



Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

w Warszawie

Instytut Nauk o Żywności

mgr Iga Piasecka

**Produkty odpadowe przemysłu owocowego
jako potencjalna alternatywa pozyskiwania
substancji bioaktywnych, ze szczególnym
uwzględnieniem frakcji lipidowej**

Fruit industry by-products as a potential alternative for obtaining
bioactive substances, with particular emphasis on the lipid
fraction

Rozprawa doktorska

Doctoral thesis

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem

dr hab. Agaty Górskiej, prof. SGGW

Katedra Chemii, Instytut Nauk o Żywności SGGW

Promotor pomocniczy

dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW

Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji,

Instytut Nauk o Żywności SGGW

Warszawa, 2025

Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora.

Data 04.02.2025 Czytelny podpis promotora Agata Górska

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadom/a odpowiedzialności prawnej, w tym odpowiedzialności karnej za złożenie fałszywego oświadczenia, oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska została napisana przez mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami prawa, w szczególności z ustawą z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (tj. z dnia 28 października 2022 r., Dz.U. z 2022 r. poz. 2509 ze zm.)

Oświadczam, że przedstawiona rozprawa nie była wcześniej podstawą żadnej procedury związanej z uzyskaniem stopnia naukowego doktora.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Przyjmuję do wiadomości, że rozprawa doktorska poddana zostanie procedurze antyplagiatowej.

Data 04.02.2025 Czytelny podpis autora rozprawy Iga Piasecka

Pragnę serdecznie podziękować Pani dr hab. Agacie Górskiej, prof. SGGW za możliwość realizacji niniejszej pracy, nieocenione wsparcie wiedzą i doświadczeniem oraz wszelką pomoc i zaangażowanie.

Dziękuję także Panu dr hab. inż. Arturowi Wiktorowi, prof. SGGW za cenne rady, pomoc i życzliwość.

Dziękuję wszystkim Pracownikom Katedry Chemii Instytutu Nauk o Żywności SGGW za lata owocnej współpracy.

Szczególnie dziękuję moim najbliższym: Mateuszowi, Rodzicom, Babci i Dziadkowi oraz Przyjaciółom za cierpliwość, wiarę w moje możliwości i wsparcie w trudnych chwilach.

SPIS TREŚCI

Streszczenie	9
Abstract.....	10
Wykaz skrótów	11
Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską.....	13
1. WSTĘP	15
2. PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA.....	16
2.1. Wytloki owocowe jako produkt uboczny przemysłu owocowego	16
2.2. Oleje z nasion owoców jagodowych	16
2.2.1. Profil kwasów tłuszczowych	17
2.2.2. Związki bioaktywne w olejach z nasion owoców jagodowych.....	17
2.2.3. Stabilność oksydacyjna i właściwości termiczne	18
2.3. Ekstrakty polifenolowe	18
2.3.1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów polifenolowych.....	19
2.4. Konwencjonalne metody ekstrakcji.....	20
2.5. Alternatywne metody ekstrakcji	20
2.5.1. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami.....	21
2.5.2. Ekstrakcja wspomagana pulsacyjnym polem elektrycznym	23
3. CEL PRACY I HIPOTEZY BADAWCZE	26
4. ORGANIZACJA BADAŃ, MATERIAŁ I METODY	27
4.1. Organizacja badań.....	27
4.2. Materiał.....	28
4.3. Metody	29
4.3.1. Metody technologiczne.....	29
4.3.2. Charakterystyka materiału	29
4.3.3. Zaplanowanie doświadczenia ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami z zastosowaniem metody płaszczyzny odpowiedzi	30
4.3.4. Metody ekstrakcji	30
4.3.5. Metody analityczne - charakterystyka oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny.....	32
4.3.6. Metody analityczne - analiza mikroskopowa nasion czarnej i czerwonej porzeczki poddanych ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami	35
4.3.7. Metody analityczne - charakterystyka ekstraktów z pozbawionych nasion wytlóków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny.....	35
4.3.8. Analiza statystyczna	37

5. OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW	38
5.1. Zaplanowanie eksperymentu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami	38
5.2. Optymalizacja wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny	40
5.3. Szczegółowa analiza olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	49
5.3.1. Parametry kinetyczne reakcji utleniania olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	49
5.3.2. Charakterystyka procesów mięknięcia i krystalizacji olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	51
5.3.3. Profil kwasów tłuszczowych olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	55
5.3.4. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli w olejach z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	56
5.3.5. Analiza mikroskopowa nasion poddanych ekstrakcji	57
5.4. Optymalizacja wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków owocowych pozbawionych nasion	58
5.5. Szczegółowa analiza ekstraktów z wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	66
5.5.1. Zawartość antocyjanów w wyłokach z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny	66
5.6. Ekstrakcja olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny metodą wspomaganą pulsacyjnym polem elektrycznym i porównanie z ekstrakcją wspomaganą ultradźwiękami	68
5.6.1. Czas indukcji reakcji utleniania olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego	69
5.6.2. Charakterystyka mięknięcia olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego	71
5.6.3. Profil kwasów tłuszczowych w olejach z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego	72
5.6.4. Analiza termograwimetryczna olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, aronii, jeżyny i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego	72
6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI	74
7. SPIS LITERATURY	76
8. DOROBIEK NAUKOWY	91
9. PUBLIKACJE STANOWIĄCE ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ WRAZ Z OŚWIADCZENIAMI WSPÓŁAUTORÓW	101

Streszczenie

Produkty odpadowe przemysłu owocowego jako potencjalna alternatywa pozyskiwania substancji bioaktywnych, ze szczególnym uwzględnieniem frakcji lipidowej

Celem pracy było pozyskanie i charakterystyka olejów z nasion oraz związków bioaktywnych z wyłoków pozbawionych nasion z czarnej porzeczki, czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny, które wyekstrahowano przy użyciu tradycyjnych i zaawansowanych metod, tj. ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami oraz ekstrakcja wspomagana pulsacyjnym polem elektrycznym. Dokonano optymalizacji procesu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w celu uzyskania olejów z największą wydajnością i o możliwie najwyższej stabilności oksydacyjnej zmierzonej z użyciem ciśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej. Następnie uzyskane w zoptymalizowanych warunkach oleje oraz oleje kontrolne uzyskane w procesie klasycznej ekstrakcji w układzie ciecz-ciało stałe poddano szczegółowej analizie. Wyznaczono parametry kinetyczne reakcji utleniania olejów, przeanalizowano właściwości termiczne, w tym charakterystyki mięknięcia i krystalizacji oraz określono profil kwasów tłuszczowych i ich rozmieszczenie w cząsteczkach triacylogliceroli. Na podstawie uzyskanych badań sformułowano wniosek, iż ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami pozwoliła uzyskać olej z nasion pozyskanych z produktów odpadowych z wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny z wyższą wydajnością oraz z poprawioną, względem ekstrakcji klasycznej, stabilnością oksydacyjną. Zastosowanie ultradźwięków w procesie ekstrakcji nie wpłynęło jednak znacząco na pozostałe zbadane właściwości olejów z nasion ze względu na fakt, że parametry kinetyczne, właściwości termiczne oraz profil kwasów tłuszczowych zależą głównie od użytego surowca. Przeprowadzono także optymalizację ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków pozbawionych nasion. Celem optymalizacji było uzyskanie ekstraktów o największej zawartości polifenoli ogółem oraz najwyższej aktywności przeciwutleniającej. W otrzymanych w optymalnych warunkach ekstraktach oznaczono zawartość antocyjanów. Do ekstrakcji olejów z nasion owoców jagodowych wykorzystano także proces ekstrakcji wspomaganej pulsacyjnym polem elektrycznym i uzyskane wyniki porównano z wynikami uzyskanymi dla olejów pozyskanych metodą ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami. Oleje uzyskane w wybranych warunkach procesów przeanalizowano pod kątem czasu indukcji reakcji utleniania, charakterystyki mięknięcia i krystalizacji, profilu kwasów tłuszczowych oraz stabilności termicznej. Podsumowano, iż zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego o odpowiednich parametrach skutkowało wydłużeniem czasu indukcji reakcji utleniania, przy jednoczesnym braku wpływu na profil kwasów tłuszczowych i przebieg krzywych mięknięcia olejów. Sformułowano wnioski, z których najważniejszy wskazuje na to, iż ekstrakcja z zastosowaniem alternatywnych technik może przyczynić się do wzmoczonej ekstraktywności związków bioaktywnych, chroniących olej przed procesami utleniania w czasie przechowywania. Co istotne, alternatywne metody ekstrakcji pozwoliłyby na skrócenie czasu procesu oraz zmniejszenie zużycia rozpuszczalników. Dodatkowo, zaprojektowanie doświadczenia metodą płaszczyzny odpowiedzi umożliwiło otrzymanie olejów z nasion oraz ekstraktów z wyłoków o pożądanych właściwościach.

Słowa kluczowe: ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, pulsacyjne pole elektryczne, oleje, związki bioaktywne, produkty odpadowe.

Abstract

Fruit industry by-products as a potential alternative for obtaining bioactive substances, with particular emphasis on the lipid fraction

The aim of the study was to obtain and characterize oils from seeds and bioactive compounds from seedless pomace of blackcurrant, redcurrant, blackberry, chokeberry, and raspberry, extracted using both traditional and advanced methods, including ultrasound-assisted and pulsed electric field extraction. The ultrasound-assisted extraction process was optimized to maximize oil yield and enhance oxidative stability, measured by pressure differential scanning calorimetry. Oils obtained under optimized conditions and through traditional liquid-solid extraction were analyzed for oxidation kinetic parameters, thermal properties, including melting and crystallization characteristics, and fatty acids profiles and their distribution in triacylglycerols. The study concluded that ultrasound-assisted extraction produced oils with higher yield and improved oxidative stability compared to traditional methods, but other properties like oxidation kinetics, thermal properties and fatty acids profiles were mainly dependent on the raw material. Additionally, the extraction of bioactive compounds from seedless pomace was optimized for maximum total polyphenol content and antioxidant activity. Anthocyanin levels were also measured in the extracts obtained in optimized conditions of extraction. For seed oil extraction, a pulsed electric field-assisted process was also used and compared with ultrasound-assisted extraction. The oils obtained under selected treatment conditions were analyzed for oxidation induction time, melting and crystallization characteristics, fatty acids profiles, and thermal stability. It was concluded that the use of a pulsed electric field with appropriate parameters extended the oxidation induction time without affecting the fatty acids profile or melting characteristics of the oils. The main conclusion drawn was that alternative extraction techniques can enhance the recovery of bioactive compounds, which in the case of oils, protect them from oxidation during storage. Additionally, these alternative methods reduced processing time and solvent consumption. Furthermore, the design of the experiment using the response surface methodology allowed for the extraction of oils from seeds and extracts from seedless pomace with desired properties.

Keywords: ultrasound-assisted extraction, pulsed electric field, oils, bioactive compounds, by-products.

Wykaz skrótów

2FI	model interakcji dwuczynnikowej, ang. <i>two-factor interaction</i>
β	prędkość ogrzewania [$^{\circ}\text{C}/\text{min}$]
CV	współczynnik zmienności [%]
DSC	różnicowa kalorymetria skaningowa, ang. <i>differential scanning calorimetry</i>
DTG	pochodna funkcji krzywej TG, ang. <i>derivative thermogravimetric</i>
E_a	energia aktywacji [kJ/mol]
FAME	estry metylowe kwasów tłuszczowych, ang. <i>fatty acids methyl esters</i>
FAO	Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa, ang. <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FE	ekwiwalent jonów żelaza (II), ang. <i>Fe²⁺ equivalent</i>
FRAP	zdolność przeciwutleniająca w redukowaniu jonów żelaza, ang. <i>ferric reducing antioxidant power</i>
GAE	ekwiwalent kwasu galusowego, ang. <i>gallic acid equivalent</i>
GC	chromatografia gazowa, ang. <i>gas chromatography</i>
GUS	Główny Urząd Statystyczny
HPLC	wysokosprawna chromatografia cieczowa, ang. <i>high-performance liquid chromatography</i>
k	stała szybkości reakcji [$1/\text{min}$]
MUFA	jednonienasycone kwasy tłuszczowe, ang. <i>monounsaturated fatty acids</i>
OIT	czas indukcji reakcji utleniania, ang. <i>oxidation induction time</i> [min]
PDSC	ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaningowa, ang. <i>pressure differential scanning calorimetry</i>
PEF	pulsacyjne pole elektryczne, ang. <i>pulsed electric field</i>
PUFA	wielonienasycone kwasy tłuszczowe, ang. <i>polyunsaturated fatty acids</i>
SEM	skaningowa mikroskopia elektronowa, ang. <i>scanning electron microscopy</i>

SFA	nasycone kwasy tłuszczowe, ang. <i>saturated fatty acids</i>
s.m.	sucha masa
ś.m.	świeża masa
TAC	zawartość antocyjanów ogółem, ang. <i>total anthocyanin content</i>
TAG	triacyloglicerol
T _c	temperatura krystalizacji [°C]
TE	ekwiwalent Troloksu, ang. <i>Trolox equivalent</i>
TG	analiza termograwimetryczna
T _m	temperatura mięknięcia [°C]
TPC	zawartość polifenoli ogółem, ang. <i>total polyphenol content</i>
τ _{max}	maksymalny czas utleniania [min]
UAE	ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, ang. <i>ultrasound-assisted extraction</i>
W	wydajność [%]
Z	współczynnik przedwykładniczy [1/min]

Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

- [P1] Piasecka Iga*, Wiktor Artur, Górka Agata: Alternative methods of bioactive compounds and oils extraction from berry fruit by-products—a review. *Applied Sciences*, 2022, 12 (3), 1-35, numer artykułu: 1734, DOI:10.3390/app12031734
IF: 2,7; MNiSW₂₀₂₂: 100¹
- [P2] Piasecka Iga*, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction. *Food Bioscience*, 2024, 57, 1-11, numer artykułu: 103511, DOI:10.1016/j.fbio.2023.103511
IF: 4,8; MNiSW₂₀₂₄: 70
- [P3] Piasecka Iga*, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response surface methodology for optimization of ultrasound-assisted antioxidants extraction from blackberry, chokeberry and raspberry pomaces. *Plants*, 2024, 13(8), 1-14, numer artykułu: 1120, DOI:10.3390/plants13081120
IF: 4,0; MNiSW₂₀₂₄: 70
- [P4] Piasecka Iga*, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata*: Response surface methodology for ultrasound-assisted oil extraction optimization from blackberry, chokeberry and raspberry waste products. *Applied Sciences*, 2024, 14(16), 1-17, numer artykułu: 7214, DOI: 10.3390/app14167214
IF: 2,5; MNiSW₂₀₂₄: 100
- [P5] Piasecka Iga*, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2024, 1-15, DOI:10.1007/s10973-024-13230-4
IF: 3,0; MNiSW₂₀₂₄: 100
- Łączna wartość IF: 17,0; punkty MNiSW: 440**

* autor korespondencyjny

¹ Wartości współczynników Impact Factor poszczególnych publikacji podano w oparciu o dane udostępnione na InCites™ Journal Citation Reports® dn. 30.07.2024 r.; punktację czasopism podano w oparciu o wykazy czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów, stanowiące załączniki do komunikatów Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 grudnia 2021 r. i 5 stycznia 2024 r.

1. WSTĘP

W obecnych czasach zauważalny jest stale rosnący problem marnotrawienia i strat żywności. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) problem ten może dotyczyć nawet 45% owoców i warzyw. Zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2018/851 z dnia 30 maja 2018 r. gospodarowanie odpadami w Unii Europejskiej należy przekształcić w zrównoważone, aby poprawić jakość środowiska, chronić zdrowie ludzkie, zapewnić rozsądne, efektywne i racjonalne wykorzystywanie zasobów naturalnych oraz propagować zasady gospodarki o obiegu zamkniętym. W dyrektywie zwrócono również uwagę na konieczność prowadzenia działań w zakresie zapobiegania powstawania oraz zmniejszania ilości odpadów żywności, zarówno wśród konsumentów, jak i w procesach produkcji i przetwórstwa. Dyrektywa obliguje też państwa członkowskie do działań mających na celu zmniejszenie ilości wytwarzanych odpadów żywnościowych o 30% do 2025 roku oraz o 50% do 2030 roku. Wywiązanie się z powyższego zobowiązania stanowi wyzwanie dla naukowców i producentów żywności, którzy powinni poszukiwać nowych sposobów ułatwiających utylizację odpadów. Istnieje więc potrzeba prowadzenia działań ograniczających powstawanie odpadów oraz opracowania metod umożliwiających ich wykorzystanie.

W związku z powyższym poszukiwane są nowe sposoby zagospodarowania produktów odpadowych przemysłu owocowego. Wytłoki owocowe, będące głównym odpadem w procesie produkcji soków, koncentratów owocowych i win zawierają związki bioaktywne, a nasiona, obecne w wytlókach, stanowią źródło oleju, zawierającego m.in. tokoferole, tokotrienole, sterole oraz nienasycone kwasy tłuszczowe.

W celu odzyskania cennych związków z nasion oraz wytlóków owocowych stosowana jest ekstrakcja. Klasyczne metody ekstrakcji mogą być jednak czasochłonne oraz niekorzystne dla środowiska naturalnego. Zastosowanie alternatywnych metod, np. ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami lub pulsacyjnym polem elektrycznym pozwala na zwiększenie wydajności procesu, skrócenie czasu ekstrakcji oraz poprawę jakości otrzymanych produktów, przy jednoczesnym zmniejszeniu nakładów energii oraz ilości zużytych rozpuszczalników. Istnieje więc potrzeba doboru parametrów ekstrakcji w taki sposób, aby wydajność procesu, a także jakość uzyskanych ekstraktów i oleju były zadowalające.

2. PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

2.1. Wytłoki owocowe jako produkt uboczny przemysłu owocowego

W ostatnich latach odnotowano znaczny wzrost w globalnej produkcji owoców, szacowany na 63% pomiędzy rokiem 2000 a 2022 [1] oraz, związaną z nim, znacząca działalność w zakresie przetwórstwa owocowego. Jedną z konsekwencji zwiększenia produkcji w sektorach przetwórstwa owocowego jest znaczna ilość wytwarzanych produktów ubocznych, m.in. wytlóków owocowych. Wytłoki są pozostałością z produkcji soków, koncentratów i win. Składają się ze skórek owoców, nasion oraz zdrewniałych elementów i stanowią 25-35% masy pierwotnej surowca [2]. Ich nieracjonalne gospodarowanie może przyczyniać się do zanieczyszczenia środowiska, dodatkowo generując straty finansowe [3]. Na szczególną uwagę zasługują wytłoki z owoców jagodowych, ze względu na znaczną produkcję tych owoców w Polsce, wynoszącą wg. danych Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) prawie 4,4 mln ton w 2023 roku [4]. W badaniach dotyczących składu wytlóków z owoców jagodowych odnotowano obecność rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, tłuszczu oraz białka [5].

W niniejszej pracy doktorskiej materiał badany zawężono do wytlóków owoców z rodzajów *Ribes* L., *Rubus* L. i *Aronia* Medik., z uwagi na dużą popularność wymienionych owoców w regionie oraz ze względu na ograniczoną liczbę opublikowanych prac, dotyczących ekstrakcji olejów i związków bioaktywnych z wymienionych owoców. W celu określenia pełnego spektrum możliwości zagospodarowania wytlóków owocowych na podstawie przeglądu literatury oraz w odniesieniu do części doświadczalnej osobno omówiono ekstrakcję i właściwości oleju pozyskanego z nasion owoców jagodowych oraz ekstrakcję i właściwości ekstraktów polifenolowych uzyskanych z pozbawionych nasion wytlóków badanych owoców jagodowych.

2.2. Oleje z nasion owoców jagodowych

Nasiona owoców jagodowych zawierają olej. Charakterystyka takiego oleju, obejmująca profil kwasów tłuszczowych, rodzaj i zawartość związków bioaktywnych, odporność na utlenianie oraz właściwości termiczne zależy jest od konkretnego surowca, jego odmiany, sposobu uprawy, roku zbioru, warunków przechowywania i innych czynników [6,7].

2.2.1. Profil kwasów tłuszczowych

Niezależnie od warunków uprawy i przechowywania, oleje z nasion owoców jagodowych charakteryzowały się wysoką zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), wśród których dominował kwas linolowy. Według danych literaturowych, olej z nasion aronii zawierał do 71,1% [8–10], olej z nasion malin do 54,5% [8,10–13], olej z nasion jeżyny do 68,0% [10–12], olej z czarnej porzeczki do 57,8% [8,12,14,15], a olej z czerwonej porzeczki do 44,0% [12,16] kwasu linolowego, co wpływało na ich właściwości odżywcze i technologiczne. Dowiedziono, iż wysoka zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych sprawiła, że oleje roślinne były mniej stabilne i miały krótszy okres przydatności do spożycia, ponieważ były bardziej podatne na utlenianie [17–19]. Mimo to, nienasycone kwasy tłuszczowe mają dużą wartość odżywczą i FAO rekomenduje zamianę w diecie tłuszczów nasyconych na nienasycone [20]. Badania kohortowe wykazały, że ogólne spożycie PUFA, bez względu na pochodzenie, przyczyniało się do zmniejszonej śmiertelności ogółem [21] oraz do zmniejszenia ryzyka zespołu metabolicznego [22], a PUFA pochodzenia roślinnego pomagały regulować poziom insuliny [23]. Ponadto, w olejach z nasion owoców jagodowych dominowały kwasy: linolowy i α -linolenowy, określane jako niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, gdyż organizm człowieka nie jest zdolny do ich wytworzenia. Oleje z nasion owoców jagodowych stanowią więc potencjalne źródło cennych z żywieniowego punktu widzenia związków.

2.2.2. Związki bioaktywne w olejach z nasion owoców jagodowych

W olejach z nasion owoców jagodowych oznaczono także zawartość składników bioaktywnych, np. witaminy E- tokoferoli i tokotrienoli (głównie α - i γ -tokoferolu) [8,11–13,24], steroli (z przeważającym udziałem β -sitosterolu) [8,11,12], fosfolipidów, karotenoidów, polifenoli [25,26]. Dzięki zdolności do zapobiegania reakcji utleniania, tokoferole chronią PUFA przed oksydacją. Jednakże, podczas przetwarzania w wysokich temperaturach lub w olejach o dużym udziale PUFA, można było zaobserwować obniżenie ich skuteczności jako przeciwutleniaczy, a nawet działanie propagujące utlenianie. Z perspektywy żywieniowej, spożywanie witaminy E w odpowiedniej ilości jest istotne, przy czym α -tokoferol odgrywa kluczową rolę jako najaktywniejszy przeciwutleniacz w organizmie człowieka i jedyny tokoferol zdolny do pokrycia zapotrzebowania na witaminę E.

