

УДК 664.8.014/.019

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.2525800>

ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ОТХОДОВ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

**Цымбал И.П., Марченко С.И., Пономарева Л.А., Лялин В.В.,
Шевченко Л. С.**

Одесский национальный политехнический университет, Igortsym60@gmail.com

ОПТИМІЗАЦІЯ ВИДІЛЕННЯ ПОЛІФЕНОЛІВ З ВІДХОДІВ ВИНОРОБНОГО ВИРОБНИЦТВА

**Цимбал І.П., Марченко С.І., Пономарьова Л.А., Лялін В.В.,
Шевченко Л. С.**

Одеський національний політехнічний університет, Igortsym60@gmail.com

OPTIMIZATION OF POLYPHENOLS ISOLATION FROM WASTE OF WINE-HOUSING PRODUCTION

**Tsymbal I.P., Marchenko S.I., Ponomareva L.A., Lyalin V.V.,
Shevchenko L.S.**

Odessa National Polytechnic University, Igortsym60@gmail.com

Резюме (Summary)

В работе изучалась экстракция полифенольных соединений из шкурок винограда сорта Одесский черный водно-спиртовой смесью. Проводились исследования на содержание в экстракте производного стилибена — ресвератрола, а также на содержание в экстрактах антоцианов. Экстракция проводилась при 60° С в течение 40 мин. Установлена зависимость степени извлечения из вторичного сырья ресвератрола и антоцианов от концентрации этанола, температуры экстракции, pH среды, способа обработки сырья. Были определены оптимальные технологические параметры экстракции.

Ключевые слова: экстракция, кожура винограда, ресвератрол, антоцианы.

В роботі вивчалась екстракція полі фенольних сполук з шкірок винограду сорту Одеський чорний водно-спиртовою сумішю. Проводились дослідження на вміст в екстракті похідного стилибену- ресвератролу, а також на вміст в екстрактах антоціанів. Екстракція проводилась при 60°С протягом 40 хвилин. Встановлено, що з підвищенням концентрації етанолу в екстрагенті, з підвищенням температури, при замороженні сировини і при обробці ультразвуком кількість продуктів в екстракті збільшується. При цьому інтенсивніше збільшується вихід з сировини ресвератролу, чим антоціанів. Зменшення pH екстрагенту також веде до збільшення виходу продуктів, але в цьому випадку більш активно виходять з сировини антоціани. Були визначені оптимальні технологічні параметри екстракції.

Ключові слова: екстракція, кожура винограда, ресвератрол, антоціани.

In this work, extraction of polyphenolic compounds from the skins of grapes varieties Odessa black water-alcohol mixture was studied. The content of stilbene derivative — resveratrol — as well as of anthocyanins in the extract was examined.

Extraction was carried out at 60° C for 40 minutes. It was established that the number of products in the extract increases with an increase in the concentration of ethanol in the extractant, with an increase in temperature, during the freezing of raw materials and during sonication. The production of resveratrol from raw materials increases more intensively than anthocyanin production. Reducing the pH of the extractant also leads to an increase in the yield of products, but in this case, anthocyanins more actively leave the raw material. The optimal technological parameters of extraction were determined.

Keywords: *extraction, grape skin, resveratrol, anthocyanins*

Введение

Все больший интерес в Украине и вообще в Европе приобретает лекарственная и парфюмерно-косметическая продукция, пищевые красители растительного происхождения. Это связано как с жесткой регламентацией использования синтетических соединений, так и со стремлением производителей придать продукции статус натуральных.

Жмыхи винограда, получаемые при производстве вина и виноградного сока, являются прекрасным источником получения биологически активных соединений, и по сути являются отходами производства. Они используются как добавка к корму для домашнего скота, но их также можно использовать для получения экстрактов с последующим применением в качестве лекарственных препаратов, пищевых биологически активных добавок, пищевых красителей, косметических средств [1].

Юг Одесской области издавна является виноградарским регионом, проблема эффективной утилизации отходов виноделия и производства соков весьма актуальна.

