

# Зберігання та переробка продукції

УДК 633.3:658.562

© 2014

*М.В. Роїк,*  
академік НААН,  
доктор сільсько-  
господарських наук

*І.В. Кузнєцова,*  
кандидат технічних наук  
Інститут біоенергетичних  
культур і цукрових буряків  
НААН

*В.О. Голодняк,*  
кандидат технічних наук  
Український науково-  
дослідний інститут олій  
та жирів НААН

## УСТАНОВЛЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ЕКСТРАКТІВ, ОТРИМАНИХ З ЛИСТКІВ СТЕВІЇ

**Мета.** Вивчити біохімічні перетворення системи під дією температури та тривалості екстрагування дитерпенових глікозидів з листків стевії (*Stevia rebaudiana Bertoni*). **Методи.** Досліджували біохімічний перебіг у водній біосистемі екстракту, отриманого з листків стевії за температур 30, 60 і 80°C. Використано індукційний метод, заснований на реєстрації тиску в кюветі у результаті окиснення або прояву антиокисної активності речовин. **Результати.** За 30°C відбуваються природні процеси біохімічного перебігу, під дією високих температур утворюються продукти окиснення стевіол-глікозидів і певних флавоноїдів. Стабільність біосистеми досягається завдяки наявності речовин-інгібіторів. Найменшу окисну здатність і більшу стабільність виявляє біосистема зразка екстракту, отриманого за температури 60°C. **Висновки.** За 60 і 80°C інтенсивного розвитку набувають процеси окиснення глюкозних залишків стевіол-глікозидів, активність яких становить 0,993–1. Стабілізація системи досягається завдяки інгібуванню неорганічних та органічних радикалів певними флавоноїдами і компонентами ефірної олії. За 80°C як речовини-інгібітори переважно вступають у реакцію певні флавоноїди, оскільки ефірні олії за такої температури на початку процесу практично повністю розкладаються. Найбільшу стабільність біосистема виявляє за температури екстрагування 60°C.

**Ключові слова:** стевіол-глікозид, інгібітори, окиснення, флавоноїди, температура, активність окиснення.

Стевія — це складна біосистема, яку нині повною мірою не вивчено. Від взаємодії основних сполук, що містяться у листках рослини, залежать якісні властивості отриманого з них продукту. Через недостатнє вивчення фізико-хімічних показників і змін, що відбуваються у біосистемі під впливом зовнішніх факторів, значно ускладнюються оцінка їх якості та виробництво конкурентоспроможної продукції, обмежуються можливості комплексної її переробки

та застосування продукції у повсякденному харчуванні людей. Актуальним є питання перебігу процесів, що відбуваються у біосистемі під впливом зовнішніх факторів (тривалості та температури), зокрема змін, що відбуваються в біосистемі під час екстрагування дитерпенових глікозидів. Екстрагування — це один з основних процесів, який впливає на якість готової продукції, такої як дитерпенові глікозиди різного ступеня очищення або концентрат. Вирішальним

є встановлення оптимальних умов екстрагування, які визначаються вилученням з листків стевії максимально можливої кількості речовин дитерпенових глікозидів і флавоноїдів (для концентрату) та мінімально можливої кількості баластних речовин, що ускладнюють процес очищення екстракту. Вивчення структурних змін сполук дасть змогу вдосконалити технологію перероблення листків стевії (*Stevia rebaudiana Bertoni*), налагодити виробництво перспективних речовин для харчової і медичної галузей корегуванням температурного режиму екстрагування.

**Аналіз літературних джерел.** Одним з методів вивчення перебігу процесів, що відбуваються в біосистемі під дією зовнішніх факторів, є визначення окисної дії сполук і можливості гальмування відповідними речовинами небажаних процесів. Загальна схема окиснення сполук за наявності інгібітора представлена етапами, за якими ініціатор має постійну швидкість генерування радикалів, а розчинний кисень перетворює алкільні радикали в пероксидні [2]. Сполуками-інгібіторами в біосистемі є певні флавоноїди та компоненти ефірних олій, вітамін Е та ін. Порушення функціональної здатності ферментів окисного метаболізму призводить до утворення неорганічних радикалів і загибелі клітини рослини [10]. Механізм взаємодії флавоноїдів з такими радикалами полягає в одноелектронному відновленні супероксиду, що викликає генерування пероксиду водню. Відомо, що флавоноїди виявляють антиоксидантну або пероксидантну активність. Серед флавоноїдів як ефективних відновників виділяють рутин і кверцетин, які за рахунок вільної катехольної групи в кільці В [7] можуть утворювати комплекс з іонами заліза та міді [9], алюмінію [5] і взаємодіяти з радикалами неорганічних та органічних сполук [6], ароматичних амінокислот, токоферолів та ін. [8]. Оцінити антиоксидантну активність багатоконпонентних систем практично складно, а літературні джерела містять суперечливі дані [2].

