

KINETIKA E EKSTRAKTIMIT TË KAROTENOIDEVE TEK TULI I DOMATES NË PRANI TË ACIDIT OLEIK NGA CO₂ I LËNGËT

*KARAJ D.¹, MELE A².

¹Universiteti Politeknik i Tiranës, Departamenti i Kimisë, FIM & FIF

²Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Kimisë

e-mail: dfn_karaj@yahoo.com

Përmbledhje

Në këtë punim është studiuar ekstraktimi i karotenoideve (likopen dhe β-karoteni) nga tulli i domates duke përdorur dioksid karboni të lëngët (pranë kritik) në prani të acidit oleik si modifikues. Eksperimenti është zhvilluar në autoklavën e tipit Jennings në bazë të parimit Sokslet me dhe pa modifikues në 299K dhe presion 64 bar, duke përdorur dioksidin e karbonit si tretës. Kinetika e ekstraktimit dhe përmbajtja e likopenit dhe β-karotetit në ekstrakt është përcaktuar pas 0.5, 1, 3, çdo 3 orë, deri në 42 orë të ekstraktimit për të dy procedurat e ekstraktimit. HPLC-DAD është përdorur për përcaktimin sasiar të likopenit dhe β-karotetit në ekstrakt siç është përshkruar nga Vasopollo, (2004). Prania e modifikuesit përmirëson rendimentin e likopenit (2.78-3.06 µg/g mostër), por frenon atë të β-karotetit (4.18-3.41 µg/g mostër). Përdorimi i acidit oleik si modifikues luan një rol dobishëm në stabilitetin e izomerit *cis* të likopenit (0.51-0.24µg/g mostër).

Abstract

In this study we investigated the extraction of carotenoids (lycopene and β-carotene) from tomato pulp using near critical liquid carbon dioxide in the presence of oleic acid as modifier. The experiments carried out in a Jennings-type autoclave after the Soxhlet principle with and without modifier at 299 K and under its vapour pressure of 64 bar, using liquid carbon dioxide as a solvent. The kinetics of the extraction, and the lycopene and β-carotene content of the liquid CO₂ extracts were determined after 0.5, 1, 3, every three hours, up to 42 hours of extraction for both extraction procedures. HPLC-DAD was used for the quantification of the lycopene and β-carotene in the extracts as described by Vasopollo (2004). The presence of the modifier improves the yields of the lycopene (2.78-3.06 µg/g samples) extract but strains them of β-carotene (4.18-3.41µg/g sample). Using the oleic acid as modifier has a beneficial role in the stability of *cis* isomer of lycopene (0.51-0.24 µg/g sample).

Fjalëkyçe: Likopen, β-karoten, acid oleik, tulli domatje, CO₂ pranë kritik.

Hyrje

Karotenoidet kanë qenë subjekt të një sërë studimesh për shkak të ndikimit pozitiv që ato kanë në shëndetin e njeriut. Në ditët e sotme ka një interes të veçantë të përdorimit të këtyre komponimeve për shkak të aktivitetit të provitaminës A që shfaq β-karoteni ose vetive antioksidative të likopenit, të cilët çojnë në reduktimin të disa lloj kancerash apo të sëmundjeve kardiovaskulare (Shi *et al.*, 2009; Marleny *et al.*, 2006; Yi *et al.*, 2009).

Domatet janë një burimi i pasur i karotenoideve në të cilën likopeni është përbërësi kryesor (70-80% ose 0.72-20 mg/100 g masë të lagësht); (Cadoni *et al.*, 2000). Likopeni dhe karotenoidet e tjera janë gjetur kryesisht në perikarpin e domates, të cilën së bashku me cipën e domates përmbajnë deri në 12 mg likopeni/100g cipë (në masë të lagësht), ndërkohë domatet e pjekura përmbajnë vetëm 3.4 mg likopeni/100g në masë të lagësht (Al-Wandawi *et al.*, 1985).

