

С. В. Станкевич (к.с.-х.н., н.с.), Н. К. Лысенко (лаб.)

## ПРИМЕНЕНИЕ АКУСТИЧЕСКОЙ КАВИТАЦИИ ДЛЯ СОКРАЩЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологии Российской Академии наук,  
лаборатория качества и безопасности отдела пищевых систем и биотехнологий  
630501, г. Краснообск, ул. Центральная, 2б; e-mail: sveticstank@yandex.ru

S. V. Stankevich, N. K. Lysenko

## ACOUSTIC CAVITATION'S APPLICATION FOR THE DECREASE OF TIME REQUIRED FOR PROTEIN ACIDIC HYDRIOLYSIS

Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences  
2b, Tsentralnaya Str., 630501, Krasnoobsk, Russia; e-mail: sveticstank@yandex.ru

Представлены результаты исследования влияния трехчасового воздействия акустической кавитации на продолжительность кислотного гидролиза сырья, содержащего белок (пера сельскохозяйственной птицы кур-несушек). Проведено сравнение результатов гидролиза по концентрациям в пробах глицина, серина, гистидина, аланина, пролина, тирозина, треонина, лейцина, изолейцина, триптофана, фенилаланина, аспаргиновой и глутаминовой аминокислот, а также их суммам. Концентрации аминокислот в контрольной и опытных пробах были определены методом высокоэффективной микроколоночной жидкостной хроматографии. Установлено, что после трехчасового воздействия на сырье акустической кавитации, за 6 ч кислотного гидролиза при нагревании до 120 °С удастся превысить уровень концентраций аминокислот, достигаемый за 14 ч стандартного кислотного гидролиза (протекающего также при 120 °С). Продолжительность всего технологического процесса обработки сырья в результате воздействия акустической кавитации была сокращена с 14 до 9 ч. Анализ опытных проб показал, что при переходе от одного к двум часам акустической кавитации общее содержание аминокислот возрастает на 77.80%, при переходе от двух к трем часам – увеличивается еще на 31.30%. В свою очередь, предварительное трехчасовое воздействие на сырье акустической кавитации позволяет на 36.60% превысить общее содержание аминокислот, достигаемое обычным кислотным гидролизом (содержание аминокислот в контрольной пробе).

**Ключевые слова:** акустическая кавитация; аминокислоты; высокоэффективная жидкостная хроматография; кислотный гидролиз; перо кур-несушек; ультразвук.

Дата поступления 14.07.22

In the following article there was demonstrated the decrease of the amount of time required for the acidic hydrolysis of a substance containing protein (plumage of laying hens) from fourteen to six hours due to the impact of acoustic cavitation (caused by the exposure of material to the ultrasound with the power of 100 watts). The results of hydrolysis were compared by the concentrations of glycine, serine, histidine, alanine, proline, tyrosine, threonine, leucine, isoleucine, tryptophan, phenylalanine, aspartic and glutamic acids. The concentrations of amino acids in the control and experimental samples were determined by high performance microcolumn liquid chromatography.. The discovered fact was that the amino acids concentrations level presented in the control sample (after fourteen hours of acidic hydrolysis under the heat of 120 °C) will be exceeded if the experimental sample has endured the impact of three-hour acoustic cavitation (caused by the exposure to the ultrasound with the power of 100 watts), even though acidic hydrolysis's duration is not fourteen, but only six hours. The whole amino acids extraction process's duration was therefore diminished from fourteen to nine hours. According to the experimental samples' analyzes' results, the total amino acids concentration increases on 77.80% after switching from one to two hours of acoustic cavitation's active impact as well as it increases on 31.30% after switching from two to three hours of exposure. Moreover, the 36.60% exceedance of amino acids concentrations presented in the control sample (that endured standard acidic hydrolysis with no exposure to the ultrasound) was achieved with the impact of three-hour acoustic cavitation (caused by the exposure to the ultrasound) before the hydrolysis.

**Key words:** acidic hydrolysis; acoustic cavitation; amino acids; high resolution liquid chromatography; laying hens plumage; ultrasound.