2.2.3. Stabilność oksydacyjna i właściwości termiczne

Skład oleju wpływa na jego odporność na utlenianie oraz na właściwości termiczne, które determinują użyteczność technologiczną oleju i jego stabilność podczas przechowywania. Jedną z metod stosowanych do oceny stabilności oksydacyjnej oleju jest ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaningowa (PDSC). Stabilność oksydacyjna charakteryzuje dany olej, ale zależy od czasu przechowywania, metody obróbki surowca i sposobu pozyskania oleju. W badaniach Raczyk i wsp. [27], zaobserwowano, iż tłoczone na zimno oleje z nasion jeżyny i maliny charakteryzowały się czasem indukcji reakcji utleniania, (OIT) zmierzonym metodą PDSC w 120°C, wynoszącym odpowiednio 12,5-38,4 min i 38,4-49,4 min, porównywalnym do OIT uzyskanego dla oleju rydzowego, oleju z wiesiołka oraz oleju z nasion czarnuszki [28]. Do oceny właściwości termicznych oleju, np. charakterystyki mięknięcia lub krystalizacji najczęściej stosowaną metodą jest różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC). Z uwagi na ścisły związek właściwości termicznych ze składem chemicznym próbki, przebieg krzywych mięknięcia lub krystalizacji jest typowy dla danego materiału i nie zależy w tak znacznym stopniu od warunków przechowywania lub sposobu pozyskania oleju. Głównym czynnikiem warunkującym wynik analiz DSC jest źródło pochodzenia oleju. DSC zostało także uznane jako użyteczne narzędzie do potwierdzenia autentyczności olejów [29]. W pracy Rajagukguk i wsp. [30] dla tłoczonego na zimno oleju z nasion maliny uzyskano krzywe mięknięcia z trzema charakterystycznymi maksimami, w temperaturach około -45°C, -43°C i -23°C oraz krzywe krystalizacji z jednym maksimum wyznaczonym w temperaturze około -62°C. Podobny przebieg krzywych mięknięcia i krystalizacji oraz wartości maksymalne pików uzyskano w pracy Micić i wsp. [31] dla oleju z nasion maliny wyekstrahowanego przy użyciu heksanu.

2.3. Ekstrakty polifenolowe

Polifenole należą do grupy wtórnych metabolitów obecnych w żywności pochodzenia roślinnego. Są to związki o potencjale przeciwutleniającym, o różnej budowie chemicznej, jednak ich klasyfikacja nie jest ściśle określona. Zwykle termin „polifenole” odnosi się do flawonoidów (w tym podgrup: antocyjanów, flawonoli, flawanonów, flawonów, flawonoli i izoflawonoidów), tanin, stilbenów oraz kwasów fenolowych i ich pochodnych [32]. Choć polifenole są uznawane za związki nieodżywcze, odgrywają istotną rolę w profilaktyce zdrowotnej dzięki swojej zdolności

do neutralizowania wolnych rodników. Suplementacja związkami polifenolowymi może być pomocna w terapii chorób jelit [33], poprawie funkcji mózgu [34–37], profilu lipidowego [38,39]. Wykazano także korzystny związek między ich spożywaniem, a obniżonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych [40] i nowotworów [41,42].

2.3.1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów polifenolowych

W związku z obecnością polifenoli w wyłokach z owoców jagodowych zasadnym wydaje się ich pozyskiwanie na drodze ekstrakcji. Stwierdzono, iż przemysłowe wyłoki z aronii były bogate w polifenole, których całkowita zawartość (TPC), określona metodą Folina–Ciocalteu, wynosiła 5,5 g katechiny/100 g suchej masy (s.m.). Wśród polifenoli dominowały antocyjany (1,80 g/100 g s.m.), kwasy fenolowe (0,31 g/100 g s.m.) oraz flawonole (0,184 g/100 g s.m.). Aktywność przeciwutleniająca w teście oceniającym zdolność redukcjonowania jonów żelaza (FRAP) wyniosła 1,11 mmola ekwiwalentu jonów żelaza (FE)/g s.m.[43]. Podobne wyniki uzyskano w analizie handlowych wyłoków z aronii, w przypadku których TPC wyniosła 4,2 g ekwiwalentu kwasu galusowego (GAE)/100 g s.m., a aktywność przeciwutleniająca oznaczona testem FRAP- 47,38 mmola FE/100 g s.m., natomiast testem z wykorzystaniem rodnika DPPH- 131,06 mmola ekwiwalentu Troloksu (TE)/100 g s.m. [44]. Główne związki fenolowe w wyłokach z aronii, zidentyfikowane za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), to procyanidyny w stężeniu 9,6 g/100 g s.m.- dwukrotnie wyższym niż w świeżych owocach i prawie siedmiokrotnie wyższym niż w soku [45].

W wyłokach z czarnej porzeczki oznaczono antocyjany jako dominujące składniki występujące w stężeniu od 344,6 do 1046,1 mg/100 g wyłoków, w zależności od roku zbioru. Wartość aktywności przeciwutleniającej, zmierzonej w teście DPPH, wynosiła od 93,3 do 126,5 μ mol TE/g świeżej masy wyłoku [46]. W badaniach Jara-Palacios i wsp. [47] dotyczących właściwości wyłoków z czerwonej porzeczki, maliny i jeżyny wykazano, że wyłoki z czerwonej porzeczki charakteryzowały się najwyższą TPC (3446,59 mg GAE/100 g s.m.), w porównaniu do wyniku uzyskanego dla wyłoku z maliny - 2014,66 mg GAE/100 g s.m. oraz wyłoku z jeżyny - 1699,62 mg GAE/100 g s.m. Stężenie antocyjanów w badanych wyłokach, oznaczone z użyciem HPLC, było zbliżone i wynosiło od 149,91 mg/100 g s.m. (wyłoki z czerwonej porzeczki) do 188,05 mg/100 g s.m. (wyłoki z maliny). Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą, oznaczoną z użyciem kationorodnika ABTS, charakteryzowały się wyłoki z czerwonej

porzeczki (60,83 mmol TE/100 g s.m.), a niższe wartości zaobserwowano dla wytlóków z maliny (29,75 mmol TE/100 g s.m.) i jeźyny (22,54 mmol TE/100 g s.m.).

2.4. Konwencjonalne metody ekstrakcji

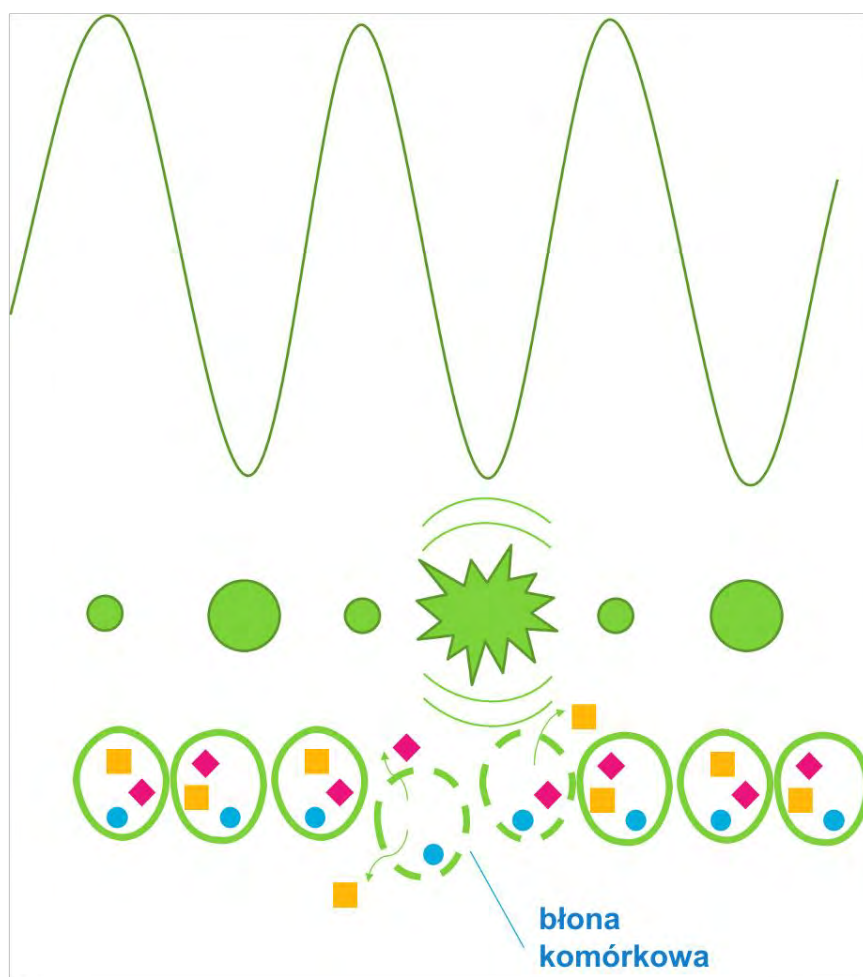
Sposobem na pozyskanie oleju z nasion, a także ekstraktów bogatych w związki polifenolowe z wytlóków jest ekstrakcja. Metody pozwalające na ekstrakcję olejów oraz związków bioaktywnych z wytlóków owoców jagodowych opisano w publikacji [P1]. Klasyczne metody ekstrakcji z materiałów roślinnych obejmują ekstrakcję w układzie ciało stałe-ciecz, np. ekstrakcja z zastosowaniem aparatu Soxhleta. Do zalet takich metod można zaliczyć prostotę przeprowadzenia procesu oraz liniową zależność wydajności ekstrakcji od czasu trwania procesu do osiągnięcia punktu maksimum [48]. Jednakże, jak opisano w publikacji [P1], klasyczne metody ekstrakcji obarczone są także długim czasem trwania, znacznym zużyciem odczynników organicznych, wysokim zużyciem energii elektrycznej w związku z koniecznością długiego ogrzewania lub mieszania próbki, co może powodować także przyspieszoną degradację związków bioaktywnych o niskiej stabilności termicznej [49,50]. Klasyczne metody ekstrakcji są więc zazwyczaj stosowane jako metody odniesienia, do których porównywać można nowsze, bardziej zaawansowane metody.

2.5. Alternatywne metody ekstrakcji

Celem ograniczenia niekorzystnych dla środowiska naturalnego oraz jakości próbki skutków klasycznych metod ekstrakcji, a także w celu przyspieszenia procesu, zaczęto stosować alternatywne metody ekstrakcji, obejmujące procesy wspomagane przy użyciu zaawansowanych technologicznie urządzeń lub enzymów, opisane w publikacji [P1]. Do wyodrębnienia oleju z nasion oraz związków bioaktywnych z wytlóków zaproponowano ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami (UAE); pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF); mikrofalami; ekstrakcję pod zwiększonym ciśnieniem; ekstrakcję z użyciem dwutlenku węgla w stanie nadkrytycznym oraz wspomaganą enzymatycznie. W niniejszej pracy do ekstrakcji olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeźyny, aronii i maliny zastosowano ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami oraz pulsacyjnym polem elektrycznym, a do ekstrakcji związków bioaktywnych z pozbawionych nasion wytlóków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeźyny, aronii i maliny zastosowano ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami.

2.5.1. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami

Technologie z użyciem ultradźwięków odgrywają kluczową rolę w osiąganiu celów zrównoważonej „zielonej” chemii i ekstrakcji, za sprawą znacznego przyspieszenia procesów chemicznych i fizycznych w polu ultradźwiękowym. Zastosowanie ultradźwięków umożliwia przeprowadzenie ekstrakcji w znacznie krótszym czasie, z wysoką powtarzalnością i przyczynia się do mniejszego zużycia rozpuszczalników, uproszczenia obróbki materiału oraz ograniczenia zużycia energii. U podstaw mechanizmów działających w polu ultradźwiękowym znajduje się zjawisko kawitacji, co opisano w publikacji [P1]. Zjawisko kawitacji odpowiada za generowanie intensywnych sił ścinających w układzie. Gdy pęcherzyki kawitacyjne implodują w rozpuszczalniku, dochodzi do gwałtownego wzrostu ciśnienia cieczy, co może przyczyniać się do lepszej penetracji rozpuszczalnika w głąb materiału poddawanego ekstrakcji, a także powodować mechaniczne naruszanie struktury. Ponadto, implozja pęcherzyków w cieczy prowadzi do tworzenia, tzw. makroturbulencji i mikromieszania, które pobudzają transfer masy między materiałem a ekstrahentem. Schemat działania ultradźwięków zaprezentowano na rysunku 1. Zwiększenie wydajności ekstrakcji i skrócenie czasu procesu wspomaganego ultradźwiękami w porównaniu do ekstrakcji tradycyjnej są powodowane także przez szereg zjawisk fizycznych generowanych przez ultradźwięki. Podczas UAE dochodzi do: fragmentacji materiału, erozji na powierzchni materiału, tzw. efektu sonokapilarnego, sonoporacji, detekstracji, powstawania miejscowych naprężeń ścinających. Każde z wymienionych zjawisk, a także ich jednoczesne oddziaływanie na materiał i ekstrahent, prowadzą do rozbijania struktur, takich jak komórki roślinne, co umożliwia efektywniejsze procesy ekstrakcji w krótszym czasie [51,52]. Do ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami stosowane są różne aparaty, m.in. myjki ultradźwiękowe oraz procesory ultradźwiękowe. W zależności od typu urządzenia i modelu różne parametry mogą podlegać modyfikacjom. W przypadku najpopularniejszych procesorów ultradźwiękowych z wymienną sonotrodą, którą zanurza się w próbce poddawanej ekstrakcji, najczęściej regulacji podlega amplituda ultradźwięków, czas ekstrakcji, temperatura.



Rys. 1. Schemat ilustrujący działanie ultradźwięków [P1].

Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami była już stosowana do ekstrakcji oleju i frakcji polifenolowej z nasion i wyłoków owoców jagodowych, co podsumowano w publikacji [P1]. Teng i wsp. [53] wyekstrahowali z użyciem tej metody olej z nasion maliny. Stwierdzili, że w przypadku zastosowania UAE zawartość witaminy E i aktywność przeciwutleniająca (ABTS) ekstraktów były wyższe w porównaniu do wyników uzyskanych dla ekstraktów uzyskanych konwencjonalną metodą z użyciem aparatu Soxhleta. Eksperyment nie obejmował jednak szczegółowej analizy właściwości oleju wyekstrahowanego za pomocą ultradźwięków. Autorzy nie określili stabilności oksydacyjnej oraz stabilności oleju podczas przechowywania. Milanović i wsp. [54] wyekstrahowali poprzez zastosowanie UEA olej z produktów ubocznych przemysłu winiarskiego. Wykazali, że ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami umożliwiła uzyskanie oleju z pestek winogron o wyższej aktywności przeciwutleniającej i zawartości α - tokoferolu w porównaniu do oleju tłoczonego na zimno. W olejach wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków, oznaczona metodą HPLC, zawartość

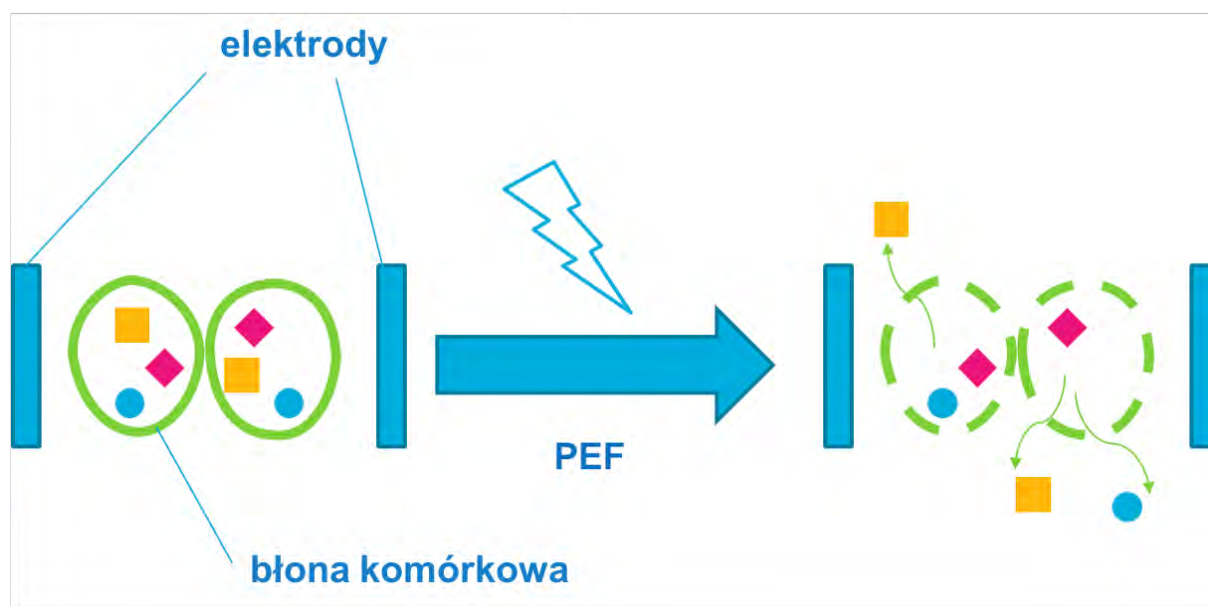
α -tokoferolu wynosiła 1,83–2,77 mg/100 g oleju, a w przypadku olejów tłoczonych na zimno - 0,54-1,67 mg/100 g oleju. Czas indukcji reakcji utleniania (zmierzony metodą Rancimat) oleju uzyskanego metodą ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami był również znacznie dłuższy niż w przypadku oleju tłoczonego na zimno. Ponadto opisano pewne różnice w profilach kwasów tłuszczowych olejów w zależności od metody ekstrakcji, z nieco wyższą zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) w przypadku zastosowania UAE. Wyższy udział nasyconych kwasów tłuszczowych w olejach ekstrahowanych przy użyciu ultradźwięków można przypisać ww. zjawisku kawitacji, które lokalnie tworzy ekstremalnie wysokie temperatury i ciśnienia. Te miejscowe, gwałtowne zjawiska mogą sprzyjać reakcjom utleniania, a tym samym przekształcaniu wielonienasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w kwasy nasycone. W kontekście wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji oleju bardzo ważne jest więc odpowiednie dobranie parametrów ekstrakcji w taki sposób, aby osiągnąć maksymalną wydajność procesu, bez doprowadzenia do degradacji składników bioaktywnych oraz utleniania kwasów tłuszczowych.

Ultradźwięki stosowane były również do ekstrakcji hydrofilowych związków bioaktywnych z wyłoków owocowych. Zafra-Rojas i wsp. [55] ekstrahowali wodą destylowaną ekstrakty z wyłoku z jeżyny. Zastosowanie procesora ultradźwiękowego, generującego falę ultradźwiękową o amplitudzie 91% w czasie 15 min., umożliwiło uzyskanie ekstraktu zawierającego o 246% więcej antocyjanów ogółem (TAC) niż w przypadku ekstraktu uzyskanego metodą klasyczną w układzie ciało stałe-ciecz. W badaniach Sady i wsp. [56] także zastosowano procesor ultradźwiękowy do ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoku z aronii z użyciem etanolu. Proces poddano optymalizacji, a najkorzystniejsze wyniki odnoszące się do TPC oraz aktywności przeciwutleniającej (DPPH) uzyskano stosując 60% wodny roztwór etanolu i czas ekstrakcji - 20 min. Uzyskany ekstrakt charakteryzował się TPC wynoszącą 188 mg GAE/g s.m. i aktywnością przeciwutleniającą - 49,2 mmol TE/100g s.m.

2.5.2. Ekstrakcja wspomagana pulsacyjnym polem elektrycznym

PEF to nietermiczna metoda przetwarzania żywności. Obróbka za pomocą PEF polega na wielokrotnym stosowaniu impulsów o natężeniu pola elektrycznego od 0,1 do 100 kV/cm względem próbki umieszczonej między elektrodami. W rezultacie materiał, niezależnie od tego, czy jest to ciecz, czy ciało stałe, jest narażony na działanie pola elektrycznego, które powoduje powstawanie porów w błonach komórkowych, tzw.

elektroporację, co wyjaśniono szczegółowo w publikacji [P1]. Schemat działania pulsacyjnego pola elektrycznego przedstawiono na rysunku 2. Powstawanie porów prowadzi do mechanicznego rozpadu błon komórkowych, a materiał jest określany jako zdeintegrowany. Zastosowanie PEF skutkować może polepszeniem wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych dzięki zwiększonej dyfuzyjności substancji wewnątrzkomórkowych i zintensyfikowanemu przenoszeniu masy [57,58].



Rys. 2. Schemat ilustrujący działanie pulsacyjnego pola elektrycznego [P1].

Zastosowanie PEF jako obróbki wstępnej przed ekstrakcją oleju z nasion owoców nie jest jeszcze szeroko opisane. Istnieje ograniczona liczba wyników badań dotyczących wpływu PEF na właściwości oleju uzyskanego z nasion metodą tłoczenia na zimno lub ekstrakcji z wykorzystaniem rozpuszczalników. Rabago-Panduro i wsp. [59] badali wpływ PEF zastosowanego jako obróbka wstępna przed mechanicznym tłoczeniem oleju z orzechów pekan. Obróbka PEF skutkowała poprawą wydajności ekstrakcji, która była, w zależności od zastosowanego natężenia pola PEF, nawet o 21,4% wyższa niż w przypadku próby kontrolnej. Guderjan i wsp. [60] opisali wpływ obróbki PEF na wydajność ekstrakcji i jakość oleju rzepakowego ekstrahowanego heksanem. Zastosowanie PEF o natężeniu pola 7 kV/cm i liczbie impulsów wynoszącej 120 spowodowało zwiększenie wydajności ekstrakcji do 32% w przypadku nasion łuskanych i 45% w przypadku nasion niełuskanych, w porównaniu do odpowiednio 23% i 43% w próbkach kontrolnych. Badania właściwości chemicznych wykazały, że olej ekstrahowany po obróbce PEF charakteryzował się nieco wyższą wartością liczby kwasowej, co sugerowało, że w wyniku zastosowanej obróbki PEF mogły powstać

w reakcji hydrolizy niepożądane wolne kwasy tłuszczowe, a możliwą przyczyną tego zjawiska, według autorów, mogło być uwolnienie lipazy z komórek nasion rzepaku. Moradi i Rahimi [61] badali wpływ zastosowania PEF (natężenie pola 0,8 kV/cm oraz 1,1 kV/cm) na wydajność ekstrakcji i cechy jakościowe oleju słonecznikowego. Zastosowanie PEF skutkowało wzrostem wydajności ekstrakcji o 3,2% i 5,3% dla wartości natężenia pola odpowiednio 0,8 i 1,1 kV/cm w porównaniu do ekstrakcji konwencjonalnej w układzie ciało stałe-ciecz. Oleje uzyskane z użyciem ekstrakcji wspomaganiej PEF charakteryzowały się również wyższą zawartością tokoferoli. Na podstawie zdjęć ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) wykazano, iż nasiona poddane obróbce PEF cechowały się bardziej porowatą powierzchnią, co mogło przyczynić się do wyższego współczynnika dyfuzji rozpuszczalnika do materiału, a w konsekwencji do zwiększenia wydajności ekstrakcji.

