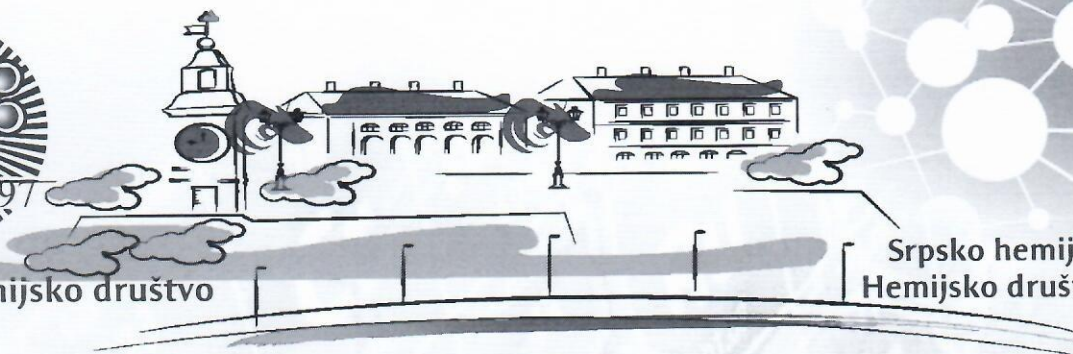




Srpsko hemijsko društvo



Srpsko hemijsko društvo  
Hemijsko društvo Vojvodine

## 55. savetovanje Srpskog hemijskog društva

# KNJIGA RADOVA

55<sup>th</sup> Meeting of  
the Serbian Chemical Society

## PROCEEDINGS

Novi Sad 8. i 9. juni 2018.  
Novi Sad, Serbia, June 8-9, 2018



Srpsko hemijsko društvo



Serbian Chemical Society

Srpsko hemijsko društvo  
Hemijsko društvo Vojvodine



Serbian Chemical Society  
Chemical Society of Vojvodina

**55. SAVETOVANJE  
SRPSKOG HEMIJSKOG  
DRUŠTVA**

**KNJIGA  
RADOVA**

**55<sup>th</sup> MEETING OF  
THE SERBIAN CHEMICAL SOCIETY**

**Proceedings**

Novi Sad 8. i 9. juni 2018.

Novi Sad, Serbia, June 8-9, 2018

## Optimizacija postupka ekstrakcije polifenola iz pogače konzumnog suncokreta

Zorica Stojanović, Snežana Kravić, Nada Grahovac\*, Ranko Romanić, Ana Đurović,  
Nada Hladni\*, Ana Marjanović Jeromela\*

*Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad*

*\*Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, Novi Sad*

### Uvod

Seme suncokreta se odavnina koristi u ljudskoj ishrani i u današnje vreme predstavlja jednu od najviše gajenih uljanih kultura u svetu. Razlikuju se dva tipa suncokreta koji se gaje, uljani tip i konzumni tip. Uljani tip suncokreta se proizvodi za dobijanje jestivog biljnog ulja, dok se konzumni suncokret odlikuje manjim sadržajem ulja i visokim sadržajem proteina i drugih biološki aktivnih jedinjenja, i koristi se pretežno za ljudsku ishranu usled visoke hranljive vrednosti. U poslednje vreme, mogućnost proizvodnje ulja od konzumnog suncokreta je predmet interesovanja kako u naučnim krugovima, tako i u krugovima proizvođača i prerađivača. Ulja iz konzumnog suncokreta dobijaju se ceđenjem, tj. primenom mehaničkih presa i delovanjem sile na seme. Nerafinisano, hladno ceđeno ulje poseduje karakteristična senzorna svojstva i sadrži očuvane bioaktivne komponente koje potiču iz semena suncokreta. Usled odsustva rafinacije, ova ulja su specifična po svom izgledu, boji, mirisu i ukusu, hemijskom sastavu, nutritivnoj vrednosti i održivosti. Nakon mehaničkog izdvajanja ulja presovanjem semena zaostaje pogača koja praktično predstavlja otpad iz prehrambene industrije i najčešće se koristi za ishranu životinja. Pored visokog sadržaja proteina, pogača sadrži značajne količine biološki aktivnih jedinjenja,<sup>1</sup> te može predstavljati polaznu sirovinu za dobijanje ekstrakata koji sadrže visoko vredna jedinjenja i koji bi dalje mogli da se koriste za obogaćivanje prehrambenih proizvoda ili kao dodaci u farmaceutskim proizvodima.

