

Primjena eutektičkih otapala u ekstrakciji hesperidina iz kora mandarina

Kolarević, Filip

Supplement / Prilog

Publication year / Godina izdavanja: **2020**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:555712>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-10**

REPOZITORIJ

PTF

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
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




PTF
OS



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

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*, *Kumo*) 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.

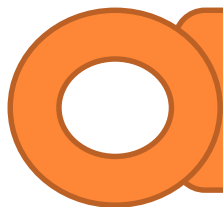
Keywords: by-product; deep eutectic solvents; hesperidin; mandarin peel; optimization

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 used for cattle feed, but to decrease environmental risk the concept was developed for obtaining the



U V O D



Zadatak rada



Utvrđiti 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



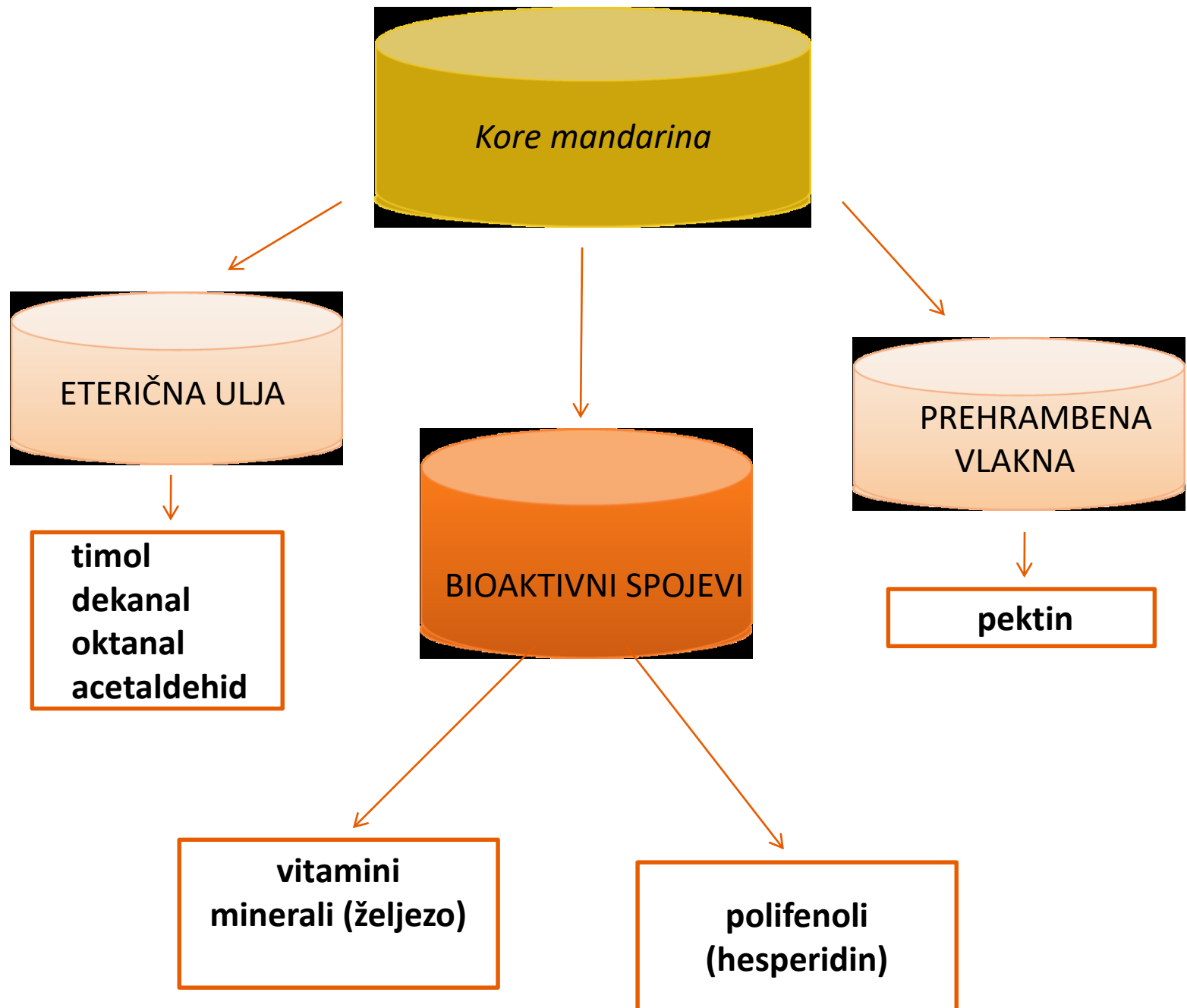
Kuno



Chahara

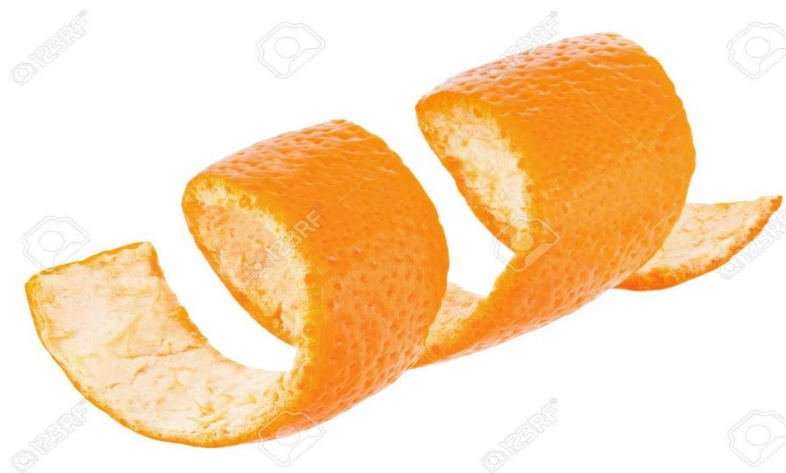


Zorica rana



Kore mandarina 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

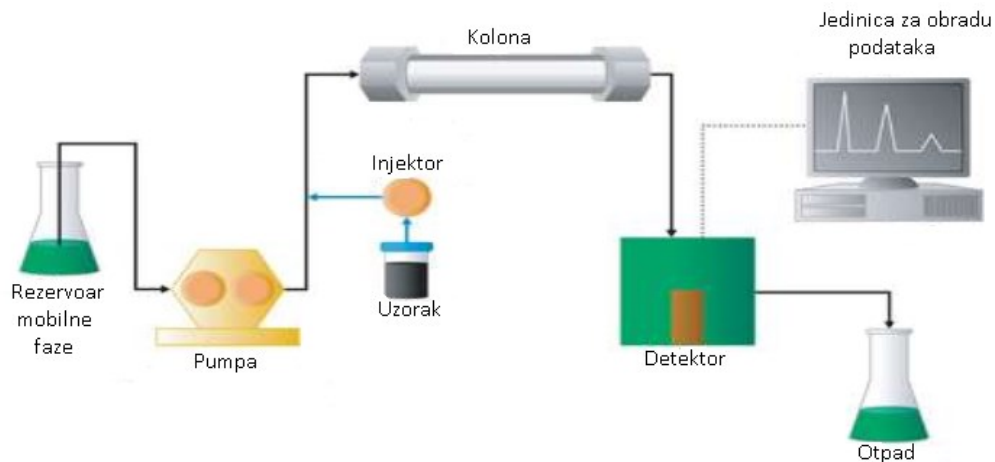
-ekstrakcija otapalima je konvencionalna metoda, najčešće upotrebljavana tehnika->degradacija željenih komponenti (visoke temperature, dugo vrijeme ekstrakcije)->korištenje novih i inovativnih metoda (ekstrakcija superkritičnim tekućinama, mikrovalovima, eutektičkim otapalima...)

-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

Aproksimacija eksperimentalnih
podataka

Evaluacija prikladnosti modela

**Određivanje optimalnih
vrijednosti ispitivanih varijabli**

Box-Behnken, centralno
kompozitni i dr.