Tretshmëria dhe stabiliteti i likopenit janë problemi kryesor në ekstraktimin e likopenit nga domatja dhe nënproduktet. Likopeni është i patretshëm në ujë por shumë i tretshëm në tretës organik. Ekstraktimi me fluidë mbikritikë është ndër metoda mjaft efikase për ekstraktimin të karotenoideve për shkak të temperaturës së ulët kritike ($T_k=304.1$ K) të dioksidit të karbonit, e cila sjell reduktimin e mundësinë e oksidimit të karotenoideve gjatë procesit të ekstraktimit dhe eliminon ndonjë mbetje të rrezikshme në produkt (Gomez-Prieto *et al.*, 2002; Baysal *et al.*, 2000).

Përdorimi i dioksidit të karbonit të lëngët, pranë kritik, në kushtet e ekuilibrit lëng-avull si tretës është cituar në literatura (Mele *et al.*, 2013; Karaj *et al.*, 2013). Ekstraktimi me dioksid karboni të lëngët në punimet e lartpërmendura është kryer në autoklavën tipit Jennings, në të cilën përdoret një aparaturë që punon sipas parimit Sokslet. Shihet që ekstraktimi me dioksid karboni të lëngët mund të jetë më selektiv në krahasim nga ekstraktimi me dioksid karboni mbikritik. Në lidhje me ekstraktimet të karotenoideve nga mostra e domates (cipë ose tul), CO₂ në gjëndje të lëngët pranë kritik është selektiv ndaj β-karotenit se likopeni, edhe pse ky i fundit ndodhet në një sasi shumë herë më të madhe në mostrën e domates. Ky selektivitet mund të vijë edhe si rrjedhim i strukturave të veçanta që kanë këto dy karotenoide, matricës së mostrës së domates ose për shkak të temperaturës së ulët të ekstraktimit (Karaj *et al.*, 2013; Mele *et al.*, 2013).

Në këtë punim u përdor dioksidi i karbonit të lëngët, pranë kritik, si tretës për të ekstraktuar karotenoidet si likopen dhe β-karoten nga tulli i domates. Është studiuar kinetika e ekstraktimit të këtyre karotenoideve për 42 orë në praninë të acidit oleik, si modifikues.

Ndikimi modifikuesit në sasinë e likopenit dhe β-karotenit të ekstraktuar është krahasuar me sasinë të marra të këtyre karotenoideve në mungesë të pranisë së acid oleik si modifikues.

Materiali dhe metodat

Mostra e tullit të domates është siguruar nga një firmë lokale në Ballsh, dhe janë tharë në diell. Për bluarje, është përdorur një mulli elektrik, në të cilën mostra e marrë për analizë është e përbërë 64% me grimca me përmasa më të mëdha se 1mm dhe 36% më të vogël se 1mm. Lagështia e mbetur (21.25%) është përcaktuar me anë të analizierit të lagështirës Sartorius, model MA45. Dioksidi i karbonit me pastërti 99% është blerë pranë GTS.

Reagentët si metanol, tetrahidrofuran janë blerë nga Fluka ndërsa standardet e likopenit, β -karotenit dhe apo-8'-karotenal janë blerë nga Sigma-Aldrich.

Tretshmëria e acideve yndyrore në CO₂ të lëngët

Shtimi i vajit të ullirit si modifikues rrit ekstraktimin të likopenit dhe ulë atë të β -karotenit nga mostra e domates (tul edhe cipë) kur përdorim si tretës CO₂ i lëngët në kushtet e ekuilibrit lëng-avull (Karaj *et al.*, 2013). Acidet yndyrore të vajit të ullirit janë studiuar si një ndër përgjegjësit për fenomenin të uljes së sasisë së β -karotenit dhe rritjes së sasisë së likopenit të ekstraktuar. Njohuritë për tretshmërinë e acideve yndyrore të vajit të ullirit janë shumë të rëndësishme për të kuptuar efektin e vajit të ullirit në procesin e ekstraktimit. Është e rëndësishme për të që të përcaktojmë saktë sasinë të acideve që duhet të shtojmë gjatë përcaktimit të tretshmërinë së likopenit dhe β -karotenit në temperatura dhe presione të ndryshme.

