

ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССА СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ЭКСТРАКЦИИ МАСЛА ЧЕРНОГО КОФЕ

^{1,2}О. И. Покровский*, ¹Д. И. Прокопчук, ²М. О. Костенко,
¹К. Б. Устинович, ^{1,2}О. О. Паренаго, ^{1,2}В. В. Лунин

¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

* oleg.pokrovskiy@supercritical.ru

Поступила в редакцию 3.11.2017 г.

Исследовано влияние давления на эффективность сверхкритической (СК) флюидной экстракции масла из жареных кофейных зерен. Выход масла возрастает с 6 до 17 % при повышении давления с 20 до 50 МПа при 80 °С и отношении массы пропущенного экстрагента (СК-СО₂) к массе сырья 30 : 1. При 50 МПа температура оказывает незначительное влияние на эффективность экстракции. Разработана методика анализа экстрактов кофейных зерен методом СК флюидной хроматографии с масс-спектрометрией, позволяющая проводить экспрессное качественное сравнение составов экстрактов, а также качественный анализ триглицеридного состава липидной части.

Ключевые слова: масло черного кофе, сверхкритическая флюидная экстракция, сверхкритическая флюидная хроматография, триглицериды.

1. ВВЕДЕНИЕ

Масло черного кофе — продукт, получаемый из обжаренных зерен кофе различных сортов и используемый в косметологии. Два основных способа его получения в промышленности — холодное прессование и экстракция неполярными органическими растворителями. Технология прессования не позволяет извлекать масло полностью, обеспечивая невысокие массовые выходы, а технология жидкостной экстракции требует очистки продукта от загрязнений органическими растворителями, в ходе которой неизбежно теряется ряд летучих компонентов экстракта и ухудшаются потребительские свойства масла. Альтернативным путем получения такого продукта могла бы стать сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ), способная обеспечить столь же высокую степень извлечения, как и жидкостная экстракция, и при этом лишенная недостатков, связанных с необходимостью отгонки жидких растворителей.

Обработка зерен кофе с помощью сверхкритического диоксида углерода — широко известный пример успешного промышленного применения сверхкритических флюидных технологий [1]. Однако в этом известном процессе решается задача декофеинизации зерен кофе, при этом эфирноароматические компоненты и триглицериды стараются не извлекать из сырья. Для производства масла черно-

го кофе необходимо решить иную задачу — по возможности максимально полного извлечения масляной фракции.

Работы такого рода более развиты для зеленого кофе [2—4]. Искомая биологическая активность масла зеленого кофе обеспечивается дитерпенами. Они более летучи и лучше растворимы в СК-СО₂, чем триглицериды. Соответственно, при оптимизации методики СФЭ зеленого кофе стремятся селективно извлекать дитерпены, по возможности не извлекая при этом триглицериды. Для этого стараются работать при относительно невысоких давлениях флюидного экстрагента. В случае черного кофе стоит задача как можно более полного извлечения ароматических и триглицеридных компонентов, и применение СФЭ для извлечения масла обжаренных зерен пока находится на стадии демонстрации потенциальной применимости [2, 5—7]. В частности, не решен вопрос о целесообразности использования высоких давлений экстракции для извлечения такого масла. Растворимость триглицеридов в СК-СО₂ сильно зависит от параметров состояния, и для разных видов масел эти зависимости могут иметь различный характер. Некоторые масла хорошо извлекаются СК-СО₂ только при высоких давлениях, свыше 40—50 МПа. Для иных давление, напротив, не столь важно, а ключевым параметром является температура, что позволяет использовать в производстве более доступное промышленное оборудование. Кроме того, при получении масла для косметических целей необходимо также учитывать возможность попутной экстракции балластных веществ помимо триглицеридов. Если повышение давления экстракции приводит не только к росту скорости извлечения триглицеридов, но также к росту содержания восков в тотальном экстракте, то это может быть технологически неоправданно, так как наличие восков ухудшит смешиваемость масла с другими компонентами в косметических композициях. В известных нам работах по СФЭ обжаренных зерен кофе [2, 5—7] давление экстракции не превышало 30 МПа. Целью настоящей работы было определить целесообразность использования давления экстракции свыше 30 МПа для получения масла черного кофе. Для достижения этой цели необходимо было решить две задачи: 1) получить данные о зависимости массового выхода тотальной экстракции зерен кофе от давления и 2) оценить долю целевых эфирноароматических и триглицеридных компонентов в составе экстрактов, полученных при разных давлениях. Для решения второй задачи был применен метод сверхкритической флюидной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Материалы

