

МОДЕЛИРОВАНИЕ И ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ОБОГАЩЕННЫХ АНТИОКСИДАНТАМИ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ЯБЛОК НА ОСНОВЕ НЕИОНОГЕННЫХ ЭМУЛЬГАТОРОВ

Л.Н. Скрытник, А.Е. Новикова

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Калининград, Россия

Яблоки относятся к наиболее потребляемым во всем мире фруктам и являются ценным источником биологически активных соединений, таких как флавоноиды, фенольные кислоты, каротиноиды, минеральные элементы и витамины [1]. В мире ежегодно производится около 70 миллионов тонн яблок [2], значительное количество (около 30 %) которых подвергается промышленной переработке, главным образом для производства соков. Во время этого процесса накапливается большой объем твердых остатков, состоящий в основном из кожуры, семян и мякоти, которые в совокупности известны как «яблочный жмых», который в среднем составляет приблизительно 25–30 % от веса свежих фруктов [3]. Использование этих отходов для производства ценных биопродуктов имеет как экономическое, так и экологическое значение. В настоящее время разрабатываются различные варианты использования отходов переработки яблок. Например, яблочный жмых можно использовать в качестве субстрата для микробиологического производства карбоновых кислот, ферментов, биотоплива, биополимеров и для непосредственного извлечения из них биологически активных соединений, например, полифенолов, обладающих выраженным антиоксидантным действием [4]. Полифенолы преимущественно локализованы в кожуре яблок и, следовательно, их большая часть остается в яблочном жмыхе [5]. В настоящее время для экстракции полифенолов и антиоксидантов из отходов переработки яблок используются различные методы, как традиционные – мацерация, перемешивание, встряхивание [6], так и современные методы, относящиеся к методам «зеленой химии» – экстракция с помощью ультразвука, микроволновая экстракция, сверхкритическая флюидная экстракция [7]. Одним из перспективных направлений в экстракции полифенолов и других водорастворимых антиоксидантов из растительных объектов является мицеллярная экстракция, основанная на использовании в качестве экстрагентов растворов поверхностно-активных веществ. Ранее в ряде исследований было показано, что использование ПАВ (особенно неионогенных) повышает эффективность экстракции полифенолов из различных объектов растительного происхождения [8–10].

Цель исследования – оптимизация процесса мицеллярной экстракции антиоксидантов из отходов переработки яблок с использованием статистического плана Бокса-Бенкена.

В качестве объекта исследования использовали высушенный до постоянного веса при 60 °С и измельченный жмых яблок сорта Чемпион. Для проведения экстракции навеску яблочного жмыха (200 мг) помещали в пробирку типа «Фалькон», добавляли соответствующий объем экстрагента (8–24 мл) с концентрацией ПАВ от 0,1 до 1,9 % и pH от 2,0 до 6,0. В качестве ПАВ в данном исследовании использовался Твин-80 (синоним Полисорбат-80). Экстракция осуществлялась в течение определённого времени (от 40 до 80 минут) при постоянном перемешивании (Multi Bio RS-24, Biosan, Латвия). Исследуемые диапазоны параметров экстракции были подобраны в предварительных однофакторных экспериментах. После экстракции смесь центрифугировали при 6000g в течение 30 минут, супернатант использовали для анализа. Эффективность экстракции антиоксидантов оценивали по способности полученных экстрактов восстанавливать радикал 2,2 – дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) спектрофотометрическим методом согласно [11].

Таблица 1 – Переменные факторы и уровни их варьирования				
Обозначение фактора	Фактор	Уровни		
		–1	0	+1
X ₁	Концентрация ПАВ, %	0,1	1,0	1,9
X ₂	Время, мин	40	60	80
X ₃	Модуль, мл/г	40	80	120
X ₄	pH	2,0	4,0	6,0

Дизайн эксперимента проводили по статистическому 3-х уровневому 4-х факторному плану Бокса-Бенкена с использованием программного обеспечения Minitab 19 (MINITAB Inc., США). Бокс-Бенкен дизайн относится к группе методов, основанных на расчёте поверхностей отклика и позволяющих

проводить исследования по оптимизации условий с наименьшим количеством экспериментов по сравнению с другими статистическими подходами [12]. Переменные факторы и уровни их варьирования при экстракции антиоксидантов представлены в таблице 1.

Экспериментальный план состоял из 27 опыта с тремя центральными точками. Каждый опыт проводили в трех повторностях. В таблицах и на рисунках приведены средние значения антиоксидантной активности, выраженные на грамм сухого веса яблочного жмыха.

