Primjena eutektičkih otapala u ekstrakciji hesperidina iz kora mandarina

Kolarević, Filip

Supplement / Prilog

Publication year / Godina izdavanja: **2020**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:555712

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet

PRIMJENA EUTEKTIČKIH OTAPALA U EKSTRAKCIJI HESPERIDINA IZ KORA MANDARINA

Filip Kolarević

Mentor: prof. dr. sc. Stela Jokić
Komentor: izv. prof. dr. sc. Maja Molnar

Osijek, svibanj 2020.

Katedra za projektiranje tehnoloških procesa i konstrukcijske materijale & Katedra za kemiju i ekologiju



Eksperimentalni dio diplomskog rada realiziran je u sklopu projekta "Primjena inovativnih tehnika ekstrakcije bioaktivnih komponenti iz nusproizvoda biljnoga podrijetla" (HRZZ-UIP-2017-05-9909).

processes

MDPI

Article

Sustainable Green Procedure for Extraction of Hesperidin from Selected Croatian Mandarin Peels

Stela Jokić [1], Silvija Šafranko [1,*], Martina Jakovljević [1], Ana-Marija Cikoš [1], Nikolina Kajić [2], Filip Kolarević [1], Jurislav Babić [1] and Maja Molnar [1]

[1] Faculty of Food Technology Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Croatia

[2] Faculty of Agronomy and Food Technology, University of Mostar, Biskupa Čule bb, 88000 Mostar, Bosnia and Herzegovina

* Correspondence: silvija.safranko@ptfos.hr; Tel.: +385-31-224-348

Received: 27 June 2019; Accepted: 18 July 2019; Published: 20 July 2019

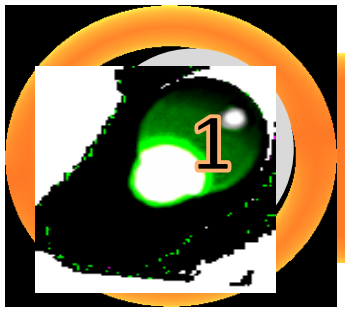


Abstract: The peels of *Citrus reticulata* Blanco mandarin cultivars of different Croatian varieties (*Zorica rana*, *Chahara*, *Okitsu*, *Kuno*) were extracted using 15 different choline chloride-based deep eutectic solvents (DESs) at 50 °C for 30 min and with 20% water addition. The extracts were analyzed by high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) to determine the most suitable DES for the extraction of hesperidin in the samples. The screening results indicated that choline chloride: acetamide (1:2) provided the most efficient hesperidin extraction (112.14 mg/g of plant), while choline chloride:citric acid (1:1) solvent showed the lowest hesperidin yield (1.44 mg/g of plant). The Box–Behnken design was employed to optimize extraction parameters for each variety of mandarin peel, including extraction time, temperature and water content on hesperidin extraction. The results indicated that hesperidin content in mandarin peels was completely variety-dependent. Being a novel and efficient green media for hesperidin extraction, deep eutectic solvents could also serve as promising solvent systems for the production of extracts rich in bioactive compounds.

Keywords: by-product; deep eutectic solvents; hesperidin; mandarin peel; optimization

1. Introduction

Citrus fruits are one of the most important crops with worldwide production, while citrus by-products represent a problem regarding their disposal due to the environmental risk. Traditionally, the waste was either burned, causing an increase in carbon dioxide and other greenhouse gasses, or



U V O D

Zadatak rada



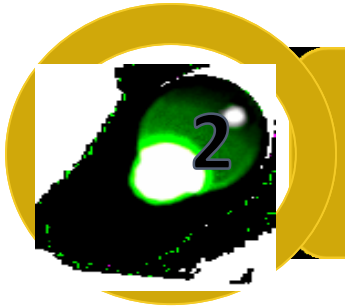
Utvrditi koje otapalo daje najveće iskorištenje hesperidina ekstrahiranog iz kora mandarina



Ispitati utjecaj procesnih parametara ekstrakcije na prinos hesperidina iz kora mandarina četiri različite hrvatske sorte (*Zorica rana, Okitsu, Kuno, Chahara*)



Provesti optimizaciju procesa ekstrakcije uz primjenu programa *Design Expert*®, v.7, metodom odzivnih površina