Është kryer përcaktimi i tretshmërisë të acideve të pastër si acidi oleik (C18:1), acidi stearik (C18:0) dhe acidi palmitik (C16:0) në fazën e lëngët të CO₂ pranë kritikut. Sasia e acideve yndyrore të tretura në fazën e lëngët është përcaktuar gravimetrikisht, si diference të masës së acidit para dhe pas tretjes. Sasia totale e CO₂ të marrë është 230g.

Matjet janë kryer në autoklavën e tipit Jennings, në temperaturën 300K dhe presion 63 MPa.

Ekstraktimi me CO₂ të lëngët

Ekstraktimet me CO₂ të lëngët janë kryer në autoklavën e paraqitur skematikisht në figurën më poshtë, brenda se cilës është vendosur një aparat tip Sokslet. Autoklava është variant i përmirësuar nga Lentz (Lentz, 1988), cila konsiston në kontrollin vizual të aparaturës Sokslet brenda saj, nëpërmjet të një dritare qelqi në kapakun e sipërme. Pjesa e presionit të lartë në aparat është cilindrike prej materiali çelik i cili nuk ndryshket, me mbyllje nga poshtë dhe sipër. Në kapakun që mbyll pjesën e sipërme është vendosur një dritare e cila lejon vëzhgimin e kondensatit dhe sifonit. Kapaku i sipërm përmban gishtin ftohtës dhe dy tubat e presionit të lartë që lidhen njeri me manometrin, dhe tjetri me valvolën e cila komandon ngarkimin dhe shkarkimin e CO₂.

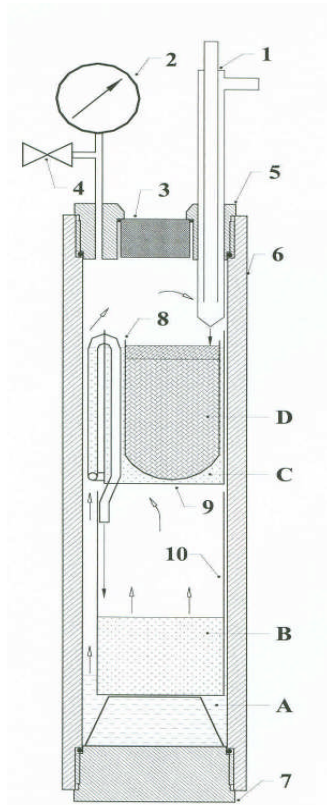


Figura 1. Skema e aparatit për ekstraktim me gaze nën presion

1. Ftohës
2. Manometër
3. Dritare
4. Rubinet
5. O-ring
6. Trupi i autoklavës
7. Kapaku i poshtëm
8. Gëzhoja
9. Gota me sifon
10. Gota për mbledhjen e ekstraktit
- A. Lëngu- Gazi ekstraktues CO_2
- B. Ekstrakti
- C. Tretësira e ekstraktit
- D. Materiali për ekstraktim

Aparati i ekstraktimit tip Sokslet është prej qelqi. Ai përbëhet nga një enë me sifon për largimin periodik të ekstraktuesit nga ekstrakti dhe nga një enë qelqi ndarëse që shërben si rezervuar për avullimin e ekstraktuesit dhe për depozitimin e ekstraktit. Kjo enë duhet të ketë një vëllim më të madh se vëllimi që sjell ekstraktuesi periodikisht nga sifoni. Aparatura e plotë e ngritur për procesin e ekstraktimit me CO_2 nën kritik paraqitet në figurën Nr.1

Materiali bimor (tul domatje) vendoset në gëzhojën brenda enës prej qelqi të ekstraktimit. Mostra e domates si dhe pika e takimit të sifonit mbulohen, i cili mënjanon migrimin e materialit të ngurtë gjatë procesit. Sasia e mostrës së domates së marrë për secilin rast është 30g. Autoklava është mbushur me një sasi prej 230 ± 10 g CO_2 të lëngshëm të përcaktuar eksperimentalisht. Sasia e ekstraktuesit kontrollohet nga peshimet e autoklavës para dhe pas mbushjes me CO_2 . Autoklava duhet të ketë temperaturë pak më të ulët se ajo e bombolës së CO_2 , në mënyrë që të shmanget një shtypje më e lartë e avullit në autoklavë se sa në bombol. Është punuar në zonën dyfazore pranë temperaturës kritike për dioksidin e karbonit ($T_k = 31.1^\circ\text{C}$ dhe $P_k = 73.8\text{bar}$).

