

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА

OPTIMIZATION OF THE ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF FLAVONOIDS FROM HAWTHORN FRUITS

*L. Skrypnik
I. Melnichuk*

Summary. The optimal conditions for hydroalcoholic ultrasound-assisted extraction of flavonoids from hawthorn fruits using the Box-Behnken statistical design were established. The maximum yield of flavonoids (0,74%) was determined at temperature — 36 °C, ethanol concentration — 68%, solid: solvent ratio — 1:82, time — 37 min. Based on the experimental data the regression equations were calculated in order to correlate the relationship between the yield of flavonoids and studied factors. The coefficient of determination (R²) was 0.9924.

Keywords: hawthorn, ultrasonic extraction, flavonoids, Box-Behnken design, response surface.

Скряпник Любовь Николаевна

К.б.н., доцент, Балтийский федеральный университет им. И. Канта
LSkrypnik@kantiana.ru

Мельничук Ирина Петровна

Балтийский федеральный университет им. И. Канта
i.melnichuk95@mail.ru

Аннотация. С использованием статистического плана Бокса-Бенкена подобраны оптимальные условия водно-спиртовой ультразвуковой экстракции флавоноидов из плодов боярышника (температура — 36 °C, концентрация этанола 68%, соотношение сырья к экстрагенту — 1:82, время — 37 мин), обеспечивающие максимальный выход флавоноидов (0,74%). Рассчитано уравнение регрессии, отражающее зависимость выхода флавоноидов от факторов экстракции. Коэффициент детерминации (R²) составил 0,9924.

Ключевые слова: боярышник, ультразвуковая экстракция, флавоноиды, план Бокса-Бенкена, поверхность отклика.

Введение

В последнее время для интенсификации экстракции различных биологически активных веществ из растительного материала применяют метод ультразвуковой экстракции. Использование ультразвука позволяет не только значительно ускорить производственный процесс, но и увеличить по сравнению с другими способами экстрагирования основного продукта. Как правило, это обусловлено увеличением коэффициента массопереноса и величины межфазной поверхности [1, 2].

Плоды боярышника являются ценным источником флавоноидов (например, гиперозида, кверцетина, ви-тексина), которые и обуславливают его фармакологическую эффективность в качестве кардиотонического средства [3–5].

Актуальность данного исследования обусловлена тем, что практическое применение ультразвуковой экстракции для извлечения флавоноидов боярышника осваивается очень скудно, а эффективность ее применения для ускорения и интенсификации последних очевидна. Учитывая это, целью исследования является оптимизация условий ультразвуковой экстракции флавоноидов из плодов боярышника.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали высушенные при 60°C плоды боярышника (*Crataegus oxyacantha* L.), собранные в период с октября по ноябрь 2017–2018 г. Дизайн эксперимента проводили по статистическому 3-х уровневому 4-х факторному плану Бокса-Бенкена. Факторы и уровни их варьирования представлены в таблице 1. В качестве источника ультразвуковых колебаний использовали аппарат UPH 50 (Hielscher Ultrasonics, Германия), частота колебаний составила 30 кГц, мощность — 50 Вт.

Эффективность экстракции оценивали по суммарному содержанию флавоноидов, которое определяли методом дифференциальной спектрофотометрии с комплексообразователем (2% спиртовой раствор AlCl₃). В качестве раствора сравнения использовали стандартный раствор гиперозида. Оптическое поглощение исследуемых растворов измеряли при длине волны 412 нм (UV-3600, Shimadzu, Япония) [6].

Для определения оптимальных условий была выбрана квадратичная математическая модель, которую искали в виде полиномиального уравнения (1) второго порядка [7]:

Таблица 1. Исследуемые факторы процесса экстракции и уровни их варьирования

Фактор	Обозначение	Уровни варьирования факторов		
		нижний	основной	верхний
1. Температура, °C	X1	20	40	60
2. Концентрация этанола,%	X2	50	70	90
3. Соотношение сырье: этанол, г/мл	X3	1:50	1:100	1:150
4. Время, мин	X4	30	45	60



Рис. 1. Сравнение экспериментального и модельного откликов

$$\begin{aligned}
 Y = & \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \\
 & + \sum_i \sum_{i < j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j + e_i
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

Где, Y — функция отклика; $x_{i,j}$ — независимыми переменными (факторы процесса); $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ — коэффициенты регрессии.