TEORIJSKI DIO

Citrus reticulata Blanco

mandarina



Okitsu



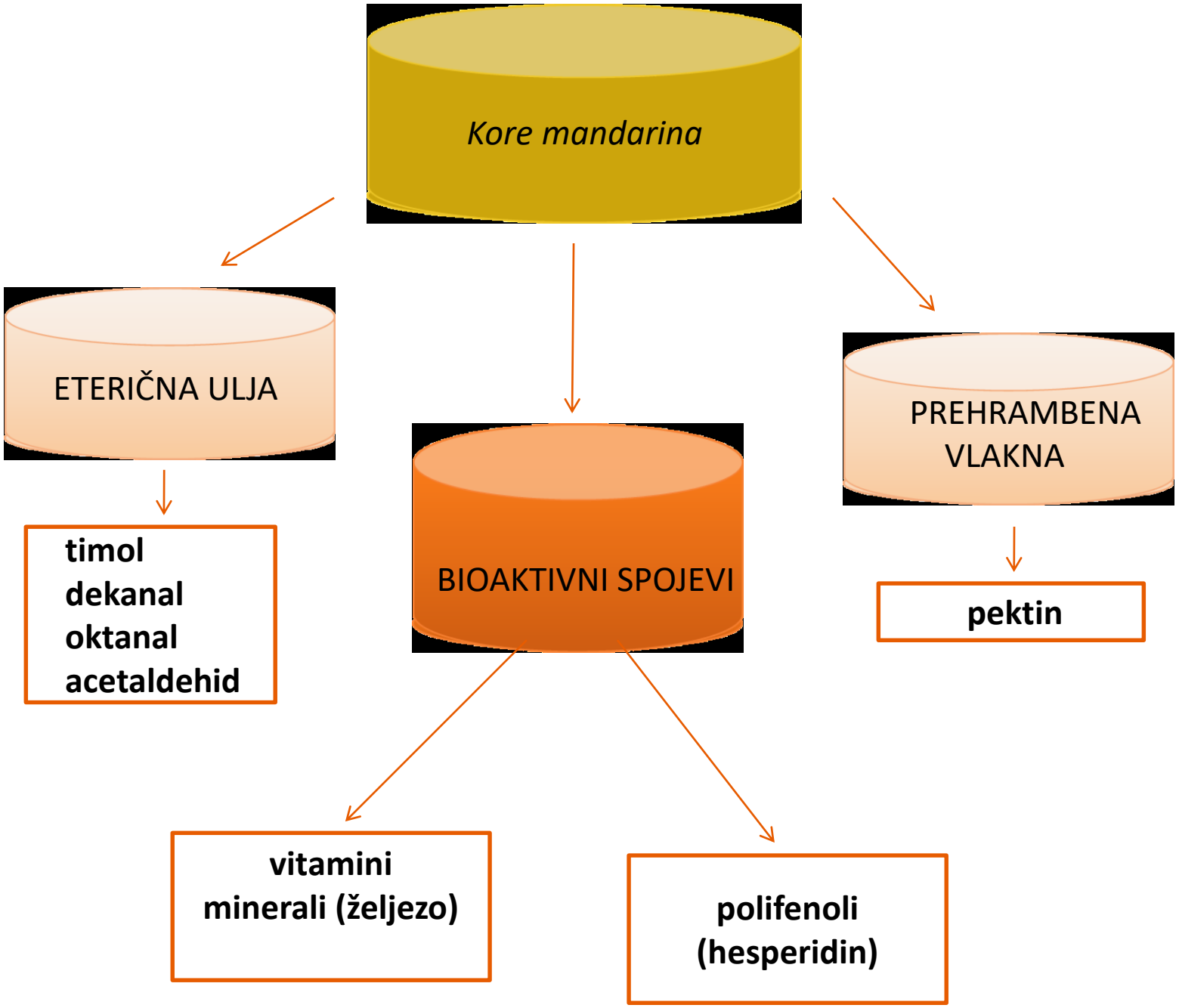
Kuno



Chahara



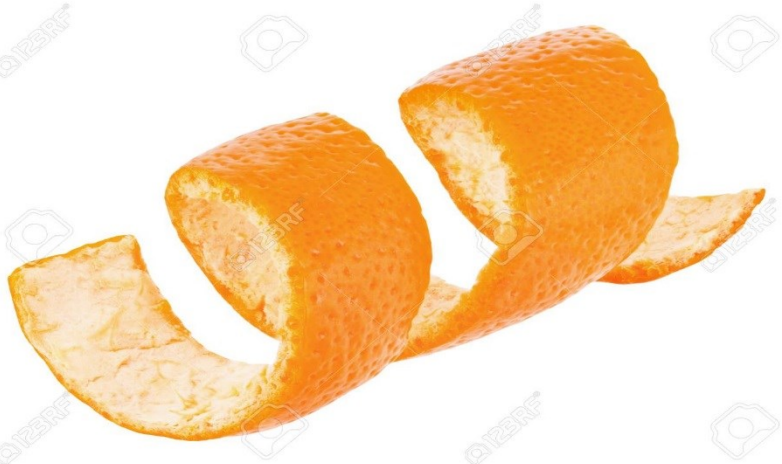
Zorica rana


Kore mandarina
ETERIČNA ULJA
timol
dekanal
oktanal
acetaldehid
BIOAKTIVNI SPOJEVI
vitamini
minerali (željezo)
polifenoli
(hesperidin)
PREHRAMBENA VLAKNA
pektin

Kore mandarina su nusproizvodi prerade citrusa ->u većini slučajeva se bacaju (50% s.t.)

->potencijalni ekološki problemi i trošak

Bogate su bioaktivnim spojevima->u teoriji bi se mogle koristiti kao obnovljivi izvor prirodnih antioksidanasa->odgovarajuće metode ekstrakcije (ekstrakcija eutektičkim otapalima)



Ekstrakcija

-jedna od temeljnih separacijskih tehnika; na principu molekulske difuzije

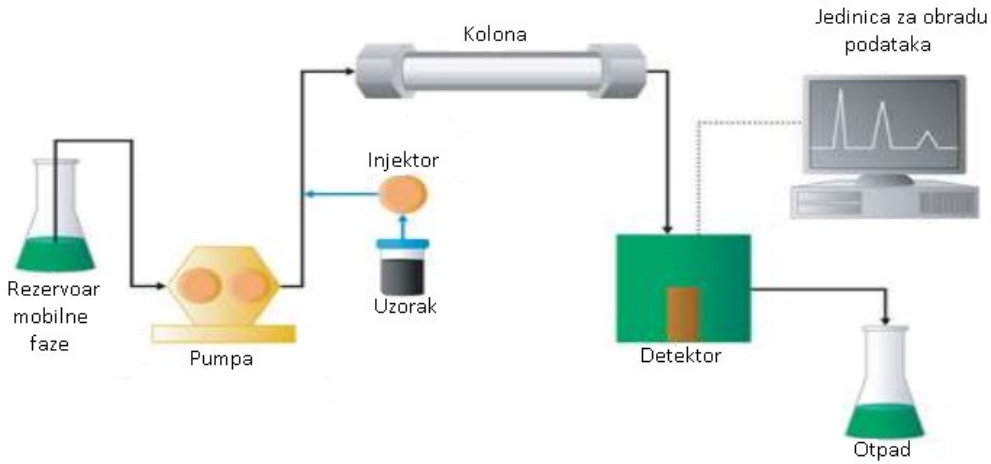
-ekstrakcija otapalima je konvencionalna metoda, najčešće upotrebljavana tehnika->degradacija željenih komponenti (visoke temperature, dugo vrijeme ekstrakcije)->korištenje novih i inovativnih metoda (ekstrakcija superkritičnim tekućinama, mikrovalovima, eutektičkim otapalima…)