Polifenoli, pored ostalih važnih jedinjenja, predstavljaju veoma značajnu grupu supstanci koje se nalaze u konzumnom suncokretu. Unošenje ove vrste jedinjenja hranom ima višestruke efekte na ljudsko zdravlje, prvenstveno povezanih sa njihovom izraženom antioksidativnom aktivnošću i sposobnosti eliminacije slobodnih radikala. Konzumacija hrane bogate antioksidantima smanjuje inflamaciju i nivo oksidativnog stresa kod čoveka.<sup>2,3</sup> Takođe oni pozitivno utiču na celokupan kardiovaskularni sistem i proces starenja.<sup>4</sup> Istraživanja su potvrdila pozitivnu ulogu polifenolnih jedinjenja u prevenciji razvoja raka, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, osteoporoze i neurodegenerativnih bolesti.<sup>5</sup> S obzirom na pozitivno dejstvo na zdravlje ljudi, otuda i veliko interesovanje za proučavanje ovih prirodnih jedinjenja, kao i ispitivanje njihovih novih potencijalnih izvora unosa.

Za ekstrakciju polifenola iz različitih biljnih materijala mogu se koristiti različite tehnike ekstrakcije. Uobičajeni postupci ekstrakcije su nedovoljno efikasni i ne omogućavaju visoko iskorišćenje biljnog materijala, zahtevaju upotrebu značajno većih količina organiskih rastvarača, uz istovremeni veliki utrošak energije usled dugotrajnih procesa ekstrakcije, neophodnosti zagrevanje i mešanja. U poslednje vreme se mnogo češće koriste moderne tehnike kao što su mikrotalasna i ultrazvučna ekstrakcija koje se ubrajaju u metode „zelene ekstrakcije“ i imaju za cilj zaštitu životne sredine i opšteg zdravlja ljudi. Generalno, koncept zelenih tehnika podrazumeva smanjenje ili eliminaciju primene toksičnih rastvarača za ekstrakciju uz istovremeno povećanje iskorišćenja procesa kroz manji utrošak energije, manje generisanje otpada, kraće vreme trajanja procesa i manje angažovanje operatera.<sup>6</sup>

Mikrotalasna i ultrazvučna ekstrakcija su u odnosu na tradicionalne tehnike znatno efikasnije po pitanju prinosa ekstrahovanih bioaktivnih jedinjenja, vreme trajanja ekstrakcije je kraće i smanjena je količina upotrebljenog rastvarača za ekstrakciju.

U cilju valorizacije pogače konzumnog suncokreta kao nusproizvoda dobijenog nakon izdvajanja hladno-ceđenog ulja i povećanja prinosa ekstrahovanih polifenolnih jedinjenja iz pogače, u radu je ispitana efikasnost različitih tehnika ekstrakcije, uključujući maceraciju, ekstrakciju uz intenzivno mešanje, ultrazvučnu i mikrotalasnu ekstrakciju. Primenjene tehnike su upoređene i defisana je najbolja ekstrakciona tehnika za posmatranu grupu jedinjenja. Pored toga, ispitana je efikasnost različitih ekstragenasa i izabran optimalan za izdvajanje polifenola. Na kraju je određen prinos ekstrakta i sadržaj polifenola u pogačama konzumnog suncokreta u cilju procene potencijala ovog sporednog proizvoda kao alternativnog izvora antioksidanata.

### **Materijal i metode**

Sve hemikalije korišćene u radu su čistoće p.a., dobavljača Aldrich Chemical Co. (Steineheim, Germany), Merck (Darmstadt, Germany) i Centrohema (Stara Pazova, Srbija). Kao rastvarači korišćeni su metanol (40, 60 i 80 % rastvor), etanol (40, 60 i 80 % rastvor) i aceton (40, 60 i 80 % rastvor). Za određivanje ukupnog sadržaja polifenola korišćene su sledeće hemikalije: Folin-Ciocalteu reagens, natrijum-karbonat i galna kiselina.