W literaturze opisane są próby wykorzystania PEF do wspomaganie ekstrakcji związków polifenolowych z wycieków owocowych, głównie winogron, pomarańczy, wiśni i brzoskwiń. W przypadku badań dotyczących wycieków z owoców jagodowych, zastosowano PEF do ekstrakcji polifenoli i antocyjanów z wycieku z jagód. Bobinaite i wsp. [62] zastosowali obróbkę PEF przed procesem tłoczenia soku z jagód, a następnie związki bioaktywne ekstrahowali z wycieku metodą klasyczną w układzie ciało stałe-ciecz z zastosowaniem zakwaszonego (kwasem solnym) etanolu użytego jako rozpuszczalnika. Zastosowanie obróbki PEF o natężeniu 5 kV/cm i energii 10 kJ/kg przed tłoczeniem soku przyczyniło się do zwiększenia TPC i TAC odpowiednio o 79% i 106% w wycieku w porównaniu do wycieku uzyskanego z tłoczenia bez obróbki PEF. Zhou i wsp. [63] ekstrakcji wspomaganiej PEF poddali wyciek z jagód, z tym, że PEF był zastosowany bezpośrednio do ekstrakcji antocyjanów z wycieku. Proces ten został zoptymalizowany w taki sposób, aby osiągnąć jak najwyższą wartość TAC. Zastosowanie 60% wodnego roztworu etanolu z 0,1% dodatkiem HCl jako rozpuszczalnika oraz parametrów PEF: natężenia pola 20 kV/cm, liczby pulsów - 10 i czasu ekstrakcji - 15 minut poskutkowało uzyskaniem TAC wynoszącej 223,13 mg/l ekstraktu. Porównano także ekstrakcję wspomaganą PEF do ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami i stwierdzono, iż zastosowanie PEF jest efektywniejszą metodą - proces ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami prowadzono przez 60 min, a TAC w ekstrakcie była niższa.

3. CEL PRACY I HIPOTEZY BADAWCZE

Celem pracy doktorskiej było pozyskanie związków bioaktywnych, ze szczególnym uwzględnieniem frakcji lipidowej z: wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny, co obejmowało otrzymanie wyłoków oraz opracowanie metody pozyskiwania z nich nasion; określenie parametrów procesów izolowania oleju z nasion oraz związków bioaktywnych z wyłoków owocowych pozbawionych nasion przy zastosowaniu zróżnicowanych technik ekstrakcji, zarówno tradycyjnych, jak również zaawansowanych - wspomaganych ultradźwiękami i pulsacyjnym polem elektrycznym. Cel pracy obejmował również szczegółową charakterystykę frakcji tłuszczowej z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny oraz oznaczenie zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej wyłoków pozbawionych nasion.

Hipotezy badawcze:

H1. Niekonwencjonalne metody wspomagania ekstrakcji, takie jak pulsacyjne pole elektryczne oraz ultradźwięki mają wpływ na wydajność procesu ekstrakcji oraz jakość olejów i związków bioaktywnych pozyskiwanych z produktów odpadowych przemysłu owocowego.

H2. Zaprojektowanie doświadczenia metodą płaszczyzny odpowiedzi umożliwia dobranie parametrów ekstrakcji zapewniających odpowiednią wydajność procesu i jakość pozyskanej frakcji tłuszczowej oraz związków polifenolowych z produktów odpadowych przemysłu owocowego.

H3. Nasiona owoców jagodowych stanowią surowiec do pozyskania olejów bogatych w kwasy tłuszczowe nienasycone, które mogłyby znaleźć zastosowanie w wybranych gałęziach przemysłu spożywczego i/lub kosmetycznego.

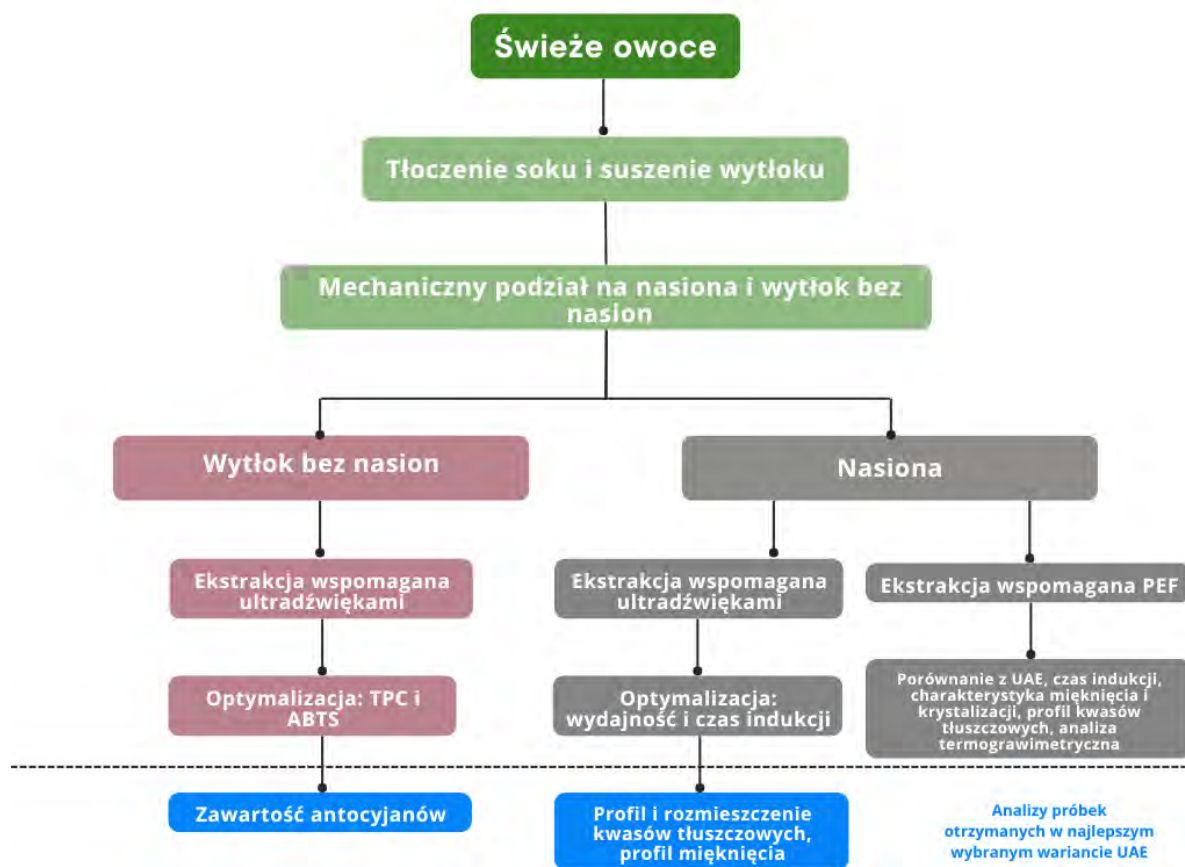
4. ORGANIZACJA BADAŃ, MATERIAŁ I METODY

4.1. Organizacja badań

Badania podzielono na kilka etapów:

- I etap obejmował przygotowanie do przeprowadzenia doświadczeń, dokonano przeglądu literatury z zakresu alternatywnych metod ekstrakcji oleju z nasion owoców i związków bioaktywnych z wyłoków owocowych, a także przeprowadzono badania wstępne dotyczące ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oraz ekstrakcji wspomaganej pulsacyjnym polem elektrycznym, co umożliwiło wyznaczenie dalszych celów badawczych.
- II etap obejmował zebranie materiału do badań oraz przeprowadzenie tłoczenia soków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny, suszenie wyłoków, oznaczenie ich aktywności wody oraz mechaniczny podział wysuszonego materiału na nasiona i pozbawiony nasion wyłok, które stanowiły materiał właściwy do badań.
- III etap obejmował optymalizację procesu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny oraz związków bioaktywnych z wyłoków pozbawionych nasion. W tym etapie określono też najkorzystniejsze parametry ekstrakcji metodą płaszczyzny odpowiedzi, a uzyskane w tych warunkach oleje z nasion i ekstrakty z wyłoków pozbawionych nasion poddano szczegółowym analizom, porównując wyniki do prób kontrolnych, otrzymanych z zastosowaniem ekstrakcji klasycznej w układzie ciało stałe-ciecz.
- IV etap obejmował uzyskanie oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny w procesie ekstrakcji wspomaganej pulsacyjnym polem elektrycznym przy użyciu zróżnicowanych parametrów napięcia oraz poboru energii oraz porównanie tej metody ekstrakcji do ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami i ekstrakcji klasycznej. Uzyskane w tym etapie oleje poddano szczegółowej analizie.

Graficzną ilustrację przebiegu badań w pracy doktorskiej przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Schemat badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej; poniżej przerywanej linii wymieniono analizy przeprowadzone jedynie dla próbek ekstraktów oraz olejów uzyskanych w najkorzystniejszych warunkach ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami.

4.2. Materiał

- surowce: porzeczka czarna (*Ribes nigrum* L.) odmiany Ruben i porzeczka czerwona (*Ribes rubrum* L.) odmiany Jonkheer van Tets zostały zakupione jako świeże od lokalnego dostawcy; świeże owoce maliny (*Rubus idaeus* L.) odmiany Polana i aronii (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) odmiany Nero zostały pozyskane dzięki uprzejmości rolników z okolic Puław (woj. lubelskie); owoce jeżyny (*Rubus fruticosus* L.) odmiany Brzezina pozyskano z Instytutu Ogrodnictwa – Państwowego Instytutu Badawczego w Skierniewicach, a owoce pochodziły ze zbioru *Rubus* prowadzonego w ramach celowego zadania ex situ Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi - ochrona zasobów genowych roślin ogrodnich,
- odczynniki: *n*-heksan, odczynnik Folina-Ciocalteu, standard kwasu galusowego, węglan sodu, nadsiarczan potasu, kwas solny, chlorek wapnia, eter dietylowy,

siarczan (VI) magnezu, kwas octowy, metanol i wodorotlenek potasu zakupiono w przedsiębiorstwie Chempur w Piekarach Śląskich w Polsce; sól diamonową 2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) (ABTS), kwas ($\pm$)-6-hydroksy2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksylowy (Troloks) zakupiono od Thermo Scientific Chemicals (Waltham, MA, Stany Zjednoczone); roztwór soli żółciowych, TRIS, lipazę trzustkową i standard cyjanidyno-3-glukozydu zakupiono od Sigma-Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, Stany Zjednoczone).

4.3. Metody

4.3.1. Metody technologiczne

- tłoczenie soku: soki tłoczono z około 10 kg owoców za pomocą prasy hydraulicznej (HPL 14, Bucher Unipektin, Niederweningen, Szwajcaria) pod maksymalnym ciśnieniem 3 barów,
- suszenie wytlóków: wytloki otrzymane po tłoczeniu soków suszono w laboratoryjnej suszarce konwekcyjnej w temperaturze 45°C i przy przepływie powietrza 1,5 m/s,
- oddzielenie nasion od wytloku: po wysuszeniu oddzielono mechanicznie za pomocą sit nasiona od wytloku i podzielono materiał na dwie frakcje: nasiona - publikacje [P2], [P4], [P5] i frakcję wytloku pozbawioną nasion – publikacje [P2], [P3]. Nasiona posłużyły do ekstrakcji oleju, a frakcja wytloku owocowego pozbawiona nasion - do ekstrakcji związków bioaktywnych; dodatkowo oddzielone nasiona zmielono przy użyciu młynka laboratoryjnego (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen im Breisgau, Niemcy) stosując 20,000 obr/min w czasie 30 s.

4.3.2. Charakterystyka materiału

- za pomocą higrometru Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic AG, Bassersdorf, Szwajcaria), zmierzono aktywność wody (a_w) w temperaturze $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$ w suszonych wytlókach przed procesem oddzielania mechanicznego.

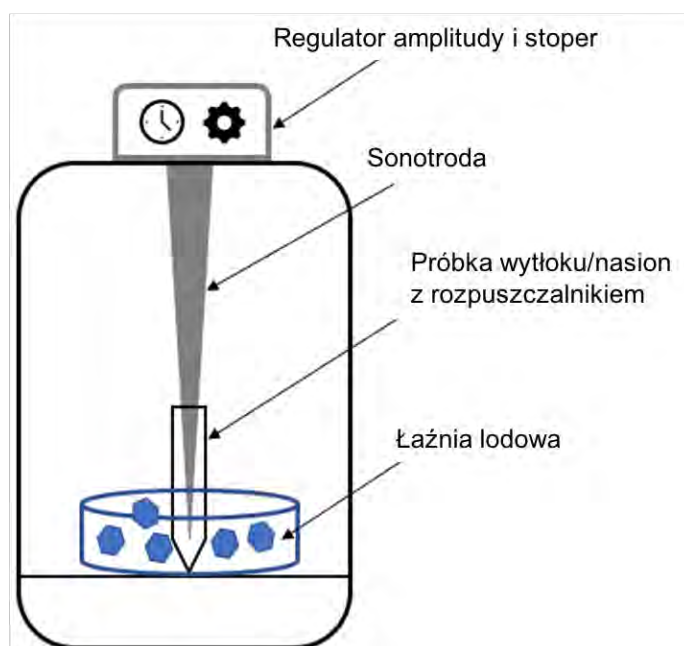
4.3.3. Zaplanowanie doświadczenia ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami z zastosowaniem metody płaszczyzny odpowiedzi

- z zastosowaniem programu Design-Expert sporządzono plan doświadczenia ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacje [P2], [P4] oraz ekstrakcji frakcji polifenolowej z wyłoków owocowych pozbawionych nasion - publikacje [P2], [P3]. Zmiennymi parametrami procesu były: amplituda ultradźwięków oraz czas działania ultradźwięków, natomiast odpowiedziami: w przypadku ekstrakcji oleju z nasion - czas indukcji reakcji utleniania (OIT lub $\tau_{\max}$) zmierzony z wykorzystaniem ciśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej (PDSC) oraz wydajność ekstrakcji oleju (W). W przypadku ekstrakcji frakcji polifenolowej z wyłoków owocowych pozbawionych nasion odpowiedziami były: zawartość polifenoli ogółem (TPC) zmierzona spektrofotometrycznie, oznaczona z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu oraz aktywność przeciwutleniająca, zmierzona spektrofotometrycznie, określona z wykorzystaniem kationorodnika ABTS.

4.3.4. Metody ekstrakcji

- ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami (UAE) oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacje [P2], [P4], [P5]. Do ekstrakcji użyto procesor ultradźwiękowy UP400S firmy Hielscher Ultrasonics GmbH (Tetlow, Niemcy), z możliwością regulacji poziomu amplitudy, mocą wyjściową 400 W i wymienną sonotrodą. Odważono około 2 g zmielonych nasion i umieszczono w 50-mililitrowych probówkach typu Falcon, zmieszano z 30 ml *n*-heksanu użytego jako ekstrahent (stosunek m/v: 1/15), następnie sonotrodę zanurzano w próbówce natychmiast po dodaniu rozpuszczalnika. W celu uniknięcia degradacji związków bioaktywnych probówkę umieszczono w łaźni lodowej (rysunek 4), a temperaturę kontrolowano przy użyciu termometru immersyjnego w taki sposób, aby nie przekraczała 45°C. Po zakończeniu procedury uzyskane ekstrakty przefiltrowano przez sącze bibułowy i osuszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu. Rozpuszczalnik odparowano za pomocą rotacyjnej wyparki próżniowej (BR-215, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Szwajcaria) w temperaturze 40°C, pod minimalnym ciśnieniem 70 bar. Próbkę

potraktowano dodatkowo azotem, aby usunąć ewentualną pozostałość rozpuszczalnika.



Rys. 4. Schemat procesora ultradźwiękowego, używanego w trakcie badań, na podstawie rysunku w [P2].

- ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami (UAE) frakcji polifenolowej z wytłoków pozbawionych nasion - publikacje [P2], [P3]. Do ekstrakcji wykorzystano ww. procesor ultradźwiękowy. Odważono około 2 g wytłoków pozbawionych nasion i umieszczono w 50-mililitrowych probówkach typu Falcon, następnie dodano 30 ml wody destylowanej (stosunek m/v: 1/15) i natychmiast zanurzono sonotrodę. Układ umieszczono, podobnie, jak w przypadku ekstrakcji oleju z nasion, w łaźni lodowej (rysunek 4), a temperaturę kontrolowano termometrem immersyjnym, tak aby nie przekraczała 45°C. Po zakończonej ekstrakcji ekstrakty przefiltrowano przez sącze bibułowy do kolb miarowych o objętości 50 ml i uzupełniono wodą destylowaną. Tak przygotowane próbki posłużyły do dalszych analiz;
- klasyczna ekstrakcja ciała stałe-ciecz oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacje [P2], [P4] i [P5]. Odważono 2 g zmielonych nasion, umieszczono w probówce typu Falcon, zmieszano z 30 ml heksanu i umieszczono w łaźni wodnej o temperaturze 40°C na 2 godziny, stale mieszając. Następnie przefiltrowano przez sącze bibułowy, osuszono

i odparowano rozpuszczalnik tak, jak w przypadku ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami;

- klasyczna ekstrakcja ciała stałe-ciecz frakcji polifenolowej z pozbawionych nasion wyłoków czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacje [P2] i [P3]. Odważono 2 g wyłoku owocowego pozbawionego nasion, umieszczono w probówce typu Falcon, zmieszano z 30 ml wody destylowanej i umieszczono w łaźni wodnej o temperaturze 40°C na 2 godziny, stale mieszając. Następnie przefiltrowano przez sączone bibułowy do kolb miarowych o objętości 50 ml i uzupełniono wodą destylowaną;
- ekstrakcja wspomagana pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF) oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacja [P5]. Obróbkę wstępną PEF przeprowadzono w PEF Pilot™ Dual System (Elea Technology GmbH, Quakenbrück, Niemcy). Całe nasiona (2 g), umieszczone w wodzie wodociągowej, poddano działaniu PEF, stosując napięcie elektrody 8 lub 10 kV, długość impulsu 7 μs, częstotliwość 20 Hz oraz odpowiednią liczbę impulsów, aby osiągnąć pobór energii 50 kJ/kg. Następnie nasiona odsączone, wysuszone w eksykatorze oraz zmielono w młynku laboratoryjnym (20,000 obr/min, 30 s) i przeznaczono do ekstrakcji przeprowadzonej w aparacie Soxhleta, z użyciem 150 ml *n*-heksanu przez 30 minut. Uzyskane ekstrakty schłodzone, osuszone bezwodnym siarczanem (VI) magnezu i rozpuszczalnik odparowano zgodnie z procedurą opisaną powyżej, w podpunkcie dotyczącym ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami (w rozdziale 4.3.4.).

4.3.5. Metody analityczne - charakterystyka oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny

- metoda wagowa określająca wydajność ekstrakcji (publikacje [P2], [P4]) opisana przez Ni i wsp. [64]. Wydajność obliczono dzieląc masę uzyskanego oleju przez początkową masę nasion i wyrażono w procentach (równanie 1):

$$(1) W = \frac{m_o}{m_n} \cdot 100\%$$

gdzie: W- wydajność [%], m_o - masa oleju [g], m_n - początkowa masa nasion [g];

- ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaningowa (PDSC) do wyznaczenia czasu indukcji reakcji utleniania (OIT) (publikacje [P4], [P5]) lub maksymalnego czasu reakcji utleniania (τ_{max}) (publikacja [P2]), zgodnie z wcześniej opisaną metodą

[65]. Do analizy użyto aparatu DSC Q20 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone). Odważono 3-4 mg oleju w aluminiowym naczynku i umieszczono w celi pomiarowej urządzenia wraz z pustym naczynkiem odniesienia. Następnie dokonano pomiaru w atmosferze tlenu pod ciśnieniem około 1400 kPa w warunkach izotermicznych w temperaturze 120°C. Wynikiem analiz były krzywe PDSC, na których w programie Universal Analysis (wersja 4.5A, TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone) wyznaczono punkty OIT lub $\tau_{\max}$;

- ciśnieniowa różnicowa kalorymetria skaningowa (PDSC) do wyznaczenia kinetyki reakcji utleniania: parametry kinetyczne utleniania oleju zostały obliczone na podstawie wyników pomiarów PDSC, z zastosowaniem urządzenia DSC Q20 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone). Odważono 3-4 mg oleju w aluminiowym naczynku i umieszczono w celi pomiarowej urządzenia wraz z pustym naczynkiem odniesienia, następnie dokonano pomiaru w atmosferze tlenu. W publikacji [P2] - dla olejów z czarnej i czerwonej porzeczki zastosowano następujące warunki pomiaru: ciśnienie 1400 kPa i izotermiczne warunki w 5 różnych temperaturach: 110, 115, 120, 125, 130°C; w publikacji [P4] - dla olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny zastosowano ciśnienie 100 kPa i dynamiczne warunki ogrzewania od temperatury 30°C do 300°C stosując 5 różnych szybkości ogrzewania (β): 2,5°C/min; 5°C/min; 7,5°C/min; 10°C/min i 12,5°C/min. Wyniki czasu indukcji reakcji utleniania posłużyły do sporządzenia wykresu logarytmu czasu indukcji w funkcji odwrotnej temperatury (w skali bezwzględnej), a następnie, na podstawie obliczeń opisanych przez Wirkowską-Wojdyłę i wsp. [65, 66], które były interpretacją równań Arrheniusa oraz Ozawy-Flynn-Walla, określono wartości energii aktywacji, współczynnika przedwykładniczego oraz stałej szybkości reakcji, zgodnie z równaniami 2, 3, 4, 5:

$$(2) \log \beta = a \left(\frac{1}{T_{on}} \right) + b$$

gdzie: β - szybkość ogrzewania [°C/min]; T_{on} - temperatura początkowa utleniania w skali absolutnej [K]

$$(3) E_a = -2.19R \cdot \frac{d \log \beta}{d \frac{1}{T}}$$

gdzie: E_a - energia aktywacji [kJ/mol]; R- stała gazowa

$$(4) Z = \frac{\beta E_a e^{\frac{E_a}{RT}}}{RT^2}$$

$$(5) k = Z \exp \frac{-E_a}{RT}$$

gdzie: k- stała szybkości reakcji [1/min]; Z- współczynnik przedwykładniczy

- różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) (publikacje [P2], [P4], [P5]). Charakterystyka mięknięcia olejów została zbadana z użyciem różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Zastosowano aparat DSC Q200 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone). Próbki olejów o masie 3-4 mg umieszczono w hermetycznie zamkniętych aluminiowych naczynkach i umieszczono w aparacie wraz z pustym naczynkiem referencyjnym, przepływ medium chłodzącego – azotu - ustalono na 50 ml/min. Zastosowano następującą procedurę: próbki ogrzano do temperatury 80°C i utrzymywano w tych warunkach przez 10 minut w celu tzw. wymazania pamięci termicznej próbki, następnie próbki schłodzono do -80°C z szybkością chłodzenia 10 °C/min i utrzymywano w tej temperaturze przez 30 minut. W ostatnim etapie ponownie ogrzewano próbki do temperatury 80°C z szybkością 15°C/min. Krzywa zarejestrowana podczas ostatniego etapu procedury została następnie przeanalizowana w celu określenia charakterystyki mięknięcia [10,67];
- różnicowa kalorymetria skaningowa - wyznaczenie charakterystyki krystalizacji (publikacje [P4], [P5]) z użyciem urządzenia DSC Q200 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone). Próbki olejów o masie 3-4 mg umieszczono w hermetycznie zamkniętych aluminiowych naczynkach i wprowadzono do aparatu wraz z pustym naczynkiem referencyjnym, przepływ azotu wynosił 50 ml/min. Charakterystyka krystalizacji została wyznaczona poprzez schładzanie próbek oleju z 20°C do -80°C z szybkością chłodzenia wynoszącą 2°C/min [67];
- chromatografia gazowa: procentowy udział zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych (publikacje [P2], [P4], [P5]) oraz rozkład kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli (TAG) (publikacje [P2], [P4]) w próbce kontrolnej i próbce uzyskanej przy zastosowaniu wybranych parametrów ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami zostały określone metodą chromatografii gazowej, przy użyciu chromatografu gazowego YL6100 GC (Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Korea Południowa) wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny [68]. Przed analizą kwasy tłuszczowe zostały

przekształcone w estry metylowe (FAME) zgodnie z normą PN-EN ISO:2001 [69]. FAME zidentyfikowano, porównując ich czasy retencji ze standardem mieszaniny FAME, zastosowano procedurę normalizacji powierzchni z obliczeniem procentowego udziału każdego kwasu tłuszczowego w celu uzyskania profilu kwasów tłuszczowych olejów. Analiza rozkładu kwasów tłuszczowych w pozycjach sn-2 i sn-1,3 triacylogliceroli była poprzedzona hydrolizą z użyciem lipazy trzustkowej i przeprowadzona zgodnie z metodą opisaną przez Pina-Rodriguez i Akoh [70] z wykorzystaniem chromatografii cienkowarstwowej;

- analiza termogravimetryczna (TG) (publikacja [P5]) przeprowadzona za pomocą termogravimetru Discovery TGA (TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone) zgodnie z wcześniej opublikowaną metodologią [71], z drobnymi modyfikacjami; próbki olejów (7–8 mg) umieszczono w platynowych tygielkach, ogrzewano w zakresie temperatur od 50 do 1000°C ze stałą szybkością ogrzewania 10 °C/min w atmosferze tlenu o przepływie 10 ml/min pod ciśnieniem atmosferycznym. Na podstawie krzywych TG, ilustrujących wpływ wzrostu temperatury na utratę masy próbki, obliczono pierwszą pochodną funkcji (DTG) w oprogramowaniu Discovery Trios (wersja 5.1 TA Instruments, New Castle, Stany Zjednoczone).

