Дієтологічні дослідження підтвердили, що рослинні стероли зменшують рівень холестерину в сироватці крові і позитивно впливають на співвідношення рівня холестерину ЛПНЩ (ліпопротеїну низької щільності) і ЛПВЩ (ліпопротеїну високої щільності) [estrade JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition* 1998 52:334-43; Miettinen TA, Puska P, Gylling H, et al. Reduction of serum cholesterol with sitosterol-ester margarine in a mildly hypercholesterolaemic population. *New Engl. Journal of Medicine* 1995; 333:1308-1312]. Рослинні стероли використовують переважно в харчовій, фармацевтичній і косметичній промисловості.

Токоферолі і токотриєнолі (взагалі сполуки токола) мають активність вітаміну Е, причому найвищий рівень активності демонструє  $\alpha$ -токоферол.

Токоферолі відіграють важливу роль в організмі людини: завдяки своїм антиоксидантним властивостям вони діють як акцептори вільних радикалів, а також зв'язують молекулярний кисень [A.Kamal-Eldin and L.A. Appleqvist: *The Chemistry and Antioxidant properties of Tocopherols and Tocotrienols*. *Lipids* 31. (1996) 671-701].

Концентрація стеролів і токоферолів у рослинних оліях занадто низька, для того щоб здійснювати їхню промислову утилізацію економічним способом. У промисловому масштабі природні стероли і токоферолі одержують з так званого дезодорованого дистиляту, що утворюється в процесі рафінації рослинних олій.

Найчастіше рослинні олії очищують, використовуючи способи хімічного чи фізичного очищення. На останній стадії обох способів олію піддають перегонці у вакуумі з водяною парою, для того щоб видалити смакові і пахучі речовини, а також вільні жирні кислоти, і поліпшити стійкість олії до окислювання. Дезодорацію здійснюють звичайно при температурі 210-270°C при зниженому тиску (1-8мбар); дезодорований дистилят одержують конденсацією парів, що утворюються під час цього процесу. Крім основних компонентів, у дезодорованому дистиляті є різні інші летучі речовини, склад яких може бути охарактеризований у такий спосіб:

|                        |        |
|------------------------|--------|
| вільні жирні кислоти   | 30-85% |
| неомилуючі речовини    | 7-35%  |
| токоферолі             | 1-8%   |
| вільні стероли         | 2-15%  |
| складні ефіри стеролів | 0-5%   |
| гліцериди              | 5-30%  |
| інші                   | 0-5%   |

\* % значення відносяться до мас. %

Описано численні способи видалення стеролів і токоферолів з дезодорованих дистилятів. У деяких патентах дистиляцію (перегонку) використовують переважно для видалення жирних кислот чи метилових ефірів жирних кислот [EP 0333472, US 5424457, USP 5627289, US 4454329]. Спосіб омилення для видалення вільних жирних кислот запропонований у наступних патентах: [US 3335154, US 4550183 і WO 99/42471].

Згідно [US 5512691], перед дистиляцією жирних кислот вільні стероли піддають етерифікації жирними кислотами, що присутні у дезодорованому дистиляті. Перевага цієї стадії полягає в тому, що температури кипіння складних ефірів стеролів, що утворюються, набагато вище, ніж температури кипіння токоферолів, які не прореагували, що спрощує поділ двох груп сполук при використанні молекулярної перегонки.

Згідно [US 5487817] кристалічні вільні стероли можуть бути видалені зі складних ефірів стеролів, сконцентрованих у кубовому залишку від дистиляції.

Етерифікація вільних стеролів вільними жирними кислотами, які присутні у дезодорованому дистиляті, вимагає щодо високої температури (150-250°C) тривалого часу реакції (1-12 годин) і зниженого тиску (менше ніж 50мбар), у деяких випадках необхідне застосування каталізатора кислотного типу. Внаслідок несприятливих умов (висока температура, тривалий час реакції), мають місце небажані побічні реакції, такі як розпад токоферолів, перетворення стеролів у вуглеводні в результаті втрати функціональної групи -ОН і атома Н у вигляді води, і підвищене утворення смоли.