Preliminarna istraživanja izvedena u cilju optimizacije uslova postupka ekstrakcije polifenola su obuhvatila analizu reprezentativnog uzorka pogače konzumnog suncokreta koji je dobijen mešanjem većeg broja pogača.

Nakon odabira ekstrakcione tehnike i izbora optimalnih uslova za ekstrakciju, analizirano je pet uzoraka pogača konzumnog suncokreta. Suncokreti su gajeni na istom lokalitetu, pri istim agro-tehničkim uslovima i u isto vreme. Uzorkovanje semena suncokreta je izvedeno neposredno posle žetve, dok je sušenje izvedeno pri atmosferskim uslovima. Svi uzorci semena suncokreta su bili celog jezgra bez oštećenja i čuvani su u zatvorenim plastičnim kesama u mraku. Nakon izdvajanja ulja hladnim presovanjem, pogače konzumnih suncokreta su usitnjavane u električnom mlinu. Za ekstrakciju je uzimano oko 5 g uzorka, dok je za ekstrakciju korišćeno 25 mL ekstragensa. Ekstrakcione tehnike koje su primenjene su uključile maceraciju, ekstrakciju uz intenzivno mešanje, mikrotalasnu (MT) i ultrazvučnu (UZ) ekstrakciju. Maceracija je izvođena na temperaturi od 25°C u trajanju od 24 h. Za ekstrakciju uz intenzivno mešanje je korišćen Ultra-turrax<sup>®</sup> homogenizer, a vreme ekstrakcije je iznosilo 10 min. Ultrazvučna ekstrakcija je izvođena u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 60 min na 30°C uz korišćenje povratnog hladnjaka. Mikrotalasna ekstrakcija je izvođena pri snazi mikrotalasa od 320 W u trajanju od 10 min. Nakon završenog procesa ekstrakcije, ekstrakti su od biljnog materijala odvajani filtriranjem uz ispiranje rastvaračem za ekstrakciju. Dobijeni ekstrakti su koncentrovani na rotacionom vakuum uparivaču do suva i određen je prinos ekstrakta.

### *Određivanje sadržaja ukupnih polifenola*

Sadržaj ukupnih polifenola u ekstraktima je određen po proceduri Folin-Ciocalteu-a uz određene modifikacije.<sup>7</sup> Suvi ekstrakti su rastvoreni u 5 mL metanola. U 100 µL rastvorenog ekstrakta je dodato 500 µL Folin-Ciocalteu reagensa i 6 mL destilovane vode. Nakon intenzivnog mešanja u trajanju od 60 s, dodato je 2 mL 15 % rastvora Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i rastvor je mućkan još 30 s nakon čega je dopunjen do 10 mL destilovanom vodom. Apsorbancija je

merena nakon 2 h na 750 nm na spektrofotometru (UV-2100, Cole Parmer, USA). Za definisanje kalibracione krive korišćen je rastvor galne kiseline i sadržaj ukupnih polifenola je izražavan kao mg ekvivalenta galne kiseline po kg suve mase biljnog materijala (mg GAE/kg SM).