4.3.6. Metody analityczne - analiza mikroskopowa nasion czarnej i czerwonej porzeczki poddanych ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami

- skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) (publikacja [P2]). W celu określenia mikrostruktury nasion niepoddanych ekstrakcji oraz nasion po procesie UAE przeprowadzonym w wybranych najkorzystniejszych warunkach, przeprowadzono analizę wykorzystując skaningowy mikroskop elektronowy TM-3000 (Hitachi, Tokio, Japonia) w powiększeniu $\times 1000$ i napięciu wiązki elektronowej 15 kV.

4.3.7. Metody analityczne - charakterystyka ekstraktów z pozbawionych nasion wytlóków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny

- zawartość polifenoli ogółem (TPC) (publikacje [P2], [P3]) oznaczono spektrofotometrycznie, używając odczynnika Folina-Ciocalteu, zgodnie z metodą opisaną przez Gao i wsp. [72]. W próbówce umieszczono 0,2 ml odpowiednio

rozcieńczonego ekstraktu, 0,4 ml odczynnika Folina-Ciocalteu, 4 ml wody destylowanej i 2 ml 15% roztworu węglanu sodu, wymieszano przy użyciu Vortex i umieszczono w ciemnym miejscu na 60 minut. Następnie zmierzono absorbancję w spektrofotometrze Shimadzu UV-1650PC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonia) przy długości fali 765 nm. Do przygotowania krzywej kalibracyjnej użyto roboczych roztworów standardu kwasu galusowego o stężeniach od 50 mg do 250 mg/l i wyniki TPC wyrażono jako mg ekwiwalentu kwasu galusowego (GAE)/g s.m.;

- aktywność przeciwutleniająca (publikacje [P2], [P3]). Aktywność antyoksydacyjną ekstraktów wobec roztworu kationorodnika ABTS określono według metody opisanej przez Re i wsp. [73]. Do próbki dodano odpowiednio rozcieńczoną próbkę ekstraktu (40 µl) i 4 ml odpowiednio przygotowanego roztworu ABTS, a następnie zmierzono absorbancję przy długości fali 734 nm po 8 minutach inkubacji, używając spektrofotometru Shimadzu UV-1650PC. Krzywa wzorcowa Troloksu została przygotowana z roboczych roztworów standardu Troloksu o stężeniach od 0 do 1125 µmol/l, wyniki aktywności przeciwutleniającej wyrażono jako µmol ekwiwalentu Troloxu (TE)/g s.m.;
- oznaczenie zawartości antocyjanów metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) (publikacje [P2], [P3]). Do analizy zawartości antocyjanów użyto chromatografu HPLC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonia) z detektorem DAD i kolumną Luna 5 µm C18 (2), 250 mm × 4,6 mm, z prekolumną (Phenomenex, Torrance, Stany Zjednoczone). Zawartość antocyjanów w ekstraktach wodnych została określona metodą HPLC zgodnie z wcześniej opisaną metodologią [74]. Analizę przeprowadzono w przepływie izokratycznym z szybkością przepływu 1 ml/min; jako fazy ruchomej użyto mieszaniny wody, acetonitrylu i kwasu mrówkowego w stosunku objętościowym 830:70:100. Przygotowane próbki odwirowano w wirówce laboratoryjnej (MPW-350R, MPW Med Instruments, Warszawa, Polska), stosując 18000g (14000 obr/min) przez 10 minut. Wyniki rejestrowano przy długości fali 520 nm, a całkowitą zawartość antocyjanów wyrażono w mg na 1000 g świeżej próbki (ś.m.); stężenie związków określono w odniesieniu do standardu cyjanidyno-3-glukozydu. Całkowita zawartość antocyjanów (TAC) została obliczona jako suma poszczególnych antocyjanów na podstawie chromatogramów analizowanych w oprogramowaniu LabSolutions (wersja 5.106, Shimadzu Corp., Kyoto, Japonia).

4.3.8. Analiza statystyczna

- eksperyment ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami (publikacje [P2], [P3], [P4]) zaprojektowano przy użyciu oprogramowania Design-Expert (wersja 22.0.2, Stat-Ease Inc., Minneapolis, Stany Zjednoczone), a następnie przeprowadzono ewaluację modelu, w tym analizę współczynnika determinacji, test braku dopasowania, wartość p oraz wynik współczynnika zmienności;
- wyniki szczegółowych testów (publikacje [P2], [P3], [P4], [P5]) poddano analizie statystycznej, uwzględniając analizę jednoczynnikową ANOVA oraz test post hoc Tukey’a przy użyciu oprogramowania Statistica (wersja 13.3, StatSoft, Kraków, Polska), we wszystkich przypadkach wartość p równa 0,05 została ustalona jako wartość graniczna.

5. OMÓWIENIE I DISKUSJA WYNIKÓW

5.1. Zaplanowanie eksperymentu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami

Na podstawie danych literaturowych usystematyzowanych w pracy przeglądowej [P1] oraz badań wstępnych dokonano selekcji parametrów zmiennych w planie doświadczenia oraz odpowiedzi, których wartości będą decydowały o efektywności procesu UAE w niniejszej pracy. Procesor ultradźwiękowy, którym dysponowano w trakcie badań umożliwia modyfikowanie amplitudy ultradźwięków. Z przeglądu literatury wiadomo, iż jest to jeden z czynników mających wpływ na wydajność procesu oraz jakość uzyskanego produktu. W związku z powyższym wzięto pod uwagę ten parametr, ustalając amplitudę ultradźwięków w przedziale 30-80% (i dodatkowo punkty gwiazdne planu - ok. 20% i ok. 90%). Jako drugi parametr zmienny wybrano czas ekstrakcji, gdyż na podstawie zestawienia wyników badań w publikacji [P1] zauważono, że czas sonikacji wpływał na wydajność ekstrakcji związków bioaktywnych i oleju z wyłoków i nasion pozyskanych z owoców jagodowych. Tylko w przypadku jednego analizowanego badania czas sonikacji nie miał wpływu na TPC w ekstraktach. Wraz z wydłużaniem czasu sonikacji, wydajność ekstrakcji była wyższa. Zasadne było więc dobranie czasu ekstrakcji, który nie będzie narażał próbki na zbyt długi kontakt z sonotrodą, co mogłoby skutkować degradacją związków bioaktywnych wrażliwych na wysokie temperatury, a także sprzyjać utlenianiu PUFA. Zakres czasu ekstrakcji wybrano początkowo taki sam w przypadku ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki i ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki [P2]. Po przeanalizowaniu wyników uzyskanych w publikacji [P2] dla oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, zdecydowano wydłużyć czas ekstrakcji oleju z pozostałych nasion: jeżyny, aronii i maliny - publikacja [P4], przy zachowaniu takiego samego czasu w przypadku ekstrakcji związków bioaktywnych z pozbawionych nasion wyłoków z jeżyny, aronii i maliny [P3]. Podsumowując, zakres czasu ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki oraz ekstraktów bioaktywnych z pozbawionych nasion wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wynosił 2-10 min (dodatkowe punkty gwiazdne: 0,34 min i 11,66 min), a dla olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny - 5-15 min (dodatkowe punkty gwiazdne: 2,93 min i 17,07 min). Plany doświadczeń zamieszczono w tabeli 1 oraz tabeli 2. Na podstawie doniesień literaturowych, dobrano też rozpuszczalniki stosowane w UAE. Ekstrakcję oleju z nasion przeprowadzano przy użyciu n-heksanu, jako rozpuszczalnika referencyjnego

używanego do ekstrakcji olejów roślinnych. Do ekstrakcji związków bioaktywnych z wytlóków pozbawionych nasion wybrano wodę destylowaną jako rozpuszczalnik najbardziej bezpieczny w kontekście ewentualnych zanieczyszczeń produktu końcowego.

Wybrane zostały także odpowiedzi, które, w metodzie powierzchni odpowiedzi (RSM), stanowić mają o efektywności danego procesu podlegającego optymalizacji. W przypadku ekstrakcji olejów były to: wydajność ekstrakcji (W) oraz odporność oleju na utlenianie - czas indukcji reakcji utleniania (OIT) - publikacja [P4] i maksymalny czas utleniania $\tau_{\max}$ - publikacja [P2]. Dla ekstraktów pozyskanych z wytlóków pozbawionych nasion - publikacje [P2], [P3] jako odpowiedzi wybrano TPC i aktywność przeciwutleniającą wyznaczoną metodą z zastosowaniem ABTS.

Tabela 1. Plan CCD doświadczenia - ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki oraz związków bioaktywnych z wytlóków pozbawionych nasion z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny - publikacje [P2], [P3], [P4].

Próbka	Amplituda ultradźwięków X_1		Czas ekstrakcji X_2	
	Wartość zakodowana	Wartość rzeczywista [%]	Wartość zakodowana	Wartość rzeczywista [min]
1	-1	30	-1	2
2	+1	80	-1	2
3	-1	30	+1	10
4	+1	80	+1	10
5	-1,414	19,75	0	6
6	+1,414	90,25	0	6
7	0	55	-1,414	0,34
8	0	55	+1,414	11,66
9	0	55	0	6
10	0	55	0	6

Tabela 2. Plan CCD doświadczenia - ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami oleju z nasion jeżyny, aronii i maliny - publikacja [P4].

Próbka	Amplituda ultradźwięków X_1		Czas ekstrakcji X_2	
	Wartość zakodowana	Wartość rzeczywista [%]	Wartość zakodowana	Wartość rzeczywista [min]
1	-1	30	-1	5
2	+1	80	-1	5
3	-1	30	+1	15
4	+1	80	+1	15
5	-1,414	19,75	0	10
6	+1,414	90,25	0	10
7	0	55	-1,414	2,93
8	0	55	+1,414	17,07
9	0	55	0	10
10	0	55	0	10

Po przeprowadzeniu ekstrakcji w 3 powtórzeniach dla każdego punktu, dopasowano w publikacjach [P2], [P3], [P4] odpowiednie modele, którym towarzyszyły równania sporządzone według następujących wzorów (równania: 6 - dla modelu kwadratowego, 7 - dla modelu interakcji dwuczynnikowej (2FI) i 8 - dla modelu liniowego):

$$(6) Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$$

$$(7) Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

$$(8) Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$$

gdzie: β_0 - współczynnik stały; β_1 , β_2 - współczynniki regresji liniowej; β_{11} , β_{22} - współczynniki regresji dla wyrazów kwadratowych; β_{12} - współczynnik regresji dla wyrazów korelacji; X_1 - zakodowane wartości zmiennej niezależnej- amplitudy; X_2 - zakodowane wartości zmiennej niezależnej - czas ekstrakcji.

5.2. Optymalizacja wspomaganiej ultradźwiękami ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny

Na podstawie wyników uzyskanych w toku doświadczenia przeanalizowano wpływ zmiennych niezależnych: amplitudy ultradźwięków i czasu ekstrakcji na wydajność ekstrakcji oraz stabilność oksydacyjną olejów. Wyniki analizy ANOVA dopasowania modeli matematycznych do obserwowanych wartości odpowiedzi wydajności zamieszczono w tabeli 3. Dopasowania poszczególnych modeli były istotne statystycznie ($p < 0,05$), przy jednocześnie statystycznie nieistotnym braku dopasowania

modelu ($p > 0,05$): model kwadratowy w przypadku ekstrakcji oleju z nasion czarnej porzeczki, jeżyny i aronii oraz model interakcji dwuczynnikowej w przypadku ekstrakcji olejów z nasion czerwonej porzeczki i maliny. Wydajność ekstrakcji mieściła się w przedziałach: 1,94-4,41% w przypadku oleju z nasion czarnej porzeczki, 4,10-6,80% dla oleju z nasion czerwonej porzeczki, 6,63-9,10% dla oleju z nasion jeżyny, 5,27-6,18% dla oleju z nasion aronii i 5,54-7,70% dla oleju z nasion maliny.

Tabela 3. Wyniki testów statystycznych dopasowania równań powierzchni odpowiedzi (wydajność) do wartości uzyskanych eksperymentalnie ($p = 0,05$) dla olejów wyizolowanych metodą UAE; CV (współczynnik zmienności) - publikacje [P2], [P4].

Źródło oleju	Model	R ²	CV [%]	Wartość p modelu	Wartość p braku dopasowania	Publikacja
Nasiona czarnej porzeczki	Kwadratowy	0,9388	10,33	0,0047	0,1444	[P2]
Nasiona czerwonej porzeczki	Interakcji dwuczynnikowej	0,7442	9,45	0,0329	0,5331	[P2]
Nasiona jeżyny	Kwadratowy	0,9676	3,48	0,0044	0,4097	[P4]
Nasiona aronii	Kwadratowy	0,9030	2,47	0,0373	0,5320	[P4]
Nasiona maliny	Interakcji dwuczynnikowej	0,7258	7,42	0,0402	0,1294	[P4]

Dopasowano także odpowiednie równania matematyczne odzwierciedlające zmiany odpowiedzi wydajności w zależności od zmieniających się czasu ekstrakcji i amplitudy ultradźwięków (równania 9-13):

$$(9) W_{czarna\ porzeczka} = 1,73 - 0,00103 \cdot X_1 + 0,269 \cdot X_2 + 0,00507 \cdot X_1 X_2 - 0,000052 \cdot X_1^2 - 0,0391 \cdot X_2^2 \text{ [P2]}$$

$$(10) W_{czerwona\ porzeczka} = 6,03 - 0,0308 \cdot X_1 - 0,204 \cdot X_2 + 0,0062 \cdot X_1 X_2 \text{ [P2]}$$

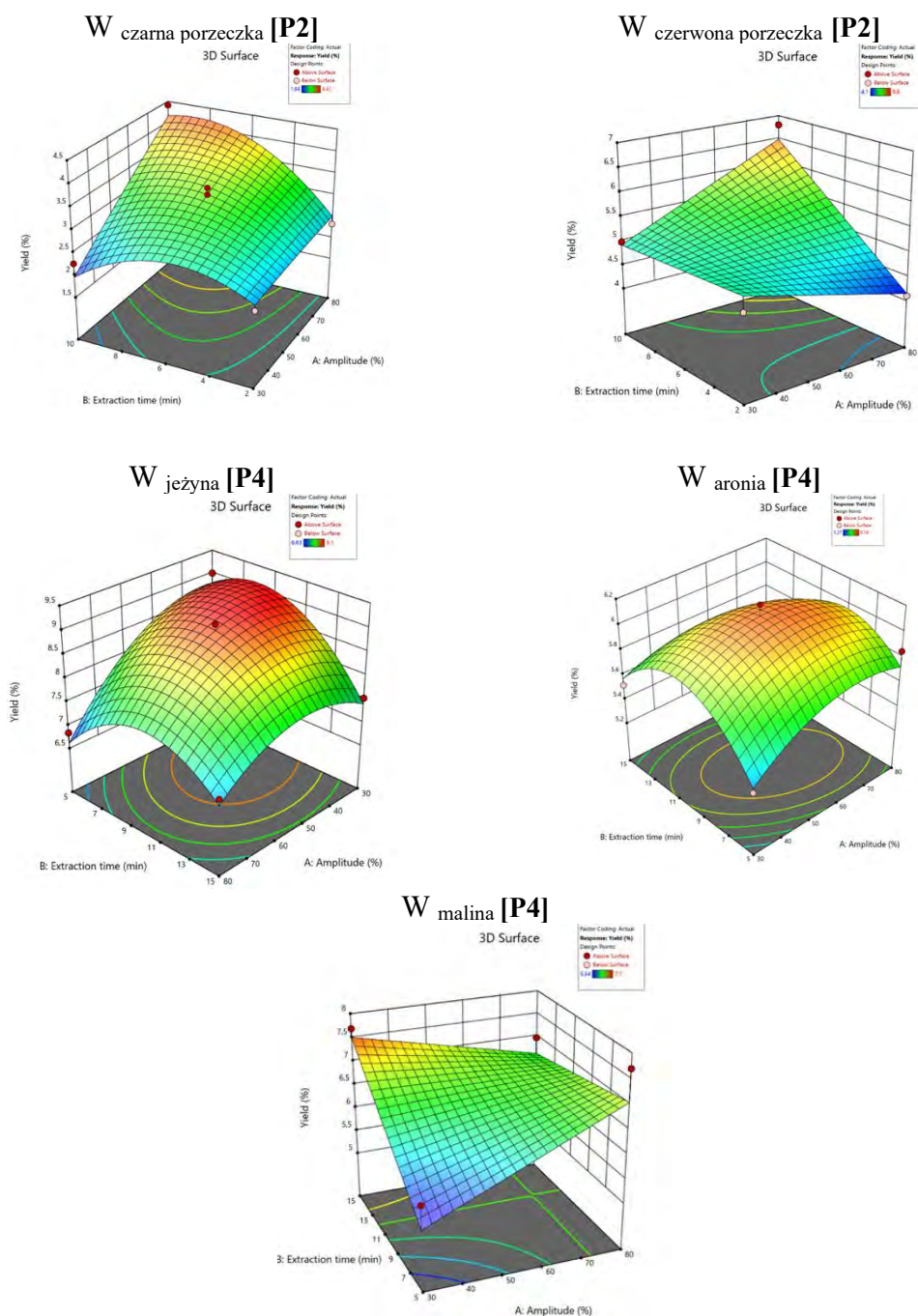
$$(11) W_{jeżyna} = 6,18 + 0,05 \cdot X_1 + 0,48 \cdot X_2 + 0,003 \cdot X_1 X_2 - 0,001 \cdot X_1^2 - 0,04 \cdot X_2^2 \text{ [P4]}$$

$$(12) W_{aronia} = 3,18 + 0,04 \cdot X_1 + 0,34 \cdot X_2 - 0,001 \cdot X_1 X_2 - 0,0003 \cdot X_1^2 - 0,02 \cdot X_2^2 \text{ [P4]}$$

$$(13) W_{malina} = 2,28 + 0,06 \cdot X_1 + 0,38 \cdot X_2 - 0,005 \cdot X_1 X_2 \text{ [P4]}$$

gdzie: W- wydajność [%], X₁ - amplituda, X₂ - czas ekstrakcji.

Graficznym przedstawieniem opisywanych zależności są trójwymiarowe wykresy warstwicowe przedstawione na rysunku 5.



Rys. 5. Trójwymiarowe wykresy warstwicowe obrazujące zależność wydajności (W ekstrakcji) od zastosowanych wartości zmiennych czasu ekstrakcji i amplitudy - publikacje [P2], [P4].

Zjawisko kawitacji akustycznej wpływa na szybkość transportu związków z materiału do rozpuszczalnika, a intensywność procesów zachodzących podczas sonikacji zależna jest od mocy, częstotliwości oraz intensywności ultradźwięków [52]. W związku

z powyższym amplituda ultradźwięków miała istotny wpływ na wydajność ekstrakcji oleju z wszystkich badanych nasion. Jednak wyniki różniły się w zależności od nasion poddanych ekstrakcji. W przypadku nasion czarnej i czerwonej porzeczki górne zastosowane wartości amplitudy skutkowały wyższą wydajnością [P2]. W przypadku nasion z jeżyny, aronii i maliny łagodne warunki ekstrakcji, biorąc pod uwagę amplitudę ultradźwięków, były najkorzystniejsze [P4]. Na podstawie wyglądu wykresów powierzchniowych można stwierdzić, że wydłużenie czasu do około 10 minut w przypadku ekstrakcji oleju z nasion czarnej porzeczki, czerwonej porzeczki, jeżyny i aronii oraz do około 15 minut w przypadku ekstrakcji oleju z nasion maliny prowadziło do uzyskania najwyższych wydajności procesu ekstrakcji oleju. Dłuższy czas ekstrakcji przyczynia się do wydłużenia sonoporacji i deteksturacji matrycy, co sprzyja transferowi masy z komórek do rozpuszczalnika [52]. Należy jednak podkreślić, że zbyt długi czas sonikacji może skutkować występowaniem bardziej lokalnych, gwałtownych zdarzeń w polu ultradźwiękowym, co może prowadzić do parowania rozpuszczalnika i negatywnie wpływać na wydajność, co opisano w badaniach Senrayan i Venkatachalam [75]. Odnosząc się do wcześniejszych doniesień, w przypadku UAE oleju z nasion żurawiny, wydajność ekstrakcji była najwyższa, gdy zastosowano najwyższą amplitudę i najdłuższy czas ekstrakcji ze wszystkich zastosowanych wariantów [76]. Sebayang i wsp. [77] również wykazali, że wydłużony czas UAE oraz wyższa amplituda ultradźwięków w procesie ekstrakcji oleju z nasion *Carica Candamarcensis* skutkowały wyższymi wydajnościami procesu. Moradi i Rahimi [61] stwierdzili, że efektywność UAE oleju słonecznikowego jest istotnie zależna od czasu ekstrakcji, a znaczna większość oleju jest ekstrahowana w ciągu pierwszych 15 minut procesu.