Спосіб виділення рослинних стеролів і токоферолів з дезодорованих дистилятів, що утворюються в процесі хімічної чи фізичної рафінації рослинних олій, шляхом дистиляції чи омилення присутніх компонентів, по даному винаходу можна охарактеризувати наступними стадіями:

1) вільні жирні кислоти видаляють з дезодорованого дистиляту вакуумною перегонкою чи безупинним омиленням у середовищі розчинника,

2) після видалення вільних жирних кислот отримана сировина, основними компонентами якої є стероли, токоферолі, вуглеводні, моно-, ді- і тригліцериди, піддають реакції з ангідридом ароматичної карбонової кислоти, що має щонайменше 7 атомів вуглецю, при температурі 50-150°C при зниженому тиску протягом 0,5-2 годин,

3) після обробки ангідридом токоферолі видаляють із суміші шляхом молекулярної перегонки,

4) кристалічні вільні стероли видаляють з кубового залишку від дистиляції, що містить складні ефіри стеролів, ді- і тригліцериди, шляхом трансестерифікації.

Сировиною для способу є дезодорований дистилят, одержаний у процесі рафінації (очищення) соняшникової, рапсової, соєвої чи кукурудзяної олії, але дезодоровані дистиляти інших олій також можуть бути використані. Вільні жирні кислоти видаляють у дистиляційній колоні чи в плівковому випарнику при тиску 0,1-8мбар і температурі 180-250°C.

Як альтернативу, вільні жирні кислоти можна омилити у середовищі неполярного і/чи полярного розчинника при 10-40°C протягом 0,5-5 хвилин, використовуючи невеликий надлишок луку, потім жирні кислоти видаляють у вигляді мил, відокремлюючи полярну фазу.

Для етерифікації дезодорованого дистиляту, звільненого від жирних кислот, автори винаходу застосовують ангідриди карбонових кислот, такі як ангідрид бензойної, бензилової, феноксіцетової, фталевої, заміщеної фталевої кислоти.

Ангідриди додають у невеликому надлишку (максимум 5мол.%) щодо кількості вільних стеролів, обумовленого газохроматографічним методом.

Після етерифікації здійснюють молекулярну перегонку токоферолів при тиску 0,01-0,1бар при температурах, що варіюють від 200 до 260°C.

Стероли видаляють з кубового залишку від дистиляції токоферолів, що містить 20-60мас.% складних ефірів стеролів, використовуючи переетерифікацію в метанольному середовищі, переважно в присутності каталізатора метилата натрію.

Під час трансестерифікації складних ефірів стеролів кубовий залишок від дистиляції, що містить складні ефіри стеролів, вводять переважно безупинно в киплячий розчин метилата натрію, і реакцію завершують протягом 2-4 годин.

Кристалічні рослинні стероли, отримані відповідно до винаходу, використовують для цілей фармацевтичної, косметичної чи харчової промисловості. В особливих випадках стероли можуть бути додатково очищені перед використанням.

У способі, докладно описаному тут, сировина являє собою побічний продукт рафінації (дезодорації) рослинних олій, широко відомий як дезодорований дистилят, що може бути отриманий перегонкою соняшникової, рапсової, соєвої чи кукурудзяної олії у вакуумі з водяною парою. Дезодорований дистилят містить 2-15мас.% стеролів і 30-85 мас.% вільних жирних кислот. Коли дезодорований дистилят являє собою побічний продукт фізичної рафінації рослинних олій, вміст вільних жирних кислот у цій сировині складає

більш 50мас.% (звичайно 60-85мас.%). Видаляючи спочатку вільні жирні кислоти з дезодорованого дистиляту, автори винаходу змогли зменшити кількість сировини щонайменше наполовину. У результаті, автори винаходу змогли зменшити габарити устаткування, необхідного для наступної реакційної стадії.

Фракція стеролів переважно складається з наступних сполук:  $\beta$ -сітостерол, кампестерол, стігмастерол, брасікастерол (тільки у випадку рапсового походження), і авенастерол. Фракція вільних жирних кислот включає C14-C24 насичені і ненасичені жирні кислоти (серед інших насичені: мірістинова, пальмітинова, стеаринова, арахідонова, бегенова і лігноцерінова, і ненасичені: тетрадецена, пальмітолеїнова, олеїнова, лінолева, ліноленова, гадолеїнова й ацетерукова кислота). Крім вищевказаних компонентів дезодоровані дистиляти містять моно-, ди- і тригліцериди, а також токоферолі (1-8мас.%), токотриєнолі, вуглеводні, складні ефіри стеролів і деякі інші міnorні компоненти.

