

Extraction des sous-produits de la vigne du vin par eau sous-critique et purification des extraits par procédés membranaires.

Sami Yammine - ISVV - Sami.yammine@u-bordeaux.fr



Extraction des sous produits de la vigne du vin par eau sous-critique et purification des extraits par procédés membranaires.

Les raisins (*Vitis vinifera* L.) sont l'un des fruits les plus cultivés dans le monde avec une production annuelle de 58 millions de tonnes en 2012 (FAOSTAT 2012). Environ 80% de la production sont utilisés pour la vinification. Les principaux résidus sont formés après l'étape de pressurage. Dans ces résidus il y a des composés phénoliques bioactifs avec des propriétés antioxydantes, neuro-sédatives, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses [1,2]. L'extraction est une étape déterminante dans l'isolement et la récupération de composés à haute valeur ajoutée, en particulier pour les composés phénoliques [3]. L'hydrodistillation ou l'extraction par solvant est la méthode traditionnelle d'extraction pour la récupération des composés phénoliques à partir des sous-produits issus de la transformation alimentaire [4]. Ces techniques sont désavantagées par leur consommation élevée en solvants organiques, ce qui conduit à un impact défavorable sur l'environnement. Alternativement, les fluides sous-critiques, définis comme un fluide à la température et à la pression en-dessous du seuil critique, sont utilisés pour l'extraction de composés actifs. Des études récentes ont montré qu'à l'échelle industrielle, l'extraction par fluide sous-critique est une technique efficace et rentable pour la récupération des composés phénoliques issus de la biomasse végétale. L'eau est le solvant le plus commun pour le processus d'extraction par fluide sous-critique (ESC) en raison de ses propriétés inertes, non inflammables et non toxiques [5]. La constante diélectrique de l'eau dans des conditions ambiantes est de 80, mais elle peut être diminuée entre 27 et 56 (semblable aux solvants organiques), en augmentant la pression à 5 MPa et la température à 100°C et 250°C, respectivement. L'eau est dans un état sous-critique à une température inférieure à 374°C et à des pressions inférieures à 22 MPa [6]. Les propriétés de transfert de masse de l'eau sous-critique étant supérieures, cela conduit à de forts coefficients de diffusion et à une extraction plus élevée. La solubilité et la diffusivité de l'eau à une pression modérée sont donc comparables à ceux de solvants organiques. Contrairement aux solvants organiques, il n'y a pas d'impact environnemental associé à l'eau. Différentes substances à fort intérêt pharmaceutique ont été extraites de la biomasse végétale, en utilisant cette technique d'extraction [7, 8, 9].

L'objectif général de notre travail a consisté à définir les meilleurs paramètres pour l'extraction par l'eau sous-critique (ESC). Plus précisément, l'extraction des polyphénols de marcs de raisins rouges avec ESC à différentes pressions sous une température constante a été étudiée.

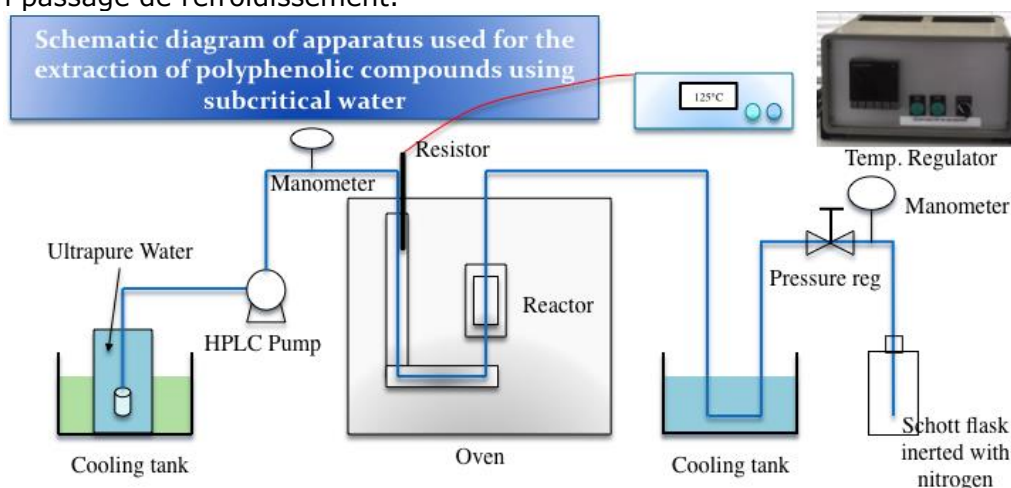
Les extraits préparés par extraction à l'eau sous-critique sont riches en plusieurs familles de molécules. Une étape de purification des composés cibles est essentielle avant leurs usages industriels. Pour cette étape de purification, le couplage de l'eau sous-critique avec des procédés membranaires représente une solution innovante.