Polinom drugog reda



EKSPERIMENTALNI DIO



Okitsu



Kuno

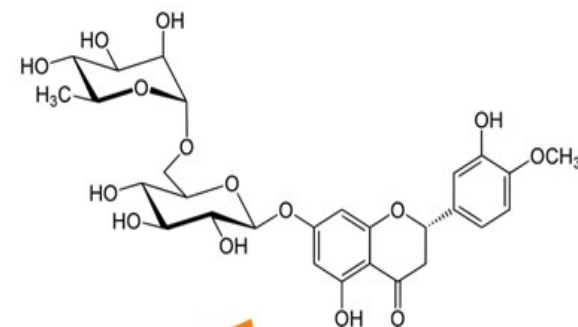
Akceptori vodika
kvarterne amonijeve
ili metalne soli



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

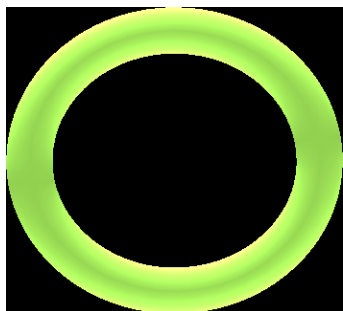
$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i \cdot X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

Prozantni udjiv

Statistička analiza
ANOVA

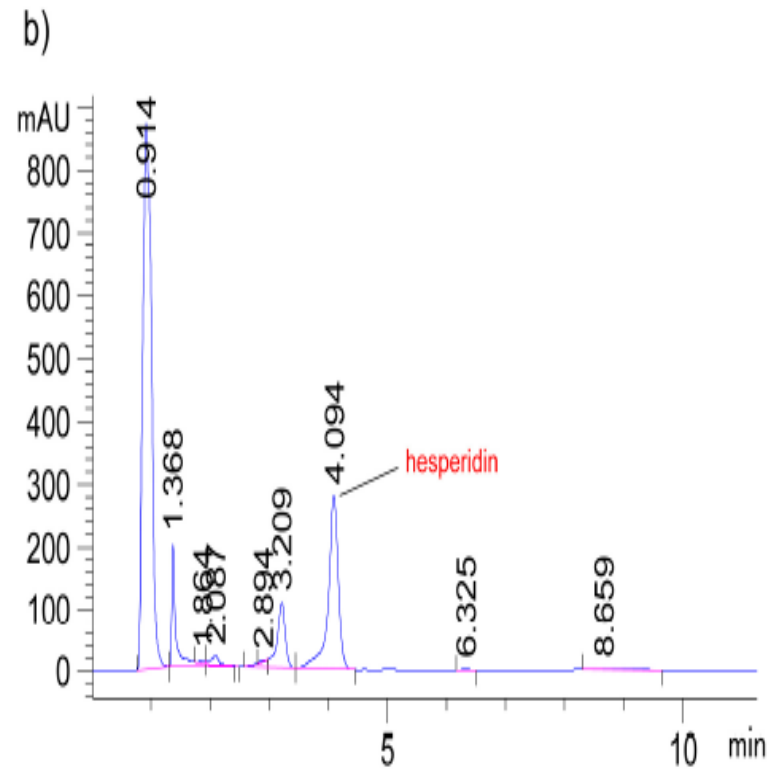
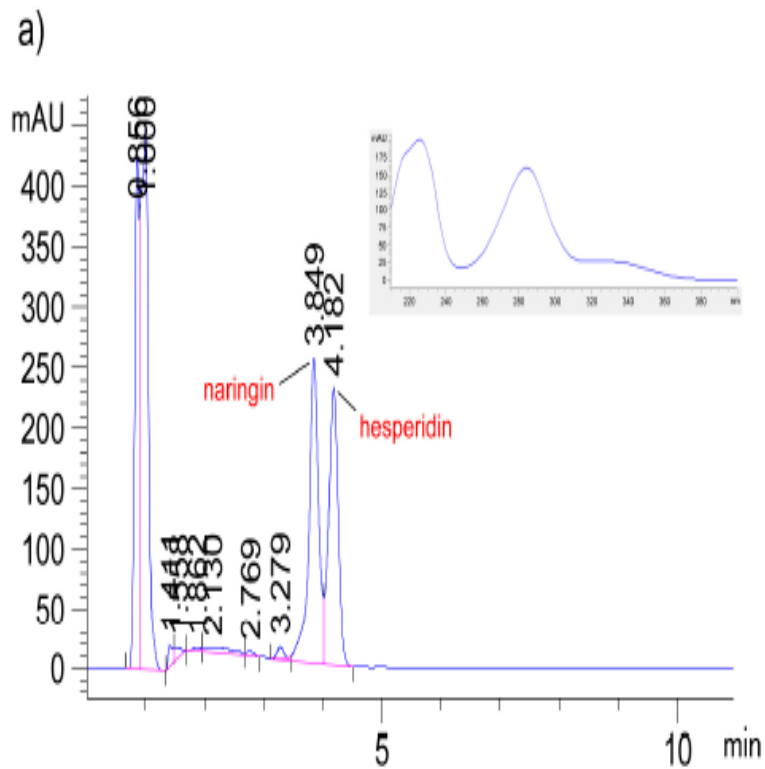
X_3 – Udio vode (10, 20,
30 %)