Экстракт кожуры винограда *Vitis Vinifera* содержит значительные количества биологически активных соединений: органические кислоты — хлорогеновая, кофеиновая, лимонная, яблочная; витамины — С, Е, группы В, каротины, а также обладающие Р-витаминной активностью биофлавоноиды рутин и кверцетин; полифенольные соединения.

Виноград содержит несколько классов полифенолов: антоцианы, флавонолы, катехины и их олигомеры, фенолокислоты, лейкоцианидины. Наибольший интерес, с фармакологической точки зрения представляет производное транс-стильбена — ресвератрол, а также его гликозидные формы. В значительной степени ресвератрол содержится в кожуре темных сортов винограда, гораздо в меньшей степени в светлых сортах [2].

Ресвератрол (рис. 1) используется в фармации как индивидуальное соединение. Он обладает высокими противовоокислительными свойствами. По антиоксидантной активности он превосходит токоферолы, аскорбиновую кислоту, каротины. Также он оказывает ангиопротекторное, гепатопротекторное, нейропротекторное, кардиопротекторное, противовоспалительное действие, обладает противомикробной и противовирусной активностью, снижает уровень сахара в крови [3].

Кроме ресвератрола значительный интерес представляют антоцианы.

Основными антоцианами винограда являются моногликозиды мальвидина (рис. 1), которого в шкурках винограда свыше 50 %, пеонидина, дельфинидина, петунидина, в меньшем количестве — цианидина и ацилированные моногликозиды пеонидина и мальвидина.

У большинства темных сортов винограда антоцианы содержатся в кожуре

ре. Антоцианы обладают антиоксидантной, бактерицидной, противовирусной активностью. Обладают высокой капилляропротекторной активностью [4]. В ряде работ описываются противовоспалительные [5] и кардиопротекторные [6] свойства антоцианов.

Важнейшим свойством полифено-

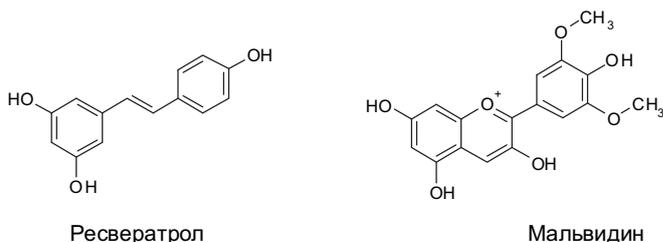


Рис. 1 Структурные формулы экстрагируемых соединений.

лов является синергизм с витаминами, проявляющими антиоксидантную активность [7].

Цель работы

Изучить возможность экстракции полифенольных соединений из жмыхов винограда сорта Одесский черный, а также определить оптимальные условия экстракции.

Материалы и методы

В работе исследовались жмыхи винограда сорта Одесский черный, оставшиеся после получения виноматериала. Жмыхи специально не высушивались до потери влаги, а только слегка подсушивались для удобства работы.

В качестве экстрагента использовалась водноспиртовая смесь, подкисленная соляной кислотой. Учитывая, что расход сырья абсолютно не лимитировал выход продукта, расход растворителя, температуру и время экстракции пытались минимизировать. Для экстракции брали 20 г сырья, к которому добавляли 30 мл растворителя. Эк-

стракция проводилась при температуре 60° С, на водяной бане в течение 40 мин., без перемешивания, методом мацерации.

Оптическую плотность растворов (А) измеряли на спектрофотометре СФ-46. Полученные экстракты разбавлялись спиртом в 5 раз. Измерения проводились при длинах волн 307 нм — λ_{\max} для ресвератрола, и 516 нм — λ_{\max} для антоцианов (мальвидина) в этанольном растворе [8].

Изучалось влияние на результаты экстракции концентрации этанола, рН раствора, температуры, однократного замораживания — размораживания сырья. Кроме этого изучалось влияние ультразвуковой обработки, которая проводилась с помощью лабораторного ультразвукового диспергатора УЗДН-А на частоте 22 кГц, с выходной мощностью 95 Вт.