-prednosti korištenja eutektičkih otapala: biokompatibilna su, netoksična, biorazgradiva su, jeftina za pripremu

Visoko tlačna tekućinska kromatografija (HPLC)

-separacija i kvantifikacija komponenti koje su otopljene u zadanom otapalu

-vrlo efikasna metoda idealna u analizi termolabilnih i neisparljivih spojeva



Optimizacija – poboljšanje svojstava nekog sustava ili procesa uz postizanje maksimalnog prinosa uz što manje troškove.

Metoda odzivnih površina (*engl. Response Surface Methodology*-RSM)

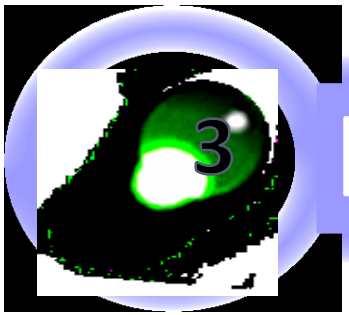
Odabir nezavisnih varijabli (parametara)

Izbor dizajna eksperimenta i provođenje eksperimenta → Box-Behnken, centralno kompozitni i dr.

Aproksimacija eksperimentalnih podataka → Polinom drugog reda

Evaluacija prikladnosti modela

Određivanje optimalnih vrijednosti ispitivanih varijabli



EKSPERIMENTALNI DIO



Okitsu



Akceptori vodika
kvarterne amonijeve
ili metalne soli

Donori vodika
amidi
karboksilne kiseline
alkoholi
šećeri

Eutektičko
otapalo

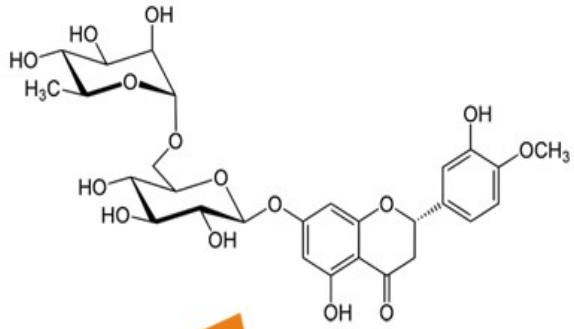


Kuno

Zorica rana



Chahara



Ekstrakcija hesperidina iz kora mandarina korištenjem eutektičkih otapala

Temperatura ekstrakcije-30,50,70°C
Vrijeme ekstrakcije-30,60,90 min
Udio vode-10,20,30 %

Određivanje hesperidina na HPLC sustavu

- Izokratno eluiranje (voda kao faza A, acetonitril kao faza B); sobna temperatura; vrijeme=10min; protok 1ml/min; UV detektor



Aproksimacija eksperimentalnih podataka matematičkim modelom

Nezavisne varijable

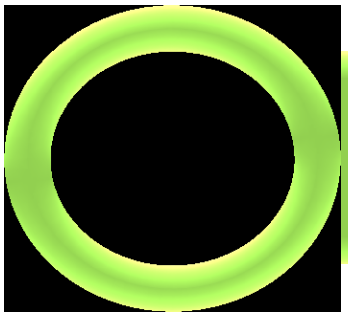
$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i \cdot X_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{3} \sum_{j=1}^{3} \beta_{ij} X_i X_j$$

