

УДК 637.352+637.344:66.061

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ STEVIA REBAUDIANA В.

Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И., Боева С.Е.

Государственная технологическая академия, Воронеж

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

Для извлечения дитерпеновых гликозидов и других физиологически ценных компонентов подсластителя натурального происхождения *stevia rebaudiana bertonii* применено экстрагирование ультрафильтратом творожной сыворотки. Для установления оптимальных параметров (температура, °С; продолжительность экстрагирования, мин; соотношение объемов твердой и жидкой фаз; рН экстрагента) экстрагирования применяли «ридж-анализ», основанный на методе неопределенных множителей Лагранжа.

Одна из важнейших задач пищевой промышленности состоит в замене сахаразы на безвредные и безопасные для человека подсластители натурального происхождения [1, 2], что позволит уменьшить положительную динамику «болезней цивилизации» (сахарный диабет, ожирение, различные сердечно-сосудистые заболевания, кариес). Помимо формирования сладкого вкуса подсластители натурального происхождения придают функциональную направленность продуктам, приготовленным на их основе.

К таким подсластителям относится парагвайское растение *Stevia rebaudiana* В. Сладость листьев стевии обусловлена наличием комплекса 8 дитерпеновых гликозидов – стевииозида, ребаудиозидов А, В, С, Д, Е, стевииолбиозида, дуклозида. Эквивалент сладости суммы дитерпеновых гликозидов, содержащихся в листьях стевии, достигает 300 единиц [3, 4].

Кроме сладких дитерпеновых гликозидов в листьях стевии содержатся флавоноиды, водорастворимые хлорофиллы и ксантофиллы, оксикоричные кислоты (кофейная, хлорогеновая), нейтральные водорастворимые олигосахариды, свободные сахара, 17 аминокислот, в т. ч. незаменимые, минеральные соединения, витамины А, С, Д, Е, К, Р, сапонины, клетчатка, ду-

бильные вещества, микроэлементы, эфирное масло [1, 3, 4].

Комплекс этих соединений позитивно действует на организм человека, в том числе снижает энергетическую насыщенность пищевого рациона, уровень глюкозы и инсулина в крови, стимулирует иммунную защиту, улучшает функциональные возможности иммунной системы, обладает антиоксидантным, антикариесным и антибактериальным действием.

Для извлечения дитерпеновых гликозидов и других физиологически ценных компонентов стевии нами впервые применено экстрагирование ультрафильтратом творожной сыворотки. Ценность этого сырья обусловлена составом, в который входят лактоза, аминокислоты, низкомолекулярные биологически активные белковые вещества, молочная кислота, макро- и микроэлементы, жиро- и водорастворимые витамины. Применение ультрафильтрата в качестве экстрагента позволяет объединить ценные свойства творожной сыворотки и дефицитные нутриенты, входящие в состав листьев стевии.

К предварительно высушенным и измельченным листьям стевии добавляли экстрагент (рН 3,4 – 7,4), соотношение объемов твердой и жидкой фаз в интервале 1 : 6 – 1 : 12. Экстрагирование проводили при постоянном перемешивании (виброс-

меситель) в течение 25 – 55 мин. Температура экстрагирования (30 – 50 °С) исключала разрушение витаминов, в том числе флавоноидов.

Задача исследования – оптимизация параметров экстрагирования физиологически ценных компонентов из листьев стевии ультрафильтратом творожной сыворотки с применением математических методов планирования эксперимента.

В качестве основных факторов, влияющих на процесс экстрагирования физиологически ценных компонентов из листьев стевии, выбраны: X_1 – температура, °С; X_2 – продолжительность экстрагирования, мин; X_3 – соотношение объемов твердой и жидкой фаз; X_4 – pH экстрагента. Все факторы совместимы и некоррелируемы между собой. Пределы изменения факторов приведены ниже:

Условия планирования	Предел изменения факторов			
	X_1 , °С	X_2 , мин	X_3	X_4
Основной уровень	40,0	40,0	1:8	5,4
Интервал варьирования	10,0	15,0	1:24	2,0
Верхний уровень	50,0	55,0	1:6	7,4
Нижний уровень	30,0	25,0	1:12	3,4
Верхняя «звездная точка»	60,0	70,0	5:24	9,4
Нижняя «звездная точка»	20,0	10,0	1:24	1,4

Выбор интервалов изменения факторов обусловлен особенностями процесса экстрагирования физиологически ценных компонентов из листьев *Stevia Rebaudiana* В. ультрафильтратом творожной сыворотки. Температура экстрагирования исключает разрушение витаминов, в том числе флавоноидов.

Критерий оценки оптимизации процесса экстрагирования – общее содержание сухих веществ в экстракте (Y).

Содержание сухих веществ в экстракте определяли методом высушивания навески (ГОСТ 3626-73) исследуемого продукта при температуре 102 – 105 °С в течение 120 мин.

Для построения математических моделей применено центральное композиционное ротатабельное униформ-планирование и выбран полный факторный эксперимент 2^2 (ПФЭ 2^2). Порядок экспериментов рандомизировали с учетом таблицы случайных чисел, что исключало влияние неконтролируемых параметров на получаемые результаты [5, 6].

При обработке экспериментальных данных применяли следующие статистические критерии: проверка однородности дисперсий – критерий Кохрена; значимость коэффициентов уравнений регрессии – критерий Стьюдента; адекватность уравнений – критерий Фишера [5].