Wartości opisujące stabilność oksydacyjną ($\tau_{\max}$ lub OIT), mieściły się w zakresach $\tau_{\max}$ 30,03-38,61 min. dla oleju z nasion czarnej porzeczki [P2], $\tau_{\max}$ 38,14-45,93 min. dla oleju z nasion czerwonej porzeczki [P2], OIT 65,14-82,46 min. dla oleju z nasion jeżyny [P4], OIT 37,36-49,38 min. dla oleju z nasion aronii [P4] i OIT 43,73-65,79 min. dla oleju z nasion maliny [P4]. Dopasowano model kwadratowy dla olejów z nasion jeżyny i aronii, model interakcji dwuczynnikowej dla olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki oraz model liniowy dla oleju z nasion maliny. Modele, tak jak w przypadku odpowiedzi wydajności, dopasowano na podstawie wyników analizy ANOVA zamieszczonych w tabeli 4, biorąc pod uwagę istotne statystycznie ($p < 0,05$) dopasowania modeli oraz nieistotne statystycznie ($p > 0,05$) wyniki braku dopasowania modeli.

Tabela 4. Wyniki testów statystycznych dopasowania równań powierzchni odpowiedzi (maksymalny czas utleniania $\tau_{\max}$ lub czas indukcji reakcji utleniania OIT) do wartości uzyskanych eksperymentalnie ($p = 0,05$) dla olejów wyizolowanych metodą UAE; CV (współczynnik zmienności) [P2], [P4].

Źródło oleju	Odpowiedź	Model	R ²	CV [%]	Wartość p modelu	Wartość p braku dopasowania	Publikacja
Nasiona czarnej porzeczki	$\tau_{\max}$	Interakcji dwuczynnikowej	0,6553	4,96	0,0478	0,2220	[P2]
Nasiona czerwonej porzeczki	$\tau_{\max}$	Interakcji dwuczynnikowej	0,7703	3,28	0,0241	0,6210	[P2]
Nasiona jeżyny	OIT	Kwadratowy	0,9412	2,99	0,0142	0,3282	[P4]
Nasiona aronii	OIT	Kwadratowy	0,9067	5,02	0,0346	0,1272	[P4]
Nasiona maliny	OIT	Liniiowy	0,5815	8,04	0,0474	0,1355	[P4]

Sporządzono także odpowiednie równania ilustrujące zależności pomiędzy zmiennymi niezależnymi a odpowiedzią $\tau_{\max}$ lub OIT (równania 14-18):

$$(14) \tau_{\max \text{czarna porzeczka}} = 35,1 - 0,0876 \cdot X_1 - 0,447 \cdot X_2 + 0,0161 \cdot X_1 X_2 \text{ [P2]}$$

$$(15) \tau_{\max \text{czerwona porzeczka}} = 46,4 - 0,0849 \cdot X_1 - 1,15 \cdot X_2 + 0,0233 \cdot X_1 X_2 \text{ [P2]}$$

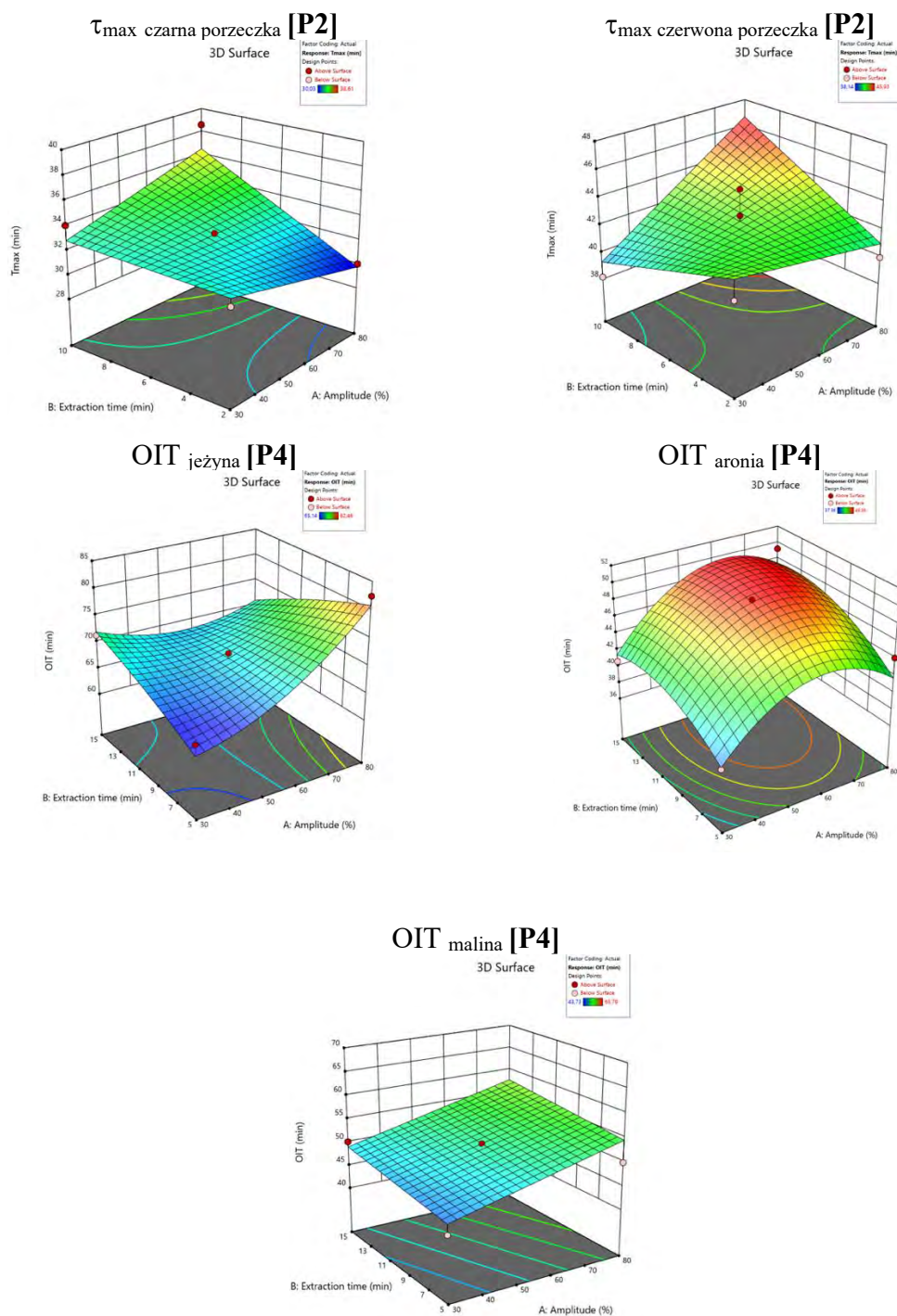
$$(16) OIT_{\text{jeżyna}} = 52,5 + 0,001 \cdot X_1 + 2,47 \cdot X_2 - 0,04 \cdot X_1 X_2 + 0,005 \cdot X_1^2 - 0,02 \cdot X_2^2 \text{ [P4]}$$

$$(17) OIT_{\text{aronia}} = 11,2 + 0,87 \cdot X_1 + 1,82 \cdot X_2 + 0,005 \cdot X_1 X_2 - 0,008 \cdot X_1^2 - 0,08 \cdot X_2^2 \text{ [P4]}$$

$$(18) OIT_{\text{malina}} = 39,1 + 0,17 \cdot X_1 + 0,31 \cdot X_2 \text{ [P4]}$$

gdzie: $\tau_{\max}$ - maksymalny czas utleniania [min], OIT - czas indukcji reakcji utleniania [min], X_1 - amplituda, X_2 - czas ekstrakcji.

Graficznym przedstawieniem występujących zależności pomiędzy warunkami ekstrakcji a maksymalnym czasem utleniania lub czasem indukcji reakcji utleniania są warstwiczne wykresy trójwymiarowe przedstawione na rysunku 6.



Rys. 6. Trójwymiarowe wykresy warstwiczne obrazujące zależność maksymalnego czasu utleniania ($\tau_{\max}$) lub czasu indukcji reakcji utleniania (OIT) od zastosowanych wartości zmiennych czasu ekstrakcji i amplitudy [P2], [P4].

Maksymalny czas utleniania ($\tau_{\max}$) lub czas indukcji reakcji utleniania (OIT) to istotna cecha jakościowa oleju, ponieważ odzwierciedla jego stabilność i odporność na proces utleniania [78]. Zastosowana w niniejszym badaniu metoda PDSC pozwala na ocenę $\tau_{\max}$ lub OIT w trybie przyspieszonym [28]. Wynikiem takiej analizy jest krzywa

PDSC. Czas indukcji reakcji utleniania (OIT) to miejsce na krzywej, w którym można obserwować początek wzrostu krzywej. Maksymalny czas utleniania ($\tau_{\max}$) to punkt w maksimum krzywej. Analizując wpływ zastosowania ultradźwięków w procesie ekstrakcji na stabilność oksydacyjną olejów, należy podkreślić, że poprawa transferu masy w wyniku działania ultradźwięków może obejmować również ekstrakcję związków bioaktywnych w tym samym czasie, w którym ekstrahowany jest olej [79]. Ponadto, podczas UAE może dochodzić do inaktywacji enzymów oksydacyjnych, takich jak peroksydaza i lipaza [80]. Mechanizmy te mogą być odpowiedzialne za wydłużenie $\tau_{\max}$ lub OIT olejów, a tym samym za wydłużenie ich trwałości. Obróbka ultradźwiękami może jednak prowadzić do powstawania wolnych rodników, które mogą indukować reakcje utleniania lipidów [81]. Dlatego parametry procesu UAE muszą być odpowiednio dostosowane, aby zrównoważyć wpływ obu czynników (amplitudy ultradźwięków, czasu sonikacji). Wyniki z publikacji [P2] i [P4] wskazują, iż wpływ amplitudy na $\tau_{\max}$ lub OIT jest spójny dla wszystkich badanych olejów - wraz ze wzrostem amplitudy, wzrastały wartości $\tau_{\max}$ oraz OIT. Dłuższy czas ekstrakcji w przypadku olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki [P2] oraz jeżyny i aronii [P4] również skutkował wyższą odpornością na utlenianie. Podwyższona stabilność oksydacyjna olejów poddanych dłuższej obróbce ultradźwiękami została również stwierdzona przez Malićanin i wsp. [82]. Stabilność oksydacyjna, wyrażona temperaturą początku utleniania, ulegała poprawie, wraz z wydłużaniem czasu działania ultradźwięków, z wyjątkiem próbki, która była traktowana ultradźwiękami przez 135 minut. W badaniach stabilności oksydacyjnej oleju z nasion rzodkiewki wykazano, że olej pozyskany w zoptymalizowanych warunkach UAE charakteryzował się prawie dwa razy dłuższym OIT mierzonym w temperaturze 130°C niż olej ekstrahowany z zastosowaniem aparatu Soxhleta (72,5 min vs. 36,5 min) [83]. W badaniu przeprowadzonym przez Perez-Saucedo i wsp. [84] opisano, że obróbka ultradźwiękami zastosowana w procesie ekstrakcji skutkowała skróceniem czasu indukcji reakcji utleniania oleju z awokado w porównaniu do ekstrakcji metodą z zastosowaniem aparatu Soxhleta. Ponadto, Böger i wsp. [85] wykazali, że zastosowanie ultradźwięków znacznie przyspieszyło tworzenie wolnych rodników podczas przechowywania, co było skorelowane ze zmniejszoną odpornością na utlenianie olejów z pestek winogron uzyskanych w wyniku UAE. Także Kenari i Denghan [86], którzy przeprowadzili optymalizację UAE oleju konopnego, stwierdzili, że dłuższy czas ekstrakcji skutkował gorszą stabilnością oleju, wyrażoną poprzez liczbę nadtlenu.

Jednak warunki w cytowanym badaniu były bardziej skrajne, ponieważ ultradźwięki stosowano przez długi czas - maksymalnie 90 minut. Wyniki z niniejszej pracy, zawarte w publikacjach [P2] i [P4] oraz omawiane wyniki z wcześniejszych doniesień wskazują na to, że zastosowanie ultradźwięków w procesie ekstrakcji może korzystnie wpływać na stabilność oksydacyjną oleju, jednak warunki ekstrakcji muszą być odpowiednio dostosowane.

Na podstawie uzyskanych wyników, dokonano optymalizacji procesu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami dla wszystkich olejów z użyciem oprogramowania statystycznego Design-Expert. Jako cel obrano zmaksymalizowanie odpowiedzi – wydajności i maksymalnego czasu utleniania lub czasu indukcji reakcji utleniania, przy zmiennych niezależnych: amplitudzie w zakresie 20-100% i czasie ekstrakcji – w przypadku olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki w zakresie 2-12 minut [P2], a w przypadku olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny w zakresie 5-15 minut [P4]. Wybrano po jednym wariancie warunków procesu ekstrakcji dla każdego oleju, który na podstawie wyznaczonego modelu wskazano jako najkorzystniejszy (tabela 5). Optymalne warunki UAE z rzeczywiście zastosowanymi warunkami i przewidywanymi odpowiedziami wraz z rzeczywiście zmierzonymi wartościami zostały podsumowane w tabeli 5. Zaproponowane wartości amplitudy i czasu ekstrakcji zostały dostosowane do możliwości procesora ultradźwiękowego i zastosowane w celu weryfikacji przewidywanych wartości odpowiedzi. Należy zauważyć, że rzeczywiste średnie wartości wydajności i wartości $\tau_{\max}$ lub OIT mieściły się w maksymalnym odchyleniu $\pm 5\%$ od wyników przewidywanych. Oznacza to, że przewidywania modeli były dokładne i że zastosowanie RSM umożliwiło prognozowanie wyników przeprowadzonego eksperymentu. Tym samym, zweryfikowano pozytywnie hipotezy **H1** i **H2** w odniesieniu do wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny.

Tabela 5. Optymalne warunki wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji olejów, przewidywane oraz rzeczywiste wartości odpowiedzi wydajności i $\tau_{\max}$ lub OIT w zoptymalizowanych warunkach UAE [P2], [P4].

Olej z nasion	Optymalna amplituda [%]	Rzeczywista amplituda [%]	Optymalny czas ekstrakcji [min]	Przewidywana wydajność [%]	Przewidywany $\tau_{\max}$ lub OIT [min]	Rzeczywista wydajność [%]	Rzeczywisty $\tau_{\max}$ lub OIT [min]	Publikacja
Czarna porzeczka	99,00	95	10,50	4,83	$\tau_{\max}$ 39,61	$4,59 \pm 0,32$	$\tau_{\max} 38,83 \pm 2,22$	[P2]
Czerwona porzeczka	96,00	95	12,00	7,76	$\tau_{\max}$ 51,24	$7,04 \pm 0,36$	$\tau_{\max} 48,65 \pm 1,98$	[P2]
Jeżyna	72,98	70	8,20	8,05	OIT 75,05	$8,10 \pm 0,41$	OIT $71,15 \pm 3,79$	[P4]
Aronia	59,18	60	10,11	6,10	OIT 49,38	$6,02 \pm 0,97$	OIT $48,78 \pm 0,69$	[P4]
Malina	95,57	95	8,43	7,17	OIT 58,29	$6,96 \pm 0,60$	OIT $61,22 \pm 6,65$	[P4]

5.3. Szczegółowa analiza olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

Oleje pozyskane w zoptymalizowanych warunkach ekstrakcji, wraz z olejami pozyskanymi na drodze ekstrakcji klasycznej w układzie ciało stałe-ciecz poddano szczegółowej charakterystyce analizując kinetyczne parametry reakcji utleniania olejów, charakterystyki mięknięcia i krystalizacji, profil kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenie w pozycjach sn-1,3 i sn-2 triacylogliceroli. Wyniki uzyskane dla olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki przedstawiono w publikacji [P2], natomiast dla olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny - w publikacji [P4]. W publikacji [P2] uwzględniono również wyniki analizy mikroskopowej nasion świeżych oraz pozostałych po ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w optymalnych warunkach. Wyniki szczegółowych analiz pozwoliły na potwierdzenie hipotezy H3.

5.3.1. Parametry kinetyczne reakcji utleniania olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

Do wyznaczenia parametrów kinetycznych utleniania olejów posłużono się dwoma metodami, bazującymi na wynikach analiz PDSC. W przypadku olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki zastosowano pomiary czasu indukcji reakcji utleniania w 5 różnych temperaturach, w warunkach izotermicznych, a następnie wyliczono parametry kinetyczne, korzystając z metodologii Ozawa-Flynn-Wall'a i równań Arrheniusa – publikacja [P2]. W przypadku olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny zastosowano metodę PDSC w warunkach stopniowego ogrzewania próbki ze znaną szybkością. Wyznaczono temperatury początku utleniania, następnie wyliczono parametry kinetyczne - publikacja [P4]. Wyniki badań kinetyki reakcji utleniania olejów uzyskanych metodą UAE oraz olejów kontrolnych zostały podsumowane w tabelach 6 i 7. Wartości energii aktywacji reakcji utleniania badanych olejów mieściły się w zakresie od 76,11-99,88 kJ/mol [P2] i [P4]. Energia aktywacji (E_a) utleniania w przypadku olejów roślinnych zależy głównie od poziomu nienasycenia triacylogliceroli. Oleje o wyższym udziale procentowym wielonienasyconych kwasów tłuszczowych charakteryzują się niższą energią aktywacji, a oleje o wyższym udziale procentowym jednonienasyconych kwasów tłuszczowych mają wyższe wartości energii aktywacji [87]. Wyniki dla badanych olejów są zgodne z tym stwierdzeniem, ponieważ w analizie profilu kwasów tłuszczowych (opisanym w rozdziale 5.3.3. niniejszej pracy) wykazano większy udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych niż jednonienasyconych lub nasyconych

kwasów tłuszczowych. W przypadku olejów o wyższych wartościach energii aktywacji czas potrzebny do zapoczątkowania reakcji utlenienia jest dłuższy, a zatem tworzenie pierwotnych produktów utleniania jest opóźnione. Również wartość stałej szybkości reakcji (k) w różnych temperaturach była opisywana jako zależna od składu oleju, zwłaszcza od procentowego udziału MUFA [88]. Wpływ zastosowania ultradźwięków w procesie ekstrakcji na parametry kinetyczne reakcji utleniania nie był jednoznaczny, ponieważ E_a oleju z nasion czarnej porzeczki [P2] uzyskanego metodą UAE była niższa niż w próbie kontrolnej, a w przypadku olejów z nasion czerwonej porzeczki [P2], jeżyny, aronii i maliny [P4] uzyskano odwrotne zależności. W porównaniu do oleju rzepakowego i słonecznikowego, uzyskane wartości energii aktywacji dla olejów z nasion owoców jagodowych były wyższe [89]. Z kolei, podobną wartość energii aktywacji zarejestrowano dla oliwy (97,43-99,94 kJ/mol) [90]. Podsumowując, można stwierdzić, że metoda ekstrakcji nie wpływa na parametry kinetyczne reakcji utleniania oleju, zależą one głównie od źródła oleju.

Tabela 6. Parametry kinetyczne reakcji utleniania olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki; różne litery w indeksie górnym ^{a-b} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ [P2].

Parametr	Olej z nasion			
	Czarna porzeczka - kontrola	Czarna porzeczka - UAE	Czerwona porzeczka - kontrola	Czerwona porzeczka - UAE
E_a [kJ/mol]	$99,88 \pm 3,16^b$	$91,13 \pm 2,92^b$	$76,11 \pm 2,01^a$	$81,53 \pm 1,75^a$
Z [1/min]	$5,69 \times 10^{10}$	$3,24 \times 10^9$	$2,65 \times 10^7$	$1,27 \times 10^8$
k w 110°C [1/min]	$1,37 \times 10^{-3}$	$1,22 \times 10^{-3}$	$1,11 \times 10^{-3}$	$9,74 \times 10^{-4}$
k w 115°C [1/min]	$2,06 \times 10^{-3}$	$1,76 \times 10^{-3}$	$1,52 \times 10^{-3}$	$1,35 \times 10^{-3}$
k w 120°C [1/min]	$3,05 \times 10^{-3}$	$2,53 \times 10^{-3}$	$2,05 \times 10^{-3}$	$1,87 \times 10^{-3}$
k w 125°C [1/min]	$4,48 \times 10^{-3}$	$3,59 \times 10^{-3}$	$2,74 \times 10^{-3}$	$2,55 \times 10^{-3}$
k w 130°C [1/min]	$6,51 \times 10^{-3}$	$5,05 \times 10^{-3}$	$3,65 \times 10^{-3}$	$3,47 \times 10^{-3}$

Tabela 7. Parametry kinetyczne reakcji utleniania olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny; różne litery w indeksie górnym ^{a-c} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ [P4].