Promatrani odziv

Statistička analiza ANOVA

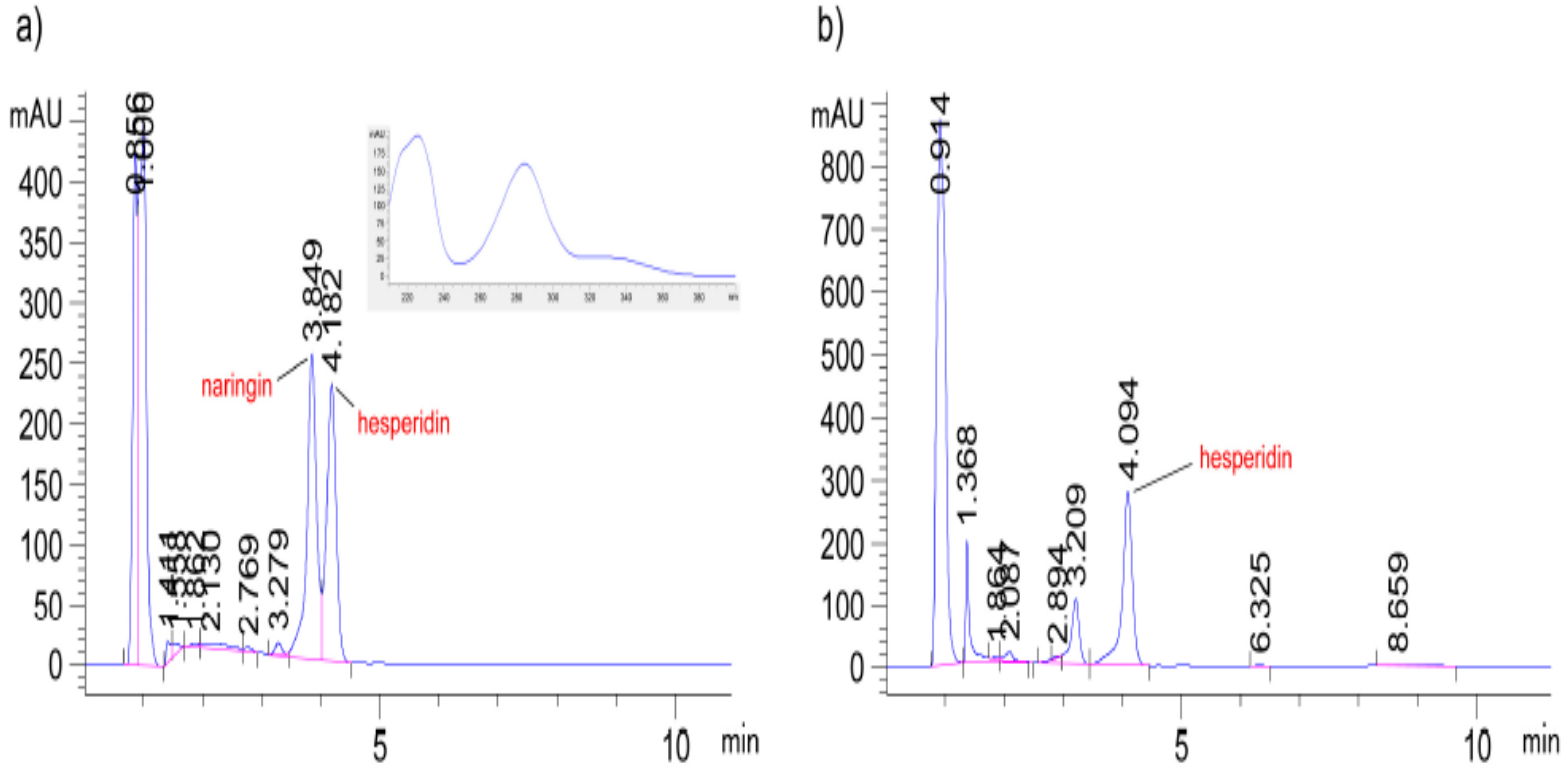
X_3 – Udio vode (10, 20, 30 %)

Numerička optimizacija

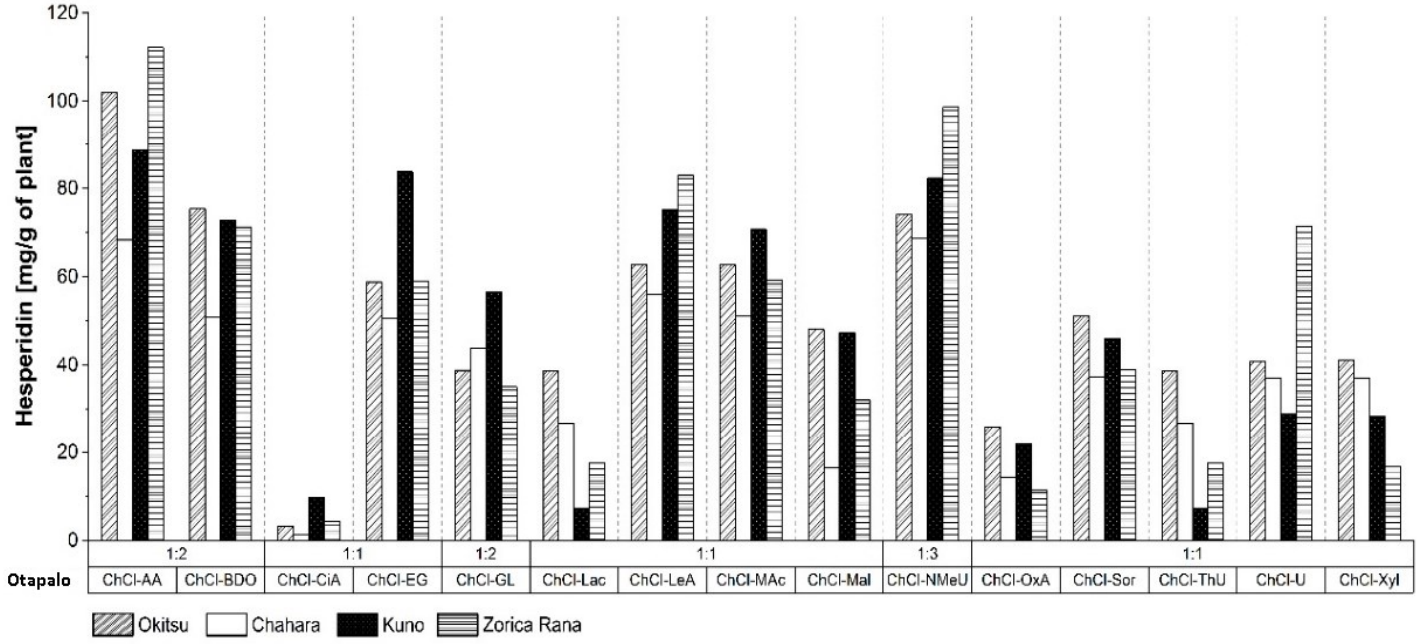


REZULTATI I RASPRAVA

a)HPLC kromatogram standarda naringina i hesperidina (ubačen je i UV spektar standarda hesperidina); **b)** kromatogram hesperidina u uzorcima kora mandarina