В результате проведенного исследования получены регрессионные уравнения зависимости концентрации антиоксидантов (Y) от факторов экстракции (X_1 - X_4 согласно таблице 1):

$$Y = -4.996 + 0.958 \cdot X_1 + 0.1356 \cdot X_2 + 0.04223 \cdot X_3 + 0.5214 \cdot X_4 - 0.5802 \cdot X_1 \cdot X_1 - 0.001134 \cdot X_2 \cdot X_2 - 0.000223 \cdot X_3 \cdot X_3 - 0.06656 \cdot X_4 \cdot X_4 + 0.00861 \cdot X_1 \cdot X_2 + 0.00062 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0.0639 \cdot X_1 \cdot X_4 + 0.000006 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0.000125 \cdot X_2 \cdot X_4 + 0.000750 \cdot X_3 \cdot X_4$$

С помощью этого уравнения были получены расчетные значения выхода антиоксидантов в процессе экстракции при заданных параметрах. Сравнение экспериментального и расчетного отклика было проведено с помощью коэффициента детерминации R^2 , а также значения $P_{\text{lack-of-fit}}$. Коэффициент детерминации R^2 показывает корреляцию данных, полученных по уравнению, с данными, которые были получены экспериментально. $P_{\text{lack-of-fit}}$ в свою очередь показывает соответствие экспериментальных данных своей математической модели. Если $P_{\text{lack-of-fit}}$ принимает значения больше 0,05, то опытные данные соответствуют проверяемой модели. Значения R^2 равное 0,9857 (рис. 1) и $P_{\text{lack-of-fit}}$ равное 0,15 подтверждают соответствие данных математической модели и ее возможность объяснить 98,57 % дисперсии.

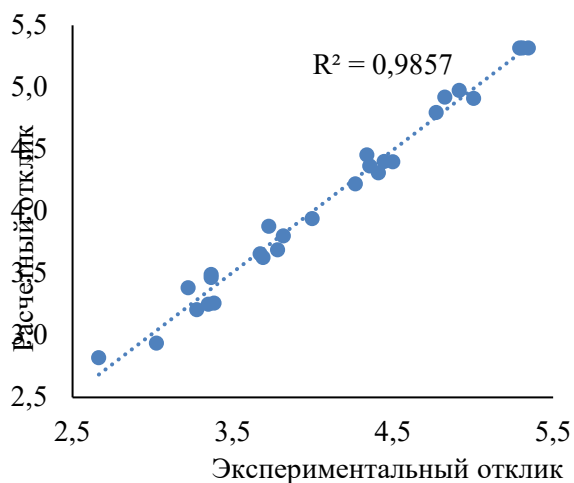


Рисунок 1 – Корреляция экспериментальных и расчетных данных экстракции антиоксидантов из яблочного жмыха

На основе уравнений регрессии построены поверхности отклика, которые представлены на рисунке 2.

Исходя из полученного уравнения регрессии и поверхностей отклика, были рассчитаны оптимальные условия мицеллярной экстракции антиоксидантов из яблочного жмыха: концентрация Твин-80–1,1 %; время – 64 мин; модуль – 1:100; pH 3,9.

Для подтверждения эффективности мицеллярной экстракции при извлечении антиоксидантов были проведены контрольные эксперименты, в которых в качестве экстрагента использовали 60 % раствор метанола, который согласно литературным данным наиболее часто применяется для экстракции антиоксидантов из растительного сырья. В результате данных опытов было установлено, что антиоксидантная активность экстрактов, полученных с использованием Твин-80 была в 1,6–1,8 раз выше.

Проведенные нами исследования показали, что одним из возможных путей интенсификации процесса экстракции биологически активных компонентов с антиоксидантным действием из растительного сырья является использование в качестве растворителей водных растворов поверхностно-активных веществ. Полученные нами результаты согласуются с проведенными ранее исследованиями, в которых была показана эффективность использования ПАВ для выделения фитокомпонентов различной химической природы, в частности полисахаридов, лектинов, алкалоидов, антрахинонов, изофлавонов, гидроксикоричных кислот, суммы фенольных соединений и антиоксидантов [13–15]. Несмотря на то, что ряд авторов придерживается мнения, что поверхностно-активные вещества являются «эко-дружелюбными» [13, 15], многие из этих соединений все-таки являются опасными для здоровья человека и окружающей среды [16]. В связи с тем, что получаемые из отходов переработки яблок экстракты с высоким содержанием антиоксидантов предполагается использовать в пищевой, косметической и / или фармацевтической промышленности в данной работе в качестве возможных растворителей изучали водные растворы Твин-80. Данное соединение активно используется в пищевой промышленности в качестве эмульгатора, в частности Твин-80 является допустимой пищевой добавкой (E433) и разрешен к использованию на территории России и Евросоюза. Предложенная технология экстракции с использованием водного раствора Твин-80 в качестве растворителя позволяет получать экстракты с высоким содержанием антиоксидантов, которые подходят для применения в пищевых, косметических и фармацевтических продуктах, требующих одновременного наличия в своем составе как антиоксидантов, так и эмульгаторов для их стабилизации.