Результаты и их обсуждение

После получения экстракта был проведен качественный анализ на ресвератрол. Антоцианы сорбировали и осадили тальком. После этого были получены положительные результаты реакций с 1 % раствором ванилина в концентрированной серной кислоте; с 8 % раствором гидроксида натрия и раствором диазотированной сульфаниловой кислоты; с анисовым альдегидом в присутствии концентрированной серной кислоты.

Кроме этого наблюдается интенсивное поглощение при 307 нм (λ_{\max} для ресвератрола). Некоторый вклад в оптическую плотность раствора вносят катехины и флавонолы, которые хоть и незначительно, но все же поглощают при этой длине волны.

Исследование влияния concentra-

ции этанола в растворе экстрагента представлены в таблице 1. В качестве относительной меры интенсивности экстракции продуктов используется величина оптической плотности растворов (A). Значения pH растворов здесь и ниже 5,1 — 5,3.

Как видно из таблицы повышение концентрации спирта приводит к усилению экстракции. Как правило, чтобы увеличить выход при использовании невысоких концентраций экстрагента, увеличивают время экстракции.

Предварительное замораживание сырья, рекомендованное авторами [1] должно увеличить выход продукта за счет разрушения клеточной стенки.

Результаты представлены в таблице 2. Жмыхи охлаждали при -18° С.

Из таблицы видно, что замораживание увеличивает выход продуктов, причем практически в одинаковой степени как для ресвератрола, так и для антоцианов.

Ультразвуковую обработку сырья с растворителем проводили на частоте 22 кГц при выходной мощности 95 Вт в течение 2 минут. Результаты обработки приведены в таблице 3.

Результаты показывают, что ультразвуковая обработка также увеличивает выход продуктов, хотя и несколько меньше чем при заморозке. Этот ре-

зультат можно повысить, увеличив мощность или время обработки, но учитывая, что при максимальной выходной мощности прибора 130 Вт он потребляет не более 300 Вт, можно сказать ультразвуковая обработка энергетически гораздо экономичнее, чем заморозка. Коэффициент увеличения выхода продуктов практически совпадает с таковым при заморозке.

Влияние температуры экстракции на выход продуктов представлено в таблице 4. Экстракция проводилась 60 % этанолом

Повышение температуры до 70 градусов приводит к некоторому увеличению выхода продуктов, причем приблизительно одинаково для ресвератрола и антоцианов. Дальнейшее увеличение, наоборот снижает выход.

В работе изучалось влияние pH на

Таблица 1

Зависимость оптической плотности (A) от концентрации этанола в экстрагенте при pH = 5,3

Концентрация спирта (%)	50	60	70
A (307нм)	0,655 ± 0,007	0,855 ± 0,011	0,990 ± 0,019
A (516нм)	0,338 ± 0,016	0,429 ± 0,009	0,482 ± 0,032

Таблица 2

Зависимость оптической плотности от замораживания сырья

Концентрация спирта (%)	60	70
A (307нм)	1,435 ± 0,008	1,669 ± 0,013
A (516нм)	0,601 ± 0,034	0,804 ± 0,021

Таблица 3

Зависимость оптической плотности от ультразвуковой обработки

Концентрация спирта (%)	60	70
A (307нм)	1,275 ± 0,025	1,461 ± 0,028
A (516нм)	0,534 ± 0,019	0,709 ± 0,011

Таблица 4

Зависимость оптической плотности от температуры экстракции

Температура	50	60	70	90
A (307нм)	0,817 ± 0,016	0,855 ± 0,023	0,891 ± 0,009	0,799 ± 0,018
A (516нм)	0,404 ± 0,005	0,429 ± 0,031	0,457 ± 0,025	0,391 ± 0,020

Таблица 5

Зависимость оптической плотности от концентрации этанола в экстрагенте при pH = 3,65

Концентрация спирта (%)	50	60	70
A (307нм)	1,021 ± 0,011	1,449 ± 0,015	1,720 ± 0,042
A (516нм)	0,820 ± 0,026	0,941 ± 0,009	1,059 ± 0,019

ход экстракции. Извлечение продуктов проводилось при различных концентрациях этанола, температуре 60° С, значении рН — 3,65 в течение 40 минут. Результаты представлены в таблице 5.