Акустическая кавитация – образование в результате воздействия акустических (в данном случае, ультразвуковых) волн в жидкости полостей, заполненных газом, паром или их смесью (кавитационных пузырей). Дальнейшее сокращение кавитационного пузыря происходит с большой скоростью и сопровождается звуковым импульсом (который при столкновении с твердой поверхностью действует, как гидравлический удар, т.е. ударная волна), тем более сильным, чем меньше газа содержится в пузыре. При необходимой степени развития кавитации поверхность объекта гидролиза будет разрушаться от многократных ударов, возникающих при схлопывании кавитационных пузырей <sup>1-3</sup>.

Целью данной работы было определение влияния акустической кавитации на продолжительность кислотного гидролиза белоксодержащего сырья.

Для осуществления цели были поставлены следующие задачи:

1. Обосновать воздействие явления кавитации на скорость гидролиза полипептидов.
2. Установить влияние акустической кавитации на продолжительность процесса кислотного гидролиза белоксодержащего сырья (пера) с целью получения аминокислот.

Несмотря на то, что по форме реакции гидролиза могут быть отнесены к реакциям первого порядка (поскольку концентрация молекул воды или участвующих в реакции ионов стремится к постоянной величине), по содержанию гидролиз в общем случае является необратимой реакцией второго порядка, что отражается как в уравнениях реакций гидролиза, так и в кинетике самого процесса. Это позволяет также отнести гидролиз к реакциям псевдопервого порядка <sup>4</sup>.

Так, по содержанию реакции первого порядка спонтанны в том смысле, что их течение практически никак не зависит от присутствия молекул других веществ, следовательно, период полураспада исходного вещества практически не определяется его количеством. Напротив, время полураспада для необратимых реакций второго порядка обратно пропорционально количеству исходного вещества, следовательно, скорость реакций второго порядка, к которым может быть отнесен гидролиз, тем выше, чем больше исходное количество вещества <sup>4</sup>.

Таким образом, чтобы достичь тех же концентраций продуктов гидролиза (аминокислот), за меньший промежуток времени, сократив таким образом длительность процесса, необходимо увеличить концентрации исходных веществ (полипептидов). Это увеличит скорость течения гидролиза и таким образом сократит длительность пе-

риода полураспада реакции гидролиза, по, сути, сократив его продолжительность.

Концентрация исходного вещества на условный момент начала гидролиза была увеличена путем предварительного разрушения структуры образца-объекта гидролиза посредством воздействия на его поверхность акустической кавитации. Повреждение структуры поверхности образца ускорило его растворение, в том числе в качестве линейных макромолекул полипептидов, которые и являлись исходным веществом в реакциях гидролиза.

Явление акустической кавитации можно описать как обратимое испарение жидкости в результате того, что в отдельных ее частях давление при распространении акустических волн, становится меньшим либо равным тому значению, которым при данной температуре характеризуется сосуществование жидкой и газовой фаз растворителя (температура, напротив, повышается и становится больше либо равной величине, характеризующей при данном давлении сосуществование газовой и жидкой фазы растворителя) <sup>5</sup>.

Известно, что частично энергия акустических волн (и кинетическая энергия движущихся частей жидкости) переходит в энергию теплового колебания молекул компонентов жидкой фазы, в которой они распространяются. Иначе говоря, кавитация обладает тепловым эффектом. Таким образом, условия установления фазового равновесия достигаются, с одной стороны, в результате теплового эффекта кавитации, а с другой стороны, в результате возникновения разряжения (снижения давления) в отдельных частях жидкости вследствие больших местных скоростей в потоке движущейся капельной (несжимаемой) жидкости, что также обусловлено распространением акустических волн <sup>6,7</sup>.