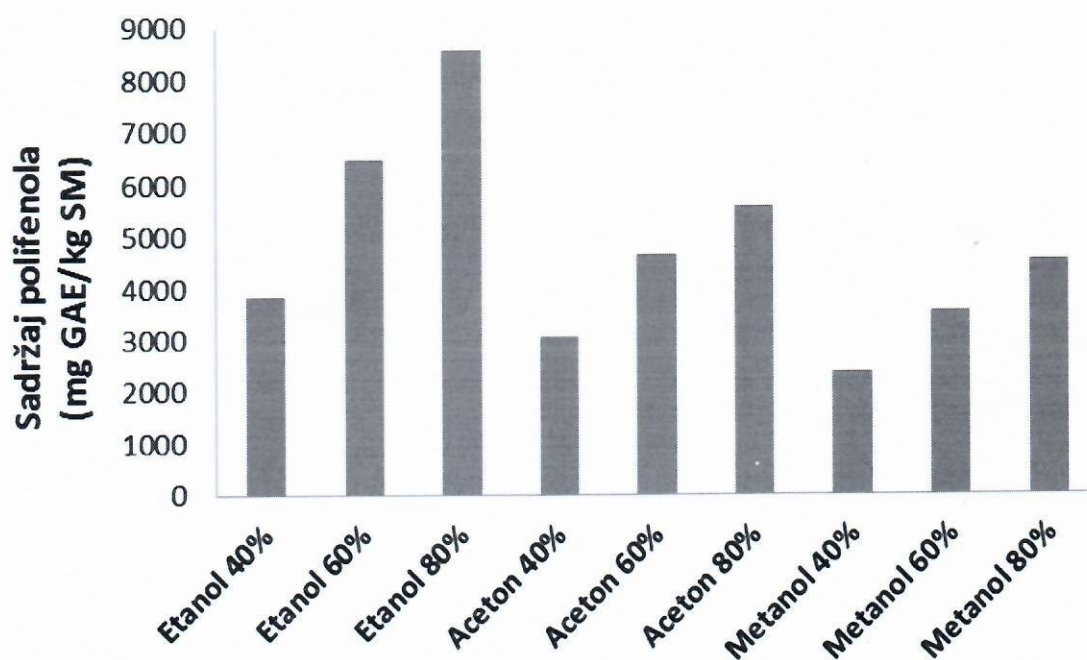
#### Statistička analiza

Statistička analiza je izvedena korišćenjem programa Origin Pro 8. Svi rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija tri nezavisna merenja.

#### Rezultati i diskusija

Optimizacija postupka ekstrakcije polifenola iz uzoraka pogača konzumnog suncokreta je obuhvatila odabir ekstragensa i ekstrakcione tehnike koja obezbeđuje najviši prinos ekstrakta i sadržaj polifenola.

Pri ispitivanju ekstrakcione moći ekstragensa, poređeni su različiti rastvarači, a ekstrakcija je izvedena primenom ultrazvučne tehnike. Nezavisno od primenjene koncentracije rastvarača za ekstrakciju, prinosi ekstrahovanih materija dobijeni korišćenjem acetona i metanola kao ekstragensa su bili značajno manji u odnosu na prinose dobijene etanolom. Dodatno je utvrđeno da je sadržaj polifenolnih jedinjenja znatno veći u ekstraktima dobijenim primenom 60 % i 80 % etanolnih rastvora, uz najviši određen sadržaj primenom 80 % etanolnog rastvora (Slika 1). Pored toga, etanolni ekstrakt je bilo veoma jednostavno upariti do suva, te je stoga 80% etanol izabran kao odgovarajući rastvarač za ekstrakciju.



**Slika 1.** Poređenje efikasnosti različitih rastvarača za izolovanje polifenola iz pogače konzumnog sunokreta

U tabeli 1 prikazani su prinosi ekstrakta i sadržaj polifenola dobijeni primenom različitih ekstrakcionih tehnika, uz primenu 80 % etanolnog rastvora kao ekstragensa. Rezultati

ispitivanja su pokazali da je maceracija pokazala najmanju efikasnost. Primenom savremenih ekstrakcionih tehnika, ultrazvučne i mikrotalasne ekstrakcije, dobijeni su značajno veći prinosi i sadržaji polifenolnih jedinjenja u odnosu na konvencionalnu ekstrakciju.

Prinosi ekstrakta se nisu značajno razlikovali primenom ultrazvučne i mikrotalasne ekstrakcije, dok je u ekstraktu dobijenom primenom ultrazvučne ekstrakcije dobijen najveći sadržaj polifenola. Prednost ultrazvučne ekstrakcije se ogledala i u znatno reproduktivnijim rezultatima određivanja sadržaja polifenola, tj. relativna standardna devijacija dobijenih rezultata je bila mnogo manja u poređenju sa ostalim ekstrakcionim tehnikama. Za dalja određivanja posmatranih parametara odabrana je ultrazvučna ekstrakcija sa 80% etanolom kao ekstragensom.