Usporedna analiza dobivenih prinosa hesperidina korištenjem različitih eutektičkih otapala na bazi kolin klorida



Analiza varijance (ANOVA) promatranih odziva

Izvor varijabilnosti	Suma kvadratnih odstupanja (SS)	Stupnjevi slobode (n-1)	Varijanca-MS	F-vrijednost	Prob>F ($p < 0,05$)
Okitsu					
Model	$6,870 \times 10^7$	9	$7,633 \times 10^6$	5,11	0,0215
Ostatak	$1,047 \times 10^7$	7	$1,495 \times 10^6$		
Nedostatak modela	$6,597 \times 10^6$	3	$1,495 \times 10^6$	2,27	0,2221
Pogreška	$3,869 \times 10^6$	4	$2,199 \times 10^6$		
Ukupno	$7,916 \times 10^7$	16			
Chahara					
Model	$9,149 \times 10^6$	9	$1,017 \times 10^6$	5,10	0,0215
Ostatak	$1,395 \times 10^6$	7	$1,993 \times 10^5$		
Nedostatak modela	$9,823 \times 10^5$	3	$3,274 \times 10^5$	3,17	0,1468
Pogreška	$4,125 \times 10^5$	4	$1,031 \times 10^5$		
Ukupno	$1,054 \times 10^7$	16			
Kuno					
Model	$3,386 \times 10^7$	9	$3,762 \times 10^6$	4,17	0,0364
Ostatak	$6,309 \times 10^6$	7	$9,013 \times 10^5$		
Nedostatak modela	$4,913 \times 10^6$	3	$1,638 \times 10^6$	4,69	0,0847
Pogreška	$1,396 \times 10^6$	4	$3,490 \times 10^5$		
Ukupno	$4,017 \times 10^7$	16			
Zorica rana					
Model	$6,218 \times 10^7$	9	$6,906 \times 10^6$	7,34	0,0077
Ostatak	$6,588 \times 10^6$	7	$9,411 \times 10^5$		
Nedostatak modela	$1,438 \times 10^6$	3	$4,792 \times 10^5$	0,37	0,7785
Pogreška	$5,150 \times 10^6$	4	$1,287 \times 10^6$		
Ukupno	$6,877 \times 10^7$	16			

Procijenjeni koeficijenti polinoma jednadžbe drugog reda za udio hesperidina

Naziv sorte	Koeficijent	Standardna pogreška	F-vrijednost	*p*-vrijednost
Okitsu				
Odsječak	8516,50	546,82		
X_1	-372,55	432,30	0,74	0,4173
X_2	1636,34	432,30	14,33	0,0068
X_3	-667,38	432,30	2,38	0,1666
X_1^2	-472,18	595,88	0,63	0,4541
X_2^2	-1910,59	595,88	10,28	0,0149
X_3^2	-1723,12	595,88	8,36	0,0233
X_1X_2	1255,52	611,37	4,22	0,0791
X_1X_3	-616,59	611,37	1,02	0,3468
X_2X_3	-927,40	611,37	2,30	0,1731
$R^2=0,8703$				
Chahara				
Odsječak	5377,49	199,63		
X_1	-77,22	157,82	0,24	0,6396
X_2	372,92	157,82	5,58	0,0501
X_3	-883,39	157,82	31,33	0,0008
X_1^2	-169,29	217,54	0,61	0,4619
X_2^2	-2,00	217,54	$8,417 \times 10^5$	0,9929
X_3^2	-121,83	217,54	0,31	0,5929
X_1X_2	-149,61	223,20	0,45	0,5241
X_1X_3	-223,26	223,20	1,00	0,0399
X_2X_3	-561,93	223,20	2,30	0,1731
$R^2=0,8677$				

