

ТЕОРЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

УДК 66.061.34/66.086.2

ЗАСТОСУВАННЯ ЕЛЕКТРОІМПУЛЬСНОЇ ЕНЕРГІЇ ПРИ ЕКСТРАКЦІЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ВІДХОДІВ ПЕРЕРОБКИ ЕКЗОТИЧНИХ ФРУКТІВ APPLICATION OF PULSE ELECTRIC ENERGY FOR EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM EXOTIC FRUITS CO-PRODUCTS

Парняков О.С.^{1,2}, аспірант, Барба Ф.³, PhD, Грімі Н.¹, PhD,
Лебовка М.І.^{1,2}, д-р фіз.-мат. наук, професор, Вороб'єв Е.¹, професор

¹Комп'єнський Технологічний Університет, Комп'єнь, Франція

²Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка, Київ, Україна

³Університет Валенсії, Валенсія, Іспанія

Oleksii Parniakov^{1,2}, Francisco J. Barba³, Nabil Grimi¹, Nikolai Lebovka² and Eugène Vorobiev¹

¹Sorbonne Universités, Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, France

²Institute of Biocolloidal Chemistry named after F. D. Ovcharenko, Kyiv, Ukraine

³Universitat de València, València, Spain

Copyright © 2016 by author and the journal "Scientific Works".

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ONAFT
Open Access

Під час переробки екзотичних фруктів, виникає велика кількість побічних продуктів, особливо насіння і шкірки, що традиційно викидають в навколишнє середовище, тим самим викликаючи органічне забруднення. Проте, слід зазначити, що ці побічні продукти є джерелом поживних та біологічно активних сполук, які можуть бути використані для різних цілей (наприклад як харчові або біологічно активні добавки). На даному етапі розвитку, існує брак інформації про різні методи екстракції, які можуть бути використані для вилучення корисних речовин з відходів переробки екзотичних фруктів. Саме тому, екстракція за сприяння імпульсних електричних технологій є досить перспективною. В даній роботі, були використані експоненціальні електричні імпульси з напруженістю поля ≈ 13.3 кВ / см і ≈ 40 кВ / см для імпульсної електричної обробки (PEF) та обробки електричними розрядами високої напруги (HVED), відповідно. Також був проаналізований вплив температури і рН на ефективність екстракції різних компонентів (білків, фенольних сполук, вуглеводів, ізотіоціанатів) і антиоксидантної здатності. Найбільші значення поживно цінних і антиоксидантних сполук були отримані для HVED- екстракції. Проте, застосування HVED може призводити до небажаного забруднення отриманих екстрактів (можуть виникати хімічні продукти електролізу, вільні радикали, і т.д.), а також отримані екстракти були нестабільними і каламутними. Застосування методу двоступеневої (PEF + додаткова водна екстракція при 50 ° C) дозволило значно підвищення вихід ($\approx +200\%$) і антиоксидантну здатність ($\approx +20\%$) вилучених компонентів з відходів папай та манго навіть при нейтральному рН.

During exotic fruits processing, a large amount of by-products, especially seeds and peels, are produced and discarded into the environment causing organic pollution. However, it is recognized that these by-products are a good source of high-added value compounds which can be used for different purposes (i.e. food additives and/or nutraceuticals). At this stage of development, there is a lack of information about the different extraction methods that can be used for the recovery of high-added value compounds from papaya and mango by-products. In this line, the extraction assisted by pulsed electric technologies seems to be rather promising. In this research study, the exponential decay pulses with initial electric field strengths of ≈ 13.3 kV/cm and ≈ 40 kV/cm for PEF and HVED treatments, respectively, were used. The impacts of temperature and pH on extraction efficiency of different components (proteins, total phenolic compounds, carbohydrates, isothiocyanates) and antioxidant capacity were evaluated. The highest values of nutritionally valuable and antioxidant compounds were obtained for HVED-assisted extraction. However, the application of HVED-treatment may produce undesirable contaminants (chemical products of electrolysis, free reactive radicals, etc.) and the obtained extracts were unstable and cloudy. Application of the two-stage method (PEF + supplementary aqueous extraction at 50 °C) allowed a significant enhancement of the yields ($\approx +200\%$) and antioxidant capacities ($\approx +20\%$) of the extracted components from papaya and mango by-products even at neutral pH.

ТЕОРЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Ключові слова: імпульсне електричне поле, електричні розряди високої напруги, відходи, екстракція, біологічно активні речовини.

Keywords: pulsed electric field, high voltage electric discharges, by-products, biorefinery, nutritionally valuable compounds.