При статистической обработке экспериментальных данных получено уравнение регрессии, адекватно описывающее процесс экстрагирования под влиянием учитываемых факторов.

Задача оптимизации состоит в нахождении таких условий экстрагирования, которые в широком диапазоне изменения входных параметров обеспечивают максимальное содержание сухих веществ в экстракте (Y).

Для установления оптимальных условий экстрагирования физиологически ценных компонентов из листьев стевии ультрафильтратом творожной сыворотки применяли «ридж-анализ», основанный на методе неопределенных множителей Лагранжа [5].

Поиск наибольшего значения функции четырех переменных в узлах четырехмерной числовой решетки при заданных шагах изменения входных переменных и координат начала поиска позволил установить значения входных параметров X_1 , X_2 , X_3 и X_4 , обеспечивающих максимальную величину Y: $X_1 = 40$ °С, $X_2 = 40$ мин, $X_3 = 0,1$ и $X_4 = 4,4$.

После экстрагирования физиологически ценных компонентов стевии ультрафильтратом творожной сыворотки полученный экстракт подвергали двухступенчатой очистке с применением колонки с

активированным углем, катионитом и анионитом. В экстракте определяли дитерпеновые гликозиды сладкого вкуса (стевиозид, ребаудиозид А, ребаудиозид С, дулкозид), аминокислотный состав, флавоноиды, свободные сахара, минеральные соединения (макроэлементы – кальций, фосфор), витамины (В₁, В₂, Е), лактозу [7].

Определение дитерпеновых гликозидов сладкого вкуса проводили на жидкостном хроматографе «Цвет-4000» с автоматическим вводом пробы, устройством для фильтрации и дегазации растворов, инжектором «Rheodyne 9725» с объемом петли (РЕЕК 2195) 20 мкл и спектрофотометрическим детектором СПДФ-5. Хроматограммы обрабатывали с применением программного обеспечения «Цвет-Аналитик». Компоненты разделяли на колонках «Nupersil NH2» (APS-2, производитель – «Thermo electron corporation») с размером 250x4,6 мм, 5 мкм. Для защиты колонки в линию устанавливали предколонку «Wideroge C 18» (4x3 мм). Дитерпеновые гликозиды разделяли в градиентном режиме при 45 °С, подвижная фаза – смесь деионизованной воды и ацетонитрила, объемная скорость 1,5 мл/мин. Длина волны детектирования 210 нм [8].

Аминокислотный анализ проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105». Содержание кальция и фосфора определяли титриметрическим методом.

Содержание флавоноидов определяли фотометрически по образованию комплекса борной кислоты со свободными гидроксильными группами флавоноидов в присутствии лимонной кислоты ($\lambda = 470$ нм) в экстракте этилового спирта. Содержание сахаров устанавливали методом Дюбуа, основанным на появлении оранжевой окраски раствора при реакции альдегидной группы редуцирующих сахаров с фенолом в присутствии серной кислоты ($\lambda = 490$ нм) [9].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Павлова Г.Н., Ерашова Л.Д., АLEXина Л.А. Стевия – источник натурального подсластителя продуктов питания // Пищевая промышленность. – 1997. – № 5. – С. 8 – 9.
2. Голубев В.Н., Гедрих М.Г., Русакова И.А. Ресурсосберегающая технология природного подсластителя пищевых продуктов – стевиозид // Пищевая промышленность. – 1997. – № 5. – С. 10 – 11.
3. Лисицин В.Н., Воловик Е.Л. Стевия – подсластитель или лекарственное растение? // Пищевая промышленность. – 1999. – № 11. – С.40 – 41.
4. Лисицын В.Н., Ковалев И.П. Стевия – источник здоровья и долголетия нации // Пищевая промышленность. – 2000. – № 5. – С. 38.
5. Грачев Ю.П. Математические методы планирования экспериментов. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 200 с.
6. Кучменко Т.А., Аристов И.В., Десятков Д.Б. Применение методов планирования многофакторных экспериментов в аналитической химии – Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 1999 – 99 с.
7. Коренман Я.И., Светолунова С.Е., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И. Пищевые компоненты стевии в экстракте на основе ультрафильтрата творожной сыворотки // Известия вузов. Пищевая технология. – 2006. – № 1. – С. 16 – 18.
8. Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И., Светолунова С.Е. Определение дитерпеновых гликозидов в экстракте на основе ультрафильтрата творожной сыворотки методом ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т. 6, № 2. – С. 227 – 232.
9. Зобкова З.С., Щербакова С.А. Новые методы контроля биохимического состава продуктов с компонентами нетрадиционного сырья // Молочная промышленность. – 2002. – № 7. – С. 11 – 13.

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PARAMETERS OF PHYSIOLOGICALLY VALUABLE STEVIA REBAUDIANA B. COMPONENTS

Korenman Ya.I., Melnikova E.I., Niftaliev S.I., Boeva S.E.

State Academy of Technology, Voronezh, Russia

For extraction of diterpen glycosides and other physiologically valuable components of the sweetener of natural origin of *Stevia rebaudiana* B. the extraction by cheese cottage ultra filtrate was applied. For determination of optimal parameters (temperature, °C; extraction duration, min; volume correlation of solid and liquid phases; extractant pH) of the extraction was applied the 'ridge – analyses' based on the method of Lagrange undetermined multipliers.