**Мета досліджень** — вивчити біохімічні перетворення системи під дією температури та тривалості екстрагування дитерпенових глікозидів з листків стевії (*Stevia rebaudiana Bertoni*).

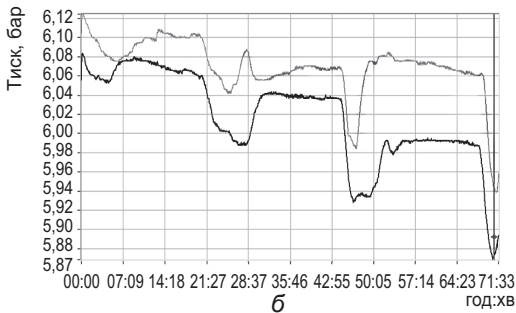
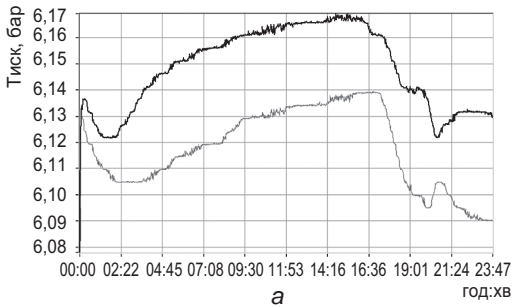
**Методи та методика досліджень.** У 2013 р. вирощено стевію на дослідній ділянці (0,12 га) Державного підприємства «Агрофірма «Веселиновка»» (Київська обл.) скошували (9–12 вересня), сушили та відокремлювали листки від стебел. Відбір проби для аналізу здійснювали згідно з чинною Загальною фармакопейною

статтею ГФ XI (В. 1, с. 267). З сухих листків стевії отримували водний екстракт згідно з ХІ Державною фармакопеею СРСР (1990 р.).

Застосований індукційний метод ґрунтується на реєстрації тиску в кюветі, зміни якого відбуваються в результаті окиснення або виявлення антиокисної активності речовин біосистеми екстракту, отриманих з сушених листків стевії протягом тривалого періоду. Зміни, які відбувались у системі під дією температур, вивчали за допомогою реактора для випробування на окисну стабільність OXITEST (Sactrade, 2008 р.) у кюветі залежно від температури процесу за 30 (зразок I), 60 (зразок II) і 80 (зразок III)°С. Вміст речовин дитерпенових глікозидів визначали згідно з ТУ У 15.8-31591453-002:2005 [3]. Вміст флавоноїдів визначали за розробленою нами методикою [1], вміст білка — згідно з ДСТУ 7169:2010.

**Результати досліджень.** Реактор приладу не зафіксував зміни тиску у кюветі зі зразком екстракту за температури 30°С, що свідчить про відсутність структурних змін сполук в екстракті, а перебіг процесів є природним явищем. Зміни в екстракті, отриманому з листків стевії, спостерігали у зразках, що витримували під дією температури 60°С (рис., а) та 80°С (рис., б). За 60°С у зразку екстракту в кюветі впродовж тривалого часу відбувається розкладання терпенів і вітамінів. Перші 30 хв, протягом яких відбувається прогрівання зразків у кюветах, значення локальних максимумів за 60 і 80°С має однаковий характер кривих (інтенсивний пік) і значення тиску (табл. 1). Молекули стевіол-глікозидів, які поміщаються у так званих водних клітинах, сформовані плоскими кільцями молекул води. Під час нагрівання відбувається руйнування водних клітин. За температури 80°С (рис., б) процес розкладання цих сполук прискорюється, про що свідчить скорочення «полички» на кривій з 12 год (див. рис., а) до 7 год (див. рис., б). Електричне поле таких молекул води здатне поляризувати молекулу стевіол-глікозиду або утримувати її в одному з конформаційних станів. Це призводить до деполіризації гідроксогруп сполук — флавоноїдів (утворення локальних мінімумів (див. рис. а і б) та до інгібувальної дії окисних сполук. За цих умов відбувається стабілізація біосистеми. Характерні локальні мінімуми на графіках свідчать про роль сполук (поліфеноли, флавоноїди, ефірні олії та ін.), які виявляють антиоксидантну дію, у системі.