Numerička
optimizacija

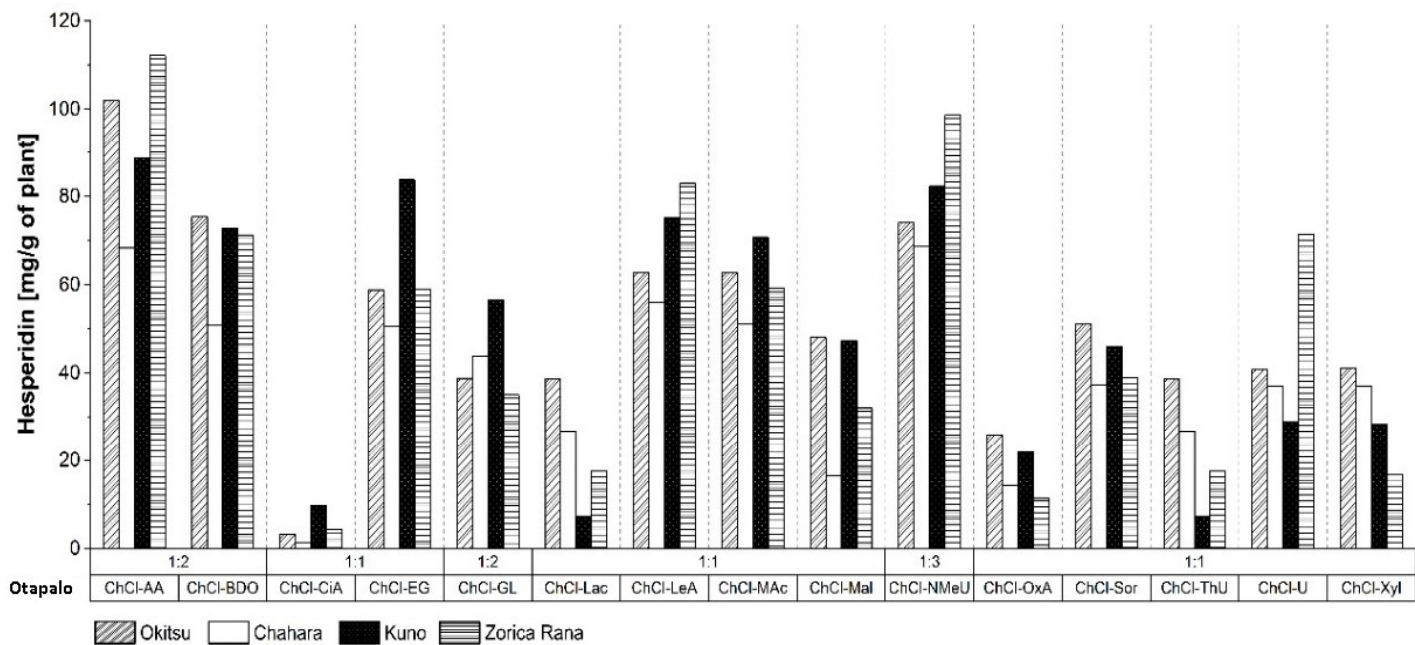


REZULTATI I RASPRAVA

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 |
| $R^2=0,8677$ | | | | |

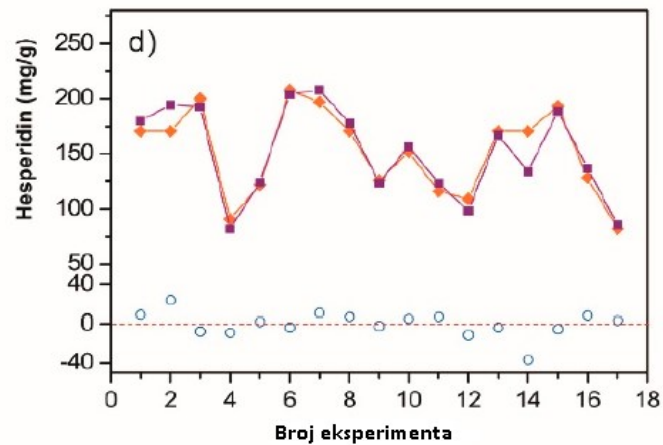