Тепловой эффект кавитации также связывают с разрядными явлениями на поверхности кавитационных пузырей, возникающими на этапе их сжатия – они связаны с тем, что образующиеся при диссоциации молекул воды гидроксид-анионы вследствие отрицательного заряда обладают избыточной энергией, следовательно концентрируются на поверхности границы раздела фаз, в том числе на поверхности границы раздела фазы насыщенного пара жидкости и жидкой фазы вещества (поверхности кавитационного пузыря) <sup>8</sup>.

Переход энергии акустических колебаний в теплоту обуславливает избыток свободной внутренней энергии в системе. Так, энтальпия системы, которая в своем определении содержит величину свободной внутренней энергии, становится промежуточной между энтальпией жидкой и газовой фазы, что приводит к возникновению фазово-

го перехода. Схлопывание кавитационного пузыря характеризует завершение фазового перехода и возврат энтальпии до уровня жидкой фазы вещества<sup>9</sup>.

Таким образом, при прохождении акустических волн через систему из твердого объекта гидролиза и жидкости-среды гидролиза в ней возникает нагрев и появляются участки разряжения, что приводит к возникновению кавитационных пузырей, схлопывание которых сопровождается образованием ударной волны и через это приводит к повреждению поверхности границы раздела твердой и жидкой фазы, то есть поверхности объекта гидролиза<sup>1, 2, 10</sup>.

В свою очередь, повреждение поверхности объекта гидролиза при акустической кавитации облегчает его растворение в качестве макромолекул полипептидов. В результате того, что на момент условного начала кислотного гидролиза (момент помещения пробы в термостат и начала нагревания до 120 °С) количество полипептидов в пробе, подвергнутой кавитации, было выше, чем в контрольной пробе, которая не подвергалась воздействию акустической кавитации, скорость образования аминокислот в предварительно обработанной пробе была выше, чем в контрольной.

## Материалы и методы

Для установления влияния акустической кавитации на течение кислотного гидролиза были приготовлены пробы белоксодержащего сырья (пера сельскохозяйственной птицы кур-несушек):

проба А, подвергнутая 1 ч акустической кавитации (при мощности акустической волны в 100 Вт/см<sup>3</sup>, достигнутой посредством прибора УЗТА-04,22-ОМ (производство Россия) ) и 6 ч кислотного гидролиза;

проба Б, подвергнутая 2 ч акустической кавитации и 6 ч кислотного гидролиза;

проба В, подвергнутая 3 ч акустической кавитации и 6 ч кислотного гидролиза (табл. 1).

Навески пера массой 1 г растворили в 100 мл разбавленной (1:1) соляной кислоты, поместили сосуд с раствором в холодную водяную баню для предотвращения упаривания раствора. УЗТА-04,22-ОМ закрепили на штативе над раствором. Уровень погружения насадки ультразвукового устройства марки «Волна» регулировали с помощью зажима на штативе. Работа проводилась в вытяжном шкафу.

Кислотный гидролиз был осуществлен по ГОСТ 55569-2013, п.7.2. Были отобраны аликвоты объемом 10 мл растворов проб, их в термостойких виалах поместили в термостат «Binder» (произ-

водство Германия) на 6 ч при нагревании до 120 °С. При проведении гидролиза контрольной пробы, навеска пера массой 0.1 г была растворена в 10.0 мл разбавленной соляной кислоты (1:1), продолжительность гидролиза составила 14 ч при температуре 120 °С

Контрольная проба не подвергалась предварительной обработке ультразвуком, не испытывала воздействие акустической кавитации (табл. 1).

Таблица 1

Схема эксперимента

| Параметр гидролиза                     | Проба    |     |     |     |
|----------------------------------------|----------|-----|-----|-----|
|                                        | Контроль | А   | Б   | В   |
| Продолжительность гидролиза при 120 °С | 14 ч     | 6 ч | 6 ч | 6 ч |
| Продолжительность обработки            | 0 ч      | 1 ч | 2 ч | 3 ч |

*Примечание: в качестве среды проведения гидролиза в пробах А, Б, В и контрольной пробе был применен раствор соляной кислоты 1:1.*

С целью снижения влияния теплового эффекта кавитации на самопроизвольное преждевременное начало гидролиза (до помещения в термостат и начала нагревания до 120 °С), в процессе предварительной обработки ультразвуком пробы охлаждались в водяной бане с постоянной циркуляцией воды комнатной температуры.