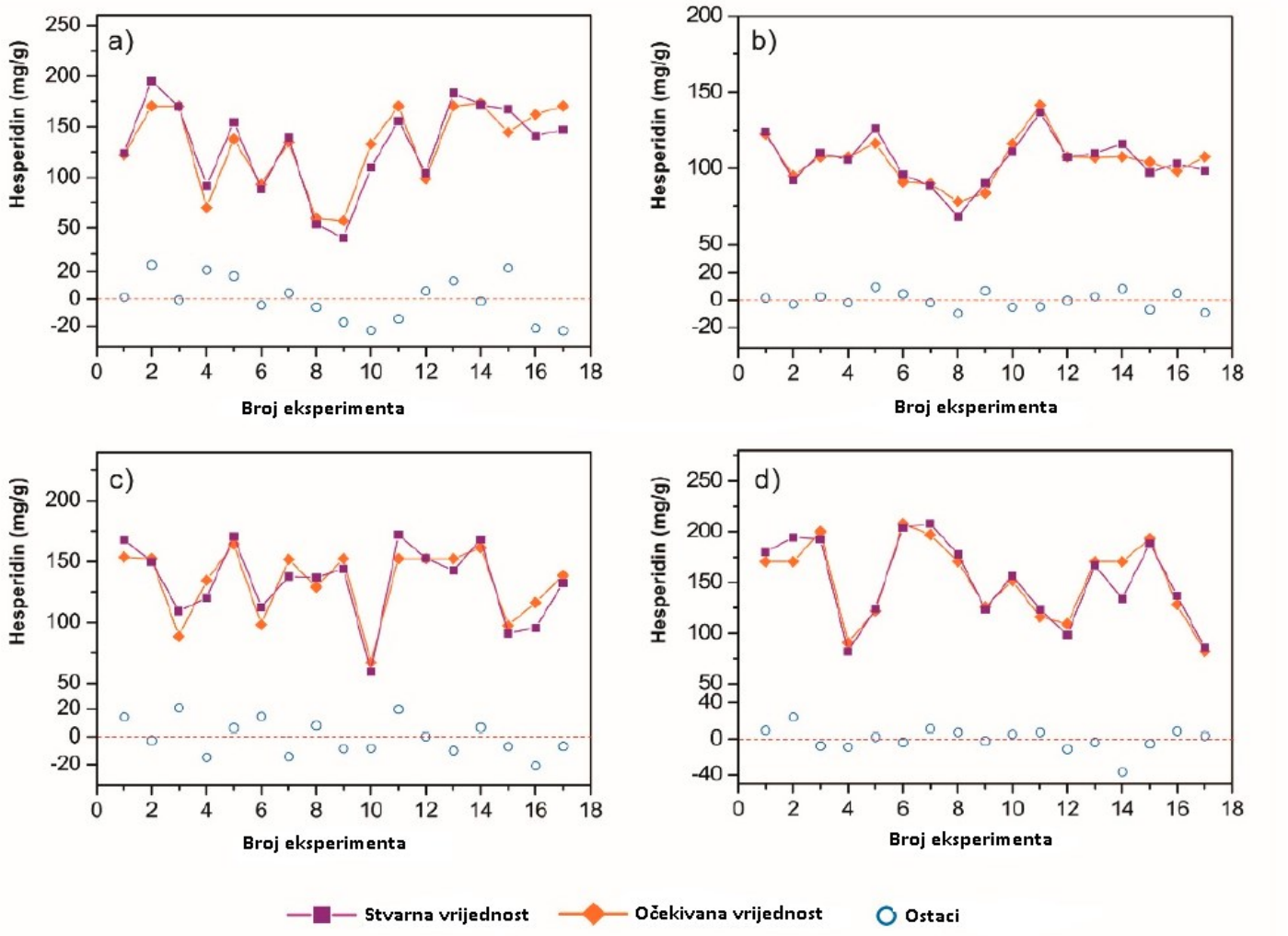
X_1:vrijeme ekstrakcije,X_2:temperatura ekstrakcije,X_3:udio vode; utjecaj faktora je statistički značajan za p≤ 0,05

Procijenjeni koeficijenti polinoma jednadžbe drugog reda za udio hesperidina

Naziv sorte	Koeficijent	Standardna pogreška	F-vrijednost	*p*-vrijednost
Kuno				
Odsječak	7615,8	424,57		
X_1	477,83	335,65	2,03	0,1976
X_2	1119,15	335,65	11,12	0,0125
X_3	429,21	335,65	1,64	0,2417
X_1^2	564,54	335,65	1,49	0,2623
X_2^2	-1152,90	462,66	6,21	0,0415
X_3^2	-1450,46	462,66	9,83	0,0165
X_1X_2	-548,54	474,68	1,34	0,2858
X_1X_3	-909,23	474,68	3,67	0,0970
X_2X_3	-107,13	474,68	9,83	0,0165
Zorica rana				
Odječak	8534,27	433,84		
X_1	576,94	342,98	2,83	0,4173
X_2	1623,64	342,98	22,41	0,0068
X_3	-1520,90	342,98	19,66	0,1666
X_1^2	-211,43	472,76	0,20	0,4541
X_2^2	-187,53	472,76	0,16	0,0149
X_3^2	-1623,41	472,76	11,92	0,0233
X_1X_2	-485,39	485,04	1,00	0,0791
X_1X_3	-1218,10	485,04	6,31	0,3468
X_2X_3	-187,53	485,04	1,16	0,1731
$R^2=0,8703$				

X_1:vrijeme ekstrakcije,X_2:temperatura ekstrakcije,X_3:udio vode; utjecaj faktora je statistički značajan za p≤0,05

Grafička usporedba stvarnih i očekivanih vrijednosti ekstrahirane količine hesperidina iz svake sorte mandarina: **a)** *Okitsu*, **b)** *Chahara*, **c)** *Kuno*, **d)** *Zorica rana*

