

Разработка технологии получения фитомеланинов из отходов масличного производства

Иванова Людмила Афанасьевна

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, дом 11

E-mail: biotech@mgupp.ru

Фоменко Иван Андреевич

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, дом 11

Институт «Прикладной биохимии и машиностроения» (ОАО «Биохиммаш»)

Адрес: 127299, город Москва, ул. Клары Цеткин, дом 4

E-mail: iv.fomenko@mail.ru

Сергеева Дарья Александровна

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, дом 11

E-mail: d.sergeeva98@mail.ru

Чурмасова Людмила Алексеевна

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, дом 11

E-mail: ludmila-churmasova@yandex.ru

Кабаржан Женисбай Кенжетайулы

Казахский национальный аграрный университет

Адрес: 050010, город, Алматы, проспект Абая, дом 8, Республика Казахстан

E-mail: kabarzhan.zhenisbai@mail.ru

Фитомеланин – уникальный компонент растительного происхождения, полученный из лузги подсолнечника, обладающий фото- и радиопротекторным действием, эффективно защищающий кожу от повреждающего воздействия УФ-лучей разной длины волны. Меланин содержится в любых живых организмах, в том числе и в растениях. Выявлено, что препараты с меланином предотвращают язвообразование, снижают число кровоизлияний в слизистой желудка и препятствуют уменьшению общей массы тела в условиях стресса. Присутствие меланина в пищевых продуктах и изделиях способствует их длительному хранению. Водные экстракты, стабилизированные фитомеланином, дают возможность получить принципиально новую по своим свойствам лечебную косметику. Поиск путей получения фитомеланинов из отходов растительного сырья является актуальной задачей, стоящей перед научным сообществом. Коллективом исследователей предложен способ получения водорастворимых фитомеланинов из подсолнечной лузги, являющейся отход масличного производства. Основным этапом получения является щелочная экстракция, протекающая при температуре 120 °С в течение 1 ч. В качестве экстрагента предложено использовать раствор едкого натра различной концентрации. Полученный экстракт подкисляют раствором соляной кислоты до pH 1,0 – 2,0, отделяют, нейтрализуют и сушат. Для полученной субстанции подтвердили меланоидный характер с помощью качественных реакций, определили адсорбционную способность по отношению к метиленовой сини. Нalучшие образцы имели активность от 50 до 79 мг/г сухого вещества. С помощью модельной тест-системы из желтка куриного яйца была определена общая антиоксидантная активность, которая составила от 10% до 28%. Полученная субстанция может быть использована в качестве лечебно-профилактического препарата или биологически активной добавки к пище.

Ключевые слова: фитомеланины, лузга подсолнечника, общая антиоксидантная активность, адсорбционная способность, стабилизатор, фотопротектор

Как цитировать

Иванова, Л. А., Фоменко, И. А., Сергеева, Д. А., Чурмасова, Л. А., & Кабаржан, Ж. К. (2019). Разработка технологий получения фитомеланинов на отходах масличного производства. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 245. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s245>

Введение

В настоящее время ученые всего мира уделяют особое внимание вопросу биотехнологической и химической переработки промышленных и сельскохозяйственных отходов, в частности – остатков целлюлозосодержащего сырья. Повышенный интерес к этой теме связан с потребностью утилизировать внушительные объемы образующихся отходов и с возможностью получения вторсырья. В качестве многофункционального вторичного материала можно использовать подсолнечную лузгу – отход масличного производства.

Лузга является отходом 5-ого класса опасности (наименьшая угроза для окружающей среды), и представляет собой одревесневшую растительную ткань, однородную по физической структуре, с большим постоянством химического состава и физико-механических свойств (Кузнецова и др., 2019; Kunwar et al., 2012; Nakata et al., 2007). Этот крупнотоннажный отход создает многочисленные экологические проблемы, а именно, потребность значительных площадей для захоронения, возможность возгорания, загрязнение территорий при нарушении хранения и транспортировки.

Подсолнечная лузга содержит 1,4% богатого углеродом чрезвычайно устойчивого пигмента фитомелана, значительное количество пентозанов (23,6 – 28%), клетчатки (52 – 66%), лигнина (24,8 – 29,6%), целлюлозы (31 – 42,4%) и является сырьем для производства кормов в сельском хозяйстве. Лузгу добавляют в компост при выращивании грибов (Иванова и др., 2008; Kahlos et al., 1986; Park et al., 2007), используют в качестве удобрения, подстилки для сохранения тепла и при мульчировании почвы (Hung et al., 2002; Pugh et al., 2005), применяют в изготовлении декоративных материалов, используют как сырье для гидролизной промышленности, альтернативное топливо (гранулы из лузги), сорбционные материалы и лигноцеллюлозное сырье.