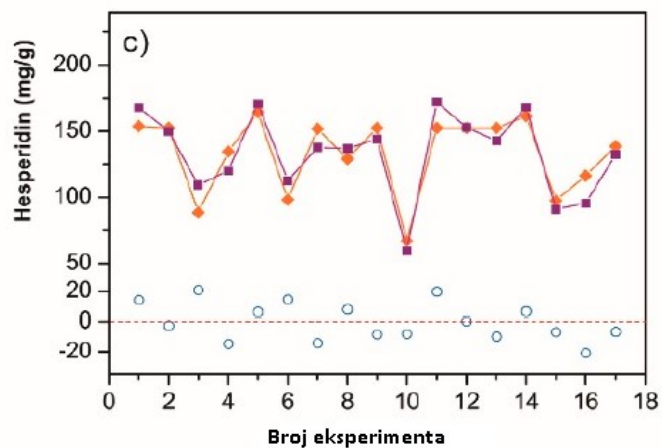
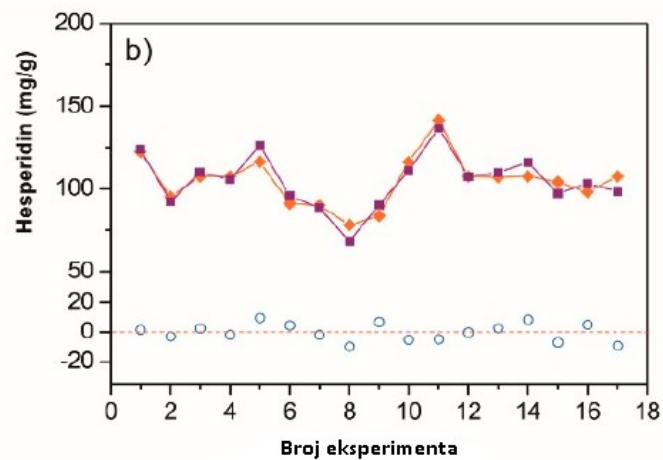
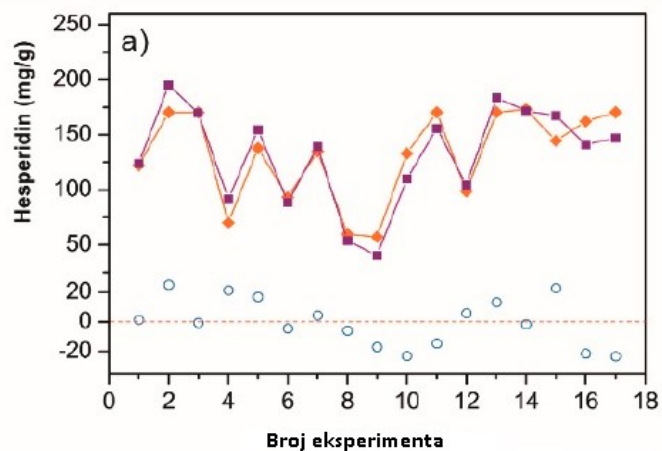
X_1 :vrijeme ekstrakcije, X_2 :temperatura ekstrakcije, X_3 :udio vode; utjecaj faktora je statistički značajan za $p \leq 0,05$