Концентрации аминокислот были определены методом высокоэффективной жидкостной микроколоночной хроматографии на хроматографе «Милихром А-02» (производство Россия) при длинах волн 240 нм (опорный канал) и 260 нм (длина волны разметки пиков). Для качественного и количественного определения аминокислот посредством оптического детектора, установленного в хроматографе, было необходимо в процессе подготовки проб произвести их дериватизацию с фенилизотиоцианатом (производство Германия).

Дериватизация аминокислот была осуществлена по ГОСТ 55569-2013, п.7.3. Аликвоты гидролизатов проб объемом 0.05 мл поместили в стеклянные бюксы, досуха упарили в струе теплого воздуха. Затем были добавлены 0.15 мл раствора карбоната натрия с концентрацией 0.1 моль/л и 0.30 мл раствора фенилизотиоцианата. После повторного упаривания осадки аминокислот растворяли в 0.5 мл дистиллированной воды и анализировали.

## Результаты и обсуждение

Поскольку все опытные пробы (А, Б, В) находились в течение кислотного гидролиза в одинаковых условиях (6 ч нагревания до 120 °С

Содержание аминокислот в контрольной и опытной пробах, г/ 100 г

| Аминокислоты | Проба                       |             |             |               |
|--------------|-----------------------------|-------------|-------------|---------------|
|              | Контроль                    | А           | Б           | В             |
|              | Концентрация, г/100 г сырья |             |             |               |
| Asp          | 4.430±0.078                 | 3.640±0.064 | 4.550±0.107 | 5.020±0.058** |
| Glu          | 6.420±0.177                 | 2.380±0.055 | 5.180±0.073 | 7.090±0.193   |
| Ser          | 2.900±0.050                 | 3.820±0.051 | 4.030±0.119 | 4.590±0.082*  |
| Gly          | 0.550±0.007                 | 0.950±0.010 | 1.220±0.035 | 1.970±0.054*  |
| His          | 4.300±0.105                 | 6.540±0.124 | 8.840±0.121 | 9.260±0.302*  |
| Ala          | 1.560±0.024                 | 2.990±0.058 | 3.010±0.168 | 3.130±0.074*  |
| Pro          | 0.970±0.009                 | 0.550±0.011 | 1.480±0.030 | 1.730±0.031*  |
| Tyr          | 16.670±0.327                | 2.030±0.045 | 9.530±0.168 | 18.77±0.041** |
| Ile          | 4.580±0.077                 | 3.100±0.069 | 4.320±0.100 | 5.240±0.070** |
| Phen         | 1.910±0.021                 | 0.600±0.006 | 1.880±0.056 | 1.930±0.132   |
| Lys          | 0.530±0.015                 | 0.000±0.000 | 0.750±0.011 | 0.960±0.025*  |
| Thr          | 3.660±0.061                 | 1.040±0.023 | 5.300±0.135 | 6.210±0.057*  |
| Trp          | 1.860±0.041                 | 0.930±0.020 | 1.880±0.034 | 1.930±0.020   |
| Leu          | 1.380±0.019                 | 1.740±0.028 | 1.920±0.055 | 2.820±0.046*  |
| Сумма        | 51.720                      | 30.310      | 53.890      | 70.650        |

\* Нулевая гипотеза (о том, что различия между концентрациями в пробе В и контрольной пробе случайны) опровергается на 5% уровне значимости ( $P < 0.05$ ).

\*\* Нулевая гипотеза (о том, что различия между концентрациями в пробе В и контрольной пробе случайны) опровергается на 10% уровне значимости ( $P < 0.10$ ).

в растворе соляной кислоты 1:1), то данные эксперимента (табл. 2) свидетельствуют об увеличении концентраций аминокислот в результате увеличения продолжительности предварительной обработки объекта гидролиза ультразвуком, то есть в результате более длительного воздействия на поверхность объекта гидролиза акустической кавитации.