Существующие способы переработки подсолнечной лузги, к сожалению, не столь масштабны, и не способны переработать тот крупнотоннажный объем отходов, который вырабатывают масличные предприятия. Эти отходы скапливаются в колоссальных количествах, загрязняют почву и требуют дополнительных площадей для складирования. Микробная биоконверсия подсолнечной лузги затруднительна в связи с наличием большого количества лигнина в ее составе, который является ингибитором большинства гидролитических ферментов микроорганизмов (Adams et al., 1994; Keles

and Özdemir, 2018; Schweitzer et al., 2010). Вышеуказанные факты говорят о том, что данный отход представляет экологическую проблему для окружающей среды и в связи с этим, научное сообщество во всем мире разрабатывает новые способы использования этого целлюлозосодержащего сырья.

На сегодняшний день один из перспективных методов использования подсолнечной лузги – это получение из нее биополимера растительного происхождения – меланина (Shin, 2000), обладающего высокой биологической активностью и рядом фармакологических свойств (Юасифов, 1987; El-Obeid et al., 2006; Jana and Mukherjee, 2004; Zheng et al., 2010). Это обуславливает возможность разработки на основе меланинов, выделенных из лузги подсолнечника, новых технологий получения антиоксидантов, ингибиторов радикальных реакций, сорбентов и биостимуляторов (Островский и Донцов, 1985; El-Obeid et al., 2006; Oberg et al., 2009).

Меланины – высокомолекулярные пигменты, характеризующиеся антиоксидантной активностью, а также радио-, УФ-, гастро- и гепатопротекторной активностью. Особая ценность этих веществ заключается именно в их высокой антиоксидантной активности. А, значит, меланины могут быть использованы для производства лечебно-профилактических препаратов, биологически активных и пищевых добавок, а также в качестве антиоксидантов в пищевой и химической отраслях промышленности (Севрюкова & Кириченко, 2016).

На данный момент известно, что меланины участвуют в репарации ДНК, процессах функционирования дыхательной цепи (как акцептор электронов), участвуют в нейромедиаторных процессах при многочисленных патологических нарушениях функциональных структур нейронов и имеют способность нейтрализовать продукты перекисного окисления липидов (Shujing et al., 2015).

Данные высокомолекулярные пигменты бывают животного, микробного (в отдельную категорию выделяют меланины, полученные из грибной биомассы – микомеланины) и растительного происхождения (фитомеланины).

Для получения меланинов применяют биотехнологические способы, с использованием грибов и бактерий, которые обеспечивают относительно стабильный выход и хорошее качество продукта. В качестве перспективного источника фитомеланинов выступает растительное темноокрашенное сырье.

В рационе человека фитомеланины встречаются во многих продуктах питания: черный хлеб, какао, черные грибы, гречневая крупа и др., и постоянно поступают в организм в их естественном нерастворимом виде. Для производственного получения фитомеланинов перспективным сырьем являются различные растительные отходы пищевых и кормовых производств. Примером такого сырья является лузга подсолнечника, лузга гречихи, кофейная гуща, виноградные и свекольные выжимки и др. (Chung, 2010; Shin et al., 2001)¹.

Меланины малоспособны к процессу диффузии через клеточные стенки. Для полноты их извлечения при экстрагировании из растительного сырья нужно стремиться к максимально возможному в допустимых условиях измельчению материала, чтобы нарушить целостность большего числа клеток для максимального выхода пигмента. Измельчение сырья улучшает его смачиваемость, что облегчает проникновение экстрагента в сырье и извлечение экстрактивных веществ из сырья.

В щелочной среде фитомеланины обладают наибольшей растворимостью, то есть с увеличением pH среды увеличивается диссоциация ионогенных групп меланинов. При этом гидрофильные ионогенные группы частиц меланина ориентируются наружу, а гидрофобные участки внутрь частиц. Наличие электрического заряда приводит к значительной гидратации и разобщению частиц меланинов и повышению их растворимости (Grossi, 1998).

В настоящее время в России количество вырабатываемой подсолнечной лузги достигает 200 тыс. т в год. Высокая биологическая активность фитомеланинов подсолнечной лузги обуславливает возможность применения этого растительного пигмента в пищевой промышленности в качестве антиоксиданта и красителя.

Настоящие разработки представляют большой научный интерес, так как безопасность и функциональность пищевых продуктов являются первостепенными задачами промышленности (Baladaykin & Zmitrovich, 2015; De-Paula et al., 2013).

Предлагаемое техническое решение в данной статье, позволит повысить эффективность использования отходов масличного производства и удовлетворить растущий спрос на меланин с замещением импортных поставок.