Спосіб за винаходом представлений на Фігурі 1.

Перша стадія способу являє собою видалення більшої частини вільних жирних кислот, що є у дезодорованому дистиляті (M0), для того, щоб зменшити кількість реакційної суміші. Ступінь концентрування варіює від 1,5 до 5,0 в залежності від складу вільних жирних кислот і використовуваних параметрів дистиляції. Вільні жирні кислоти разом з низькокипучими компонентами неомилюючого матеріалу перегають у дистиляційній колоні чи плівковому випарнику при тиску 0,1-8мбар і температурі 180-250°C.

Існує можливість поділу парів частковою конденсацією чи виборчою конденсацією парів. Фракція попереднього відділення, у якій сконцентровані коротколанцюгові жирні кислоти і продукти розпаду жирних кислот, містять в основному летючі сполуки. Основна фракція дистиляту (S1-A) складається головним чином з різних жирних кислот і містить у невеликій кількості (1-9мас.%) деякі інші сполуки, такі як моногліцериди, вуглеводні, сліди токоферолів і стеролів.

Кубовий залишок від дистиляції вільних жирних кислот (M1-A) містить стероли, токоферолі, вуглеводні, моно-, ди- і тригліцериди, а також деякі інші сполуки з високою температурою кипіння. Втрата при розпаді і випарюванні стеролів і токоферолів складає менше 1,0%.

Як альтернативу, вільні жирні кислоти можуть бути видалені з дезодорованого дистиляту лужною нейтралізацією в середовищі, що складається з полярних і неполярних розчинників. Реакція протікає в м'яких умовах: низька температура (10-40°C), короткий період контакту з лугом (0,5-5хв), невеликий надлишок луку чи зовсім без нього (0-20%).

Після омилення жирних кислот компоненти дезодорованого дистиляту, розчинні в неполярному розчиннику, можуть бути відділені від мил простою декантацією. Як неполярний розчинник можуть бути використані звичайні розчинники жирів, такі як гексан. Що стосується полярного розчинника, то використовують коротколанцюговий спирт,

такий як метанол, етанол, пропанол чи ізо-пропанол. Луг (гідроксид натрію чи гідроксид калію) використовують у вигляді розчину 40-300г/л води.

Після омилення в середовищі розчинників, у процесі декантації утворюються дві фази, при цьому неполярна фаза містить тригліцериди і неомилючі речовини, а полярна фаза містить розчинені мила. Обидві фази повинні бути ретельно промиті через взаємну розчинність розчинників. Полярну фазу промивають неполярним розчинником, щоб поліпшити вихід, неполярну фазу промивають полярним розчинником, щоб видалити залишкові мила і сліди луку.

На закінчення, розчинник випарюють з неполярної фази, одержуючи продукт (M1-B), що містить менше 0,5мас.% вільних жирних кислот. У результаті майже повного видалення вільних жирних кислот, теоретичний ступінь концентрування для стеролів, складних ефірів стеролів і токоферолів може досягати від 1,5 до 5.

Жирні кислоти можуть бути витягнуті з полярної фази шляхом розщеплення мил у місцелє з використанням сильної мінеральної кислоти, такої як сірчана чи соляна кислота, при помірному pH і температурі навколишнього середовища. Звичайно автори винаходу використовують сірчану кислоту, pH доводять до 1-5. Жирно-кислотну фазу відокремлюють шляхом відстоювання під дією сили ваги, потім жирні кислоти відмивають до нейтрального pH водою, і розчинники, зрештою, випарюють. Вміст вільних жирних кислот в отриманій сировині (S1-B) складає щонайменше 95мас.%.

Реакційну суміш, звільнену від жирних кислот відповідно до винаходу (M1-A чи M1-B), обробляють ангідридами кислот, такими як ангідрид бензойної, бензилової, феноксіоцтової, фталевої, заміщеної фталевої кислоти, для перетворення вільних стеролів у відповідні складні ефіри стеролів. Реакцію проводять при температурі 50-150°C при зниженому тиску (50-100мбар) при додаванні 0-5мас.% надлишку ангідриду і протягом приблизно 0,5-2 годин. Після реакції проводять газохроматографічний аналіз.