Таким образом, разница в концентрациях аминокислот в пробах А, Б, В (табл. 2) обусловлена различной скоростью течения гидролиза в этих пробах, что напрямую связано с различной продолжительностью предварительного воздействия на поверхность сырья акустической кавитации.

Распространение акустических колебаний в жидкой фазе приводит к возникновению участков разряжения (снижения давления), поскольку в потоке движущейся капельной (несжимаемой) жидкости различными становятся местные скорости, и вещество начинает перемещаться неравномерно. При этом частично энергия акустических колебаний переходит в теплоту, что приводит к росту величины свободной внутренней энергии, вследствие чего энтальпия в этом участке приобретает значение, промежуточное между характерным для газовой и характерным для жидкой фазы. Так начинается фазовый переход – обратимое испарение жидкости в участке разряжения, имеющее форму возникновения кавитационного пузыря. Схлопывание кавитационного пузыря, таким образом, характеризует момент завершения обратимого фазового перехода вследствие возврата давления к нормальной величине, а кроме того, сопровождается образованием ударной волны,

повреждающей поверхность твердого вещества на поверхности границы раздела фаз (поверхность объекта гидролиза – сырья, содержащего белок)<sup>6</sup>.

В отношении природных полимеров это означает разрушение мостиковых связей между параллельными молекулами длинных цепей мономеров. Так, разрушение белковой структуры объекта гидролиза привело к более выраженному течению процессов сольватации молекулами воды – сырье растворилось быстрее, перейдя в раствор в качестве высокомолекулярных соединений (линейных полипептидов).

Гидролиз в общем случае можно отнести к реакциям второго порядка, следовательно, период полураспада для реакции гидролиза обратно пропорционален концентрациям исходных веществ, следовательно, скорость таких реакций прямо пропорциональна их концентрациям. Вследствие множественных гидроударов по поверхности объекта гидролиза, вызванных схлопыванием кавитационных пузырей, повреждалась его структура, что облегчило его растворение, в том числе в качестве макромолекул полипептидов. Это привело к тому, что на условный момент начала гидролиза (момент помещения в термостат и начала нагревания до 120 °С) по сравнению с контрольной пробой, которая не подвергалась предварительной обработке ультразвуком, в опытной пробе концентрация исходного вещества, способного вступить в реакцию гидролиза, была выше, что и привело к более быстрому течению гидролиза, то есть к сокращению его продолжительности<sup>4</sup>.

В результате опыта было установлено, что уровень концентраций аминокислот, представленный в контрольной пробе, подвергнутой нагреванию в течение 14 ч, можно повысить на 36.60% за 6 ч нагревания, если предварительно обработать объект гидролиза ультразвуком в течение 3 ч.

Продолжительность всего процесса получения аминокислот, таким образом, была сокращена с 14 до 9 ч. Таким образом, с помощью явления акустической кавитации можно сократить продолжительность гидролиза.

## Литература

1. Аверина Ю.М., Моисеева Н.А., Ныrkov Н.П., Шуvalov Д.А., Курбатов А.Ю. Свойства и эффекты кавитации // Успехи в химии и химической технологии. – 2018. – Т.32, №14. – С.37-39.
2. Капустин С.В., Красуля О.Н. Применение ультразвуковой кавитации в пищевой промышленности // Интерактивная наука. – 2016. – №2. – С.101-103.
3. Gerold B., Kotopoulis S., Mcdougall C., Mclgloin D., Postema M. et al. Lasernucleated acoustic cavitation in focused ultrasound // Review of Scientific Instruments. – 2011. – V.82, №4. – P.044902.
4. Гусейнов Р.М., Раджабов Р.А. Кинетика химических реакций первого и второго порядка // Химические науки. – 2021. – Т.15, №2. – С.5-8.
5. Виноградов В.Е. Подавление центров кавитации в воде при импульсном растяжении // Письма в журнал технической физики. – 2009. – Т.35, №2. – С.1-7.
6. Котухой А.В., Красовский А.В., Шаплыко В.В., Дежкуннов Н.В. Исследование зависимости активности кавитации от температуры жидкости // Доклады Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники. – 2015. – №6 (92). – С.36-40.
7. Suslick K.S., Didenko Y., Fang M.M., Hyeon T., Kolbeck K.J., McNamara III W.B., Mcleleni M.M., Wong M. Acoustic cavitation and its chemical consequences // Philosophical Transactions of the royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences. – 1999. – V.357, №1751. – Pp.335-353.
8. Федоткин И.М. О возможностях получения избыточной энергии при кавитации // Вопросы получения энергии. – 2009. – Т.9, №2(34). – С.52-64.
9. Zijlstra A. Acoustic Surface Cavitation. – Twente: Physics of Fluids, University of Twente, 2011. – 149 p.
10. Промтов М.А. Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов // Вестник ТГТУ. – 2008. – Т.14, №4. – С.861-869.