Вступ. Велика кількість відходів утворюються протягом усього переробного циклу екзотичних фруктів [1]. Серед них, манго і папая набирають популярність, в даний час займаючи друге місце з 38.6 млн. т та третє – з 11.22 млн. т, від загального виробництва тропічних фруктів, відповідно [2]. Під час переробки екзотичних фруктів, велика кількість насіння та шкірки традиційно викидається в навколишнє середовище, тим самим викликаючи органічне забруднення [3]. Зазвичай, ці побічні продукти були розглянуті як велика проблема. Проте, слід зазначити, що відходи папай мають досить багато корисних та біологічно активних речовин, таких як ізогіоціанати і фенольні сполуки, які можуть бути використані для виробництва біологічно активних добавок, нових харчових і фармацевтичних продуктів [4–6].

Проте, на даному етапі розвитку технологій бракує інформації про різні методи, які можуть бути використані для вилучення цих речовин з харчових відходів.

Класичні методи (подрібнення, нагрів), а також різні альтернативні методи обробки, що в даний час використовуються в промисловості, для підсилення екстрагування, можуть викликати деградацію і порушення структури тканин (мембран і клітинних стінок) неконтрольованим чином. Цей факт є поштовхом до розроблення нових альтернативних рішень, які можуть скоротити час екстракції, знизити температуру і витрати розчинника, а також збільшити ефективність вилучення і знизити споживання енергії в порівнянні зі звичайними методами.

Тому, екстракція підсилена електроімпульсною обробкою (PEF) є досить перспективним методом. Наразі є досить багато успішних прикладів застосування PEF для вилучення біологічно активних речовин з рослинної сировини і відходів [7]. PEF є нетермічним методом обробки з дуже короткою тривалістю (від декількох наносекунд до декількох мілісекунд) з напруженістю поля від 100–300 В / см до 20–80 кВ / см. Під дією PEF, біологічна мембрана втрачає свою напівпроникність. Електрична пермеабілізація біологічних мембран (електропорація) може бути оборотною чи необоротною [8]. Попередні наукові дослідження показали, що електропорація, індукована помірними електричними полями (0.5–5.0 кВ / см) зберігає клітинну стінку [9, 10]. Попередні експерименти по дослідженню екстракції, підсиленою електроімпульсною обробкою, з такої сировини, як виноград, виноградні вичавки, цукровий буряк, дріжджі і апельсинова кірка підтверджують можливість досягнення селективної екстракції [11–15]. Крім того, рослинні матеріали, оброблені PEF, є менш деградованими ніж при термічній обробці.

Значний інтерес був також наданий дослідженню високовольтних електричних розрядів (HVED). HVED-технологія була нещодавно використана для підвищення екстракції біологічно активних сполук з різної сировини. HVED призводить до утворення гарячої, локалізованої плазми, що є джерелом УФ-випромінювання високої інтенсивності, також утворюються ударні хвилі, кавітаційні бульбашки, що призводить до генерування гідроксильних радикалів під час фотодисоціації води [12].

Головна мета даного дослідження полягає в оцінці потенціалу імпульсної електричної енергії (PEF і HVED) підсилення екстракції для вилучення біологічно активних речовин з відходів екзотичних фруктів. Було також вивчено вплив рН (2.5–11) і температури (20–60 °C) на ефективність екстрагування.

Матеріали і методи

Зразки. Екзотичні фрукти (папая *Carica papaya* L. та манго *Mangifera indica* L.) були куплені в місцевому супермаркеті. Насіння і шкірка були механічно відокремлені від м'якоті.

Обробка імпульсним електричним полем. PEF обробка здійснювалась між двома плоскими електродами, розташованими на відстані 3 см один від одного. HVED обробка здійснювалась з використанням голкоподібного ($\varnothing = 10$ мм) та плоского електродів ($\varnothing = 25$ мм). Відстань між ними складала 1 см. Об'єм суспензії в експериментальній комірці між електродами – 300 мл. Обробка полягала в застосуванні n -кількості послідовних імпульсів ($n = 1 - 2000$). Під час обробки спостерігались затухаючі коливання з ефективним часом загасання $t_i \approx 0.5$ мкс та експоненційний спад напруги $U \propto \exp(-t/t_i)$ з ефективним часом $t_i \approx 10.0$ мкс для HVED та PEF методів обробки відповідно. Початкова максимальна напруга була $U = 40$ кВ, тоді як сила електричних полів E була ≈ 13.3 кВ/см та ≈ 40 кВ/см під час PEF та HVED обробок відповідно. Відстань між імпульсами була $\Delta t = 6.8$ с. Загальний час імпульсної електричної обробки розраховувався як $t_{PEF} = n t_i$, де n число імпульсів. Температура матеріалу до обробки складала 20 °C і ніколи не перевищувала 35 °C.