Токоферолі можуть бути легко відділені від складних ефірів стеролів шляхом дистиляції, заснованої на розходженні в їхній летючості. Токоферолі видаляють за допомогою дистиляції в молекулярному дистиляторі (0,01-0,1мбар; 200-245°C), і одержують концентрат, збагачений токоферолами (18-25мас.%), у вигляді дистиляту (S2) і кубовий залишок (M3) з високим вмістом складних ефірів стеролів (20-60мас.%).

Наступна стадія способу по винаходу являє собою витяг вільних стеролів зі складних ефірів стеролів. Кубовий залишок від молекулярної перегонки (M3), що містить переважно складні ефіри стеролів, ди- і тригліцериди, безупинно додають до розчину метанолу і каталізатора метилата натрію протягом 1-1,5 годин, нагріваючи реакційну суміш зі зворотнім холодильником. Трансестерифікація завершується через 2-4 години. Метилі ефіри жирних кислот одержують зі складних ефірів стеролів, що є присутніми спочатку у вигляді складних ефірів жирних кислот, і з гліцеридів, а також метилових ефірів карбонових кислот, в

залежності від застосовуваного ангідриду і вільних стеролів. Наприкінці реакції каталізатор метилат натрію нейтралізують оцтовою кислотою.

Після повного вивільнення стеролів реакційну суміш прохолоджують до кімнатної температури (15-25°C) при перемішуванні, кристали стеролів, що утворилися потім, відфільтровують на фільтрі чи фільтр-пресі, переважно в центрифугі. Відфільтровані стеролі повинні бути промиті спочатку метанолом (2-3 рази), потім гексаном (також 2-3 рази), для того, щоб позбутися від барвних речовин і інших домішок (включення, забруднення).

Описаним способом може бути досягнута чистота стеролів 85мас.%, що необхідна для застосування в якості фармацевтичної сировини. Для харчових цілей потрібно вміст стеролів вище 98мас.%.

У тому випадку, коли вимагаються кристалічні стеролі з більш високою чистотою, кількість використовованого розчинника на окремих стадіях промивання і/чи час відмивання між окремими стадіями фільтрації повинні бути збільшені. При необхідності, здійснюють перекристалізацію, комбіновану зі знебарвленням активованим вугіллям. Довголанцюгові углеводні (гексан і його гомологи з більш високою молекулярною масою) і спирти (н-октанол і його гомологи з більш високою температурою кипіння), а також їхні суміші можуть застосовуватися як розчинники на стадії перекристалізації.

Перша маткова рідина (S3) складається переважно з метилових ефірів жирних кислот, метилових ефірів інших кислот і надлишку метанолу і містить солі натрію, що у невеликих кількостях утворюються з каталізатора. Для витягу корисних речовин метанол відганяють із суміші, потім водяним промиванням видаляють солі натрію і гліцерин і, зрештою, одержують чисті метилові ефіри за допомогою сушіння і вакуумної перегонки.

Друга маткова рідина містить метанол як основний компонент, що витягають дистиляцією.

Третя маткова рідина складається звичайно з гексана, який витягають дистиляцією.

Білі кристали стеролів сушать у придатній сушарці в умовах середнього вакууму (50-100мбар) при температурі від 60 до 120°C.

Кристалічний продукт (M4), одержаний таким чином, містить щонайменше 92мас.% вільних стеролів і практично не містить токоферолі і розчинники.

Типовий кристалічний продукт стеролу, одержаний цим способом, містить у собі наступні компоненти:

|                |        |
|----------------|--------|
| β-Сітостерол   | 40-65% |
| Кампестерол    | 10-35% |
| Стігмастерол   | 2-25%  |
| Брасікастерол  | 0-25%  |
| A5-Авенастерол | 0-3%   |
| Інші стеролі   | 0-9%   |

\* % значення відносяться до мас.%

Переваги способу по дійсному винаході можна узагальнити в такий спосіб:

Особливо корисним є витяг стеролів з дезодорованих дистилятів після фізичної рафінації, при

цьому вміст стеролів складає звичайно менше 4мас.%, а вміст вільних жирних кислот варіює від 60 до 85мас.%. Зменшення кількості реакційної суміші сприяє зменшенню розміру необхідних реакторів. Зменшення температури обробки поліпшує вихід токоферолів, зменшує утворення смоли і, крім того, значно поліпшує якість кінцевого кристалічного стеролового продукту. Кількість використаного розчинника в цьому способі також зменшується. Немає необхідності використовувати каталізатор для етерифікації стеролів; втрата, викликана дегідратацією стеролів менше, унаслідок відмовлення від застосування високої температури реакції і високого вакууму. Тривалість процесу витягу стеролів може бути скорочена, висока концентрація стеролів і висока реактивність ангідридів, порівнянні з такими для вільних жирних кислот, дозволяють перетворити періодичний процес у безупинний.