**Tabala 1.** Rezultati prinosa ekstrahovanih supstanci i sadržaja polifenola u pogačama konzumnog suncokreta dobijeni primenom različitih ekstrakcionih tehnika

Tip ekstrakcije	Prinos ekstrakta, %	Sadržaj polifenola, mg GAE/kg SM
Maceracija	3,64±0,14	5063,24±232,10
Ekstrakcija uz intenzivno mešanje	3,99±0,02	5605,58±538,41
Ultrazvučna ekstrakcija	5,78±0,25	8548,53±303,63
Mikrotalasna ekstrakcija	5,02±0,44	6085,82±630,18

Nakon odabira optimalnog rastvarača za ekstrakciju i izbora najefikasnije ekstrakcione tehnike, dalje su analizirani uzorci. Rezultati određivanja prinosa i sadržaja polifenola u dobijenim ekstraktima pogača konzumnih suncokreta su prikazani u Tabeli 2. Prinosi ekstrakta uzoraka su bili u intervalu od 3,93% do 5,46%, dok se sadržaj ukupnih polifenola u dobijenim uzorcima kretao u intervalu od 4041,48 do 4868,03 mg GAE/kg SM. Kao što se može videti, sadržaj polifenolnih jedinjenja nije zanemarljiv, te bi se ovi sporedni produkti prehrambene industrije mogli iskoristiti za dobijanje visokovrednih ekstrakata i obogaćivanje prehrambenih i farmaceutskih proizvoda.

**Tabala 2.** Rezultati analiza ekstrakta pogača konzumnog suncokreta

Uzorci	Prinos ekstrakta, %	Sadržaj polifenola, mg GAE/kg SM
1	5,32±0,18	4646,86±325,70
2	4,46±0,06	4041,48±212,65
3	3,93±0,02	4868,03±256,22
4	5,46±0,14	4201,00±346,57
5	4,75±0,08	4653,78±235,94

### Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da su primenom ultrazvučne tehnike ekstrakcije dobijeni veći prinosi ekstrahovanih supstanci, kao i najviši sadržaji ukupnih polifenola. Najveću efikasnost ekstrakcije je pokazao 80% etanolni rastvor. Zbog toga se ova tehnika preporučuje za ekstrakciju polifenola iz pogača konzumnog suncokreta. U svim uzorcima pogača konzumnog suncokreta utvrđeno je prisustvo značajne količine polifenola, te one predstavljaju značajan izvor ovih visokovrednih jedinjenja.

**Zahvalnica:** Ovaj rad je nastao kao rezultat istraživanja u okviru projekata III 46009 i TR 31014 finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Optimization of extraction process of polyphenols from sunflower cake

The paper examines the efficiency of various extraction techniques for isolating polyphenol compounds from sunflower cake. Maceration, extraction with intense mixing, ultrasonic and microwave extraction were compared. The extraction efficiency of different solvents for isolation of polyphenolic compounds, including acetone, ethanol and methanol at concentrations of 40, 60 and 80%, were also compared. It has been found that the highest yield is obtained by using the ultrasonic extraction for 60 min at 30°C with the application of 80% ethanol solution as extragens.

#### Literatura:

1. B.A. Bohm, T.F. Stuessy, *Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae)*, Springer, Austria, 2001.
2. B. Halliwell, *Cardiovascular Research*, **73** (2007) 341.
3. W. Guo, E.H. Kong, M. Meydany, *Nutrition and Cancer*, **61** (2009) 807.
4. S. Khurana, K. Venkataraman, A. Hollingsworth, M. Piche, T.C. Tai, *Nutrients*, **5** (2013) 3779.
5. K.B. Pandey, S.I. Rizvi, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2** (2009) 270.
6. A. Scalbert, C. Morand, C. Manach, C. Rémésy, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **56** (2002) 276
7. J. Švarc-Gajić, Z. Stojanović, A. Segura Carretero, D. Arráez Román, I. Borrás, I. Vasiljević, *Journal of Food Engineering*, **119** (2013) 525.