Водна екстракція. Рідинну екстракцію здійснювали в ході PEF і HVED обробки ($T_f = 308$ K, рН 7.0). Час екстракції складав $t_e = 2720$ с. Також були проведені експерименти по вивченню звичайної водної екстракції (E), без використання будь-якої електричної обробки, при різних температурах T (293, 323 та 333 K) і значеннях рН (2.5, 7.0 та 11.0). Кожен експеримент з дослідження екстракції проводили при безперервному перемішуванні

ТЕОРЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

в герметично закритих флаконах ємністю 250 мл в темряві, щоб уникнути випаровування і розкладання поліфенолів під впливом кисню повітря та світла. Кінетику екстракції контролювали шляхом періодичного хімічного аналізу цільових компонентів.

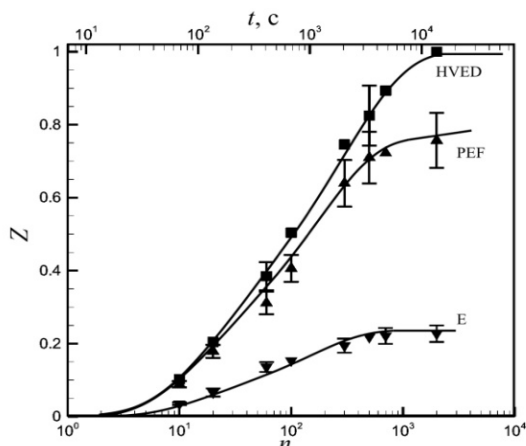
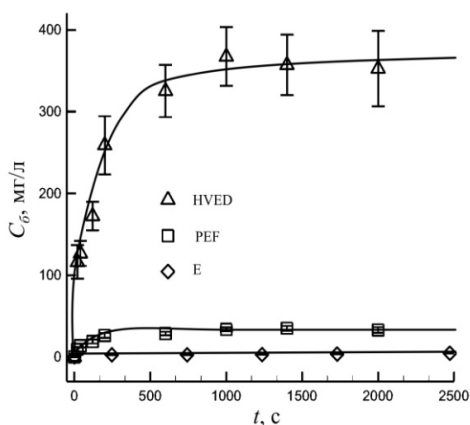


Рис. 2 – Залежність концентрації білків, C_b , від часу екстракції, t , в екстрактах насіння папаї після оброблення імпульсним електричним полем (PEF) та високовольтними розрядами (HVED), а також при використанні звичайної водної екстракції (E) при $T=293\text{ K}$ та $\text{pH } 7.0$



ють ефекти подрібнення частинок через поширення

Рис. 1 – Ступінь вивільнення іонних компонентів з шкірки папаї (Z), залежно від числа імпульсів n , (нижня вісь), або загального часу обробки/екстракції, t , ($t = n\Delta t$) (верхня вісь) для PEF- та HVED- методів екстракції. Також приведені дані для водної екстракції іонних компонентів з шкірки папаї без електрообробки (E)

Е може бути описана розтягнутою експоненційною функцією:

$$C_b = C_b^m [1 - \exp(-t/\tau^\beta)], \quad (1)$$

де C_b – концентрація білків; C_b^m – максимальне значення C_b ; t – час екстракції та τ – параметр. Коефіцієнт детермінації r^2 склав 0,997.

Параметр розтягування β характеризує широту розподілу часу релаксації. Коли $\beta = 1$ це відповідає одному часу релаксації і чим більше відхилення β від 1 тим, ширшим є розподіл часів релаксації [231]. Середній час релаксації $\langle \tau \rangle$ розраховували як

Хімічні аналізи отриманих екстрактів.

Концентрація білків, C_p (мг/л), була визначена за методом Бредфорда. Концентрація вуглеводів, C_s (мг/л), була визначена фенол сірчанокислим методом. Кількість фенольних сполук, СТРС, (мг/л) визначали методом Фолян-Чікольто. Антиоксидантну здатність отриманих екстрактів вимірювали методом DPPH та TEAC.