Është punuar në presione 60-65 bar dhe temperatura përkatëse të cilat luhaten rreth 294-299K. Një rëndësi të veçantë ka temperatura e qarkullimit

të ftohësit etilen glikol, në refrigjerant, e cila është mbajtur rreth 10°C për të gjitha proceset. Procesi i ekstraktimit është ndërprerë pas 0.5, 1, 3, 6, çdo 3 orë, deri në 42 orë ekstraktim. Në procedurën e dytë të ekstraktimit të tullit të domates në prani të acidit oleik si modifikues, i vetmi ndryshim është shtimi afërsisht 1 g acid oleik direkt në mostrën e domates, përpara çdo ekstraktimi me CO₂ të lëngët.

Në mënyrë për të parandaluar dekompozimin dhe oksidimin të komponimeve të ekstraktit, të gjithë mostrat janë tretur në THF, hidhet në një shishe kafe për ta parandaluar shpërbashimin UV dhe ruhen në -20°C. Ekstrakti i mbledhur analizohet me HPLC siç është përshkruar më poshtë.

Analiza me HPLC

Identifikimi dhe përcaktim sasior i likopenit dhe β-karotenit është kryer me anë të kromatografisë së lëngët me performancë të lartë (HPLC) të tipit Agilent 1260, lidhur me një kolonë Eklipse C18 (3.5μm, 3x150 mm) dhe gjithashtu lidhur me detektorin (DAD) siç është raportuar nga Vasopollo, 2004 (Vasopollo *et al.*, 2004). Është përdorur një përzierje e metanolit, THF dhe ujit në raportin 67:27:6, me shpejtësi rrjedhje 1.0 ml/min në 5 minutat e para të analizës por më pas ky raport bëhet 67:27:6 me shpejtësi rrjedhje 1.5 ml/min. Sasia e mostrës së injektuar është 20 μL. Piket të trans-likopenit dhe β-karotenit janë identifikuar nga krahasimi i kohës së mbatjes së standardeve të tyre përkatëse (respektivisht 10.7 dhe 12.7). Identifikimi i pikut cis-likopeni që vjen menjëherë pas trans-likopeni bazohet në rezultatet e raportuara nga Topal (Topal *et al.*, 2009) ku një metodë e njëjtë HPLC është përdorur për ndarjen e karotenoideve. Në të gjithë rastet β-apo-8'-karotenal (5.8 min) është përdorur si standard i brendshëm dhe matjet janë kryer në 475nm. Përmbatja sasiore e likopenit dhe β-karotenit në ekstrakt janë përcaktuar në bazë të krahasimit të sipërfaqes së pikut të këtyre substancave me standardet e tyre përkatëse.

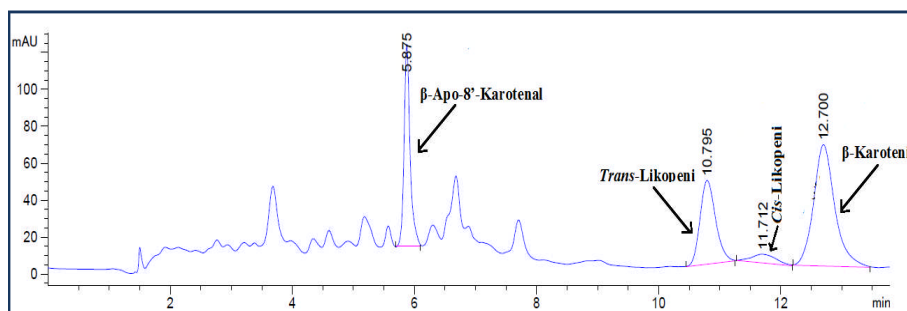


Figura 2. Kromatograma e analizës me HPLC të ekstraktit të tullit të domates pas 30 orë ekstrakt pa praninë të modifikuesit.