Методика исследования

Материалы

Исходным субстратом для получения водорастворимых фитомеланинов была лузга, образующаяся в процессе лущения семян подсолнечника, являющихся основным сырьем в масличных производствах.

Оборудование

В исследованиях по данной тематике использовалось следующее оборудование:

- автоклав (стерилизатор паровой вертикальный) ВК-75 для щелочной экстракции фитомеланинов;
- роторная ударная мельница Retsch SR 200 ;
- аквадистиллятор ДЭ-25 ;
- фотоэлектроколориметр КФК-3;
- центрифуга лабораторная Eppendorf Mini Spinplus;
- шкаф сушильный 2В-151;
- весы лабораторные OHAUS PX-822/E
- ультратермостат TW 2.02
- фотоэлектроколориметр КФК-3

Методы

Щелочную экстракцию фитомеланинов вели с использованием растворов едкого натра различной концентрации. Общая схема получения экстракта включала следующие стадии:

1. Приготовление суспензии подсолнечной лузги при гидромодуле 1:8,5, в качестве дисперсной среды используются растворы едкого натра, концентрацией от 0,5 до 10%;
2. Выдерживание суспензии при температуре $(120 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч;
3. Отделение экстрагента от нерастворимого осадка;
4. Повторная экстракция при аналогичных условиях;
5. Объединение полученных фильтратов, содержащих фитомеланины.

Для получения водорастворимых фитомеланинов экстракты подкисляли раствором соляной кислоты до pH 1 – 2, при этом наблюдалось образование творожистого осадка. Осадок отделяли на центрифуге в течение 10 мин при 7000 об/мин, затем разводили дистиллированной водой в соотношении 1:4, pH полученного раствора доводили до 7,0 и вы-

¹ Dadachova, E., Casadevall, A. Oral administration of melanin for protection against radiation. Patent. USA. - W02012129047 (À1) – 2012 – 09 - 27.

сушили суспензию при $(105 \pm 1)^\circ\text{C}$ до влажности не более 6%.

Методы качественного анализа фитомеланинов

1. При добавлении к раствору фитомеланинов раствора пероксида водорода должно происходить обесцвечивание.
2. При добавлении к раствору фитомеланинов раствора перманганата калия наблюдается образование раствора с зеленой окраской, с последующим выпадением осадка и обесцвечиванием раствора.
3. При добавлении к раствору фитомеланинов хлорида железа наблюдается выпадение хлопьевидного осадка и его растворение в избытке реактива.

Адсорбционная способность

Адсорбционную способность полученных фитомеланинов определяли спектрофотометрическим методом. Для этого 100 мг субстанции, предварительно растертой в ступке, помещали в колбу на 100 см^3 с притертой пробкой, прибавляли 20 см^3 раствора А метиленового синего (188 мг метиленового синего в мерной колбе доводят до объема 250 см^3 дистиллированной водой), закрывали пробкой и перемешивали в течение 1 ч на магнитной мешалке. Суспензию центрифугировали в течение 15 мин при 6000 об/мин. 1 см^3 надосадочной жидкости помещали в мерную колбу на 100 см^3 , доводили раствор до метки дистиллированной водой (испытываемый раствор).

Измеряли оптическую плотность раствора Б (1 см^3 раствора А доводят до 200 см^3 дистиллированной водой) и испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 655 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали дистиллированную воду.

Адсорбционную способность (X), в миллиграммах метиленового синего в пересчете на 1 г, вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(C - C_1) \times 1000 \times 100}{a \times (100 - W)}, \quad (1)$$

где C – содержание метиленового синего в аликвоте раствора А в мг,

$$C = \frac{a_0 \times 20 \times P}{250 \times 100} = \frac{a_0 \times P}{1250}, \quad (2)$$

C_1 – остаточное содержание метиленового синего в растворе после взаимодействия с препаратом в мг,

$$C_1 = \frac{A \times a_0 \times 1 \times 100 \times 20 \times P}{A_0 \times 250 \times 200 \times 1 \times 100} = \frac{A \times a_0 \times P}{A_0 \times 2500}, \quad (3)$$

(A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б; P – содержание метиленового синего в субстанции в пересчете на безводное вещество, в процентах; W – потери массы при высушивании испытуемой субстанции, в %, a_0 – навеска метиленового синего в мг; a – навеска субстанции в мг).