Перший локальний мінімум (табл. 2), який є однаковим в обох випадках і триває протягом



**Зміна окисної дії сполук листків стевій за температури: а – 60°C; б – 80°C**

години, свідчить про інгібувальну дію ефірних олій, вітамінів і флавоноїдів. Локальні максимуми, які фіксує реактор після 10 год, свідчать про вплив переважно тривалості процесу під дією заданого значення температури. Це також підтверджує, що за підвищення температури протягом 13 год відбуваються процеси окиснення глюкозних радикалів стевиол-глікозидів. За 60°C ці процеси набувають розвитку на 16-й год.

Найінтенсивніший процес відбувається для системи, яка нагрівається за температури 80°C. Значення активності окиснення близькі до 1, що свідчить про дію рівноважної

кількості сполук і високий вплив сполук-інгібіторів. Інтенсивніше інгібування неорганічних та органічних радикалів відбувається за 60°C.

Згідно з теорією радикального окиснення [2] розрізняють два механізми лінійного руйнування радикальних ланцюгів на інгібіторі та механізм інгібування, який реалізується завдяки створенню комплексів активних радикалів з системами, що мають спряжені  $\pi$ -зв'язки. За першим механізмом взаємодіють просторово-екрановані феноли і токофероли, для яких характерний чіткий період індукції. Вітамін Е — приклад інгібітору, для якого характерні збільшення індукційного періоду за 60°C (на 20 год) та за 80°C (на 5–6 год, 25–28, 37, 47–50 год).

Другий механізм властивий для природних сумішей, які мають функціональну гідроксильну групу ( $\text{OH}^-$ ) у сполуках, і сприяє руйнуванню ланцюгів за лінійним механізмом (рівняння 1–4), що властивіше за температури процесу 80°C (див. рис., б). Зміни структур сполук багатокомпонентної системи наведено у лінійних рівняннях 1–4.

$$Y = -0,003X + 6,08; \quad (1)$$

$$Y = -0,024X + 7,60; \quad (2)$$

$$Y = -0,086X + 6,12; \quad (3)$$

$$Y = -0,015X + 6,70. \quad (4)$$

Це свідчить про те, що за температури 80°C майже повністю відбувся розпад сполук-інгібіторів. Сполуки, що залишилися, мають низьку активність, недостатню для повного пригнічення реакції окиснення. Прийнятнішим для такої системи є механізм інгібування через створення комплексів зі спряженими системами, що призводить до гальмування реакції окиснення.

За органолептичними показниками отримано наближені зразки II і III, зразок I має

**1. Локальні максимуми зміни тиску залежно від тривалості та температури процесу**

Час, год	Температура, °C			
	60		80	
	тиск (P), бар	активність окиснення ( $a_p$ )	тиск (P), бар	активність окиснення ( $a_p$ )
0,3	6,135	0,994	6,08–6,12	0,993–1
10	–	–	6,08	0,993
13	–	–	6,11	0,998
15	6,17	1	–	–
16–17	6,139	0,994	–	–
20	6,15	0,996	–	–
21,3	6,13	0,993	–	–
28	–	–	6,09	0,995
30	–	–	6,04	0,986
53	–	–	5,99; 6,08	0,978–0,993

**2. Локальні мінімуми зміни тиску залежно від тривалості та температури процесу**

Час, год	Тиск (P), бар	
	60°C	80°C
1–2	6,122; 6,105	—
6–7	—	6,0575–6,078
16,38–17	6,161	6,08
18–19,3	6,14	6,11
19–20	6,095–6,1	—
20	6,12	—
23–23,47	6,09	—
24–25	—	6,04–5,99
46	—	5,93; 5,98
71	—	5,87; 5,94