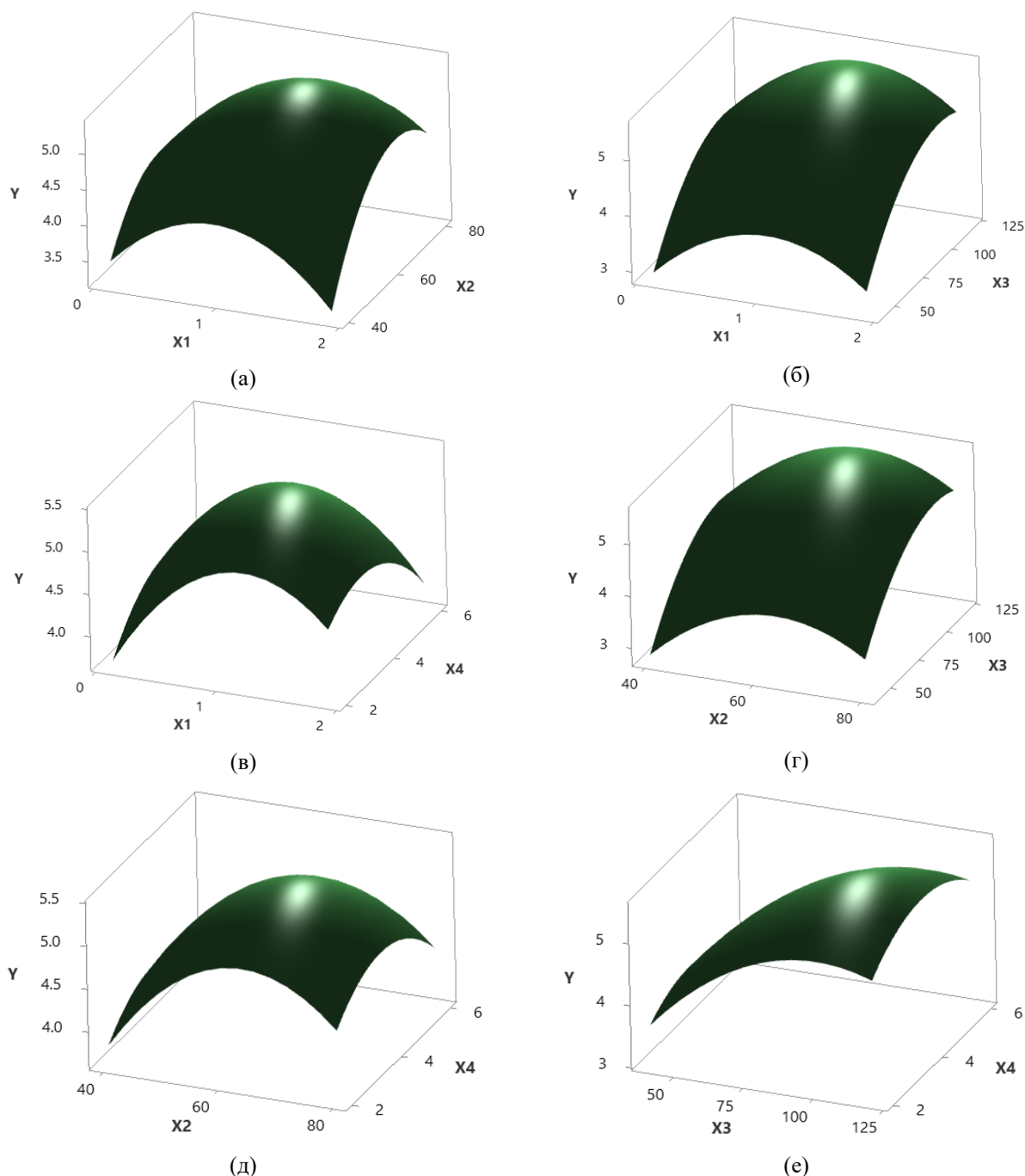


Рисунок 2 – Поверхности отклика, описывающие зависимость антиоксидантной активности экстрактов (Y) от исследуемых параметров: (а) концентрации Твин-80 (%) и времени (мин), (б) концентрации Твин-80 (%) и модуля (мл/г), (в) концентрации Твин-80 (%) и pH, (г) времени (мин) и модуля (мл/г), (д) времени (мин) и pH, (е) модуля (мл/г) и pH