## References

1. Averina Yu.M., Moiseeva N.A., Nyrkov N.P., Shuvalov D.A., Kurbatov A.Yu. *Svoystva i efekty kavitatsii* [Properties and effects of cavitation]. *Uspekhi v khimii i khimicheskoy tekhnologii* [Advances in chemistry and chemical technology], 2018, vol.32, no.14, pp.37-39.
2. Kapustin S.V., Krasulya O.N. *Primenenie ul'trazvukovoy kavitatsii v pishchevoy promyshlennosti* [The use of ultrasonic cavitation in the food industry]. *Interaktivnaya nauka* [Interactive Science], 2016, no.2, pp.101-103.
3. Gerold B., Kotopoulis S., Mcdougall C., Mclgloin D., Postema M. et al. [Lasernucleated acoustic cavitation in focused ultrasound]. *Review of Scientific Instruments*, 2011, vol.82, no.4, p.044902.
4. Guseynov R.M., Radzhab A. R. *Kinetika khimicheskikh reaktsiy pervogo i vtorogo poryadka* [Chemical Reactions Kinetics of the First and Second Order]. *Khimicheskie nauki* [Chemical Science], 2021, vol.15, no.2, pp.5-8.
5. Vinogradov V.E. *Podavlenie tsentrov kavitatsii v vode pri impul'snom rastyazhenii* [Suppression of cavitation centers in water under pulsed tension]. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki* [Journal of Experimental and Theoretical Physics Letters], 2009, vol.35, no.2, pp.1-7.
6. Kotukhoy A.V., Krasovskiy A.V., Shaplyko V.V., Dezhkunov N.V. *Issledovanie zavisimosti aktivnosti kavitatsii ot temperatury zhidkosti* [Study into dependence of cavitation activity on liquid temperature]. *Doklady Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta informatiki i radioelektroniki* [Reports of the Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics], 2015, no.6(92), pp.36-40.
7. Suslick K.S., Didenko Y., Fang M.M., Hyeon T., Kolbeck K.J., McNamara III W.B., Mcleleni M.M., Wong M. [Acoustic cavitation and its chemical consequences]. *Philosophical Transactions of the royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 1999, vol.357, no.1751, pp.335-353.
8. Fedotkin I.M. *O vozmozhnostyakh polucheniya izbytochnoy energii pri kavitatsii* [On the possibilities of obtaining excess energy during cavitation]. *Voprosy polucheniya energii* [Issues of Energy Production], 2009, vol.9, no.2(34), pp.52-64.
9. Zijlstra A. [Acoustic Surface Cavitation]. Twente, Physics of Fluids, University of Twente, 2011, 149 p.
10. Promtov M.A. *Perspektivy primeneniya kavitacionnykh tekhnologiy dlya intensivifikatsii khimiko-tehnologicheskikh protsessov* [Prospects of Cavitation Technologies Application for Intensification of Chemical Technological Processes]. *Vestnik TGTU* [Transactions TGTU], 2008, vol.14, no.4, pp.861-869.