Прогностическую силу модели оценивали по коэффициенту детерминации R^2 на основе дисперсионного анализа. Статистическую обработку результатов про-

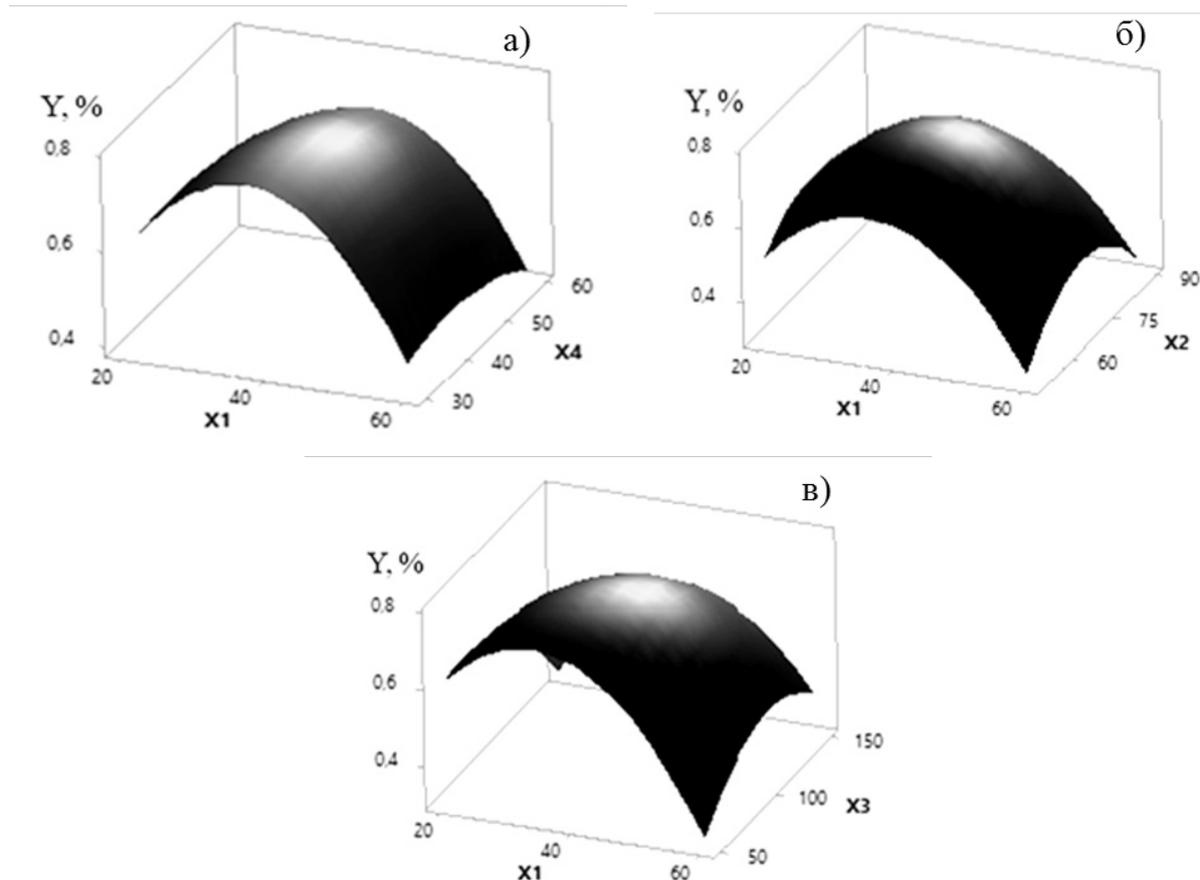


Рис. 2. Поверхности отклика, отражающие зависимость выхода флавоноидов (Y,%) от а) температуры (X1) и времени (X4); б) температуры (X1) и концентрации этанола (X2) в) температуры (X1) и соотношения сырья к экстрагенту (X3)

изводили в программном обеспечении Minitab 18 18 (MINITAB Inc., США) при заданном уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

План Бокса-Бенкена позволил провести 24 опыта, в каждом из которых факторы экстракции варьировались на трех уровнях. После проведения каждого опыта в трех последовательностях были получены значения экспериментального отклика $Y_{\text{эксп}}$ (%). На основании данных экспериментального отклика был проведен дисперсионный анализ, получены коэффициенты регрессии и уравнение для расчета модельного отклика $Y_{\text{мод}}$ (%):

$$\begin{aligned}
 Y_{\text{мод}}(\%) = & -0,785 + 0,01954X_1 + 0,03745X_2 + \\
 & + 0,00015X_3 - 0,00027X_4 - 0,000512X_1^2 - \\
 & - 0,000275X_2^2 - 0,000025X_3^2 + 0,000005X_4^2 + 0,0001X_1X_2 + \\
 & + 0,000089X_1X_3 + 0,000056X_1X_4 - 0,000007X_2X_3 - \\
 & - 0,000089X_2X_4 + 0,000017X_3X_4
 \end{aligned} \quad (2)$$

По данным дисперсионного анализа коэффициент детерминации (R^2) составил 0,9924, что указывает на высокую корреляцию между экспериментальным и модельным откликом. Сравнение экспериментального и модельного отклика представлено на рисунке 1, подтверждающее адекватность выбранной модели.