Определение общей антиоксидантной активности

Определение антиоксидантной активности (АОА) осуществляли с использованием модельной системы, представляющей собой суспензию липопротеидов желтка (ЖЛП) куриных яиц, помещенную в среду для проведения реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Для приготовления модельной системы из куриного яйца выделяли желток, подсушивали его на фильтровальной бумаге, а затем растворяли его в равном объеме фосфатного буфера ($40\text{ mM K}_2\text{H}_2\text{PO}_4 + 105\text{ mM KCl}$, pH 7,5). Полученную суспензию ЖЛП перед использованием разводили в 25 раз тем же буфером.

Исследование проводили следующим образом: к 0,6 г фитомеланинов добавляли 1 см^3 суспензии ЖЛП, затем 3 см^3 1% ортофосфорной кислоты. Перекисное окисление липидов во всех пробах инициировали добавлением $0,1\text{ см}^3$ раствора сернокислого железа ($30\text{ мг FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в 10 см^3 дистиллированной воды). Контрольная проба не содержала образцов фитомеланинов. Пробы тщательно перемешивали и инкубировали в ультратермостате при 37°C в течение 20 мин.

Скорость перекисного окисления липидов определяли по количеству накопившихся ТБК-продуктов (малоновый диальдегид), реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Для этого в каждую пробирку добавляли по 1 см^3 0,6% тиобарбитуровой кислоты. Содержимое пробирок снова перемешивали и помещали в кипящую водяную баню на 20 мин. Далее пробирки охлаждали, добавляли в них по 4 см^3 бутанола, тщательно перемешивали и центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Оптическую плотность верхней (бутанольной) фазы измеряли при длине волны 540 нм с помощью фотоэлектроколориметра КФК-3, длина оптического пути – 5 мм. В качестве раствора сравнения использовали чистый бутиловый спирт.

Расчет содержания продуктов, реагирующих с ТБК, проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида, равного $1,56 \cdot 10^5$ моль $\cdot$ см $^{-1}$:

$$A = \frac{E_{\text{оп}} \cdot 10^6 \cdot 4}{1,56 \cdot 10^5 \cdot 0,5} = E_{\text{оп}} \cdot 51,3, \quad (4)$$

где A – содержание МДА (в мкмоль/л или нмоль/см 3); 4 – объем бутанольной фазы; 0,6 – масса пробы фитомеланинов; $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность.

Антиоксидантную активность (АОА) в процентах рассчитывали по формуле:

$$\text{АОА} = \frac{E_{\text{контр}} - E_{\text{обр}}}{E_{\text{контр}}} \cdot 100, \quad (5)$$

где $E_{\text{контр}}$ – оптическая плотность контрольного раствора, $E_{\text{обр}}$ – оптическая плотность испытуемого образца.

Процедура исследования

На первом этапе исследовали влияние степени измельчения подсолнечной лузги на массу экстрагируемых меланинов. Для этого готовили навески исходной подсолнечной лузги и лузги измельченной с использованием бытовой кофемолки Bosch и роторной ударной мельницы Retsch SR 200. Были получены частицы 3-х различных размеров.

Далее было проведено исследование, показавшее зависимость между концентрацией экстрагента и массой полученных водорастворимых фитомеланинов.

Результаты

При исследовании влияния степени измельчения подсолнечной лузги на экстракцию меланинов лузга измельчалась на бытовой кофемолке Bosch, до получения частиц шириной 1-3 мм, длиной 2-5 мм. и на роторной ударной мельнице Retsch SR 200, где были получены частицы, размер которых не превышал 100 мкм. Для исследования были приготовлены суспензии трех вариантов измельчения подсолнечной лузги при гидромодуле 1:8,5, в качестве дисперсной среды использовали 4% раствор NaOH. Суспензии выдержали в автоклаве при $(120 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч, затем фильтровали, pH фильтратов доводили до значения 1,0 соляной кислотой, полученный осадок отделяли центрифугированием в течение 15 мин при 7000 об/мин. К осадку добав-

ляли 4 объема дистиллированной воды и доводили pH до 7,0. Полученную суспензию высушивали до остаточной влажности не более 6%. Данные о массе полученных водорастворимых фитомеланинов представлены в таблице 1.

После установления эффективного способа размола подсолнечной лузги необходимо было определить оптимальную концентрацию экстрагента фитомеланинов. С этой целью были приготовлены суспензии подсолнечной лузги, измельченной с помощью роторной ударной мельницы Retsch SR 200, при гидромодуле 1:8,5. В качестве дисперсной среды использовали растворы едкого натра следующих концентраций (в %): 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10. Экстрагирование и получение водорастворимых фитомеланинов проводили аналогично условиям, указанным в первой части исследований. Данные о выходе полученных водорастворимых фитомеланинов и их адсорбционной способности представлены в таблице 2.