світло-коричневе забарвлення та слабкий смак, властивий стевиї. Визначено фізико-хімічні показники зразків. Вміст дитерпенових глікозидів (5,61%) і флавоноїдів (332,8 мг/л) у зразку I свідчить, що екстрагування за

30°C не забезпечує належної якості продукту. Підвищення температури екстрагування до 60°C дає змогу вилучити 10,38% дитерпенових глікозидів і 512,4 мг/л флавоноїдів, до 80°C: дитерпенових глікозидів — 10,02% та флавоноїдів — 506,9 мг/л. Отже, максимальне вилучення дитерпенових глікозидів спостерігається у зразку II за екстрагування за 60°C. Втрати із макухою становлять 3,17%. Цей самий зразок має більшу частку флавоноїдів, вилучення яких становить 90,46%.

Найменший вміст білка мають зразки II і III, отримані при екстрагуванні за температур 60 і 80°C, що становить 0,11–0,12%. Такий вміст є прийнятним для цієї системи, оскільки за більшого вмісту екстракт навіть після концентрування нестійкий і швидко псується, рН<sub>20</sub> зразків екстрактів становить 6,15. Отже, як свідчить проведений аналіз, біосистема стабільніша за температури екстрагування 60°C.

**Висновки**

Установлено, що за 60 і 80°C інтенсивного розвитку набувають процеси окиснення глюкозних залишків стевиол-глікозидів, активність окиснення яких становить 0,993–1. Біосистема виявляє 7 локальних мінімумів за температури процесу 60°C і 8 мінімумів за 80°C, що свідчить про інгібування неорганічних та органічних радикалів певними

флавоноїдами та компонентами ефірної олії. За 80°C як сполуки-інгібітори переважно вступають у реакцію певні флавоноїди, оскільки ефірні олії за такої температури ще на початку процесу майже повністю розкладаються. За фізико-хімічними показниками та стабільністю біосистеми кращим є зразок II, отриманий за температури екстрагування 60°C.

**Бібліографія**

1. Патент України на корисну модель, МПК<sup>9</sup> C07 H 15/00, C07 H 17/00, G01 N 21/00. Спосіб визначення вмісту речовин флавоноїдного комплексу/М.В. Роїк, І.В. Кузнєцова, Т.В. Рудакова; заяв. патентоволодар Ін-т біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН. — № u201211791; заявл. 12.10.12 р.

2. Сизова Н.В. Оценка антиокислительной активности эфирных масел методом микрокалориметрии/Н.В. Сизова, О.Ю. Веретнова, А.А. Ефремов//Химия растительного сырья. — 2002. — № 3. — С. 57–60.

3. ТУ У 15.8-31591453-002:2005 «Добавки биологически активные. Сиропы стевии с фитоэкстрактами. Технические условия».

4. Щекатихина А.С. Спектрофотометрическая характеристика комплексов кверцетина, морина, асцифоллина и силибибина с ионами меди (II)/А.С. Щекатихина, В.П. Курченко//Труды БГУ. — 2011, Т. 6. — Ч. 1. — С. 76–85.

5. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation/I.В. Afanas'ev [et al.]/Biochem.

Pharmacol. — 1989. — V. 38, № 11. — P. 1763–1769.

6. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships/A.J. Dugas Jr. [et al.]/J. Nat. Prod. — 2000. — V. 63, № 3. — P. 327–331.

7. Flavonoids as antioxidants/S.V. Jovanoic [et al.]/J. am. Chem. Soc. — 1994. — V. 116, № 11. — P. 4846–4851.

8. Fujisawa S. Comparative study of the alkyl and peroxy radical scavenging activities of polyphenols/S. Fujisawa, Y. Kadoma//Chemosphere. — 2006. — V. 62, № 1. — P. 71–79.

9. Kuznetchova I. Study of othermodynmis formation of complex flavanoid sheets stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*)/I. Kuznetchova//Восточно-Европейский журнал передовых технологий. — Спецвыпуск: Технология и оборудование пищевых производств. — X., — 2014. — № 2/12(68). — Ч. 1. — С. 47–50.

10. Papa S. Rective oxige species, mitochondria, apoptosis and aging/S. Papa, V.P. Skulachev//Mol. Cell Biochem. — 1997. — V. 174, № 1/2. — P. 305–319.

Надійшла 8.09.2014.