В качестве образца для исследований использовали обжаренные зерна кофе марки Paulig сорта арабика, собранные в Центральной Америке («Paulig Group», Helsinki, Finland). СО₂ пищевой чистоты 99,8 % был приобретен у «Линде Газ» (Балашиха, Россия). Метанол ос.ч. и хлороформ х.ч. были приобретены у ОАО «Химмед». Изопропанол чистоты для хроматографии и ацетонитрил чистоты для хроматографии были приобретены у ООО «Химия XXI век». Формиат аммония х.ч. был любезно предоставлен Д.А. Леменовским. Дистиллированную воду получали с использованием системы очистки воды Barnstead EASYpure II с предварительной дистилляцией водопроводной воды в лабораторном дистилляторе.

2.2. Оборудование для сверхкритической флюидной экстракции

Для проведения лабораторных исследований по сверхкритической флюидной экстракции использовалась установка SFE-1000 производства «Waters Corp.» (Милфорд, США), принципиальная схема которой показана на рис. 1.

Экстракционный сосуд 6 объемом 200 мл выполнен из нержавеющей стали марки 17-4PH и оснащен нагревательной рубашкой. Входное и выходное отверстия в крышках экстракционного сосуда снабжены пористыми мембранами из нержавеющей стали с размером пор 5 мк для предотвращения уноса сырья из сосуда. CO₂ из баллона 1 подается в систему плунжерным насосом высокого давления 4. Охлаждение головок цилиндров насоса в сочетании с захлаживанием углекислоты в теплообменнике 2 обеспечивает отсутствие кавитационных зон в потоке флюида и стабильность массовой скорости потока флюида, а также ведет к увеличению срока службы насосного оборудования. Работа насоса управляется массовым расходомером 3. После прохождения насоса CO₂ нагревается до заданной температуры в теплообменнике 5 и подается непосредственно в сосуд с сырьем. Контроль давления в системе обеспечивается автоматическим регулятором давления игольчатого типа 7, соединенным своим выходом со специальным циклонным сепаратором 8.

2.3. Циклонный сепаратор

В ходе ряда предварительных испытаний было выявлено то, что штатный сепаратор установки SFE-1000 объемом 500 мл слишком велик для количественного улавливания получаемых экстрактов. Для увеличения степени улавливания экстрактов был разработан циклонный сепаратор уменьшенного объема. Изготовление сепаратора велось методом послойного наплавления из полиэтилентерефталатгликоля с использованием 3D-принтера. Выбор данного пластика обусловлен его стойкостью к большому числу широко используемых для лабораторных нужд растворителей, низкой термоусадкой, а также умеренной пластичностью и стойкостью к механическим нагрузкам. Сборниками при работе с этим сепаратором служили стандартные стеклянные виалы объемом 60 мл, которые вкручивались в донный порт сепаратора. Фото разработанного нами сепаратора, полученного методом 3D-печати, приведено на рис. 2.

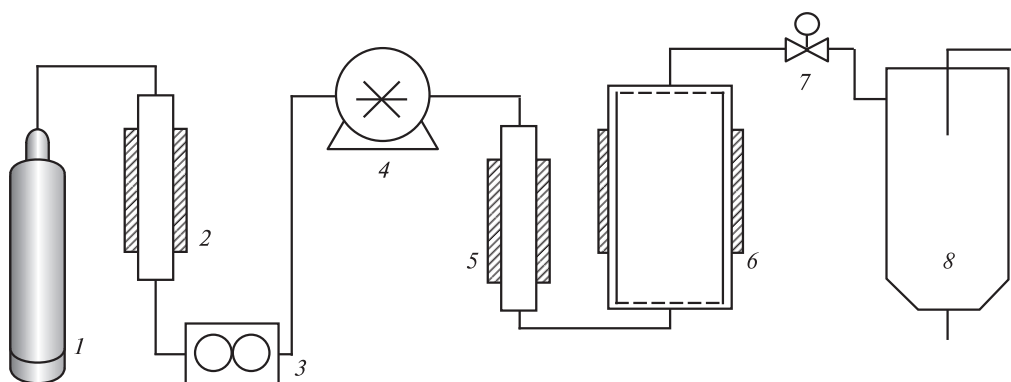


Рис. 1. Принципиальная схема экстракционной установки:

1 — баллон с CO₂; 2 — охлаждающий теплообменник; 3 — расходомер; 4 — насос высокого давления; 5 — нагреватель; 6 — экстракционный сосуд с нагревательной рубашкой; 7 — автоматический регулятор давления; 8 — циклонный сепаратор

2.4. Методика экстракции

Зерна кофе измельчали кухонным блендером и просеивали через сито с размером ячейки 1,0 мм. Навеску подготовленного таким образом сырья массой 80 г помещали в экстракционный сосуд. После герметизации сосуд с сырьем нагревали до рабочей температуры и выдерживали в течение 5 мин для равномерного прогрева образца по всему объему. По достижении нужной температуры в аппарат подавали CO₂. Для ускорения эксперимента набор давления осуществляли при скорости потока 50 г/мин. По достижении заданных параметров устанавливали значение скорости потока 15 г/мин. Разделение экстракта и флюида в сепараторе проводилось при атмосферном давлении. Время экстракции составляло 160 мин для каждого эксперимента. По истечении этого времени производили постепенный сброс давления в системе, вials с собранным экстрактом отсоединяли от сепаратора, запаковывали и хранили в морозильной камере при температуре –20 °С до проведения хроматографических исследований.

Массовый выход вычисляли по убыли массы сырья после экстракции. Для каждого давления опыты проводились минимум дважды; далее приводятся усредненные значения.

2.5. Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ)

Хроматографические опыты проводились на аналитическом сверхкритическом флюидном хроматографе Acquity UPC² производства компании «Waters» (США). Управление прибором и обработка полученных данных осуществлялись при помощи программного обеспечения Empower 3 («Waters», Милфорд, США). Разделение проводилось на хроматографической колонке Kinetex C18 (2,6 мкм; 100 Å; 150×4,6 мм) («Phenomenex», США) при выходном давлении 16 МПа, температуре колонки 10 °С, скорости потоков подвижной фазы 1 мл/мин (указано для жидкого CO₂ при +2 °С). Подвижная фаза содержала 80 % диоксида углерода и 20 % соразтворителя, представлявшего собой раствор формиата аммония концентрацией 20 мМ в смеси ацетонитрил : метанол = 7 : 3 (по объему). Для анализа имеющийся экстракт растворяли целиком в смеси хлороформ : изопропанол = 50 : 50 (по объему), доводя растворы до концентрации 5 г/л. Объем пробы образца составлял 1 мкл. Детектирование осуществляли одновременно с помощью спектрофотометрического диодно-матричного детектора в интервале длин волн от 190 до 700 нм и одноквадрупольного масс-спектрометрического детектора QDa в интервале m/z 180 — 1000 Да. Масс-спектрометр был соединен с хроматографической системой через пассивный сплиттер, встроенный в тракт после спектрофотометрического детектора перед регулятором давления. Домывающая жидкость, подававшаяся со скоростью потока 0,08 мл/мин, представляла собой 20 мМ раствор формиата аммония в смеси воды и метанола (1 : 9 по объему). Сканирование проводили в режиме электроспрея с положительной ионизацией, температура капилляра ионизатора составляла 600 °С, потенциал между капилляром и противоэлектродом — 0,8 кВ, напряжение конуса — 15 В.



Рис. 2. Внешний вид сепаратора, полученного методом 3D-печати

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Влияние давления на массовый выход экстракции

Прежде исследования влияния давления были проведены предварительные эксперименты с целью качественной оценки влияния температуры на массовый выход экстракции зерен кофе. Были проведены тотальные экстракции зерен при давлении 50 МПа и температурах от 50 до 80 °С. Было обнаружено, что при этом давлении количество получаемого экстракта увеличивается с ростом температуры на 10 %. Все последующие опыты проводились при температуре 80 °С.

Экстракты представляют собой гетерогенную смесь светло-желтого масла и бесцветной пасты. Массовый выход значительно растет с повышением давления (см. рис. 3). Особенно заметные изменения наблюдаются на участке 10 — 30 МПа, но и после также происходит увеличение выхода, что делает целесообразным использование высоких давлений при получении масла черного кофе методом СФЭ.

3.2. Качественный анализ состава масла методом СФХ

На рис. 4 представлены типичные хроматограммы масла, полученные в условиях, описанных в пункте 2.5. На рис. 4а приведена хроматограмма, зарегистрированная с помощью спектрофотометрического детектора, на рис. 4б — с помощью масс-спектрометрического.