Таким образом, в ходе проведенного исследования было показано, что применение мицеллярной экстракции с использованием в качестве растворителя водного раствора Tween 80 позволяет эффективно экстрагировать антиоксиданты из яблочного жмыха без использования дополнительного оборудования (ультразвуковых, микроволновых установок) с сопоставимым выходом целевого продукта. При этом полученное в ходе работы регрессионное уравнение экстракционного процесса, показывающее количественное влияние каждого фактора на выход антиоксидантов в процессе экстракции, позволяет управлять этим процессом и добиваться наибольшей эффективности.

Исследование было поддержано в рамках реализации Программы повышения конкурентоспособности БФУ им. И. Канта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Malinowska M., Śliwa K., Sikora E., Ogonowski J., Oszmiański J., Kolniak-Ostek J. Ultrasound-assisted and micelle-mediated extraction as a method to isolate valuable active compounds from apple pomace // *J. Food Process. Preserv.* 2018. Vol. 42. e13720.
2. Massias A., Boisard S., Baccaunaud M., Calderon F.L., Subra-Paternault P. Recovery of phenolics from apple peels using CO₂+ ethanol extraction: Kinetics and antioxidant activity of extracts // *J. Supercrit. Fluids.* 2015. Vol. 98. P. 172–182.
3. Cargnin S.T., Gnoatto S.B. Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties // *Food Chem.* 2017. Vol. 220. P. 477–489.
4. Yates M., Gomez M.R., Martin-Luengo M.A., Ibañez V.Z., Serrano A.M.M. MultivalORIZATION of apple pomace towards materials and chemicals. Waste to wealth // *J. Cleaner Prod.* 2017. Vol. 143. P. 847–853.
5. Skinner R.C., Gigliotti J.C., Ku K.M., Tou J.C. A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace // *Nutr. Rev.* 2018. Vol. 76. P. 893–909.
6. Candrawinata V.I., Golding J.B., Roach P.D., Stathopoulos C.E. Optimisation of the phenolic content and antioxidant activity of apple pomace aqueous extracts // *CyTA-J. Food.* 2015. Vol. 13. P. 293–299.
7. Zhang Z., Poojary M.M., Choudhary A., Rai D.K., Tiwari B.K. Comparison of selected clean and green extraction technologies for biomolecules from apple pomace // *Electrophoresis.* 2018. Vol. 39. P. 1934–194.
8. Sharma S., Kori S., Parmar A. Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices // *Food Chem.* 2015. Vol. 185. P. 284–288.
9. Cortés-Rojas D.F., Souza C.R.F., Oliveira W.P.D. Surfactant mediated extraction of antioxidants from *Syzygium aromaticum* // *Sep. Sci. Technol.* 2015. Vol. 50. P. 207–213.
10. Skrypnik L., Novikova A. Response Surface Modeling and Optimization of Polyphenols Extraction from Apple Pomace Based on Nonionic Emulsifiers // *Agronomy.* 2020. Vol. 10. 92.
11. Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N., Skrypnik, L. Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at Different Growth Stages // *Antioxidants.* 2019. Vol. 8. 237.
12. Jeganathan P.M., Venkatachalam S., Karichappan T., Ramasamy S. Model development and process optimization for solvent extraction of polyphenols from red grapes using Box–Behnken design // *Preparative Biochemistry and Biotechnology.* 2014. Vol. 44. N. 1. P. 56–67.
13. Ziyatdinova G., Ziganshina E., Cong P.N., Budnikov H. Ultrasound-assisted micellar extraction of phenolic antioxidants from spices and antioxidant properties of the extracts based on coulometric titration data // *Analytical Methods.* 2016. Vol. 8. N. 39. P. 7150–7157.
14. He S., Shi J., Walid E., Ma Y., Xue S.J. Extraction and purification of a lectin from small black kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) using a reversed micellar system // *Process Biochem.* 2013. Vol. 4. P. 746–752.
15. Takla S.S., Shawky E., Hammada H.M., Darwish F.A. Green techniques in comparison to conventional ones in the extraction of Amaryllidaceae alkaloids: Best solvents selection and parameters optimization // *J. Chromatogr. A.* 2018. 1567. 99–110.
16. Lechuga M., Fernández-Serrano M., Jurado E., Núñez-Olea J., Ríos F. Acute toxicity of anionic and non-ionic surfactants to aquatic organisms // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2016. Vol. 125. P. 1–8.