Procijenjeni koeficijenti polinoma jednadžbe drugog reda za udio hesperidina

| Naziv sorte | Koeficijent | Standardna pogreška | F-vrijednost | p-vrijednost |
|--------------------------------|-------------|---------------------|--------------|--------------|
| Kuno | | | | |
| <u>Odsječak</u> | 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 | | | | |
| <u>Odječak</u> | 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 $p \leq 0,05$

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



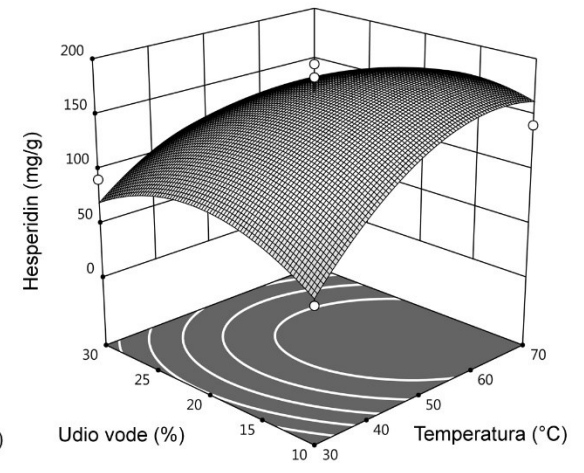
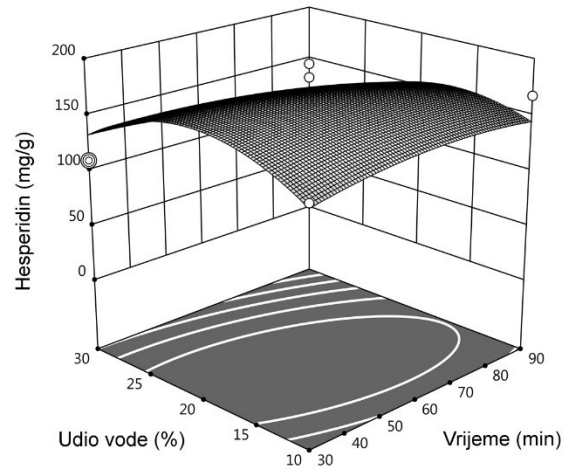
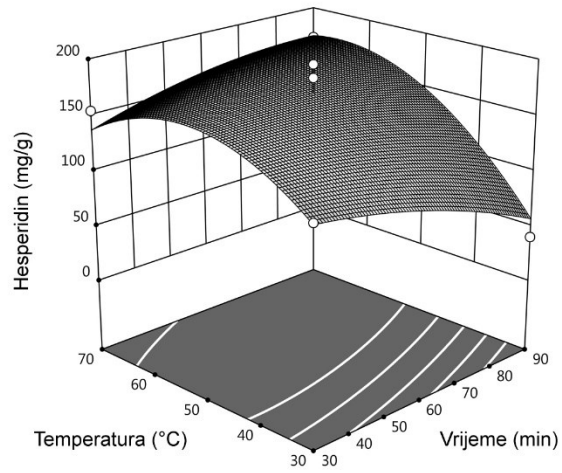
—■— Stvarna vrijednost —◆— Očekivana vrijednost ○ Ostaci

Ekperimentalna matrica i vrijednost promatranog odziva

| | | | | Okitsu | Chahara | Kuno | Zorica rana |
|-------------------|---------------|------------|----------------------|-----------------------|---------|---------|-------------|
| Broj eksperimenta | Vrijeme (min) | Temp. (°C) | H ₂ O (%) | 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