Parametr	Olej z nasion					
	Jeżyna - kontrola	Jeżyna - UAE	Aronia - kontrola	Aronia - UAE	Malina - kontrola	Malina - UAE
E_a [kJ/mol]	$86,30 \pm 1,48^b$	$92,01 \pm 0,22^c$	$89,47 \pm 2,05^c$	$89,63 \pm 1,96^c$	$82,98 \pm 3,00^a$	$90,59 \pm 3,36^c$
Z [1/min]	$3,38 \times 10^9$	$1,71 \times 10^{10}$	$1,07 \times 10^{10}$	$1,14 \times 10^{10}$	$1,36 \times 10^9$	$8,58 \times 10^9$
k w 100°C [1/min]	0,0027	0,0022	0,0032	0,0032	0,0033	0,0018
k w 110°C [1/min]	0,0057	0,0048	0,0067	0,0068	0,0066	0,0039
k w 120°C [1/min]	0,011	0,010	0,014	0,014	0,013	0,0078
k w 130°C [1/min]	0,022	0,020	0,027	0,028	0,024	0,016
k w 140°C [1/min]	0,039	0,039	0,041	0,053	0,052	0,030

5.3.2. Charakterystyka procesów mięknięcia i krystalizacji olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

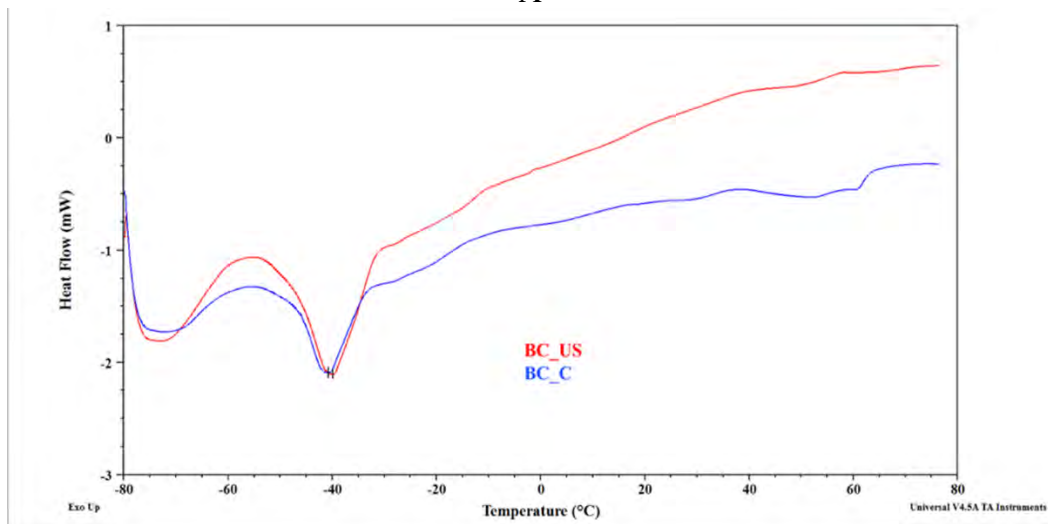
Oleje ze wszystkich badanych nasion uzyskane w zoptymalizowanych warunkach UAE oraz próby kontrolne poddano szczegółowej analizie mięknięcia - publikacje [P2], [P4]. Wynikiem analiz były krzywe DSC z określonymi temperaturami opisującymi zarejestrowane piki (tabela 8). Krzywe DSC mięknięcia badanych olejów przedstawiono na rysunku 7. Można zauważyć, że przebieg krzywych mięknięcia był podobny dla olejów uzyskanych z tego samego surowca. DSC może być zatem wykorzystywane jako metoda potwierdzania autentyczności olejów [29]. W badaniu Gila i wsp. [91] oceniano wpływ obróbki ultradźwiękami na jakość oliwy i także stwierdzono brak wpływu obróbki ultradźwiękami na charakterystyki krystalizacji oraz mięknięcia olejów zarejestrowane w toku analizy DSC. Jednak Rezvankhah i wsp. [92] wykazali, że zastosowanie ultradźwięków w procesie ekstrakcji wpłynęło na zmianę przebiegu krzywej mięknięcia i krystalizacji oleju z nasion konopi. Stwierdzono, że olej uzyskany metodą UAE charakteryzował się niższą temperaturą mięknięcia niż próbka kontrolna uzyskana w procesie ekstrakcji z zastosowaniem aparatu Soxhleta, co mogło być spowodowane różnicami w stosunku PUFA/SFA, w budowie triacylogliceroli lub w strukturze krystalicznej. Biorąc pod uwagę szczegółowe wyniki, w przebiegu krzywych mięknięcia olejów z nasion czerwonej porzeczki [P2], jeżyny i aronii [P4] widoczne były dwa piki. Krzywe mięknięcia olejów z nasion czarnej porzeczki charakteryzowały się jednym pikiem [P2], a oleje z nasion malin - trzema [P4]. Podobny kształt krzywych przedstawili

Rajagukguk i wsp. [93] dla tłoczonego na zimno oleju z nasion malin oraz Micić i wsp. [31] dla oleju z nasion malin ekstrahowanego heksanem. Wszelkie pojawiające się różnice mogą być spowodowane zmianami w profilu kwasów tłuszczowych lub w rozmieszczeniu kwasów tłuszczowych w TAG, ponieważ zdarzenia termiczne rejestrowane podczas analizy DSC próbek olejów są z nimi związane. Niskotopliwe frakcje TAG składają się głównie z PUFA, średniotopliwe frakcje TAG składają się z MUFA i PUFA. Triacyloglicerole składające się głównie z SFA nie są powszechne w olejach roślinnych, dlatego też piki skorelowane z nasyconymi TAG nie zostały zarejestrowane w analizie DSC w niniejszej pracy [94].

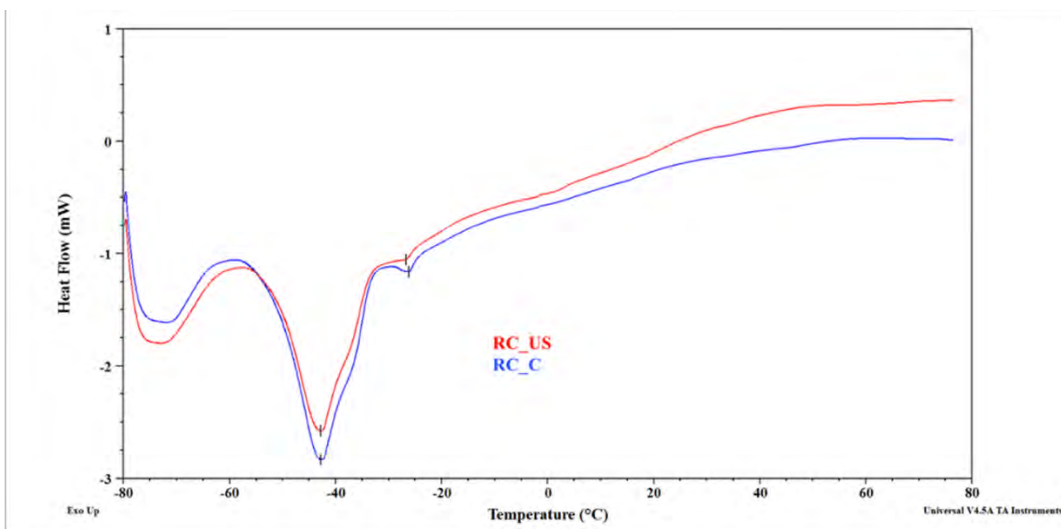
Tabela 8. Charakterystyka mięknięcia badanych olejów; T_{m1} , T_{m2} , T_{m3} – temperatury mięknięcia wyznaczone dla 1 piku, 2 piku, 3 piku; różne litery w indeksie górnym ^{a-c} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ [P2], [P4].

Olej z nasion	Temperatura mięknięcia [°C]			Publikacja
	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}	
Czarna porzeczka - kontrola	$-40,6 \pm 0,3^c$	–	–	[P2]
Czarna porzeczka - UAE	$-39,9 \pm 0,1^c$	–	–	[P2]
Czerwona porzeczka - kontrola	$-42,8 \pm 0,1^c$	$-26,2 \pm 0,1^d$	–	[P2]
Czerwona porzeczka - UAE	$-42,8 \pm 0,1^c$	$-26,7 \pm 0,1^d$	–	[P2]
Jeżyna - kontrola	$-41,7 \pm 0,2^c$	$-21,0 \pm 0,8^e$	–	[P4]
Jeżyna - UAE	$-42,2 \pm 0,1^c$	$-21,6 \pm 0,2^e$	–	[P4]
Aronia - kontrola	$-63,9 \pm 3,7^a$	$-35,2 \pm 1,4^c$	–	[P4]
Aronia - UAE	$-62,1 \pm 0,2^a$	$-35,0 \pm 0,4^c$	–	[P4]
Malina - kontrola	$-47,0 \pm 0,2^b$	$-41,5 \pm 0,2^a$	$-25,8 \pm 0,1^b$	[P4]
Malina - UAE	$-46,5 \pm 0,4^b$	$-39,5 \pm 0,7^b$	$-26,5 \pm 0,2^a$	[P4]

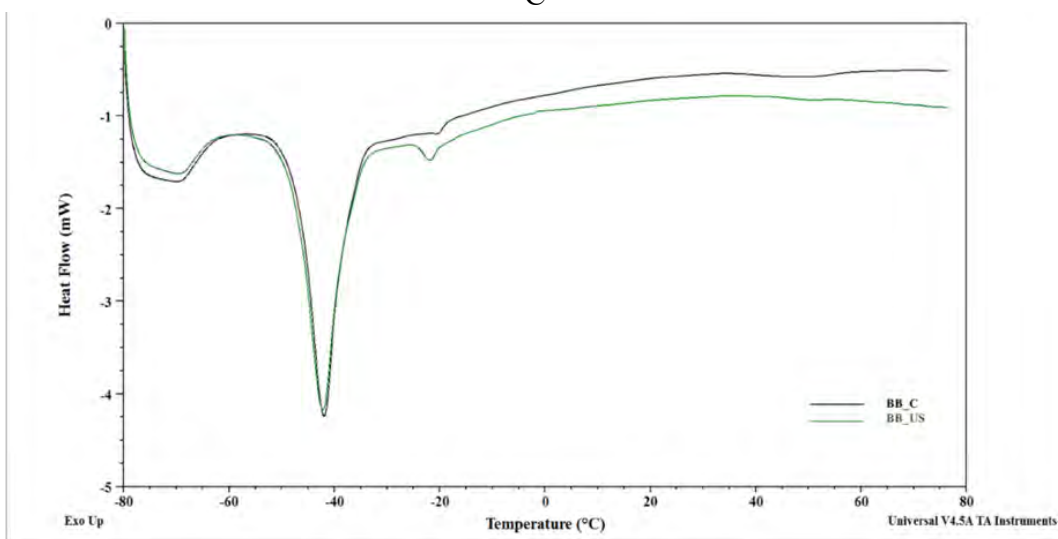
A

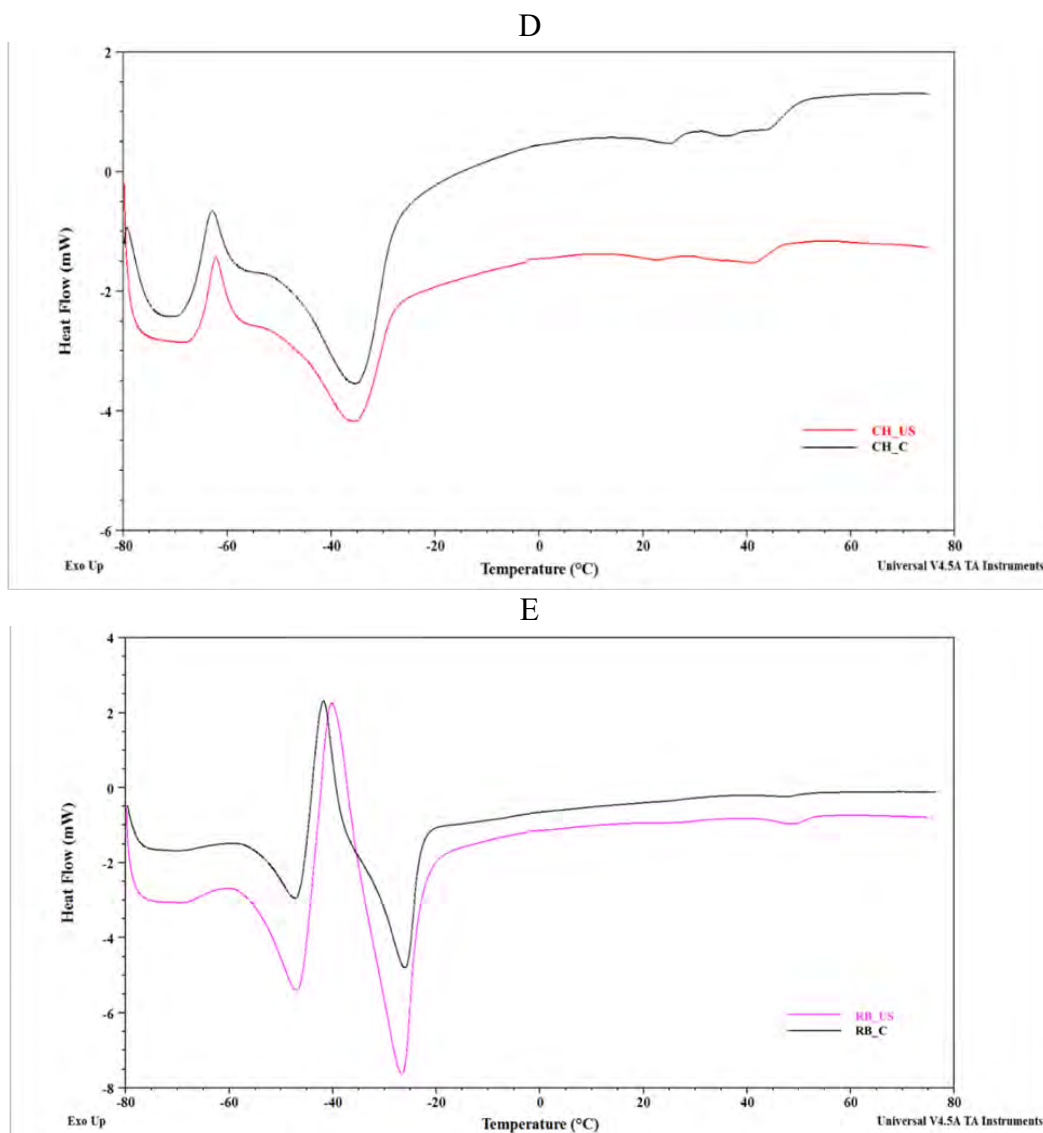


B



C





Rys. 7. Krzywe mięknienia olejów uzyskanych w optymalnych warunkach UAE (oznaczenie US) oraz prób kontrolnych (oznaczenie C). A - oleje z nasion czarnej porzeczki, B - oleje z nasion czerwonej porzeczki [P2], C- oleje z nasion jeżyny [P4], D - oleje z nasion aronii [P4], E - oleje z nasion maliny [P4].

Dodatkowo, dla olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny wyznaczono krzywe krystalizacji - publikacja [P4]. Temperatury zarejestrowanych pików zamieszczono w tabeli 9. Krystalizacja przebiegła jednoetapowo dla wszystkich badanych próbek. Zaobserwowano pewne różnice między próbkami oleju uzyskanego w zoptymalizowanych warunkach UAE a próbkami kontrolnymi. W przypadku olejów uzyskanych w procesie ekstrakcji wspomagannej ultradźwiękami zaobserwowano niższe temperatury krystalizacji niż dla olejów ekstrahowanych metodą konwencjonalną [P4]. Różnice te mogą być przypisane zmianom w stopniu nasycenia TAG, długości

łańcuchów kwasów tłuszczowych i rozmieszczeniu kwasów tłuszczowych w TAG [95]. Ponadto oleje o wyższej zawartości SFA krystalizują w wyższych temperaturach [96].

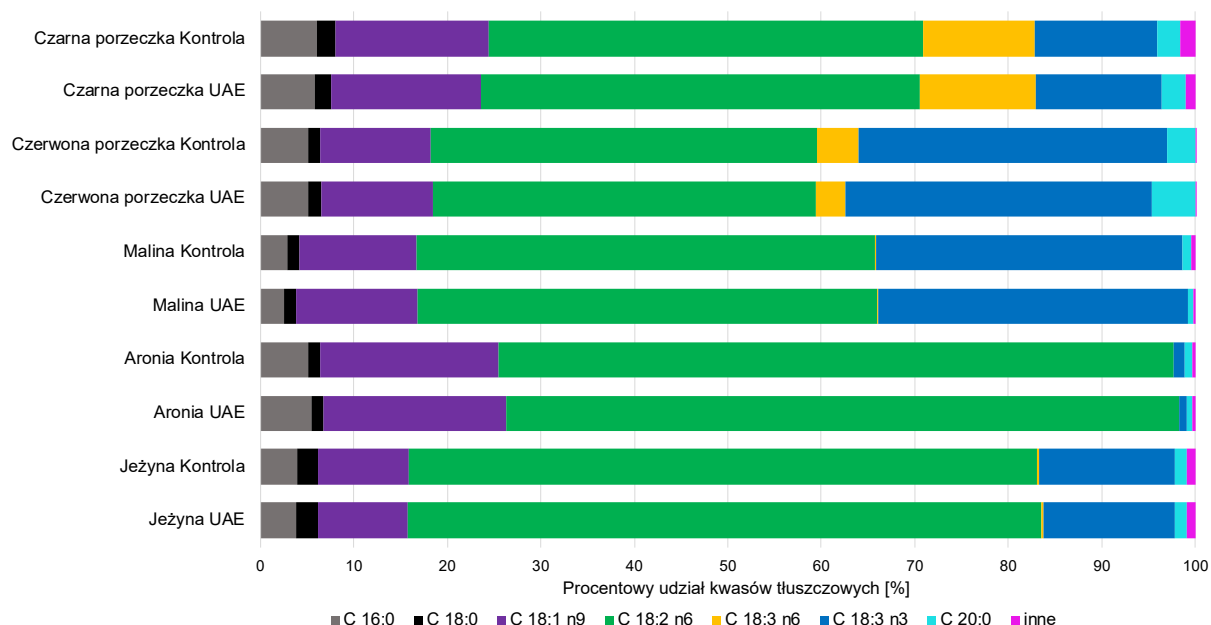
Tabela 9. Charakterystyka krystalizacji olejów z nasion jeżyny, aronii i maliny; T_c - temperatura krystalizacji; różne litery w indeksie górnym ^{a-c} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ [P4].

Olej z nasion	Temperatura krystalizacji [°C]
	T_c
Jeżyna - kontrola	$-70,1 \pm 0,1^c$
Jeżyna - UAE	$-71,3 \pm 0,8^b$
Aronia - kontrola	$-70,8 \pm 0,2^c$
Aronia - UAE	$-73,6 \pm 1,0^b$
Malina - kontrola	$-75,7 \pm 0,1^a$
Malina - UAE	$-77,2 \pm 0,3^a$

5.3.3. Profil kwasów tłuszczowych olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

Procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach oznaczono z wykorzystaniem chromatografii gazowej (publikacje [P2] oraz [P4]). Wyniki analizy przedstawiono na rysunku 8. W przypadku wszystkich badanych olejów, dominującymi kwasami były PUFA - od około 72% w oleju z nasion czarnej porzeczki [P2] do około 82% w oleju z nasion jeżyny oraz maliny [P4]. MUFA oznaczono na poziomie od około 10% w oleju z nasion jeżyny [P4] do około 20% w oleju z nasion aronii [P4]. Najwyższy procentowy udział SFA zanotowano w oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki – około 10% [P2]. Głównym zidentyfikowanym kwasem tłuszczowym we wszystkich badanych olejach był kwas linolowy (C 18:2 n-6) [P2] i [P4]. Na podstawie uzyskanych wyników, można stwierdzić, iż metoda ekstrakcji nie miała znaczącego ($p < 0,05$) wpływu na profil kwasów tłuszczowych, a ewentualne rozbieżności w procentowym udziale poszczególnych kwasów były niewielkie. Jest to zgodne z wcześniejszymi wynikami badań [97,98], na podstawie których można stwierdzić, że zawartość kwasów tłuszczowych może się różnić w zależności od zastosowanej metody ekstrakcji, jednak proporcje kwasów tłuszczowych pozostają niezmiennie lub zmieniają się nieznacznie, gdyż są cechą charakterystyczną oleju. Profil kwasów tłuszczowych jest, obok profilu mięknięcia i krystalizacji, cechą oleju zależną od tego, z jakiego surowca pochodzi i może służyć do oceny autentyczności olejów. W związku z powyższym, profile kwasów

tłuszczowych uzyskane w przypadku badanych olejów odpowiadają tym, które zostały opisane w literaturze [8, 99–101].



Rys. 8. Procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach z czarnej i czerwonej porzeczki [P2] oraz w olejach z nasion jeżyny, aronii i maliny [P4]; C16:0- kwas palmitynowy, C18:0- kwas stearynowy, C18:1 n-9 - kwas oleinowy, C18:2 n-6 - kwas linolowy, C18:3 n-6 – kwas γ -linolenowy, C18:3 n-3- kwas α -linolenowy, C20:0- kwas arachidonowy.

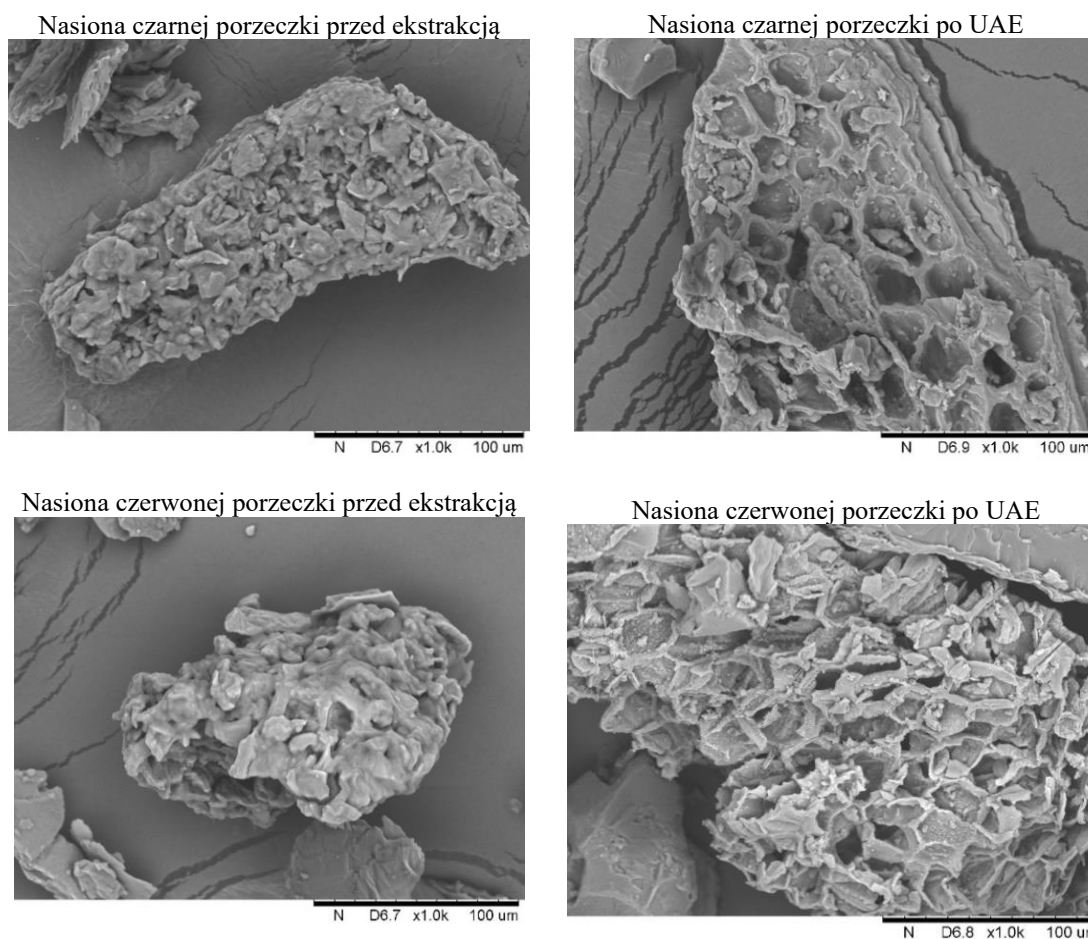
5.3.4. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli w olejach z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

Zbadano również rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli – publikacje [P2], [P4]. Niewielkie zaobserwowane zmiany dotyczące rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w TAG pomiędzy olejami uzyskanymi różnymi metodami ekstrakcji mogą być przypisane gwałtownym zjawiskom zachodzącym w polu ultradźwiękowym. Różnice w procentowym udziale kwasów tłuszczowych w pozycji sn-2 TAG nie zmieniają ogólnej tendencji rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w TAG i ich profil pozostaje charakterystyczny dla olejów roślinnych o wysokim stopniu nienasycenia [102]. W pozycji sn-2 TAG olejów z czarnej i czerwonej porzeczki dominował kwas oleinowy (ponad 40%) [P2]. W oleju z nasion jeżyny, aronii i maliny w pozycji sn-2 TAG znajdowały się głównie kwasy oleinowy i linolowy (ponad 33%) [P4]. Olej z nasion aronii charakteryzował się jednak innym udziałem kwasów tłuszczowych w pozycji sn-2 TAG niż większość olejów roślinnych, z uwagi na wysoki, ponad 40%, udział kwasu palmitynowego (C16:0) w pozycji środkowej- [P4]. Pozycja zajmowana przez kwas tłuszczowy w cząsteczkach TAG może wpływać na stabilność

oksydacyjną olejów, a według Endo i wsp. [103], nienasycone kwasy tłuszczowe zlokalizowane w pozycji sn-2 przyczyniają się do poprawy stabilności oksydacyjnej oleju, co jest zgodne z uzyskanymi wynikami, ponieważ olej z nasion aronii charakteryzował się krótszym OIT niż oleje z nasion jeżyny i maliny [P4].