Большинство соединений, входящих в состав экстракта, плохо поглощают даже в дальней УФ области, вследствие чего использование масс-спектрометрического детектирования для анализа такого объекта является более привлекательным. Групповой фракционный анализ проводился на основании 2D масс-хроматограмм, на которых по оси абсцисс откладывается время удерживания веществ, по оси ординат — отношение m/z , а цветом обозначается интенсивность сигнала. Пример такой 2D-СФХ-МС хроматограммы представлен на рис. 5.

Визуально данную хроматограмму можно разделить на две части: до и после 6 минуты. Первая часть характеризуется достаточно широким разбросом масс. Вторая часть представлена двумя областями, различающимися по массам. Группа пиков,

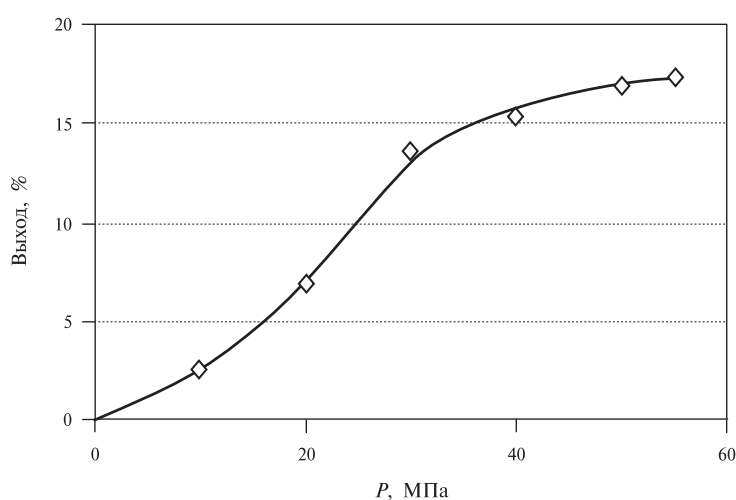


Рис. 3. Зависимость выхода экстракта от давления

**Влияние давления на эффективность процесса
сверхкритической флюидной экстракции масла черного кофе**

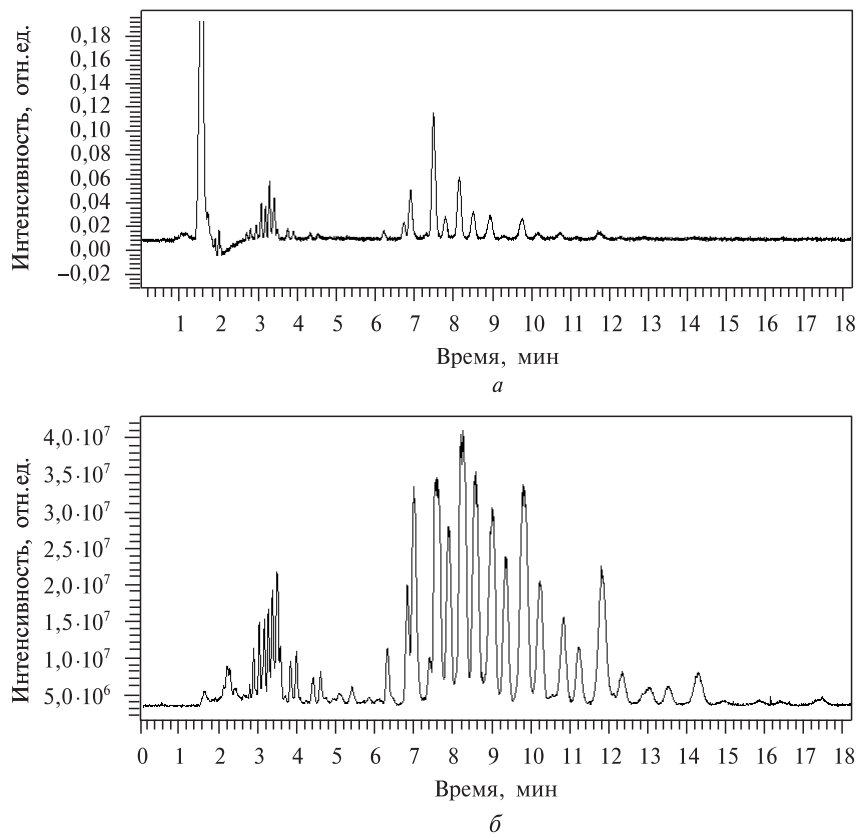


Рис. 4. Типичная хроматограмма экстрактов кофейных зерен:
a — УФ-детектор, длина волны 205 нм; *б* — масс-спектрометрический детектор