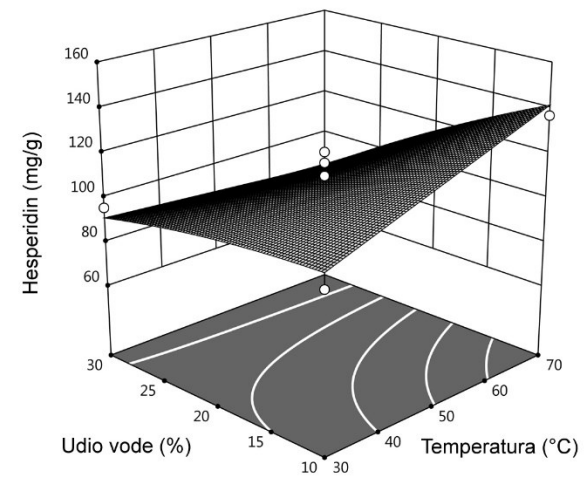
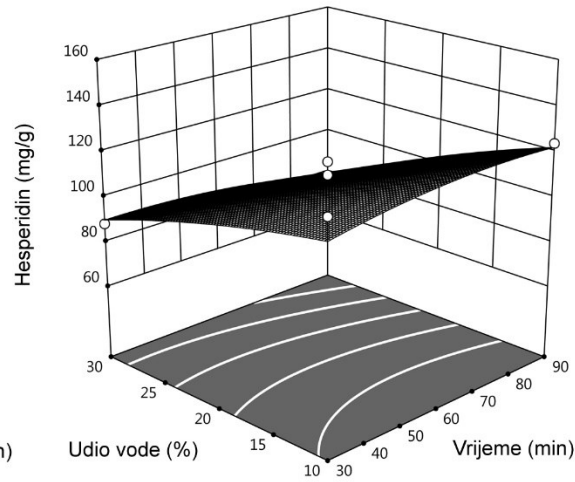
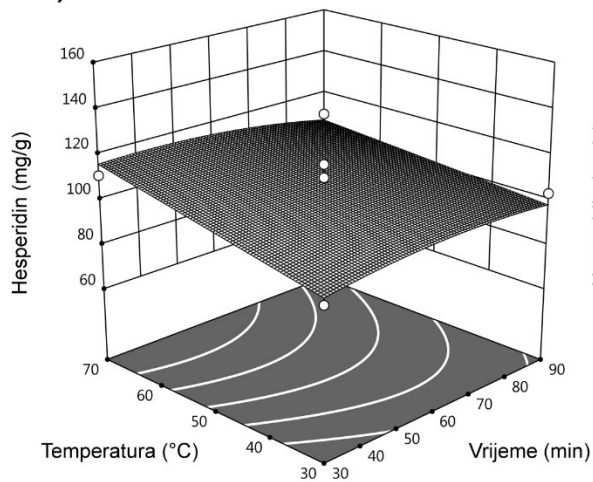
a)



Okitsu

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

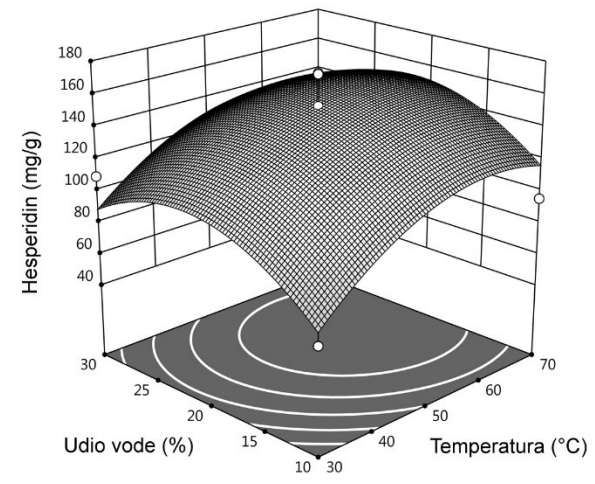
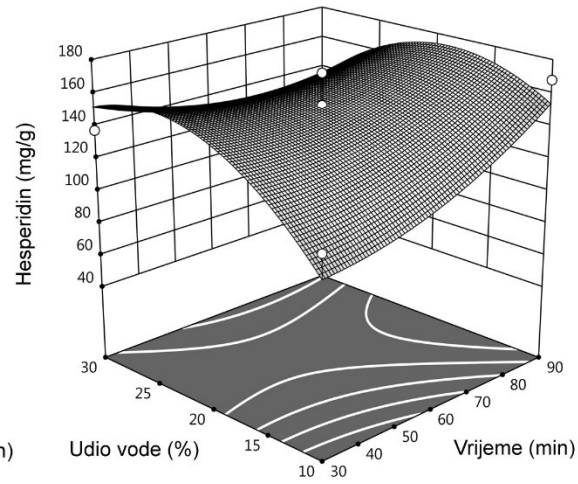
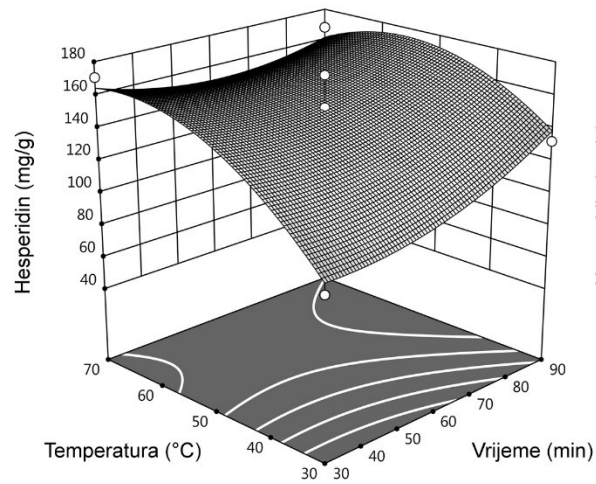
b)