Спосіб за даним винаходом додатково проілюстрований наступними прикладами.

#### Приклад 1

Змішаний дезодорований дистилят (рапс і соняшник, після процесу фізичної і хімічної рафінації) використовували як вихідну сировину. Сполука вихідної суміші (M0) охарактеризована у

Таблиця I

| Позначення речовини    | M0    |        | S1-A  |        | M1-A  |        |
|------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Маса (г)               | 1000  |        | 594,0 |        | 396,0 |        |
| Одиниця                | %*    | грам   | %*    | грам   | %*    | грам   |
| Вільні жирні кислоти   | 62,34 | 623,40 | 92,25 | 547,97 | 18,76 | 74,29  |
| Загальні токоферолі    | 2,07  | 20,65  | 0,51  | 3,04   | 4,41  | 17,46  |
| Загальні стеролі       | 3,29  | 32,86  | 0,51  | 3,05   | 7,42  | 29,37  |
| Складні ефіри стеролів | 2,26  | 22,60  | 0,00  | 0,00   | 5,67  | 22,45  |
| Гліцериди              | 19,66 | 196,60 | 0,11  | 0,65   | 48,41 | 191,70 |

\* % значення відносяться до мас.%

#### Приклад 2

Такий же дезодорований дистилят (M0), як у Прикладі 1, використовували як вихідну речовину в реакції безупинного омилення в присутності розчинників. Сировину (400г) розчиняли в 2400мол гексану. Лужний розчин виготовляли з 300мол гідроксиду натрію (концентрація 125г/л), 400мол води і 800мол етанолу. Цей лужний розчин потім додавали до дезодорованого дистиляту (розчину в гексані), і цю суміш енергійно перемішували протягом 5хв при кімнатній температурі. Потім усю суміш переносили в розділову лійку і піддавали декантації доти, поки не утворювалися дві фази з чіткою межею розділу фаз (4 години). Ці дві фази потім розділяли. Верхня неполярна фаза містила гліцериди і неомилючі речовини, нижня полярна фаза містила розчинені мила.

Обидві фази повинні бути промиті через взаємну розчинність розчинників. Полярну фазу промивали неполярним розчинником (3×100мол гексану), щоб поліпшити вихід, неполярну фазу промивали полярним розчинником (3×100мол ета-

Таблиці I. Аналізи проводили відповідно до методів, що представлені нижче:

Токоферолі і вільні стеролі: AOCS Ce 7-87 газохроматографічний (ГХ) метод;

Вільні жирні кислоти (СЖК): ISO 660:1996 титрометричний метод;

Інші компоненти (складні ефіри стеролів, гліцериди, сквален): спеціально розроблений ГХ метод (капілярний стовпчик HP-1 зі зшитим метилсилоксаном:

30м/0,2мм/0,11мкм, внутрішній стандарт: гексатриаконтан 1мг/мол, температура печі запрограмована: підвищення температури від 170 до 320°C по 5°C у хвилину, від 320 до 355°C по 4°C у хвилину, утримання 10хв, температура інжектора: 350°C, температура детектора: 355°C, газ-нодій: водень).

Схема способу представлена на Фігурі 1. Дезодорований дистилят (1000м M0) піддавали перегонці при 1мбар і 180°C у плівковому випарнику (0,075м<sup>2</sup>), постаченому дозуючою лійкою з двома сорочками і керованим голчастим клапаном. У результаті одержували 594м перегнаних жирних кислот (S1-A) і 396м кубового залишку (M1-A). Склад цих продуктів дистиляції приведений у Таблиці I.

І. нолу), щоб видалити залишкові мила. Полярні і неполярні фази потім поєднували відповідно.

Сліди лужних речовин видаляли з об'єднаної полярної фази промиванням 7мас.%-вим розчином лимонної кислоти (100мол), потім сліди лимонної кислоти і солей, що утворилися, видаляли промиванням дистилюваною водою (100мол).