Depuis 30 ans, les technologies membranaires sont utilisées avec succès dans l'industrie agro-alimentaire. Elles sont par exemple retrouvées dans l'industrie laitière, dans la préparation des jus de fruits ou en œnologie. Leurs principaux avantages par rapport aux autres méthodes de purification conventionnelles sont : absence de transition de phase, faibles besoins énergétiques, sélectivité et productivité élevées, transposition à l'échelle industrielle facile. Le but du travail présenté est d'étudier la possibilité d'utiliser la filtration membranaire pour fractionner les composés phénoliques des extraits par un traitement à l'eau sous-critique de marc de raisin et les séparer des autres composants co-extraits.

Matériels et méthodes :

Les marcs de raisins (Dunkelfelder, Cabernet Franc, Merlot et Chardonnay) fournis par l'école d'ingénieurs de Changins ont été conservés à 4 ° C jusqu'à l'expérience.

Le diagramme schématique de l'appareil utilisé pour l'extraction des composés phénoliques en utilisant de l'eau sous-critique est représenté ci-dessous. Dans le système d'extraction, une pompe de HPLC a été utilisée pour la distribution de l'eau, sous pression et en contrôlant la pression du système. Un transducteur de pression et d'un thermocouple ont été installés dans la cuve haute pression pour surveiller à la fois la pression et la température du système. L'extrait a été recueilli dans un milieu inerte (200 ml de volume) après un passage de refroidissement.



Lors de chaque essai, le marc (13,00 g) a été placé dans le réacteur. Le récipient a été introduit dans une étuve à une température prédéterminée. La vanne de sortie du récipient d'extraction est ensuite fermée et le système a été mis sous pression à une pression souhaitée avec une vitesse d'écoulement constante. La temps de séjour de l'eau a été ajustée à 1, 7 seconds. La solution refroidie a été recueillie dans un récipient inerté à l'azote et a ensuite été conservée à 4°C pour les analyses ultérieures. Pour chaque échantillon de marc traité, un litre d'extrait a été obtenu sous la forme de cinq fractions successives de 200 mL.

Les composés phénoliques ont aussi été extraits similairement aux conditions témoins d'extraction par solvant. Pour ce faire, 20 g de marc a été ajouté à 100 ml d'une solution hydroalcoolique (50% d'éthanol - 50% d'eau milli-Q) dans des flacons de 125 ml fermés avec des bouchon à vis et placés sur un agitateur magnétique. Les paramètres de l'extraction ont été fixés comme suit : durée de 7 h, à 20°C et à 160 rpm. Le liquide a été séparé du solide par centrifugation à 5000 rpm pendant 10 min. Le rendement de cette méthode conventionnelle est utilisé comme référence pour évaluer l'efficacité de l'extraction par l'eau sous-critique. Les échantillons ont été conservés à 4°C pour les analyses ultérieures.

La turbidité, la conductivité et le pH ont été mesurés pour les fractions extraites. Les échantillons ont été centrifugés (4000 rpm, 5-15 min selon le sous produit utilisé), puis les concentrations en composés phénoliques totaux (PT) ont été déterminées à l'aide du test de Folin-Ciocalteu [10]. L'intensité colorante (IC) et l'indice des polyphénols totaux (IPT) ont été mesurés selon les méthodes de l'OIV (OIV, 2013). Les anthocyanes et les tannins ont été quantifiés par CLHP [11]. Alors que l'activité antioxydante a été mesurée par la capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity) [12].