Результати та обговорення

На рисунку 1 представлені приклади ступеню вивільнення іонних компонентів з шкірки папаї, Z , залежно від числа імпульсів n , (нижня вісь), або загального часу обробки/екстракції, t , ($t = n\Delta t$) (верхня вісь) для PEF- та HVED- методів екстракції, а також для звичайної водної екстракції Е. Значення Z зростало зі збільшенням n або t , що, очевидно, відображає одночасний розвиток електрично-індукованого пошкодження шкірки папаї та екстракції іонних компонентів за допомогою дифузійних процесів [224]. Видно, що після відносно тривалого часу екстракції (> 3 год) значення Z досягло $Z \approx 1$, $Z \approx 0.75$ та $Z \approx 0.3$ для HVED-, PEF- обробок і звичайної екстракції, відповідно. Для зменшення часу обробки і небажаного перегріву суспензій, імпульсну електричну обробку завжди проводили з застосуванням $n = 400$ імпульсів, що відповідає часу екстракції $t = 2720\text{ c}$ ($\approx 3/4$ години) і $Z \approx 0.7 - 0.8$.

Для того, щоб дослідити кінетику вилучення білків з насіння папаї під час екстракції за допомогою PEF- і HVED-методів, а також і звичайної водної екстракції (Е), концентрація білка, C_b , представлена в залежності від часу екстракції, t . Екстракція з HVED була, значно ефективнішою, ніж з PEF і звичайної водної екстракції (рис. 2). Пояснення високого ступеня вилучення білків і фенольних сполук після HVED обробки може бути таким: в результаті застосування електричних розрядів виникають ударних хвиль і вибуху кавітаційних бульбашок, таким чином полегшуючи вилучення біологічно активних сполук. Крім того, фенольні сполуки можуть утворювати комплекси з білками, крохмалем, целюлозою і мінералами, а під час HVED обробки ці комплекси можуть розпадатися, тим самим збільшуючи вихід білків. Дані, отримані в цій роботі узгоджуються з раніше опублікованими результатами HVED-обробки виноградних кісточок при вилученні фенольних сполук.

Аналіз отриманих експериментальних даних показав, що кінетика екстрагування білків після HVED, PEF і

ТЕОРЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

$$\langle \tau \rangle = (\tau \beta^{-1}) \Gamma(\beta^{-1}), \quad (2)$$

де Γ – функція Ейлера.

Параметр розтягування β для кінетичних кривих екстракції білків складав 1.25 та 1.45 для HVED- і PEF-обробок, відповідно, а значення середнього часу релаксації, $\langle \tau \rangle$, для HVED і PEF вилучення білків складало 100 ± 4 с в обох випадках. Ці дані ясно показують, що середні часові залежності після застосування HVED- і PEF-обробок були приблизно однаковими.

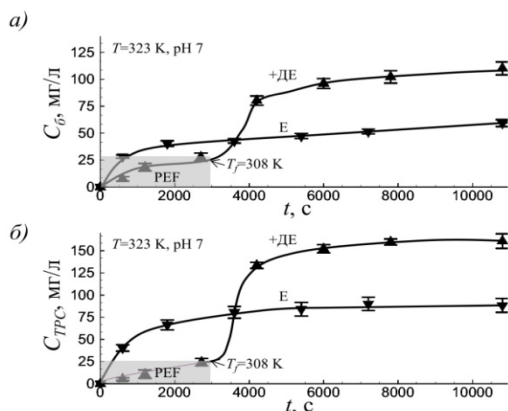


Рис. 3 – Концентрація білків, C_p , (а) та фенольних сполук, $CTPS$, (б) в залежності від часу екстракції, t , для екстрактів отриманих зі шкірки манго звичайною водною екстракцією (Е) та двостадійним процесом (PEF-обробка + додаткова водна екстракція при 323 К та рН 7.0). Початкова (T_i) та кінцева (T_f) температури під час PEF- обробки була $T_i = 293$ К та $T_f \approx 308$ К. Час імпульсної електричної обробки складав $t = t_e = 2720$ с, $n=400$ імпульсів

фруктів. Ці методи вилучення поживно цінних сполук можуть здійснюватись, уникаючи використання розчинників, за зниженої температури процесу та при нейтральному рН. Це має велике значення для збереження функціональних властивостей біологічно активних компонентів.