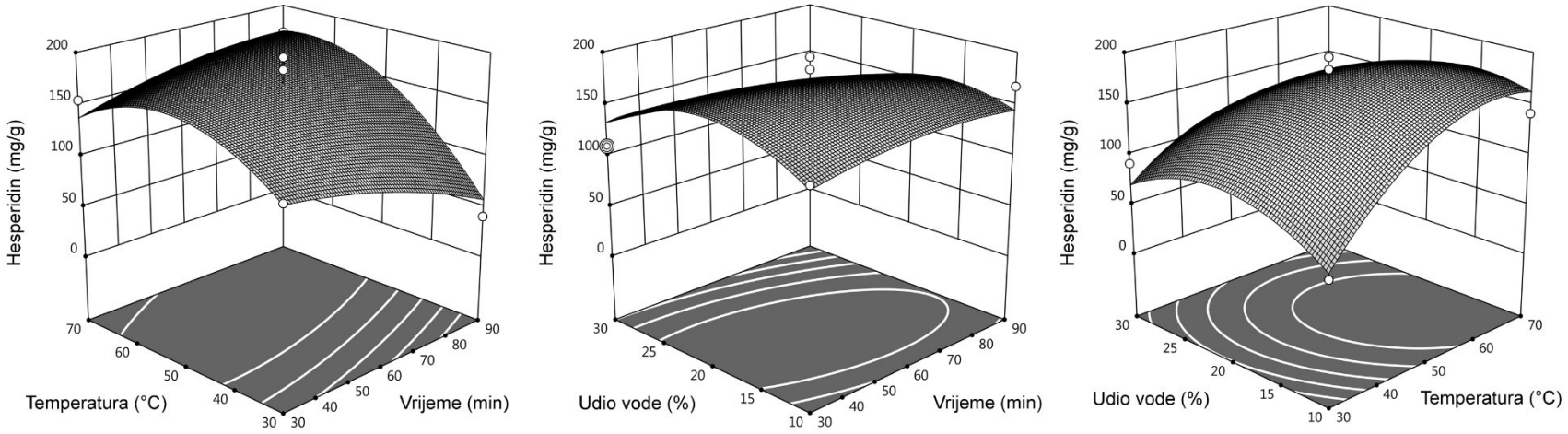


Eksperimentalna matrica i vrijednost promatranog odziva

				Okitsu	Chahara	Kuno	Zorica rana
Broj eksperimenta	Vrijeme (min)	Temp. (°C)	H_2O (%)	Hesperidin (mg/100 g)			
1	90	30	20	2022,74	5158,66	6617,40	7823,31
2	30	30	20	6200,53	4617,60	4551,48	4906,07
3	30	50	30	5501,38	4417,85	6882,87	6174,24
4	90	50	30	4444,75	3420,60	6006,90	4099,36
5	60	50	20	9765,96	5507,70	7492,07	8998,14
6	60	50	20	8490,48	5284,90	7204,11	9725,07
7	60	70	30	5219,36	4519,89	6844,10	6179,43
8	60	50	20	7791,07	5372,30	8606,40	8892,70
9	60	50	20	9177,64	5800,85	7639,82	8352,92
10	60	30	10	2691,43	4863,57	2966,68	6204,44
11	30	50	10	6964,46	6305,61	5633,57	6845,31
12	60	70	10	7047,41	6843,00	4772,36	10202,57
13	60	30	30	4572,97	4788,18	5466,93	4272,91
14	60	50	20	7357,35	4921,68	7137,02	6702,54
15	90	70	20	8577,96	5495,56	8405,48	10393,76
16	90	50	10	8374,19	6201,42	8394,51	9642,82
17	30	70	20	7733,68	5552,96	8533,71	9418,10

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

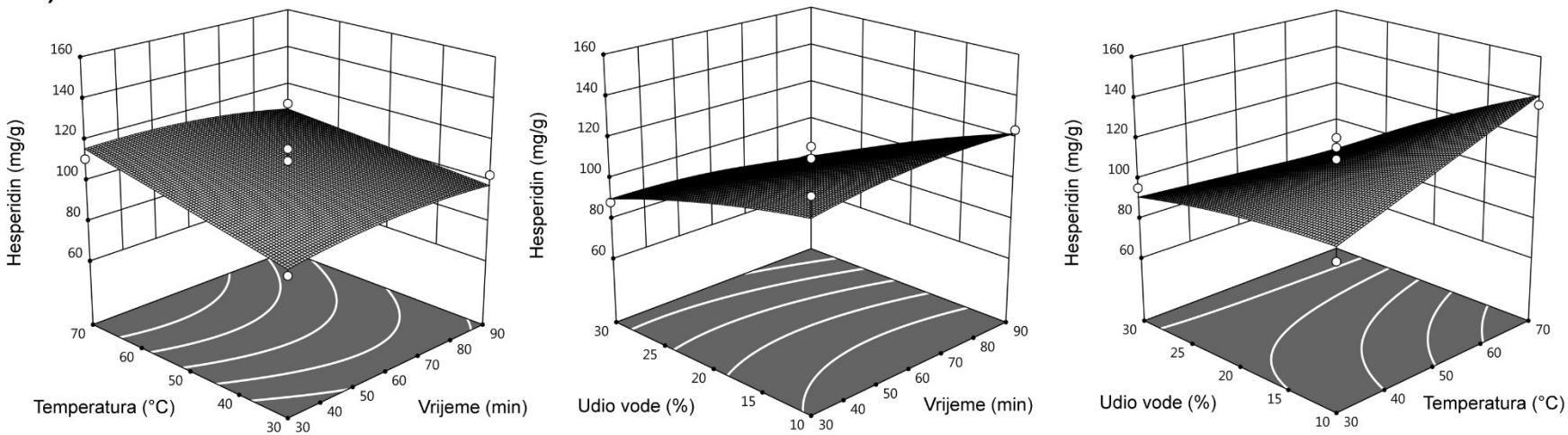
a)



Okitsu

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

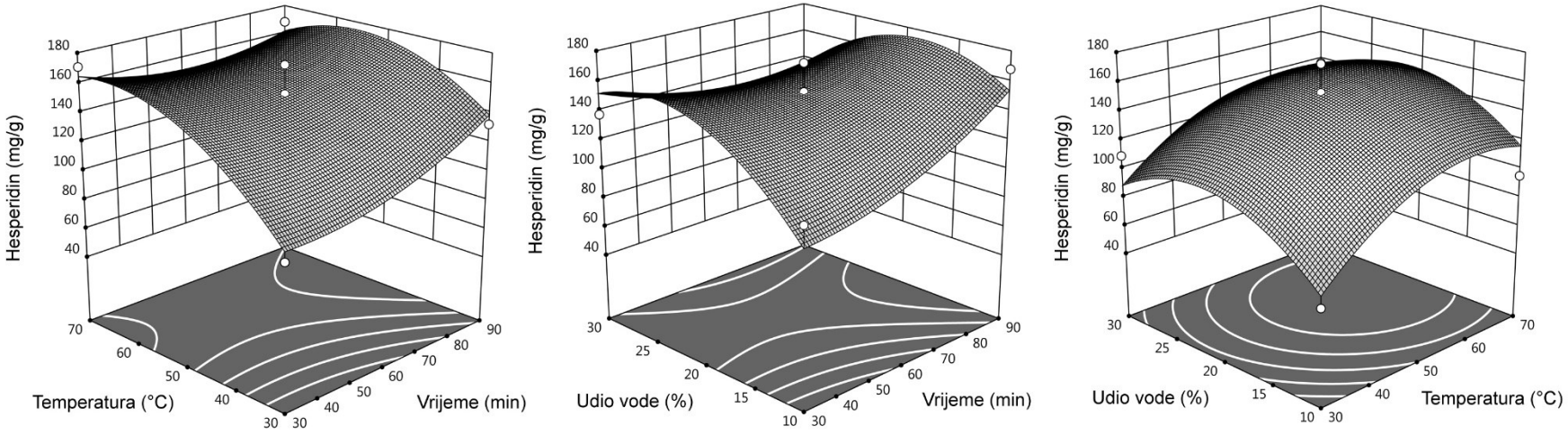
b)