Des essais de filtration de l'extrait de marc de raisin en concentration ont été réalisés dans un équipement de filtration tangentielle de laboratoire (Osmonics SEPA CFII). Premièrement des filtrations tangentielles de l'extrait ont été réalisées en utilisant 11 membranes de ultrafiltration de seuils de coupure compris entre 100 kDa et 2 kDa. L'efficacité des traitements membranaires a été évaluée en déterminant les coefficients de rétention des protéines, des polysaccharides, des sucres, des composés phénoliques et des différentes classes d'anthocyanes. Deuxièmement neuf membranes commerciales de nanofiltration de seuils de coupure approximatifs compris entre 1000 Da et 150 Da ont été testés. Au delà de la nature et du MWCO des membranes de NF employées, les expériences de filtration de l'extrait naturel de marc de raisin ont été réalisées en faisant varier les principaux paramètres opératoires : pression transmembranaire, vitesse d'écoulement tangentielle et température.

Résultats:

Dans le cadre du projet de recherche VALUXTRACT, le travail de recherche a porté sur l'étude de procédés éco-innovants pour extraire et purifier à partir de marc de raisin des composés à haute valeur ajoutée.

Pour ce faire, la première partie de notre travail a consisté à déterminer la composition phénolique de sous-produits obtenus après vinification de différents cépages, afin d'évaluer leur contenu potentiel en composés à haute valeur ajoutée après l'extraction de l'eau sous-critique (SWE). Des quantités élevées d'anthocyanes et de flavanes-3-ols ont été récupérées à partir de marc de raisin fermenté en utilisant des températures différentielles avec une grande variabilité entre les sous-produits. Contrairement aux anthocyanes, des températures d'extractions élevées (environ 200°C) ont donné des quantités plus élevées de tanins. Dans l'ensemble, nous avons constaté que la teneur en polyphénols dans les extraits de SWE n'est pas directement liée à l'activité antioxydante du marc de raisin ni à sa concentration en polyphénols totaux quantifiés par la méthode de Folin Ciocalteu. Les données obtenues ici en utilisant l'équipement en laboratoire seront utiles pour développer un processus de SWE à l'échelle industrielle. Enfin, comme observé, les sous-produits du marc de raisin peuvent être considérés comme une source importante de polyphénols. À cet égard, cette caractérisation globale peut potentiellement constituer la base d'un processus d'exploitation durable intégrant l'utilisation des sous-produits de la vinification comme sources potentielles, peu coûteuses et facilement disponibles de composés bioactifs pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

En outre, afin de faciliter leur extraction et augmenter le rendement de purification un examen spécifique de ces molécules est nécessaire. Différents paramètres influencent l'extraction tels que la température, la pression, le temps de séjour hydraulique, le volume d'extraction. Ils sont directement corrélés à la cinétique d'extraction et à la dégradation de molécules spécifiques. Les extraits SWE ont des concentrations en anthocyanes et des valeurs ORAC comparables ou supérieures à des extraits obtenus à l'aide d'eau chaude classique ou 50% d'éthanol. Le traitement à l'eau sous-critique à 100°C semble être une excellente alternative aux solvants organiques pour extraire les anthocyanes à partir du marc de raisin ou éventuellement d'autres sous-produits de transformation du raisin. Les conditions optimales pour l'extraction à l'eau sous-critique des flavonols est à 175°C avec un rendement total de flavonols de 190 mg/g MS de marc de raisin. En outre en réglant le temps de séjour hydraulique de l'extraction, les effets de dégradation ont été réduits au minimum. Une extraction optimale peut être obtenue en utilisant un temps de séjour hydraulique de 1,7 minutes. Les résultats obtenus suggèrent également que les nouveaux composés anti-oxydants tels que l'hydroxyméthylfurfural et de furfural sont formés au niveau des températures d'extraction plus élevées.

Après l'extraction par eau sous-critique, les extraits produits sont riches en plusieurs familles de molécules. Une étape de purification des composés cibles avant usage industriel est indispensable. Le couplage de l'eau sous-critique avec des procédés membranaires propose une solution innovante pour le fractionnement et la purification de ces extraits.