Для всех полученных субстанций был подтвержден меланоидный характер, определена адсорбционная способность и антиоксидантная активность с использованием модельной тест-системы.

Обсуждение полученных результатов

По данным таблицы 1 можно сделать вывод об оптимальной степени измельчения исходного субстрата для получения водорастворимых фитомеланинов. Очевидно, что увеличение площади соприкосновения твердой и жидкой фазы повышает степень экстрагирования фитомеланинов. При использовании роторной ударной мельницы Retsch SR 200 получают частицы, позволяющие в 100 раз увеличить выход целевого продукта по сравнению с неизмельченной лузгой.

При исследовании оптимальной концентрации экстрагента было определено, что наибольший выход меланинов по отношению к исходному субстрату составляет 72,78% при использовании 10% раствора едкого натра, понижение концентрации приводит к снижению выхода целевого продукта. По сравнению с работой отечественных исследователей² количество полученных водорастворимых фитомеланинов в 7 - 9 раз выше. Ключевым отличием описанного способа является использование растворов едкого натра большей концентрации и выдерживание при температуре 120°C . В тоже время,

² Грачева, Н. В., Желтобрюхов, В. Ф., & Голованчиков, А. Б. (2017). Способ получения меланина из лузги подсолнечника. RU 2613294 C1 Заявка: 2016115275 от 2016.04.19.

Таблица 1

Влияние степени измельчения подсолнечной лузги на выход водорастворимых фитомеланинов

Вариант размола	Выход водорастворимых фитомеланинов по отношению к исходной массе лузги, %
Неизмельченная лузга	0,25
Измельченная с использованием бытовой кофемолки Bosch	2,91
Измельченная с использованием роторной ударной мельницы Retsch SR 200	25,87

Таблица 2

Влияние концентрации экстрагента на выход и свойства водорастворимых фитомеланинов

Концентрация NaOH, %	Выход водорастворимых фитомеланинов по отношению к исходной лузге, %	Адсорбционная способность, мг метиленовой сини/г субстанции	Антиоксидантная активность, %
0,5	0,53	71,35	-
1	1,87	75,61	-
2	9,35	77,25	-
4	26,89	82,71	28,2
6	34,90	75,65	26,4
8	37,09	53,23	18,5
10	72,78	48,38	10,9

показатель общей антиоксидантной активности в 3 – 4 раза ниже, чем в способе описанном Грачевой и др. Это объясняется тем, при предложенной нами обработке происходит экстрагирование сопутствующих веществ, не обладающих антиоксидантной активностью.

Стоит отметить, что максимальное значение (82,71 мг метиленовой сини/ г субстанции) адсорбционной способности получено в субстанции, где в качестве экстрагента использовался 4% раствор NaOH, это можно объяснить тем, что при использовании более концентрированного экстрагента повышается экстракция сопутствующих веществ, не относящихся к группе фитомеланинов. Данный показатель коррелирует с данными о меланинах гриба чаги, описанных Chung et al, 2018.

Заключение

Проведенные исследования показали возможность использования подсолнечной лузги в качестве сырья для получения водорастворимых фитомеланинов. Предложена технология щелочной экстракции с последующим осаждением меланинов соляной кислотой. Фитомеланины из подсолнечной лузги обладают высокой адсорбционной и антиоксидантной активностями, что позволяет использовать их в качестве биологически активных добавок к пище или вводить в рецептуры пищевых продуктов.

В будущих исследованиях целесообразно разрабо-

тать технологию получения водорастворимых фитомеланинов, используя для их осаждения минеральные или органические кислоты, разрешенные для применения в пищевой промышленности (ортофосфорная, лимонная, яблочная, молочная кислоты).

Природные меланины, содержащиеся в животных и растительных клетках, обладают высокой антиоксидантной активностью. Именно, благодаря этому свойству, они представляют большой интерес для производства функциональных продуктов здорового питания. Подсолнечная лузга может быть технологичным и экономически эффективным источником получения чистого фитомеланина в промышленном производстве.