Після випарювання розчинників з неполярної фази одержували 148м продукту (M1-B) із залишковим вмістом вільних жирних кислот менше 0,5мас.%. Склад продукту представлений в Таблиці II.

Таблиця II

| Позначення речовини    | M0    |        | S1-B  |        | M1-B  |       |
|------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|
| Маса (г)               | 400   |        | 245,4 |        | 148,0 |       |
| Одиниця                | %*    | грам   | %*    | грам   | %*    | грам  |
| Вільні жирні кислоти   | 62,34 | 249,36 | 98,74 | 242,31 | 0,49  | 0,73  |
| Загальні токоферолі    | 2,07  | 8,26   | 0,00  | 0,00   | 5,08  | 7,52  |
| Загальні стеролі       | 3,29  | 13,14  | 0,41  | 1,01   | 7,63  | 11,29 |
| Складні ефіри стеролів | 2,26  | 9,04   | 0,00  | 0,00   | 6,06  | 8,97  |
| Гліцериди              | 19,66 | 78,64  | 0,00  | 0,00   | 53,07 | 78,54 |

\* % значення відносяться до мас.%

#### Приклад 3

Кубовий залишок від першої дистиляції дезодорованого дистиляту (250м M1-A) обробляли 11м ангідриду бензойної кислоти (90%, технічний, Aldrich). Вільні стеролі одержували зі складних ефірів стеролів у такий спосіб.

Спочатку кубовий залишок від дистиляції нагрівали до 120°C, і потім цю температуру підтримували протягом 1 години при залишковому тиску 10мбар, для того, щоб видалити сліди вологи. Потім суміш прохолоджували до 80°C і додавали ангідрид бензойної кислоти. Реакцію етерифікації здійснювали при температурі 150°C при залишко-

вому тиску 100мбар протягом 2 годин. Після цієї реакції проводили газохроматографічний (ГХ) аналіз. У результаті одержували 261м реакційної суміші (M2). Склад продукту представлений в Таблиці III.

Таблиця III

| Позначення речовини    | M1-A  |        | M2    |        |
|------------------------|-------|--------|-------|--------|
| Маса (г)               | 250,0 |        | 261,0 |        |
| Одиниця                | %*    | грам   | %*    | грам   |
| Вільні жирні кислоти   | 18,76 | 46,90  | 18,76 | 46,90  |
| Загальні токоферолі    | 4,41  | 11,02  | 4,41  | 11,02  |
| Загальні стероли       | 7,42  | 18,54  | 7,42  | 18,54  |
| Складні ефіри стеролів | 5,67  | 14,18  | 5,67  | 14,18  |
| Гліцериди              | 48,41 | 121,03 | 48,41 | 121,03 |

\* % значення відносяться до мас. %

#### Приклад 4

Етерифіційну суміш (250м M2) обробляли в молекулярному дистиляторі (0,075м<sup>2</sup>), що містить дозуючу ліжку з нагрівальною сорочкою і керованим голчастим клапаном.

В результаті одержували другий дистилят (44м S2) і другий кубовий залишок від дистиляції (199м M3). Дистилят, отриманий на цій стадії, являє собою концентрат токоферолів. Склад продуктів дистиляції охарактеризований у Таблиці IV.

Таблиця IV

| Позначення речовини    | M2    |        | S2    |       | M3    |        |
|------------------------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|
| Маса (г)               | 250,0 |        | 55,0  |       | 191,0 |        |
| Одиниця                | %*    | грам   | %*    | грам  | %*    | грам   |
| Вільні жирні кислоти   | 15,83 | 39,58  | 66,47 | 36,56 | 1,14  | 2,18   |
| Загальні токоферолі    | 4,10  | 10,25  | 18,56 | 10,21 | 0,00  | 0,00   |
| Загальні стероли       | 0,00  | 0,00   | 0,00  | 0,00  | 0,00  | 0,00   |
| Складні ефіри стеролів | 22,11 | 55,28  | 0,20  | 0,11  | 28,72 | 54,86  |
| Гліцериди              | 47,24 | 118,10 | 9,87  | 5,43  | 58,65 | 112,02 |

\*% значення відносяться до мас. %

#### Приклад 5.

Для трансетерифікації складних ефірів стеролів, отриманих на стадії молекулярної перегонки, спочатку готували розчин, що складається з 100мол метанолу (вміст води менше 0,02мас.%) і 10мол метилата натрію (30%, вага/вага), потім цей розчин нагрівали до температури кипіння і кип'ятили зі зворотнім холодильником при перемішуванні. Другий кубовий залишок від дисти-

ляції (100м M3) нагрівали до 60°C, потім по краплях додавали до киплячого розчину метилата натрію протягом 1 години. Після завершення додавання суміш перемішували при температурі кипіння протягом 1 години.