L'ultrafiltration (UF) a été utilisée pour le fractionnement des composés phénoliques de l'extrait issu du traitement à l'eau sous-critique de marc de raisin et leur séparation d'autres autres composants co-extraits. De ce fait, l'extrait a traité en filtration tangentielle avec onze membranes de seuils de coupure compris entre 100 kDa et 2 kDa. L'efficacité des traitements membranaires a été évaluée en déterminant les coefficients de rétention des protéines, des polysaccharides, des sucres, des composés phénoliques et des différentes classes d'anthocyanes. Les résultats ont mis en évidence que la rétention des solutés était principalement affectée par des phénomènes de colmatage sévère liés à l'adsorption de solutés polaires sur la surface de la membrane. En effet, la surface filtrante des membranes utilisées constituée de polysulfone n'est pas capable de fractionner les différentes familles de composés phénoliques à l'exception de la séparation entre les monomères des polymères de proanthocyanidine. A partir d'un seuil de coupure de 20 kDa, les membranes testées ont une capacité de rétention élevée (supérieure à 60%) des protéines et des polysaccharides.

D'autre part, les membranes de nanofiltration, ont permis le fractionnement des différentes classes phénoliques et des sucres, qui ont été retenus à des pourcentages élevés par l'ensemble des membranes utilisées. Par conséquent, le procédé peut être adapté pour produire des fractions à des teneurs et puretés en composés phénoliques différentes qui pourraient donc être utilisés dans différentes applications. En fonction de la famille de molécules ciblées la séparation de composés phénoliques semble être possible grâce à l'utilisation des membranes de NF. Par exemple, les membranes HL et NF peuvent être utilisées pour séparer les acides phénols, car ils passent dans le perméat (57% de rétention), tandis que les catéchines et quercétins sont partiellement retenus dans le concentrât par MX07 et BQ01. Le perméat de BQ01 isole partiellement les anthocyanes dont la rétention était de 52%. La plus grande rétention des anthocyanes par rapport aux catéchines et quercétins pourrait être expliquée par le fait que les anthocyanes ont une structure chargée positivement plus élevée qui interagit avec les membranes. Les membranes GE et ENTA peuvent être utilisées pour séparer les polymères de proanthocyanidins. Bien que, les paramètres de fonctionnement de ces membranes ont été très satisfaisants, puisque le flux de perméat, est relativement élevés (en moyenne 1,08L/h.m², 105 Pa), une grande attention doit être portée au colmatage. Finalement, la nanofiltration pourrait être utilisé afin de concentrer les classes phénoliques spécifiques. En particulier, l'élimination des sucres et de l'eau et en même temps la rétention des composés phénoliques à l'aide de la membrane HL avec un flux de perméat satisfaisant (1,15 L/h.m², 105 Pa).

Références

1. M. Iriti, F. Faoro, *Bioactive Chemicals and Health Benefits of Grapevine Products, Bioactive Foods in Promoting Health*, Amsterdam, 2009, pp. 581–621.
2. B. Aliakbarian, F. Dehghani, P. Perego, The effect of citric acid on the phenolic contents of olive oil, *Food Chemistry* 116 (2009) 617–623.
3. A.A. Casazza, B. Aliakbarian, S. Mantegna, G. Cravotto, P. Perego, Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques, *Journal of Food Engineering* 100 (2010) 50–55.
4. A.A. Casazza, B. Aliakbarian, D. De Faveri, L. Fiori, P. Perego, Antioxidants from wine making wastes: a study on extraction parameters using response surface methodology, *Journal of Food Biochemistry* 36 (2012) 28–37.
5. B. Aliakbarian, A. Fathi, P. Perego, F. Dehghani, (2012). Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 65, 18-24.
6. Y. Yang, S. Bwadt, S.B. Hawthorne, D.J. Miller, Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment, *Analytical Chemistry* 67 (1995) 4571–4576.
7. C. Mustafa, Turner, Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: a review, *Analytica Chimica Acta* 703 (2011) 8–18.

8. M. García-Marino, J.C. Rivas-Gonzalo, E. Ibáñez, C. García-Moreno, Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction, *Analytica Chimica Acta* 563 (2006) 44–50.
9. J.M. Luque-Rodríguez, M.D. Luque de Castro, P. Pérez-Juan, Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues, *Bioresource Technology* 98 (2007) 2705–2713.
10. T. Swain, W.E. Hillis, The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents, *Journal of Science of Food and Agriculture* 10 (1959) 63–68.
11. S. Dudonné, (2009). Développement d'extraits végétaux antioxydants à usage nutraceutique.
12. S. Dudonné, X. Vitrac, Coutière P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.

Copyright MatéVi. Toute reproduction totale ou partielle des contenus est strictement interdite. Pour pouvoir les diffuser, contactez-nous.