Литература

- Иванова, Г. А., Докторов, Л. Ю., Сысоева, М. А., & Кутырев, Г. А. (2008). Использование азотосодержащего гиперразветвленного полимера для повышения антиоксидантной активности меланинов чаги. *Химия растительного сырья*, 2, 75–80.
- Кузнецова, О. Ю., Шаехов, М. Ф., & Зиятдинова, Г. К. (2019). Экстракты и меланины чаги, полученный после плазменной обработки сырья. *Ученые записки казанского университета*, 161(2), 211–221. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.2.211-221>
- Островский, М. А., & Донцов, А. Е. (1985). Физиологические функции меланина в организме. *Физи-*

- ология человека, 11(4), 670-678.
- Северюкова, Г. А., & Кириченко, М. А. (2016). Получение меланина на основе отходов маслоэкстракционного производства. *Промышленная экология и безопасность жизнедеятельности Волгоградского государственного технического университета*, 1, 125.
- Юсифов, Э. Ю. (1987). Влияние меланина на свободно – радикальное состояние гамма – облученных белков и липидов. *Радиобиология*, 27(1), 8-11.
- Adams, R., Van Bogaert, L., & Ecken, H. (1994). Striatonigral degeneration. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 23, 584-593.
- Balandaykin, M. E., & Zmitrovich, I. V. (2015). Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2), 95-104. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v17.i2.10>
- Chung, M. J. (2010) Anticancer activity of subfractions containing pure compounds of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract in human cancer cells and in Balbc/c mice bearing Sarcoma-180 cells. *Nutrition research and practice*, 4(3), 177-182. <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.3.177>
- De-Paula, O. C., Marzinek, J., & Oliveira, D. M. T. (2013). The role of fibres and the hypodermis in *Compositae* melanin secretion. *Micron*, 44, 312-316.
- El-Obeid, A., Al-Harbi, S., AL-Jomah, N., & Hassib, A. (2006). Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 13(5), 324-333.
- El-Obeid, A., Hassib, A., Pontén, F., & Westermarck, B. (2006). Effect of herbal melanin on IL-8: a possible role of Toll-like receptor 4 (TLR4). *Biochemical and Biophysical research communications*, 344(4), 1200-1206.
- Grossi, G.F., Durante, M., & Gvalanella, G. (1998). Effects of melanin on high-LET radiation response of human epithelial cells. *Radiation and environmental biophysics*, 37, 63-67.
- Hung, Y. C., Sava, V. M., Makan, S. Y., Chen, T. H. J., Hong, M. Y, & Huang, G. S. (2002). Antioxidant activity of melanins derived from tea: comparison between different oxidative states. *Food Chemistry*, 78, 233-240.
- Jana, B., & Mukherjee, S. (2004). Notes on the distribution of phytomelanin layer in higher plants—a short communication. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 4(3), 131-132.
- Kahlos, K., Kangas, L., & Hiltunen, R. (1986). Antitumor activity of triterpenes in *Inonotus obliquus*. *Planta Medica*, 52, 554.
- Keles, Y., & Özdemir, Ö. (2018). Extraction, purification, antioxidant properties and stability conditions of phytomelanin pigment on the sunflower seeds. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(2), 140-148. <https://doi.org/10.21448/ijsm.377470>
- Kunwar, A., Adhikary, B., Jayakumar, S., Barik, A., Chattopadhyay, S., Raghukumar, S., & Priyadarsini K. (2012). Melanin, a promising radioprotector: Mechanisms of actions in a mice model. *Toxicology and Applied Pharmacology* 264(2), 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.08.002>
- Nakata, T., Yamada, T., Taji, S., Ohishi, H., Wada, S., Tokuda, H., Sakuma, K., & Tanaka, R. (2007). Structure determination of inonotsuoxides A and B and in vivo anti-tumor promoting activity of inotodiol from the sclerotia of *Inonotus obliquus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(1), 257-264.
- Oberg, F., Haseeb, A., Ahnfelt, M., Ponten, F., Westermarck, B., & El-Obeid, A. (2009). Herbal melanin activates TLR 4/NF-kappa B signaling pathway. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16(5), 477-484. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.008>
- Park, K.I., Ishikawa, N., Morita, Y. Choi, J.D., Hoshino, A., Iida, S. (2007). A bHLH regulatory gene in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*, controls anthocyanin biosynthesis in flowers, proanthocyanidin and phytomelanin pigmentation in seeds, and seed trichome formation. *The Plant Journal*, 49(4), 641-654.
- Pugh, N., Balachandran, P., Lata, H., Dayan, F., Joshi, V., Bedir, E., Makino, T., Moraes, R., Khan, I., & Pasco, D. (2005). Melanin: dietary mucosal immune modulator from Echinacea and other botanical supplements. *International Immunopharmacology*. 5(4), 637-647.
- Schweitzer, A., Revskaya, E., Chu, P., Pazo, V., Friedman, M., Nosanchuk, J., Cahill, S., Frases, S., Casadevall, A., & Dadachova, E. (2010). Melanin-covered nanoparticles for protection of bone marrow during radiation therapy of cancer. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 78(5), 1494-1502. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.020>
- Shin, Y., Tamai Y., & Terazawa M. (2000). Chemical constituents of *Inonotus obliquus* III. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2(3), 201-207.
- Shin, Y., Tamai, Y., & Terazawa, M. (2001). Triterpenoids, steroids and a new sesquiterpen from *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Bond, et Sing. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 4(3), 250-256.
- Shujing, S., Zhang, X., Sun, S., Zhang, L., Shan, S., &