Из таблицы видно, что снижение рН экстрагента существенно увеличивает выход продуктов. При этом в данном случае, в отличие от аналогичного эксперимента с рН = 5,3, наблюдается более интенсивное увеличение выхода антоцианов, чем ресвератрола. Причем, с понижением концентрации этанола эта тенденция усиливается. Это можно объяснить тем, что при низких значениях рН антоцианы находятся во флавилиевой форме, которая легче растворима в водно-спиртовых растворах.

На основании изложенного можно предложить оптимальные условия получения экстракта из жмыхов винограда. Учитывая доступность сырья, с учетом минимизации расхода реактивов и энергии, а также сокращения времени экстракции, было предложено проводить экстракцию 60 % раствором этанола при 60° С. Сырье предварительно необходимо либо заморозить, либо обработать ультразвуком, причем ультразвук энергетически выгоднее. Экстракцию можно проводить при значении рН около 5, но для обогащения экстракта антоцианами рН нужно значительно понижать.

Выводы

В ходе работы были получены положительные результаты по экстракции полифенольных соединений из кожуры винограда Одесский черный. Предварительная заморозка сырья или обработка ультразвуком существенно увеличивают выход продуктов. Снижение значения рН экстрагента увеличивает выход продуктов, в первую очередь антоцианов.

References/Литература

1. Bondakova M.V., Butova S.N., Soldatova S.Yu. Poluchenie i ispolzovanie krasyaschih veschtstv vinograda v kosmeticheskikh produktah. Vestnik NVGU/ 2015/ N.1. P.49-56. (in Russian) / Бондакова М.В., Бутова С.Н., Солдатова С.Ю. Получение и использование красящих веществ винограда в косметических продуктах. Вестник НВГУ. 2015. №1. С.49-56.
2. Levicki A.P., Vlasov V.V., Makarenko O.A./ Sortovi osoblivosti vmistu bioflavonoidiv v listyah i yagodah vinogradu. Vinogradarstvo ta vinorobstvo. 2012. N.2. P.12-15. / Левицкий А.П., Власов В.В., Макаренко О.А. Сортові особливості вмісту біофлавоноїдів в листях і ягодах винограда. Виноградарство та виноробство. 2012. №2. С.12-15.
3. Baur J.A., Sinclair D.A Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nature Reviews Drug Discovery. 2006. N.5. P.493-506.
4. Constantini A, De Bernardi T., Gotti A Clinical and capillaroscopic evaluation of chronic uncomplicated venous insufficiency with procyanidins extracted from Vitis vinifera Minerva Cardioangiol. 1999. V.47. N.1-2. P.39-46.
5. Hou D.X., Ose T., Lin S., Harazoro K., Imamura I., Kubo M., Uto T., Terahara N., Yoshimoto M., Fujii M. Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: structure-activity relationship and mechanisms involved. Int. J. Oncol. 2003. V.23. N.3. P.705-712.
6. Fremont L., Belguendouz L., Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. Life Sci. 1999. V.64. N.26. P.2511-2521.
7. Птицын А.В., Мухтаров Э.И., Мухтарова С., Каплун А.П. Флавоноиды красного винограда Vitis Vinifera — перспективы применения в медицине и косметике. Косметика и медицина. 2005. №3. С.44-53.
8. Yu Z., Ying L., Yue Z., Yuebing W. Extraction and stability of red pigment from grape skin. Adv. J. Food Sci. Technol., 2014 V.6. N.8. P.1005-1007.

*Впервые поступила в редакцию 08.11.2018 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*