Rezultat dhe diskutime

Ekstraktim me CO₂ të lëngët tullit të domates në prani të vajit të ullirit si modifikues sjell rritjet të sasisë së likopenit të ekstraktuar dhe pakësimit të

sasisë të β -karotenit. Për këtë arsye fillimisht është përcaktuar tretshmëria e acideve yndyrore të vajit të ullirit në dioksid karboni të lëngët në temperaturën $T=300K$ në presionin 63 MPa është treguar në tabelën Nr.1.

. Tretshmëria e acideve yndyrore në CO_2 të lëngët

		Tretshmëria (mg/g CO_2)
Acid Oleik	(C18:1)	1.35
Acid Stearik	(C18:0)	0.25
Acid Palmitik	(C16:0)	0.11

Në bazë të rezultate të marra është gjetur se ndër acidet yndyrore përbërëse të vajit të ullirit, acidi oleik ka tretshmëri më të lartë në krahasim më të lartë se nga dy acidet e tjera. Për këtë arsye është zgjedhur acid oleik si modifikues për ekstraktimit të likopenit dhe β -karoteni.

Ekstraktimi i karotenoideve, likopenit dhe β -karotenit nga tuli i domates me dioksid karboni të lëngët, pranë kritik, është kryer në prani dhe në mungesë të modifikuesit, acidit oleik. Janë kryer dy lloje ekstraktimesh për të treguar rolin e dobishëm të modifikuesit, i pari në prani të acidit oleik si modifikues (3.3%) dhe e dyta e cila zhvillohet në të njëjtë kushte (temperaturë dhe presion) por në mungesë të modifikuesit.

Shtimi i acidit oleik si modifikues rrit sasinë e likopenit të ekstraktuar nga tuli i domates. Në orët e para të ekstraktimit shihet që sasia e ekstraktuar për likopenin është e njëjtë, si në prani ose në mungesë të acidit oleik. Sasia e likopenit shtohet pas 18 orë ekstraktimesh deri në fund nga prania e modifikuesit, acidit oleik.

Një nga efektet që mund të ketë shtimi i bashkëtrretësit mbi matricën e mostrës është zmadhimi i saj, në të cilën mund të ndikojë në strukturën qelizore duke lejuar në këtë mënyrë depërtim më të mirë të tretësit tek molekulat e likopenit, duke çuar një përmisim të difuzionit të CO_2 (Saldana *et al.*, 2010 ; Ciurlia *et al.*, 2009)

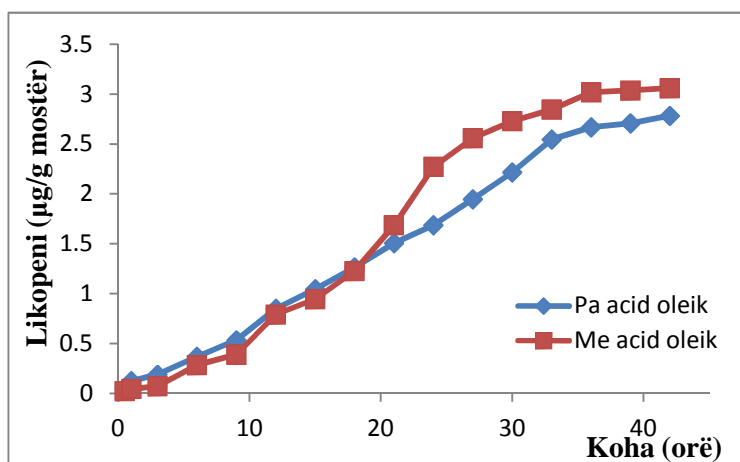


Figura 3. Sasia e likopenit të ekstraktuar në dioksid karboni të lëngët në prani dhe mungesë të acidit oleik.