- Zhu, H. (2015). Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure, *Food Chemistry*, 190, 801-807.
- Zheng, W., Miao, K., Liu, Y., Zhao, Y., Zhang, M., Pan, S., & Dai, Y. (2010). Chemical diversity of biologically active metabolites in the sclerotia of *Inonotus obliquus* and submerged culture strategies for up-regulating their production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(4), 1237–1254. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2682-4>

Development of Technologies for Producing Phytomelanines on Waste Oil Production

Lyudmila A. Ivanova

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: biotech@mgupp.ru*

Ivan A. Fomenko

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
JSC "Biokhim mash"
4 Klara Cetkin str., Moscow, 127299, Russian Federation
E-mail: iv.fomenko@mail.ru*

Darya A. Sergeeva

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: d.sergeeva98@mail.ru*

Lyudmila A. Churmasova

*Moscow State University of Food Production
11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation
E-mail: ludmila-churmasova@yandex.ru*

Zhenisbai Kabarzhhan

*Kazakh National Agrarian University
8 Abay ave., Almaty, 050010, Kazakhstan
E-mail: kabarzhhan.zhenisbai@mail.ru*

Phytomelanin is a unique [M1] component of plant origin, obtained from the husks of sunflower, having photo and radioprotective effects, effectively protecting the skin from the damaging effects of UV rays of different wavelengths. Melanin is found in all living organisms, including plants. Revealed that preparations with melanin prevent ulceration, reduce the number of hemorrhages in the stomach mucosa and prevent a decrease total body weight in stress condition. The presence of melanin in food products and products contributes to their long-term storage. Water extracts stabilized with phytomelanin gives a possibility to obtain healing cosmetics that are fundamentally new in their properties. The search for ways to obtain phytomelanins from plant waste is an actual task facing the scientific community. A collective of researchers has proposed a method for producing water-soluble phytomelanins from sunflower husk, which is an oilseed waste. The main stage of obtaining is alkaline extraction, continuing at a temperature of 120 ° C for 1 h. It is offered to use a solution of caustic soda with various concentration as an extractant. The resulting extract acidified with a solution of hydrochloric acid to a pH of 1.0 to 2.0, separated, neutralized and dried. For the obtained substance confirmed the character of melanoid using qualitative reactions, and the adsorption ability with relation to methylene blue was determined. The best exemplars had activity from 50 to 79 mg / g dry matter. Via a model test system from chicken yolk, the total antioxidant activity was determined, which ranged from 10% to 28%. The resulting substance can be used as a therapeutic drug or biologically active food supplement.

Keywords: phytomelanin, husks of sunflower, total antioxidant activity, adsorption ability, stabilizer, photoprotector

How to Cite

Ivanova, L. A., Fomenko, I. A., Sergeeva, D. A., Churmasova, L. A., & Kabarzhhan, Z. (2019). Development of Technologies for Producing Phytomelanines on Waste Oil Production. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 245. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s245>