Після цієї реакції проводили газхроматографічний (ГХ) аналіз. Наприкінці реакції до суміші додавали 5мол крижаної оцтової кислоти, для того, щоб нейтралізувати каталізатор метилат натрію. Після 5 хвилин перемішування суміш прохолоджували до температури навколишнього середовища (20°C). Кристали, що утворилися, відфільтровували і промивали метанолом (3×30мол), потім гексаном (3×30мол) доти, поки не одержували білі кристали стеролів.

Відфільтровані, промиті кристали сушили в сушильній печі при 80°C. Склад отриманих 17м кристалічних стеролів (M4) представлений у Таблиці V.

Перша маткова рідина складається переважно з метилових ефірів і надлишку метанолу і містить залишки каталізатора, гліцерин та інші домішки у невеликих кількостях.

Після випарювання розчинника із суміші одержували 77м проміжного продукту і маткового розчину, збагаченого метиловими ефірами (S3), склад якого представлений у Таблиці V.

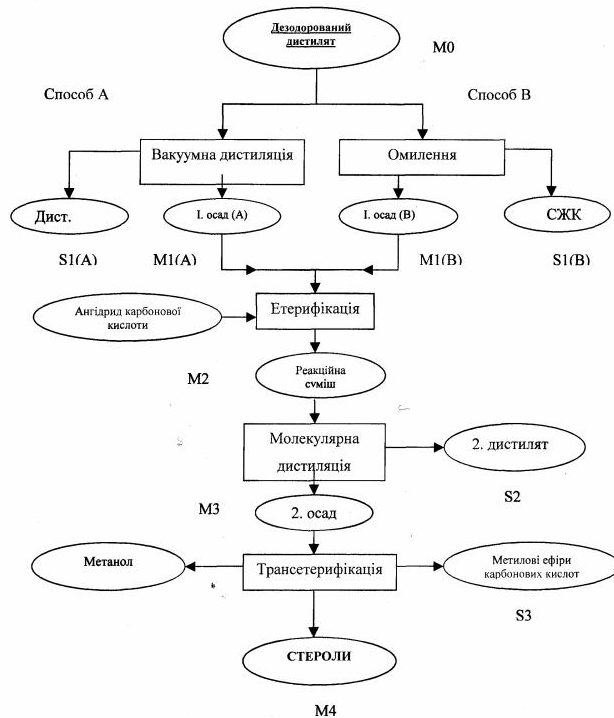
Таблиця V

| Позначення речовини    | S3    |       | Позначення речовини | M4    |       |
|------------------------|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| Маса (г)               | 77,0  |       | Маса (г)            | 17,0  |       |
| Одиниця                | %*    | грам  | Одиниця             | %*    | грам  |
| Метилові ефіри**:      | 89,64 | 69,02 | Брасікастерол       | 20,39 | 3,47  |
| Вільні жирні кислоти   | 0,45  | 0,35  | Кампестерол         | 26,13 | 4,44  |
| Загальні токоферолі    | 0,00  | 0,00  | Стигмастерол        | 3,30  | 0,56  |
| Загальні стероли       | 2,43  | 1,87  | β-Сігостерол        | 42,92 | 7,30  |
| Складні ефіри стеролів | 0,69  | 0,53  | Інші стероли        | 2,77  | 0,47  |
| Гліцериди              | 0,76  | 0,59  | Загальні стероли    | 95,51 | 16,24 |

\*% значення відносяться до мас. %

\*\* метилові ефіри жирних кислот і інших карбонових кислот

Для подальшого очищення метилових ефірів спочатку видаляли сліди каталізатора і гліцерину, а також інших водорозчинних компонентів, промиванням водою, потім промиту сировину сушили і чисті метилові ефіри одержували вакуумною перегонкою.



Фіг. 1