Влияние факторов экстракции на выход флавоноидов проводили на основании анализа полученных поверхностей отклика (Рисунок 2).

Как видно из представленных на рисунке 2а данных с увеличением температуры и времени проведения экстракции выход флавоноидов постепенно возрастал. Однако максимальное воздействие этих двух факторов не привело к максимальному выходу. Повышение температуры свыше 36 °С и времени экспозиции свыше 37 мин значительно снижало выход флавоноидов. Существенное уменьшение выхода флавоноидов при повышении температуры можно объяснить образованием газовых пузырьков на границе раздела сырье-экстрагент, в результате интенсивность передачи ультразвуковой энергии значи-

тельно уменьшается [8]. Оптимальный температурный режим, таким образом, составил 36 °С, а время экстракции — 37 мин.

На рисунке 2б видно, что увеличение концентрации этанола положительно влияло на выход флавоноидов, однако увеличение концентрации этанола свыше 68% приводит данный процесс в обратную сторону. Следует отметить, что увеличение концентрации этанола способно оказывать значительно влияние на стабильность комплекса флавоноидов с хлоридом алюминия, реакцию образования которого использовали для их спектрофотометрического определения [9].

Рис. 2.в демонстрирует, что наиболее полное извлечение флавоноидов происходило при соотношении сы-

рья и экстрагента 1:82. Дальнейшее увеличение этого соотношения не привело к повышению выхода флавоноидов.

Исходя из полученных уравнений регрессии и поверхностей отклика, были рассчитаны оптимальные условия ультразвуковой экстракции флавоноидов из плодов боярышника: температура — 36 °С, концентрация этанола 68%, соотношение сырья к экстрагенту — 1:82, время — 37 мин. При данных значениях наблюдался максимальный выход флавоноидов — 0,74%.

Таким образом, были проведены исследования по применению ультразвуковой экстракции для извлечения флавоноидов из плодов боярышника и определены оптимальные условия ее проведения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Потороко И. Ю., Калинина И. В. Перспективы использования ультразвукового воздействия в технологии экстракционных процессов // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2014. Т. 2. № 1. С 42–47.
2. Zhang L. et al. Study of ultrasonic cavitation during extraction of the peanut oil at varying frequencies // Ultrasonics sonochemistry. — 2017. — Т. 37. — С. 106–113.
3. Куркин В. А., Морозова Т. В., Правдивцева О. Е. Исследования по разработке методики стандартизации листьев боярышника кроваво-красного // Химия растительного сырья. 2017. № 3. С169–173.
4. Orhan I. E. Phytochemical and pharmacological activity profile of *Crataegus oxyacantha* L. (hawthorn) — A cardiotonic herb // Current medicinal chemistry. 2018. Vol. 25. N. 37. P 4854–4865.
5. Benabderrahmane W., Lores M., Benaissa O., Lamas J. P., de Miguel T., Amrani A., Benayache F., Benayache S. Polyphenolic content and bioactivities of *Crataegus oxyacantha* L. (Rosaceae) // Natural product research. 2019. 1–6. DOI: 10.1080/14786419.2019.1582044.
6. Куркина А. В. Определение содержания суммы флавоноидов в плодах боярышника // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48, № 12. С. 27–30.
7. Jeganathan P. M. et al. Model development and process optimization for solvent extraction of polyphenols from red grapes using Box–Behnken design // Preparative Biochemistry and Biotechnology. 2014. Т. 44. № 1. С. 56–67.
8. Бекетов Е. В., Пахомов В. П., Нестерова О. В. Совершенствование процесса извлечения флавоноидов из плодов черемухи обыкновенной // Химико-фармацевтический журнал. 2005. Т. 39. № 6. С. 33–35.
9. Мечикова Г. Я., Загузова Е. В., Степанова Т. А. Определение суммы флавоноидов в листьях земляники восточной // Дальневосточный медицинский журнал. 2005. № 2. С. 78–81.

© Скрыпник Любовь Николаевна (LSkrypnik@kantiana.ru), Мельничук Ирина Петровна (i.melnichuk95@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»