5.3.5. Analiza mikroskopowa nasion poddanych ekstrakcji

W przypadku nasion czarnej i czerwonej porzeczki przeprowadzona została mikroskopowa analiza porównawcza zmielonych nasion suszonych, niepoddanych dalszym obróbkom oraz nasion pozostałych po ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w optymalnych warunkach (publikacja [P2]). Na rysunku 9 zostały przedstawione zdjęcia wykonane z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego, przy 1000-krotnym powiększeniu. Na podstawie wyglądu zdjęć można stwierdzić, że zastosowanie ultradźwięków w procesie ekstrakcji spowodowało skuteczne rozbijanie aglomeratów tłuszczu w ekstrahowanym materiale, co mogło przyczynić się do poprawy wydajności ekstrakcji. Zaobserwować można także zniszczenie struktur komórek, co mogło doprowadzić do jednoczesnego zwiększenia ekstraktywności innych składników. Zintensyfikowane uwalnianie, np. polifenoli roślinnych podczas ekstrakcji oleju może odpowiadać za poprawę odporności oleju na utlenianie, a tym samym za wydłużenie jego trwałości. Zjawisko intensywniejszej penetracji materiału zaobserwowano w badaniu Matei i wsp. [99] w przypadku nasion jeżyny po wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji oleju. Dash i wsp. [104] również zaobserwowali powstawanie podobnych, jak w przypadku badanych w niniejszej pracy nasion z czarnej i czerwonej porzeczki, przestrzeni i porów w proszku z nasion *Terminalia chebula* po UAE. Zjawisko swoistego rozluźnienia struktury odpowiada za zwiększony transfer masy i zdolność do dyfuzji rozpuszczalnika do wnętrza materiału roślinnego.



Rys. 9 Zdjęcia SEM nasion czarnej i czerwonej porzeczki przed procesem ekstrakcji i po ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami (powiększenie $\times 1000$) [P2].

5.4. Optymalizacja wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków owocowych pozbawionych nasion

Przebadano wpływ dwóch niezależnych zmiennych: amplitudy ultradźwięków i czasu ekstrakcji na zawartość polifenoli ogółem (TPC) oraz aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z wyłoków owocowych pozbawionych nasion, a uzyskane wyniki przedstawiono w publikacjach [P2] i [P3]. W celu zbadania wpływu parametrów zmiennych na TPC w ekstraktach przeanalizowano dopasowanie modelu za pomocą testu ANOVA. Dla wszystkich ekstraktów (publikacje [P2] i [P3]), poza ekstraktem z wyłoku z maliny [P3], dopasowano w sposób istotny statystycznie ($p < 0,05$) model kwadratowy. W przypadku ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoku z maliny, wybrano statystycznie istotny ($p < 0,05$) model interakcji dwuczynnikowej (2FI). Wyniki podsumowano w tabeli 10. TPC w ekstraktach z czarnej porzeczki wynosiła od 10,98 do 15,31 mg GAE/g s.m. [P2], w ekstraktach z czerwonej porzeczki - od 3,30 do 4,36 mg GAE/g s.m. [P2], z jeżyny - 14,45-17,12 mg GAE/g s.m.

[P3], z aronii - 11,15-20,36 mg GAE/g s.m. [P3], a w ekstraktach z wyłoków maliny - 10,38-16,06 mg GAE/g s.m. [P3].

Tabela 10. Wyniki testów statystycznych dopasowania równań powierzchni odpowiedzi (TPC) do wartości uzyskanych eksperymentalnie ($p = 0,05$) dla ekstraktów z wyłoków uzyskanych metodą UAE; CV- współczynnik zmienności [P2], [P3].

Ekstrakt z wyłoku	Model	R ²	CV [%]	Wartość p modelu	Wartość p braku dopasowania	Publikacja
Czarna porzeczka	Kwadratowy	0,9516	3,52	0,0027	0,0506	[P2]
Czerwona porzeczka	Kwadratowy	0,8919	5,39	0,0457	0,1345	[P2]
Jeżyna	Kwadratowy	0,8914	2,62	0,0461	0,1650	[P3]
Aronia	Kwadratowy	0,9815	3,76	0,0015	0,5659	[P3]
Malina	Interakcji dwuczynnikowej	0,7061	9,10	0,0490	0,0680	[P3]

Na podstawie wyników analiz, otrzymano eksperymentalne poniższe równania wielomianowe opisujące zależność TPC w ekstraktach z wyłoków od parametrów ekstrakcji (równania 19-23):

$$(19) TPC_{czarna\ porzeczka} = 11,42 + 0,18 \cdot X_1 - 0,76 \cdot X_2 + 0,006 \cdot X_1 X_2 - 0,002 \cdot X_1^2 + 0,013 \cdot X_2^2 \text{ [P2]}$$

$$(20) TPC_{czerwona\ porzeczka} = 5,00 - 0,063 \cdot X_1 - 0,08 \cdot X_2 + 0,001 \cdot X_1 X_2 + 0,0006 \cdot X_1^2 + 0,006 \cdot X_2^2 \text{ [P2]}$$

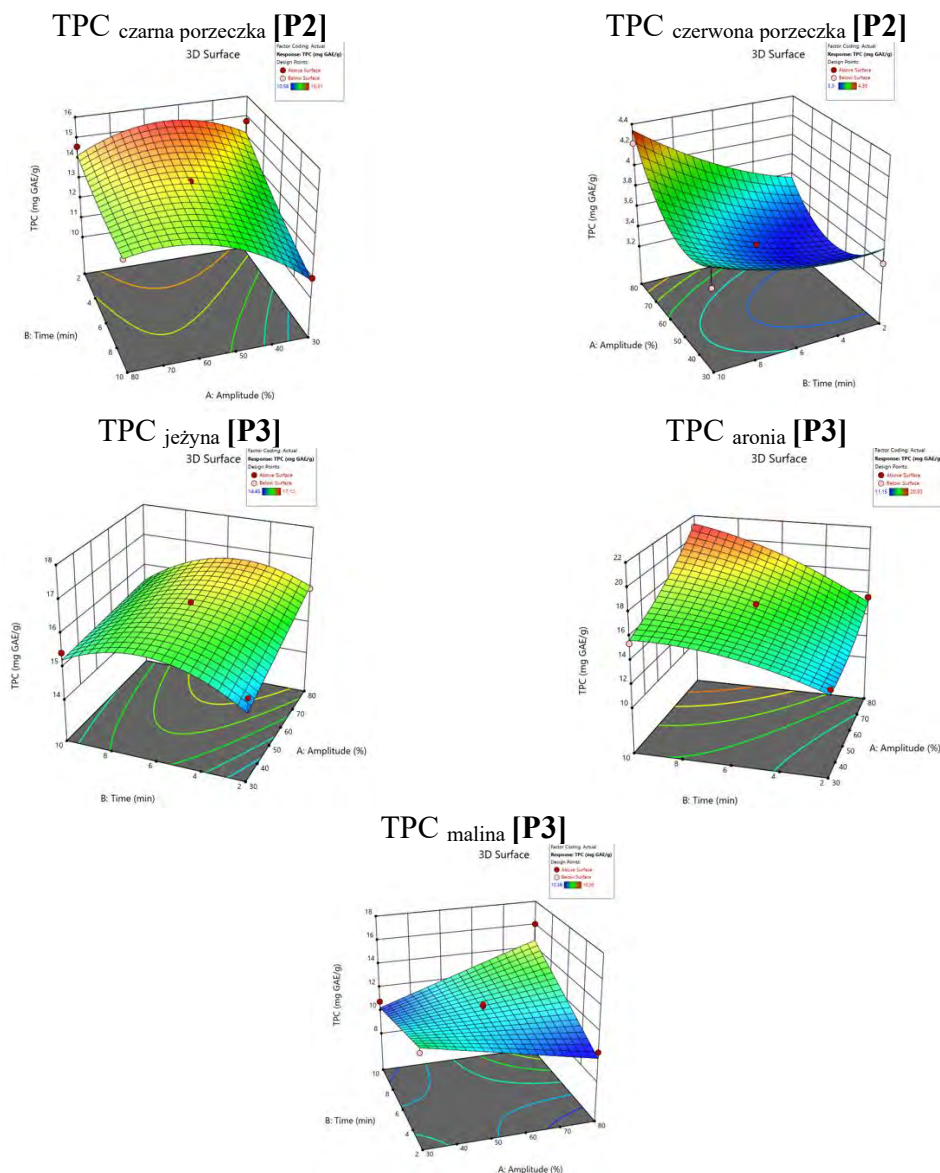
$$(21) TPC_{jeżyna} = 12,61 + 0,03 \cdot X_1 + 0,75 \cdot X_2 - 0,003 \cdot X_1 X_2 + 0,000001 \cdot X_1^2 - 0,05 \cdot X_2^2 \text{ [P3]}$$

$$(22) TPC_{aronia} = 12,70 - 0,08 \cdot X_1 + 0,7 \cdot X_2 + 0,008 \cdot X_1 X_2 + 0,001 \cdot X_1^2 - 0,05 \cdot X_2^2 \text{ [P3]}$$

$$(23) TPC_{malina} = 16,02 - 0,09 \cdot X_1 - 0,84 \cdot X_2 + 0,02 \cdot X_1 X_2 \text{ [P3]}$$

gdzie: TPC - zawartość polifenoli ogółem [mg GAE/g s.m.], X_1 - amplituda [%], X_2 - czas ekstrakcji [min].

Na podstawie wyników i równań sporządzono także wykresy warstwiczne, które zgodnie z modelem prezentują zależności powierzchni odpowiedzi od zastosowanych warunków ekstrakcji (rysunek 10).



Rys. 10. Trójwymiarowe wykresy warstwiczne obrazujące zależność zawartości polifenoli ogółem w ekstraktach z wyłoków od zastosowanych wartości zmiennych czasu ekstrakcji i amplitudy ultradźwięków - publikacje [P2], [P3].

Wyższa amplituda ultradźwięków przyczynia się do intensywniejszego uwolnienia substancji bioaktywnych z wnętrza materiału do rozpuszczalnika, dlatego TPC była tym wyższa, im wyższą amplitudę stosowano (publikacje [P2] i [P3]). Skutki kawitacji akustycznej obejmują m.in. gwałtowne zjawiska, takie jak rozpadanie się pęcherzyków

kawitacyjnych, co skutkuje lokalnym wzrostem temperatury i ciśnienia. Te pożądane efekty przyspieszają transfer masy, ale mogą również odpowiadać za degradację termolabilnych związków, takich jak polifenole [51]. Dodatkowo, udowodniono, że długi czas ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w warunkach wysokiej amplitudy powoduje degradację antocyjanów [105]. Dlatego dłuższy czas UAE może skutkować obniżeniem TPC. Uzyskane wyniki są podobne do wcześniej opisywanych rezultatów. Liao i wsp. [106] badali wpływ czasu UAE na TPC w ekstrakcie ze skórek bakłażana. Stwierdzono zwiększanie TPC stopniowo wraz z wydłużaniem czasu działania ultradźwięków, ale po osiągnięciu krytycznej wartości, wyznaczonej przez autorów na 35 minut - TPC w ekstraktach uległa obniżeniu. W niektórych pracach odnotowano pozytywny efekt wydłużonego czasu UAE na TPC. Ekstrakty z borówki i maliny uzyskane w procesie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami w czasie 45 minut charakteryzowały się wyższymi wynikami TPC niż ekstrakty uzyskane w czasie 15 minut, przy zachowaniu tej samej mocy ultradźwięków [107].

W odniesieniu do zdolności antyoksydacyjnej (ABTS) wyniki mieściły się w zakresach od 56,44 do 120,02 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$ dla ekstraktu z wyciągu z czarnej porzeczki [P2], od 21,86 do 32,42 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$ w przypadku ekstraktu z wyciągu z czerwonej porzeczki [P2], dla ekstraktu z wyciągu z jeżyny - 26,21-109,21 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$ [P3], z aronii - 136,97-242,13 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$ [P3] i 39,23-62,25 $\mu\text{mol TE/g s.m.}$ dla ekstraktu z wyciągu z maliny [P3]. Na podstawie wyników ANOVA (tabela 11), model kwadratowy był istotny ($p < 0,05$) w odniesieniu do ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami związków bioaktywnych z wyciągów z czarnej porzeczki [P2], jeżyny i aronii [P3]; model 2FI określono jako istotny ($p < 0,05$) w przypadku ekstrakcji (UAE) związków bioaktywnych z wyciągów z maliny [P3]; a model liniowy był istotny ($p < 0,05$) w przypadku UAE związków bioaktywnych z wyciągów z czerwonej porzeczki [P2].

Tabela 11. Wyniki testów statystycznych dopasowania równań powierzchni odpowiedzi (ABTS) do wartości uzyskanych eksperymentalnie ($p = 0,05$) dla ekstraktów z wyłoków uzyskanych metodą UAE; CV- współczynnik zmienności [P2], [P3].

Ekstrakt z wyłoku	Model	R ²	CV [%]	Wartość p modelu	Wartość p braku dopasowania	Publikacja
Czarna porzeczka	Kwadratowy	0,8431	12,88	0,0444	0,0866	[P2]
Czerwona porzeczka	Liniowy	0,6102	8,20	0,0370	0,0941	[P2]
Jeżyna	Kwadratowy	0,8991	22,68	0,0402	0,3987	[P3]
Aronia	Kwadratowy	0,9747	4,65	0,0027	0,2730	[P3]
Malina	Interakcji dwuczynnikowej	0,7354	8,73	0,0362	0,0684	[P3]

Wyznaczono również eksperymentalne równania umożliwiające przewidywanie zdolności antyoksydacyjnej (ABTS) ekstraktów z wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny (równania 24-28):

$$(24) ABTS_{czarna\ porzeczka} = 25,85 - 3,30 \cdot X_1 - 0,25 \cdot X_2 + 0,07 \cdot X_1 X_2 - 0,031 \cdot X_1^2 - 0,55 \cdot X_2^2 \quad [P2]$$

$$(25) ABTS_{czerwona\ porzeczka} = 21,23 + 0,05 \cdot X_1 + 0,59 \cdot X_2 \quad [P2]$$

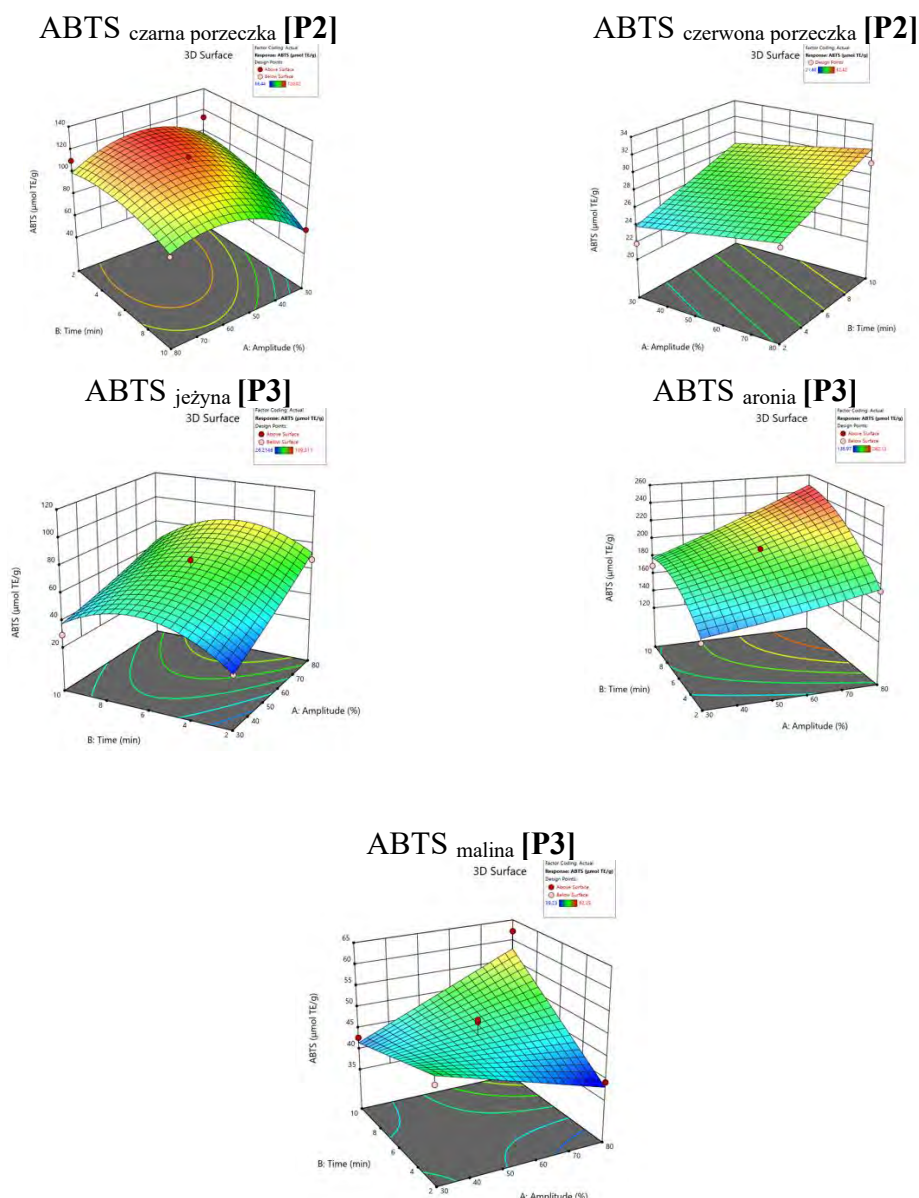
$$(26) ABTS_{jeżyna} = -27,65 + 0,77 \cdot X_1 + 18,66 \cdot X_2 - 0,05 \cdot X_1 X_2 + 0,002 \cdot X_1^2 - 1,32 \cdot X_2^2 \quad [P3]$$

$$(27) ABTS_{aronia} = 116,3 + 0,07 \cdot X_1 + 11,83 \cdot X_2 + 0,1 \cdot X_1 X_2 + 0,003 \cdot X_1^2 - 0,92 \cdot X_2^2 \quad [P3]$$

$$(28) ABTS_{malina} = 62,07 - 0,36 \cdot X_1 - 3,04 \cdot X_2 + 0,07 \cdot X_1 X_2 \quad [P3]$$

gdzie: ABTS- aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{mol TE/g s.m.}$], X_1 - amplituda [%], X_2 - czas ekstrakcji [min].

Opisywane zależności przedstawiono również w formie wykresów trójwymiarowych (rysunek 11).



Rys. 11. Trójwymiarowe wykresy warstwicowe obrazujące zależność aktywności przeciwutleniającej (ABTS) ekstraktów z wyłóków od zastosowanych wartości zmiennych czasu ekstrakcji i amplitudy ultradźwięków – publikacje [P2], [P3].

W przypadku analizy obejmującej aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z pozbawionych nasion wyłóków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny stwierdzono podobne zależności uzyskanych wyników od amplitudy ultradźwięków i czasu ekstrakcji, jak w przypadku oznaczenia TPC. Zastosowanie wyższych wartości amplitudy ultradźwięków było związane z uzyskaniem wyższej aktywności przeciwutleniającej (publikacje [P2] i [P3]). W przypadku ekstraktów z wyłóków z czerwonej porzeczki [P2], aronii i maliny [P3] dłuższy czas ekstrakcji również skutkował wyższą aktywnością antyoksydacyjną. Jest to zgodne z badaniem Mazza

i wsp. [108], w którym stwierdzono, że zdolność antyoksydacyjna (ABTS) ekstraktu ze skórek winogron wzrastała wraz ze wzrostem mocy ultradźwięków. Podobnie, Anticoni i wsp. [109] zaobserwowali wyższą aktywność przeciwutleniającą ekstraktu ze skórek mandarynek, mierzoną w testach DPPH i ABTS, w przypadku zastosowania dłuższego czasu ekstrakcji (30 min). Jednakże, w przeciwieństwie do pozostałych ekstraktów, ekstrakty z wyłoków czarnej porzeczki [P2] i jeżyny [P3] uzyskane w krótszym czasie charakteryzowały się wyższymi wartościami zdolności antyoksydacyjnej, zmierzonej w teście ABTS. Podobne wyniki, w których nadmiernie długi czas UAE skutkował niższą aktywnością przeciwutleniającą, opisano w przypadku ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków jabłkowych z użyciem etanolu [110]. Wyniki aktywności przeciwutleniającej są bezpośrednio skorelowane z wynikami TPC [111] i są skutkiem tych samych zjawisk, występujących podczas UAE, które zostały już wyjaśnione w dyskusji dotyczącej wpływu parametrów ekstrakcji (czasu ekstrakcji i amplitudy ultradźwięków) na całkowitą zawartość polifenoli w badanych ekstraktach z wyłoków czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny.