Ndërsa për ekstraktimin të β -karotenit nga tulli i domates, prania e acidit oleik sjell uljen e sasisë së ekstraktuar. Në orët e para të ekstraktimit sasia e β -karotenit të ekstraktuar është e njëjtë si në prani ose jo të modifikuesit. Janë orët e fundit të ekstraktimit që sjellin dhe diferencën në sasinë e β -karotenit të ekstraktuar.

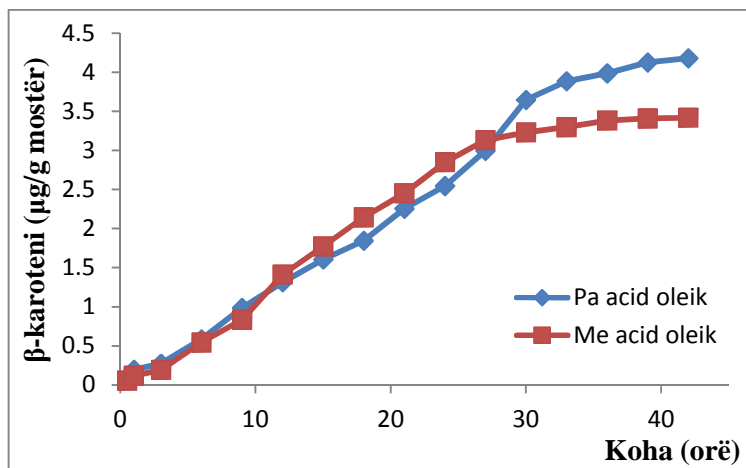


Figura 3. Sasia e β -karotenit të ekstraktuar në dioksid karboni të lëngët në prani dhe mungesë të acidit oleik.

Ekstraktimi i karotenoideve nga mostra e domates (tul apo cipë) në prani të vajit të ullirit (2%), si modifikues, sjell rritjen e sasisë së likopenit të ekstraktuar por ul sasinë e β -karotenit të ekstraktuar (Karaj *et al.*, 2013). E njëjtë gjë ndodh edhe kur përdorim si modifikues acidin oleik. Mund thuhet se acidi oleik, si një ndër përbërësit e vajit të ullirit, është shkaktar për rritjen e sasisë të likopenit të ekstraktuar por edhe për uljen e sasisë së β -karotenit të ekstraktuar.

Prania e acidi oleik luan një rol të rëndësishëm dhe në qëndrueshmërinë të *cis*-izomer të likopenit duke sjellë rritje të stabilitet të likopenit dhe frenimin të degradimit të tij. Shihet se afërsisht pas 24 orë ekstraktim sasia e izomerit *cis*-likopen është jashtëzakonisht shumë e ulët, në krahasim me sasinë të ekstraktuar në të njëjtin interval kohe por në mungesë të acidit oleik.

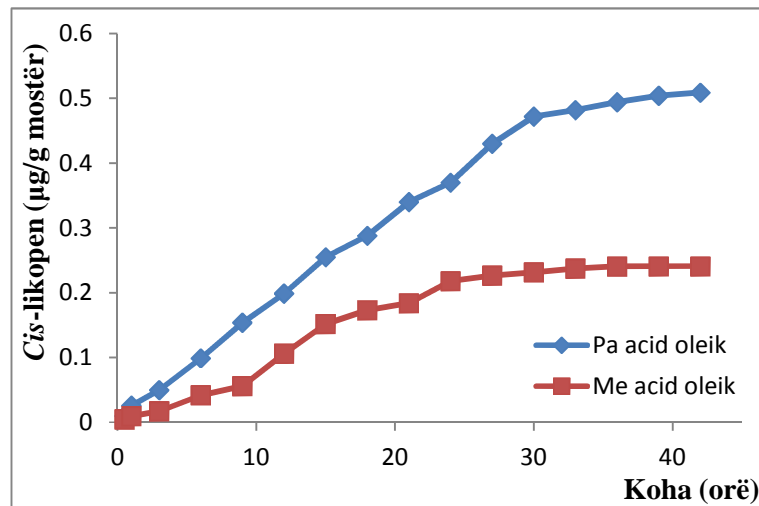


Figura 3. Sasia e *cis*-likopenit të ekstraktuar në dioksid karboni të lëngët në prani dhe mungesë të acidit oleik.