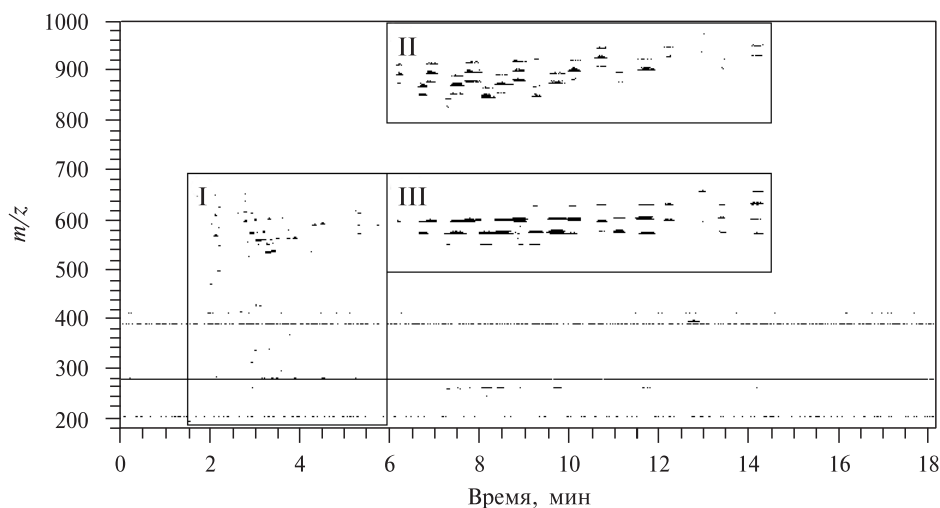


Рис. 5. 2D масс-хроматограмма экстракта кофе:
2D-масс-хроматограмма экстракта кофе, I — область нелипидной фракции, II — область молекулярных ионов триглицеридов, III — область фрагментарных ионов триглицеридов

лежащая в промежутке от 800 до 1000 Да, принадлежит молекулярным ионам аддуктов триацилглицеридов ($[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$), а группа, лежащая в промежутке от 500 до 700 Да, относится к фрагментным ионам, образованным при отрыве от триглицерида одного остатка жирной кислоты. Таким образом, триглицеридная составляющая экстрактов идентифицируется с высокой степенью надежности. Дополнительное подтверждение тому, что вещества, элюирующиеся после 6 минуты, относятся именно к триглицеридам, можно получить, анализируя их масс-спектры с использованием онлайн-библиотеки масс-спектров липидов [8]. В качестве примера на рис. 6 представлен масс-спектр вещества, элюирующего со временем 7,52 мин.

На спектре хорошо видны сигналы аддуктов триацилглицерида массой 855,97 Да ($[M+H]^+$) и 872,96 Да ($[M+NH_4]^+$), правее заметны малоинтенсивные пики $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$. Также видны фрагментные пики 575,64 Да и 599,64 Да. По данным [8], этот спектр соответствует триацилглицериду, в состав которого входят 2 фрагмента линолевой кислоты (Л) и 1 фрагмент пальмитиновой (П) (изомерам ЛЛП или ЛПЛ). В этом случае фрагментные пики соответствуют ионам $[ЛЛ]^+$ с массой 599,64 Да и $[ЛП]^+$ с массой 575,64 Да.

Использование изложенного подхода к анализу масс-хроматограмм экстрактов кофе позволило сделать заключение о том, что вне зависимости от давления экстракции все основные пики хроматограмм всех экстрактов со временами удерживания больше 6 минут относятся к триглицеридам. Строго говоря, это не является абсолютным доказательством отсутствия балластных восков в составе экстрактов, поскольку они могут, например, не ионизироваться и не детектироваться в выбранных условиях. Однако наличие одних и тех же пиков на хроматограммах экстрактов, полученных при разных давлениях, по крайней мере, не противоречит предположению о том, что качественный состав экстрактов с ростом давления не меняется. В пользу этого предположения косвенно свидетельствует и тот факт, что консистенция масляной части экстрактов также не меняется от давления. Следовательно, применение высокого давления для получения масла черного кофе методом СФЭ можно считать целесообразным.