Chahara

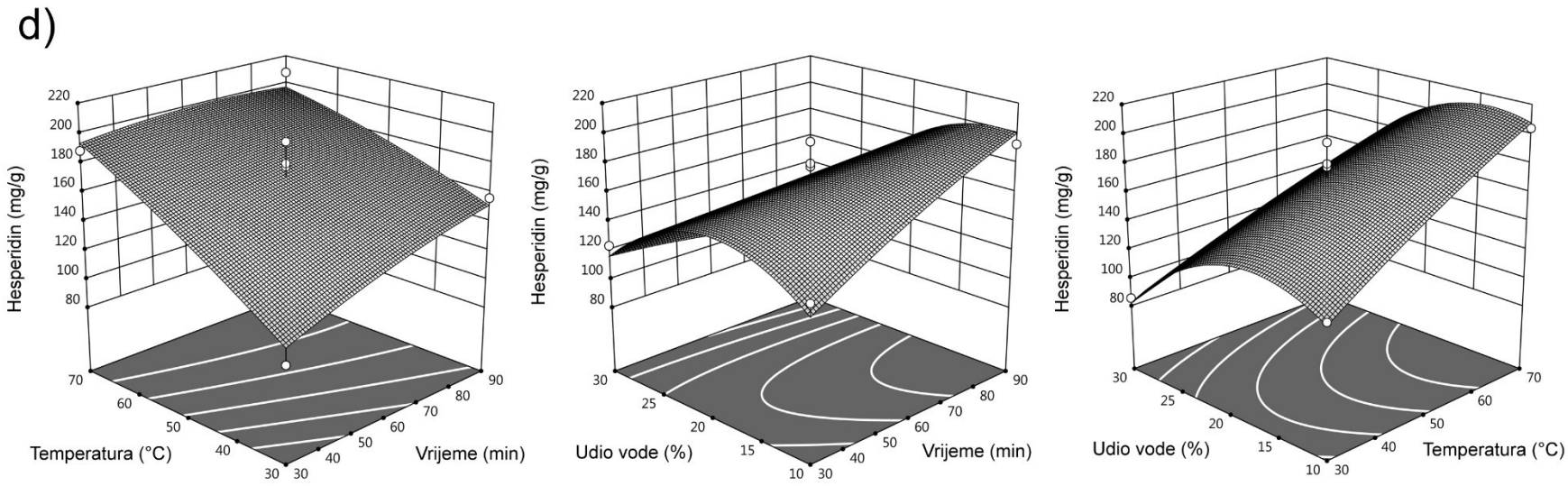
3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

c)

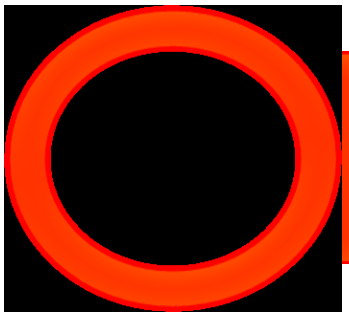


Kuno

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA



Zorica rana



ZAKLJUČCI

- Nakon primjene 15 različitih eutektičkih otapala uočeno je da je najefikasnija ekstrakcija hesperidina postignuta korištenjem eutektičkog otapala kolin klorid:acetamid (1:2), dok je najmanje efikasno otapalo bilo kolin klorid:limunska kiselina (1:1);

- Dobiveni rezultati također ukazuju na bitan značaj sorte mandarine na količinu ekstrahiranog hesperidina. Najveća količina hesperidina je dobivena iz sorte *Zorica rana*, nakon koje slijedi sorta *Okitsu*;

- ANOVA je pokazala kako je temperatura ekstrakcije statistički značajan parametar (osim u slučaju sorte *Chahara*). Povećanje temperature rezultira povećanim prinosom hesperidina. Što se tiče udjela vode, kod sorti *Chahara* i *Zorica rana* parametar udjela vode bitno utječe na prinos hesperidina;

- Ovo istraživanje može biti vrlo korisno u svrhu dobivanja vrijednih bioaktivnih spojeva korištenjem novih metoda ekstrakcije. Također, može uvelike pridonijeti smanjenju količine otpada koji nastaje obradom agruma te daje mogućnost iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije. Na taj način bi se mogao zaokružiti proces proizvodnje hrane te bi se djelomično skinuo financijski i ekološki teret u mnogobrojnim granama prehrambene industrije;

- Prisutnost nepoznatih spojeva dobivenih HPLC analizom pruža dobar temelj za buduća istraživanja na temu ekstrakcije i separacije bioaktivnih komponenti prisutnih u korama citrusnog voća.

Hvala na pažnji !!! ☺