References

- Ivanova, G. A., Doktorov, L. Yu., Sysoeva, M. A., & Kuttyrev, G. A. (2008). Using a nitrogen-containing hyperbranched polymer to increase the antioxidant activity of chaga melanins. *Himiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2, 75–80.
- Kuznetsova, O. Yu., Shaekhov, M. F., & Ziyatdinova, G. K. (2019). Extracts and melanins of chaga obtained after plasma processing of raw materials. *Uchenye zapiski kazanskogo universiteta* [Scientific notes of Kazan University], 161(2), 211–221. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.2.211-221>
- Ostrovsky, M. A., & Dontsov, A. E. (1985). Physiological functions of melanin in the body. *Fiziologiya cheloveka* [Human physiology], 11(4), 670–678.
- Sevryukova, G. A., & Kirichenko, M. A. (2016). Production of melanin based on waste oil extraction production. *Promyshlennaya ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti» Volgogradskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* [Industrial Ecology and Life Safety "Volgograd State Technical University], 1, 125.
- Yusifov, E. Yu. (1987). Influence of melanin on the free radical state of gamma-irradiated proteins and lipids. *Radiobiology [Radiobiology]*, 27(1), 8–11.
- Adams, R., Van Bogaert, L., & Ecken, H. (1994). Striatonigral degeneration. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 23, 584–593.
- Balandaykin, M. E., & Zmitrovich, I. V. (2015). Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2), 95–104. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v17.i2.10>
- Chung, M. J. (2010) Anticancer activity of subfractions containing pure compounds of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract in human cancer cells and in Balb/c mice bearing Sarcoma-180 cells. *Nutrition research and practice*, 4(3), 177–182. <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.3.177>
- De-Paula, O. C., Marzinek, J., & Oliveira, D. M. T. (2013). The role of fibres and the hypodermis in *Compositae* melanin secretion. *Micron*, 44, 312–316.
- El-Obeid, A., Al-Harbi, S., AL-Jomah, N., & Hassib, A. (2006). Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 13(5), 324–333.
- El-Obeid, A., Hassib, A., Pontén, F., & Westermarck, B. (2006). Effect of herbal melanin on IL-8: a possible role of Toll-like receptor 4 (TLR4). *Biochemical and Biophysical research communications*, 344(4), 1200–1206.
- Grossi, G.F., Durante, M., & Gvalanella, G. (1998). Effects of melanin on high-LET radiation response of human epithelial cells. *Radiation and environmental biophysics*, 37, 63–67.
- Hung, Y. C., Sava, V. M., Makan, S. Y., Chen, T. H. J., Hong, M. Y., & Huang, G. S. (2002). Antioxidant activity of melanins derived from tea: comparison between different oxidative states. *Food Chemistry*, 78, 233–240.
- Jana, B., & Mukherjee, S. (2004). Notes on the distribution of phytomelanin layer in higher plants—a short communication. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 4(3), 131–132.
- Kahlos, K., Kangas, L., & Hiltunen, R. (1986). Antitumor activity of triterpenes in *Inonotus obliquus*. *Planta Medica*, 52, 554.
- Keles, Y., & Özdemir, Ö. (2018). Extraction, purification, antioxidant properties and stability conditions of phytomelanin pigment on the sunflower seeds. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(2), 140–148. <https://doi.org/10.21448/ijsm.377470>
- Kunwar, A., Adhikary, B., Jayakumar, S., Barik, A., Chattopadhyay, S., Raghukumar, S., & Priyadarsini K. (2012). Melanin, a promising radioprotector: Mechanisms of actions in a mice model. *Toxicology and Applied Pharmacology* 264(2), 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.08.002>
- Nakata, T., Yamada, T., Taji, S., Ohishi, H., Wada, S., Tokuda, H., Sakuma, K., & Tanaka, R. (2007). Structure determination of inonotsuoxides A and B and in vivo anti-tumor promoting activity of inotodiol from the sclerotia of *Inonotus obliquus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(1), 257–264.
- Oberg, F., Haseeb, A., Ahnfelt, M., Pontén, F., Westermarck, B., & El-Obeid, A. (2009). Herbal melanin activates TLR 4/NF-kappa B signaling pathway. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16(5), 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.008>
- Park, K.I., Ishikawa, N., Morita, Y., Choi, J.D., Hoshino, A., Iida, S. (2007). A bHLH regulatory gene in the common morning glory, *Ipomoea purpurea*, controls anthocyanin biosynthesis in flowers, proanthocyanidin and phytomelanin pigmentation in seeds, and seed trichome formation. *The Plant Journal*, 49(4), 641–654.
- Pugh, N., Balachandran, P., Lata, H., Dayan, F., Joshi, V., Bedir, E., Makino, T., Moraes, R., Khan, I., & Pasco, D. (2005). Melanin: dietary mucosal immune modulator from Echinacea and other botanical supplements. *International Immunopharmacology*. 5(4), 637–647.
- Schweitzer A., Revskaya E., Chu P., Pazo V., Friedman

- M., Nosanchuk J., Cahill S., Frases S., Casadevall A., Dadachova E. (2010). Melanin-covered nanoparticles for protection of bone marrow during radiation therapy of cancer. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 78(5), 1494–1502. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.020>
- Shin Y., Tamai Y., Terazawa M. (2000). Chemical constituents of *Inonotus obliquus* III. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2(3), 201–207.
- Shin Y., Tamai Y., Terazawa M. (2001). Triterpenoids, steroids and a new sesquiterpen from *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Bond. et Sing. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 4(3), 250–256.
- Shujing, S., Zhang, X., Sun, S., Zhang, L., Shan, S., Zhu, H. (2015). Production of natural melanin by *Auricularia auricula* and study on its molecular structure, *Food Chemistry*, 190, 801–807.
- Zheng W., Miao K., Liu Y., Zhao Y., Zhang M., Pan S., Dai Y.. (2010). Chemical diversity of biologically active metabolites in the sclerotia of *Inonotus obliquus* and submerged culture strategies for up-regulating their production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 87(4), 1237–1254. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2682-4>