Konkluzione

Në këtë punim u krye studimi eksperimental e ekstraktimit të karotenoideve si likopeni dhe β -karoteni duke përdorur dioksidin e karbonit të lëngët në prani dhe mungesë të acidin oleik si modifikues.

Përzgjedhja e acidit oleik si modifikues u përcaktua në bazë të tretshmërisë së acide yndyrore të vajit të ullirit në dioksid karbon të lëngët. Acidi oleik ka tretshmërinë më të lartë në krahasim me acidin palmitik dhe acidin stearik.

Prania e modifikuesit, të acidit oleik rrit sasinë e likopenit të ekstraktuar por ulet sasia e β -karoteni të ekstraktuar.

Prania e acidit oleik rrit qëndrueshmërinë dhe stabilitetin të izomerit *cis*-likopen.

Literatura

Shi J., Yi C., Xue S.J., Jiang Y., Ma Y., Li D.(2009). Effects of modifiers on the profile of lycopene extracted from tomato skins by supercritical CO₂. J. Food Eng. 93, 431–436

- Saldana M., Sun L., Guigard S., Temelli F. (2006). Comparison of the solubility of β -carotene in supercritical CO₂ based on a binary and multicomponent complex system. *J. of Supercritical Fluids* 37, 342-349
- Yi C., Shi J., Xue S.J., Jiang Y., Li D.(2009). Effects of supercritical fluid extraction parameters on lycopene yield and antioxidant activity. *Food Chem.* 113, 1088–1094
- Cadoni E.; De Giorgi M. R.; Medda E., Poma, G. (1999). Supercritical CO₂ extraction of lycopene and β -carotene from ripe tomatoes. *Dyes Pigments*, 44 (1), 27-32
- Al-Wandawi H., Abdul-Rahman M., Al-Shaikhly K.(1985): Tomato processing wastes as essential raw materials source. *J. Agric. Food. Chem.* 33 (5), 804–807
- Gomez-Prieto M. S.; Caja M. M.; Santa-Maria G. (2002): Solubility in supercritical carbon dioxide of the predominant carotenes of tomato skin. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79 (9), 897-902
- Baysal T., Ersus S., Starmans D.A.J. (2000): Supercritical CO₂ extraction of β -carotene and lycopene from tomato paste waste. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5507–5511
- Mele A., Lent H., Mele A., Feizimayr E., Abazi S., Bauer R.(2013): Extraction of rotundifuran and casticin from chaste tree fruit by near critical liquid carbon dioxide. *The journal of supercritical fluids*. Vol. 79, 123-126
- Lentz H. (1988) German utility patent G 8810 807.4
- Karaj D., Mele A., Abazi S., Mehmeti E. (2013): The Liquid CO₂ extraction of Lycopene and β -Carotene from tomato. 6-th International Symposium on the High Pressure on Technology, 247-251
- Vasapollo G., Longo L., Rescio L., Ciurlia L. (2004): Innovative supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*. Nr. 29, 87-96
- Topal U., Sasaki M., Goto M., Hayakawa K. (2009): Extraction of lycopene from tomato skin with supercritical carbon dioxide: Effect of operating conditions and solubility analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 54, 5604-5610
- Saldana M.D.A., Temelli F., Guigard S.E., Tomberli B., Gray C.G. (2010): Apparent solubility of lycopene and β -carotene in supercritical CO₂, CO₂ + ethanol and CO₂ + canola oil using dynamic extraction of tomatoes. *J. Food Eng.* 99, 1–8
- Ciurlia L., Bleve M., Rescio L. (2009): Supercritical carbon dioxide co-extraction of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) and hazelnuts (*Corylus avellana* L.): A new procedure in obtaining a source of natural lycopene. *J. Supercrit. Fluids* 49, 338–344