Chahara

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

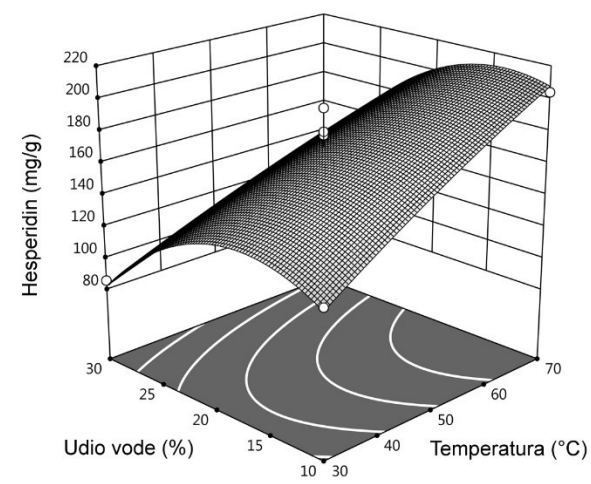
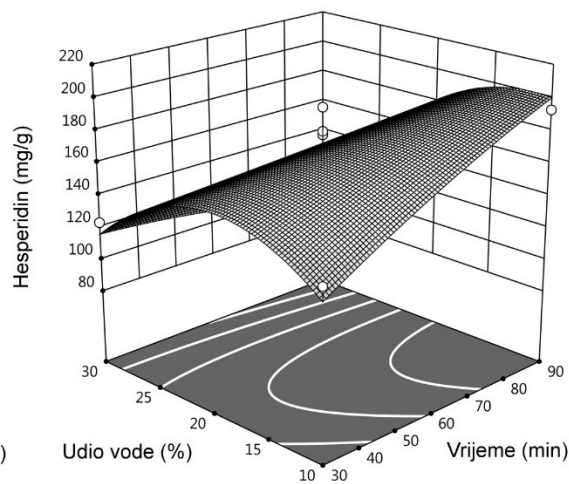
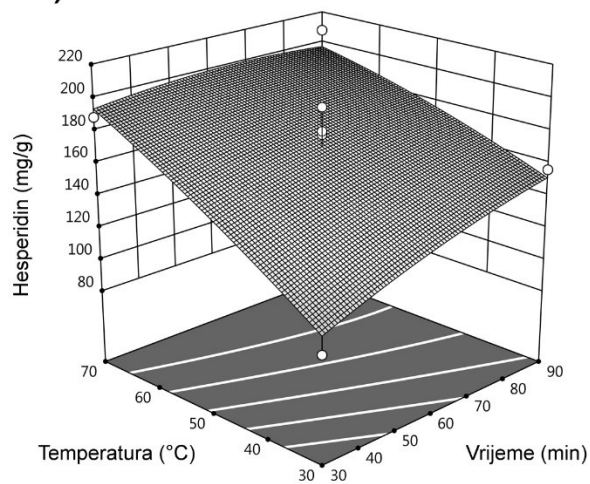
c)



Kuno

3D DIJAGRAMI UTJECAJA ISPITIVANIH VARIJABLI NA PRINOS HESPERIDINA

d)



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 !!! 😊