Достоверно установить химическую структуру группы компонентов экстрактов с временами удерживания меньше 6 минут в настоящий момент не представляется возможным. Для этого требуется проведение дополнительных исследова-

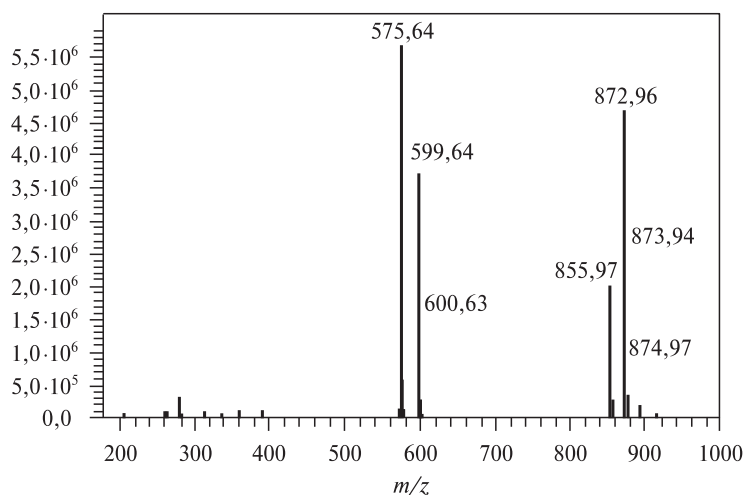


Рис. 6. Масс-спектр триглицеридного компонента экстракта

ний с использованием других аналитических методов. Можно выдвинуть предположение, что значительная часть сигналов из области I, выделенной на рис. 5, относится к производным-фурфура. Помимо литературных данных, об этом свидетельствуют УФ-спектры пиков данной группы, для большинства из которых характерны максимумы поглощения в области 280–290 нм.

4. БЛАГОДАРНОСТИ

Часть работы, связанная со сверхкритической флюидной экстракцией, выполнена в рамках госзадания ИОНХ РАН, проект Отделения химии и наук о материалах РАН III.5.12. Часть работы, связанная с использованием сверхкритической флюидной хроматографии для анализа состава масла, выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 14-33-00017-П.

Авторы благодарят Д.А. Леменовского (химический факультет МГУ) за предоставленный формиат аммония, а также М. Фогвилла («Waters») за консультации по вопросам совмещения хроматографа Acquity UPC² с масс-спектрометром QDa.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Патент США 4260639 (1981).
2. Araújo J.M.A., Sandi D. Food Chem. 2007. Vol. 101. P. 1087.
3. De Oliveira P.M.A., de Almeida R.H., de Oliveira N.A., Bostyn S., Gonçalves C.B., de Oliveira A.L. J. Supercrit. Fluids. 2014. Vol. 95. P. 137.
4. De Azevedo A.B.A., Kieckbush T.G., Tashima A.K., Mohamed A.S., Mazzafera P., Vieira de Melo S.A.B. J. Supercrit. Fluids. 2008. Vol. 44. P. 186.
5. Lucas S., Cocero M.J. Braz. J. Chem. Eng. 2006. Vol. 23. P. 197.
6. Hurtado-Benavides A., Dorado D.A., Sánchez-Gamargo A. del P. J. Supercrit. Fluids. 2016. Vol. 113. P. 44.
7. Патент США 4328255 (1982).
8. <http://www.byrdwell.com/Triacylglycerols>

EFFECT OF PRESSURE ON THE EFFICIENCY OF SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION OF OIL FROM ROASTED COFFEE BEANS

**^{1,2}O.I. Pokrovskiy, ¹D.I. Prokopchuk, ²M.O. Kostenko, ¹K.B. Ustinovich,
^{1,2}O.O. Parenago, ^{1,2}V.V. Lunin**

¹*Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia*

²*Lomonosov Moscow State University, Chemical Department, Moscow, Russia*

The effect of pressure on the efficiency of the supercritical (SC) fluid extraction of oil from roasted coffee beans is studied. The yield of the target product increased from 6 to 17 % with increasing pressure from 20 to 50 MPa at 80 °C and SC-CO₂ to raw material mass ratio 30 : 1. At 50 MPa temperature has virtually no effect on the yield of oil. A method for qualitative analysis of the extract using SC fluid chromatography / mass spectrometry was developed. It provides with a rapid comparison of black coffee extracts, as well as a qualitative triglyceride composition of the lipid fraction of oil.

Key words: roasted coffee oil, supercritical fluid extraction, supercritical fluid chromatography, triglycerides.