Література

- Mirabella N, Castellani V, Sala S (2014) Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *J Clean Prod* 65:28–41.
- Evans EA, Ballen FH (2012) An overview of global papaya production, trade, and consumption.
- Koubala BB, Christiaens S, Kansci G, et al (2014) Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin. *Food Res Int* 55:215–221.
- Ayala-Zavala JF, Vega-Vega V, Rosas-Domínguez C, et al (2011) Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Res Int* 44:1866–1874.
- Adebisi A, Adaikan PG, Prasad RN V (2003) Tocolytic and toxic activity of papaya seed extract on isolated rat uterus. *Life Sci* 74:581–592.
- Thomas G-E, Rodolfo H-G, Juan M-D, et al (2009) Proteolytic activity in enzymatic extracts from *Carica papaya* L. cv. Maradol harvest by-products. *Process Biochem* 44:77–82.
- Lebovka N, Vorobiev E, Chemat F (2011) Enhancing Extraction Processes in the Food Industry Series: Contemporary Food Engineering. CRC Press, Taylor & Francis LLC, Boca Raton.
- Pavlin M, Kotnik T, Miklavčič D, et al (2008) Chapter Seven Electroporation of Planar Lipid Bilayers and Membranes. In: Liu AL (ed) *Adv. Planar Lipid Bilayers Liposomes*. Academic Press, pp 165–226.
- Corrales M, Toepfl S, Butz P, et al (2008) Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innov Food Sci Emerg Technol* 9:85–91.
- Fincan M, Dejmeck P (2002) In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. *J Food Eng* 55:223–230.
- Cholet C, Delsart C, Petrel M, et al (2014) Structural and biochemical changes induced by pulsed electric field treatments on cabernet sauvignon grape berry skins: Impact on cell wall total tannins and polysaccharides. *J Agric Food Chem* 62:2925–2934.

**ТЕОРЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

12. Boussetta N, Vorobiev E (2014) Extraction of valuable biocompounds assisted by high voltage electrical discharges: A review. *Comptes Rendus Chim* 17:197–203.
13. Boussetta N, Lesaint O, Vorobiev E (2013) A study of mechanisms involved during the extraction of polyphenols from grape seeds by pulsed electrical discharges. *Innov Food Sci Emerg Technol* 19:124–132.
14. Boussetta N, Lebovka N, Vorobiev E, et al (2009) Electrically assisted extraction of soluble matter from chardonnay grape skins for polyphenol recovery. *J Agric Food Chem* 57:1491–1497.
15. Luengo E, Álvarez I, Raso J (2013) Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. *Innov Food Sci Emerg Technol* 17:79–84.

References

1. Mirabella N, Castellani V, Sala S. (2014), Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *J Clean Prod* 65, pp. 28–41.
2. Evans E.A., Ballen F.H. (2012), An overview of global papaya production, trade, and consumption,
3. Koubala BB, Christiaens S. (2014), Kansci G, et al Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin. *Food Res Int* 55, pp. 215–221.
4. Ayala-Zavala J.F., Vega-Vega V., Rosas-Domínguez C., et al (2011), Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives, *Food Res Int* 44, pp. 1866–1874.
5. Adebisiyi A, Adaikan P.G., Prasad R.N. V. (2003), Tocolytic and toxic activity of papaya seed extract on isolated rat uterus. *Life Sci* 74, pp. 581–592.
6. Thomas G-E., Rodolfo H-G., Juan M-D. et al . (2009), Proteolytic activity in enzymatic extracts from Carica papaya L. cv. Maradol harvest by-products. *Process Biochem* 44, pp. 77–82.
7. Lebovka N., Vorobiev E., Chemat F. (2011), Enhancing Extraction Processes in the Food Industry Series: Contemporary Food Engineering. CRC Press, Taylor & Francis LLC, Boca Raton
8. Pavlin M., Kotnik T., Miklavčič D. et al. (2008), Chapter Seven Electroporation of Planar Lipid Bilayers and Membranes. In: Liu AL (ed) Adv. Planar Lipid Bilayers Liposomes. Academic Press, pp 165–226.
9. Corrales M., Toepfl S., Butz P. et al. (2008), Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innov Food Sci Emerg Technol* 9, pp. 85–91.
10. Fincan M., Dejmek P. (2002), In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. *J Food Eng* 55, pp. 223–230.
11. Cholet C., Delsart C., Petrel M. et al. (2014), Structural and biochemical changes induced by pulsed electric field treatments on cabernet sauvignon grape berry skins: Impact on cell wall total tannins and polysaccharides. *J Agric Food Chem* 62, pp. 2925–2934.
12. Boussetta N., Vorobiev E. (2014), Extraction of valuable biocompounds assisted by high voltage electrical discharges: A review. *Comptes Rendus Chim* 17, pp. 197–203.
13. Boussetta N., Lesaint O., Vorobiev E. (2013), A study of mechanisms involved during the extraction of polyphenols from grape seeds by pulsed electrical discharges. *Innov Food Sci Emerg Technol* 19, pp. 124–132.
14. Boussetta N., Lebovka N., Vorobiev E. et al. (2009), Electrically assisted extraction of soluble matter from chardonnay grape skins for polyphenol recovery. *J Agric Food Chem* 57, pp. 1491–1497.
15. Luengo E., Álvarez I., Raso J. (2013), Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. *Innov Food Sci Emerg Technol* 17, pp. 79–84.