Na podstawie dopasowanych modeli matematycznych i ich równań zostały określone optymalne parametry przy użyciu oprogramowania statystycznego (publikacje [P2] i [P3]). Zakres amplitudy ultradźwięków branej pod uwagę do optymalizacji wynosił od 20 do 100%, a czas ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami od 2 do 12 minut. Natomiast dla odpowiedzi zawartości polifenoli ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej ustalono, aby były na najwyższym możliwym poziomie. W rezultacie wybrano jedno, najlepiej dopasowane rozwiązanie dla każdego ekstraktu z wyłoków czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny. W tabeli 12 przedstawiono optymalne warunki wyznaczone w programie statystycznym Design-Expert, rzeczywiście zastosowane parametry, przewidywane wyniki odpowiedzi TPC i aktywności przeciwutleniającej (ABTS) oraz rzeczywiste uzyskane rezultaty. Porównując uzyskane eksperymentalnie wyniki dotyczące TPC i aktywności przeciwutleniającej (ABTS) można zauważyć, że przewidywania modelu były adekwatne do uzyskanych wyników, a wszystkie wartości mieściły się w 95% przedziale ufności. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż hipotezy **H1** i **H2** zostały potwierdzone w odniesieniu do ekstraktów pozyskanych z badanych wyłoków owoców jagodowych.

Tabela 12. Optymalne warunki wspomaganej ultradźwiękami ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków, przewidywane oraz rzeczywiste wartości odpowiedzi TPC i aktywności przeciwutleniającej (ABTS) w zoptymalizowanych warunkach UAE [P2], [P3].

Ekstrakt z wyłoku	Optymalna amplituda [%]	Rzeczywista amplituda [%]	Optymalny czas ekstrakcji [min]	Przewidywana TPC [mg GAE/g s.m.]	Przewidywana aktywność przeciwutleniająca ABTS [$\mu\text{mol TE/g s.m.}$]	Rzeczywista TPC [mg GAE/g s.m.]	Rzeczywista aktywność przeciwutleniająca ABTS [$\mu\text{mol TE/g s.m.}$]	Publikacja
Czarna porzeczka	51,49	50	2,36	15,13	118,40	$16,00 \pm 0,21$	$117,63 \pm 3,45$	[P2]
Czerwona porzeczka	91,66	90	11,53	5,13	32,62	$5,56 \pm 0,05$	$29,55 \pm 1,09$	[P2]
Jeżyna	97,62	95	5,00	17,04	106,14	$17,60 \pm 0,03$	$101,11 \pm 1,01$	[P3]
Aronia	78,28	80	10,32	21,06	246,00	$20,22 \pm 0,14$	$252,26 \pm 2,11$	[P3]
Malina	89,60	90	11,75	16,83	66,62	$16,21 \pm 0,23$	$64,00 \pm 1,55$	[P3]

5.5. Szczegółowa analiza ekstraktów z wyłoków z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

W surowcach, stanowiących materiał badany w niniejszej pracy, dominującymi polifenolami są antocyjany, dlatego ekstrakty wodne pozyskane z wyłoków pozbawionych nasion uzyskane w optymalnych warunkach UAE zostały przeanalizowane pod kątem zawartości antocyjanów za pomocą analizy HPLC.

5.5.1. Zawartość antocyjanów w wyłokach z czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny

Wyniki dotyczące zawartości antocyjanów w ekstraktach z wyłoków zostały przedstawione w publikacjach [P2] i [P3] oraz podsumowane w tabeli 13. Ekstrakt z wyłoku z aronii wyróżniał się najwyższą zawartością antocyjanów, szczególnie cyjanidyno-3-galaktozydu [P3]. Ekstrakty z wyłoków z czarnej porzeczki [P2], jeżyny i maliny [P3] charakteryzowały się ponad dwukrotnie niższą całkowitą zawartością antocyjanów (TAC) niż ekstrakty uzyskane z wyłoków z aronii [P3]. W ekstrakcie z wyłoku z czerwonej porzeczki [P2] oznaczono ponad 40 - krotnie niższą zawartość antocyjanów niż w ekstrakcie z wyłoku z aronii [P3]. W odniesieniu do antocyjanów zidentyfikowanych w ekstrakcie z wyłoków czarnej porzeczki, dominował delfinidyno-3-rutynozyd [P2]. W przypadku ekstraktu z wyłoków czerwonej porzeczki zidentyfikowano ponad 73% udział cyjanidyno-3-(2-ksylozylo)rutynozydu [P2]. W ekstrakcie z wyłoków jeżyny, cyjanidyno-3-glukozyd stanowił ponad 91% wszystkich oznaczonych antocyjanów [P3], a w ekstrakcie z wyłoków maliny w największej ilości występował cyjanidyno-3-soforozyd [P3]. Profile antocyjanów w wyłokach owoców zależą od gatunku owocu, jego odmiany, metody uprawy i warunków obróbki oraz przechowywania.

Tabela 13. Zawartość antocyjanów w wodnych ekstraktach z wyłoków owocowych, uzyskanych w zoptymalizowanych warunkach UAE; różne litery w indeksie górnym ^{a-c} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ [P2], [P3].

Nazwa antocyjanu	Zawartość [mg/1000 g ś.m.] w ekstrakcie z wyłoku (UAE)				
	Czarna porzeczka	Czerwona porzeczka	Jeżyna	Aronia	Malina
Delfinidyno-3-glukozyd	246 ± 14	-	-	-	-
Delfinidyno-3-rutynozyd	875 ± 1	-	-	-	-
Cyjanidyno-3-soforozyd	-	2 ± 0	-	-	418 ± 5
Cyjanidyno-3-(2-glukozylo)rutynozyd	-	16 ± 0	-	-	202 ± 4
Cyjanidyno-3-glukozyd	116 ± 3	2 ± 0	1079 ± 17	183 ± 1	316 ± 7
Cyjanidyno-3-(2-ksylozylo)rutynozyd	-	82 ± 0	-	-	-
Cyjanidyno-3-rutynozyd	652 ± 1	10 ± 0	-	-	190 ± 8
Cyjanidyno-3-galaktozyd	-	-	-	3054 ± 70	-
Cyjanidyno-3-arabinozyd	-	-	14 ± 1	1153 ± 19	-
Cyjanidyno-3-ksylozyd	-	-	81 ± 2	159 ± 4	-
Pelargonidyno-3-soforozyd	-	-	-	-	28 ± 1
TAC	1889 ± 17^{ab}	112 ± 0^a	1174 ± 19^{ab}	4580 ± 84^c	1153 ± 25^{ab}
Publikacja	[P2]	[P2]	[P3]	[P3]	[P3]

W badaniu Ponder i wsp. [112] uzyskano porównywalne do oznaczonych w niniejszej pracy stężenia antocyjanów w ekstraktach metanolowych otrzymanych konwencjonalną metodą ekstrakcji ze świeżych owoców czarnej i czerwonej porzeczki. To dowodzi wysokiej efektywności procesu UAE, podczas którego możliwe było wyekstrahowanie prawie takiej samej ilości antocyjanów z wyłoków, jaka została wyekstrahowana z surowych owoców w procesie ekstrakcji konwencjonalnej. W badaniu Jara-Palacios i wsp. [47] głównym antocyjanem w ekstrakcie z wyłoków jeżyny był cyjanidyno-3-glukozyd, stanowiący 86% oznaczonych antocyjanów. Jednak w przeciwieństwie do uzyskanych wyników, innym zidentyfikowanym antocyjanem był cyjanidyno-3-rutynozyd, który nie został zidentyfikowany w wyłoku z jeżyny w niniejszej pracy [P3]. W odniesieniu do ekstraktu z wyłoków aronii [P3], potwierdzono, że cyjanidyno-3-galaktozyd to główny związek z grupy antocyjanów, podobnie jak w badaniach Rodríguez-Werner i wsp. [45] oraz Sójki i wsp. [113]. Podobny profil antocyjanów w wyłokach z maliny (odmiana Polana) uzyskano w badaniu

Szymanowskiej i wsp. [114]. W niniejszej pracy zidentyfikowano pięć antocyjanów w ekstrakcie z wycieków z maliny: cyjanidyno-3-soforozyd, cyjanidyno-3-(2-glukozylo)rutynozyd, cyjanidyno-3-glukozyd, cyjanidyno-3-rutynozyd i pelargonidyno-3-soforozyd [P3]. W badaniach Szymanowskiej i wsp. [114] zidentyfikowano tylko trzy antocyjany: cyjanidyno-3-soforozyd, który stanowił ponad 70% zawartości antocyjanów; cyjanidyno-3-glukozyd i cyjanidyno-3-rutynozyd. Wyniki analizy HPLC dowodzą, że antocyjany - związki o licznych korzystnych właściwościach zdrowotnych [115] mogą być pozyskane z wycieków owoców jagodowych w procesie ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami.

5.6. Ekstrakcja olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny metodą wspomaganą pulsacyjnym polem elektrycznym i porównanie z ekstrakcją wspomaganą ultradźwiękami

Ostatnim etapem badań było porównanie wspomaganiej ultradźwiękami ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, aronii, jeżyny i maliny z procesem wspomaganym pulsacyjnym polem elektrycznym, ze szczególnym naciskiem na wpływ zastosowanej metody na właściwości termiczne olejów, takie jak: czas indukcji reakcji utleniania, charakterystyka mięknienia i krystalizacji oraz analiza termogravimetryczna [P5]. Dodatkowo porównano profil kwasów tłuszczowych. W tym celu, próbki nasion poddano ekstrakcji w procesorze ultradźwiękowym w wybranych dwóch wariantach, z zachowaniem metodyki takiej samej, jak w przypadku wcześniej opisanych badań w publikacjach [P2] i [P4]. Ekstrakcję z wykorzystaniem obróbki wstępnej PEF opisano w metodyce (punkt 4.3.4), a podsumowanie zastosowanych warunków zamieszczono w tabeli 14 oraz w publikacji [P5]. W badaniach uwzględniono także próby kontrolne, aby móc szerzej ocenić wpływ metody ekstrakcji na wyniki analiz. Wyniki uzyskane w tej części pracy pozwoliły na zweryfikowanie i potwierdzenie hipotez H1 i H3.

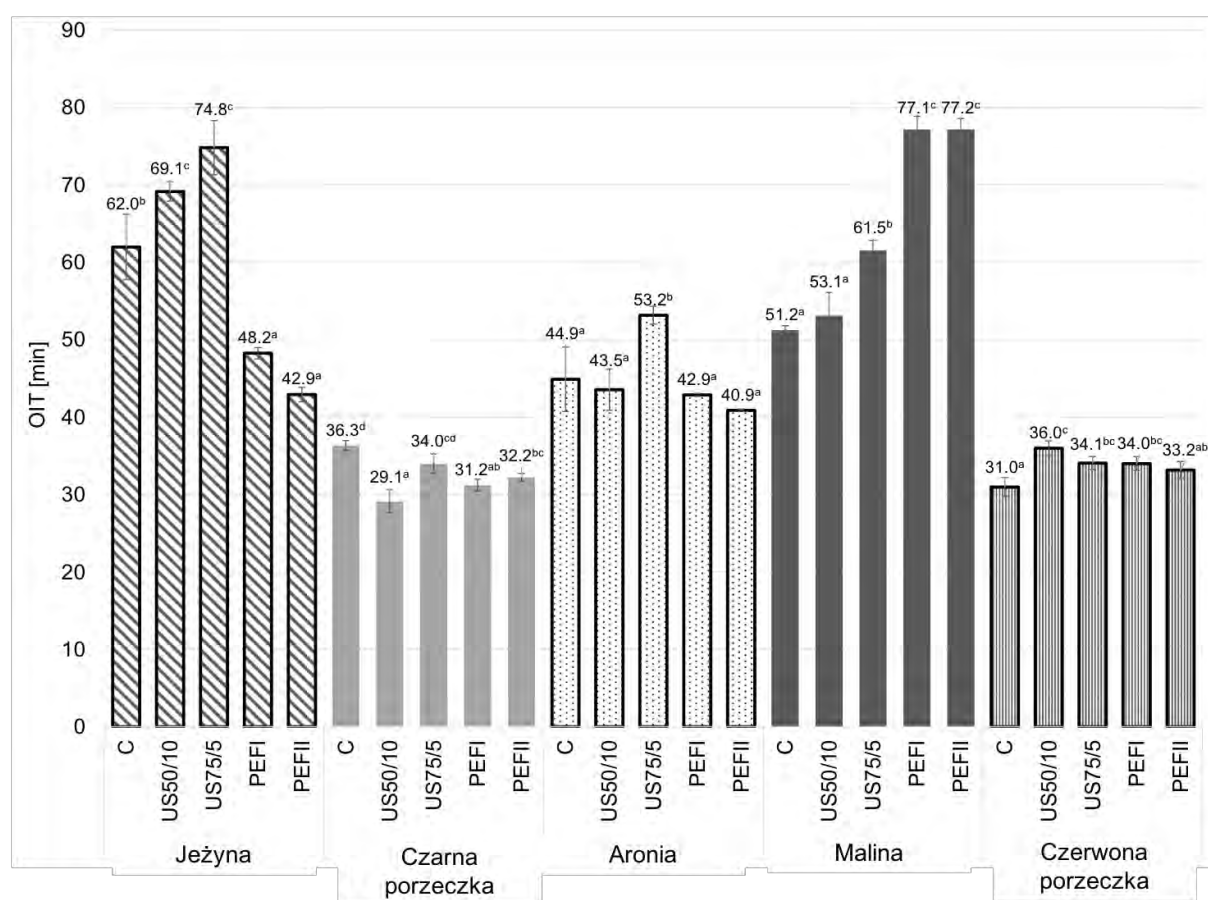
Tabela 14. Warunki ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami (UAE) oraz wspomaganej pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF) olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny zastosowane w publikacji [P5].

Warunki ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami		
Próbka	Amplituda [%]	Czas sonikacji [min]
US50/10	50	10
US75/5	75	5
Warunki ekstrakcji wspomaganej pulsacyjnym polem elektrycznym		
Próbka	Napięcie [kV]	Pobór energii [kJ/kg]
PEFI	10	50
PEFII	8	50

5.6.1. Czas indukcji reakcji utleniania olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego

Wyniki czasu indukcji reakcji utleniania (OIT) podsumowano na wykresie (rysunek 12) (publikacja [P5]). Można zauważyć, że OIT oleju ściśle zależał od jego pochodzenia. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić wpływ metody ekstrakcji na OIT, jednak tendencje i istotność różnic była niejednoznaczna w grupie badanych olejów. W przypadku ekstrakcji oleju z nasion jeżyny, UAE okazała się bardziej korzystną metodą w odniesieniu do czasu indukcji reakcji utleniania oleju niż ekstrakcja wspomagana PEF oraz metoda kontrolna. Zastosowanie ultradźwięków o amplitudzie 75% przez 5 minut skutkowało uzyskaniem oleju z nasion jeżyny o najdłuższym OIT. Olej z nasion czarnej porzeczki, ekstrahowany w warunkach kontrolnych, charakteryzował się dłuższym OIT niż oleje ekstrahowane metodą UAE lub wspomaganą PEF. Olej z nasion aronii, otrzymany w procesie UAE z zastosowaniem amplitudy 75% przez 5 minut, wykazywał istotnie dłuższy OIT w porównaniu z olejami uzyskanymi innymi metodami. Ekstrakcja wspomagana PEF umożliwiła uzyskanie oleju z nasion maliny o ponad 1,5-krotnie dłuższym OIT niż w przypadku próby kontrolnej, a także dłuższym niż w przypadku olejów uzyskanych w procesie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami. W przypadku oleju z nasion czerwonej porzeczki, ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami o amplitudzie 50% przez 10 minut była najbardziej korzystna i umożliwiła uzyskanie oleju o najdłuższym czasie indukcji reakcji utleniania. Biorąc pod uwagę różnice w wynikach OIT dla olejów ekstrahowanych w różnych warunkach, dłuższy czas indukcji reakcji utleniania można przypisać przyspieszonemu transferowi związków przeciwutleniających do rozpuszczalnika

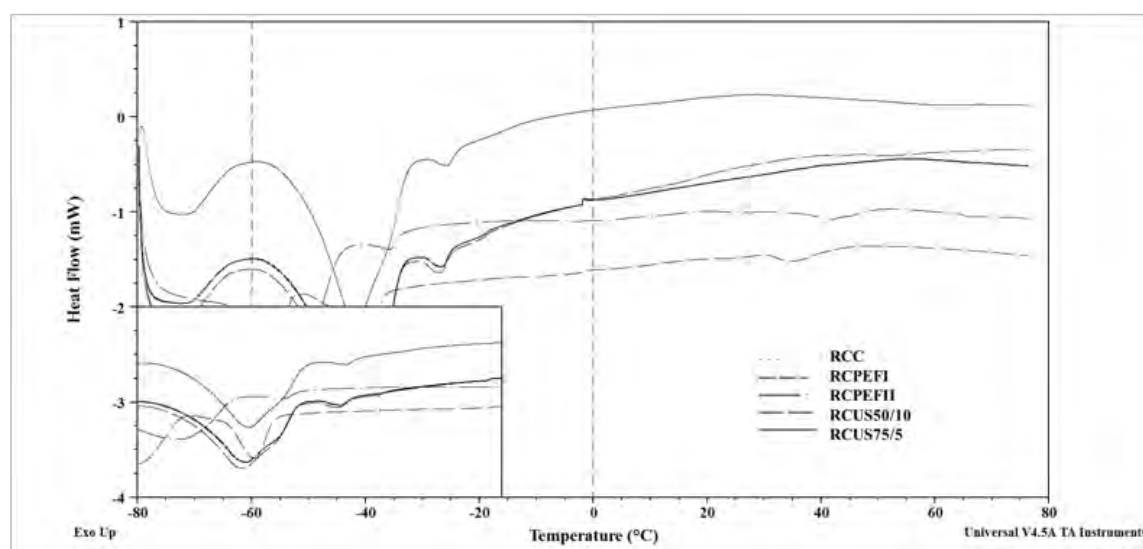
w następstwie zastosowania ultradźwięków lub pulsacyjnego pola elektrycznego [60, 116]. Obecność naturalnych przeciwutleniaczy, takich jak tokoferole, polifenole, sterole i karotenoidy, może zapobiegać utlenianiu oleju, a tym samym wydłużać jego trwałość lub okres przydatności do spożycia [117]. Opisane w publikacji [P5] parametry zastosowanych w procesie ekstrakcji ultradźwięków były jednak nieco łagodniejsze od warunków, jakie zostały wskazane w większości wyników optymalizacji ekstrakcji w publikacjach [P2] i [P4], stąd możliwe niższe wartości OIT niż w próbkach kontrolnych.



Rys. 12. Czas indukcji reakcji utleniania (OIT) dla olejów uzyskanych różnymi metodami ekstrakcji (C- kontrola, US- ultradźwięki, PEF- pulsacyjne pole elektryczne); różne litery w indeksie górnym ^{a-d} wskazują na istotnie różne grupy wyników przy $p < 0,05$ w obrębie jednego surowca [P5].

5.6.2. Charakterystyka mięknięcia olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego

Na podstawie analizy statystycznej szczegółowych wyników dotyczących temperatur mięknięcia badanych olejów można stwierdzić, że w przypadku olejów pozyskanych z jednego surowca, występowały niewielkie różnice między próbkami ekstrahowanymi różnymi metodami [P5]. Nie uzyskano istotnych różnic w profilu mięknięcia między olejami ekstrahowanymi tą samą metodą, ale przy zastosowaniu różnych parametrów procesu. Charakterystyka mięknięcia olejów jest w głównej mierze uzależniona od składu, zawartości i struktury TAG. Piki zarejestrowane na krzywych mięknięcia badanych olejów odpowiadają głównie obecności niskotopliwej frakcji TAG (około -40°C), zawierającej głównie wielonienasycone kwasy tłuszczowe i średniotopliwej frakcji TAG (około -20°C), w której skład wchodzi głównie jednonienasycone i nasycone kwasy tłuszczowe [67]. Koresponduje to z wynikami badań dotyczącymi profilu kwasów tłuszczowych (rozdział 5.6.3.), w których wykazano wysoki procentowy udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych we wszystkich badanych olejach. Przebieg krzywych mięknięcia dla olejów otrzymanych w niniejszym eksperymencie na drodze ekstrakcji wspomagananej ultradźwiękami był analogiczny do przebiegu krzywych mięknięcia olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny uzyskanych w zoptymalizowanych warunkach UAE - publikacje [P2] i [P4]. Przykładowe krzywe mięknięcia oleju z nasion czerwonej porzeczki uzyskanego różnymi metodami ekstrakcji zamieszczono na rysunku 13.



Rys. 13. Przykładowe krzywe mięknięcia olejów z nasion czerwonej porzeczki, uzyskanych różnymi metodami ekstrakcji [P5].

5.6.3. Profil kwasów tłuszczowych w olejach z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego

Wszystkie zbadane próbki olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny uzyskane w procesie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami oraz pulsacyjnym polem elektrycznym charakteryzowały się wysokim (powyżej 70-procentowym) udziałem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, co jest charakterystyczną cechą olejów pozyskiwanych z nasion owoców jagodowych i co zostało potwierdzone także w publikacjach [P2] i [P4]. Biorąc pod uwagę wpływ metody ekstrakcji na profil kwasów tłuszczowych, odnotowano pewne istotne różnice w udziałach procentowych poszczególnych grup kwasów tłuszczowych; jednak zmiany te nie były na tyle znaczące, aby wpłynąć na ogólne właściwości olejów. Stwierdzono, że procentowy udziału kwasów nasyconych w olejach ekstrahowanych w wyższej temperaturze (z użyciem PEF) był nieco wyższy w porównaniu do innych zastosowanych w niniejszej pracy metod ekstrakcji, tj. ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami i ekstrakcji ciecz-ciało stałe przeprowadzonej w temperaturze 40°C [P5]. Jest to zgodne z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi dla oleju z mikroalg ekstrahowanego w procesie wspomaganym ultradźwiękami w różnych temperaturach [118]. Wei i wsp. [119] zasugerowali, że wyższy udział SFA w olejach ekstrahowanych metodą z zastosowaniem aparatu Soxhleta może być spowodowany utlenianiem nienasyconych kwasów tłuszczowych wywołanym podwyższoną temperaturą i długim czasem ekstrakcji. Badane oleje z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii i maliny charakteryzowały się średnim udziałem PUFA wynoszącym od 71,28% w przypadku oleju z nasion czarnej porzeczki wyekstrahowanego z wykorzystaniem techniki PEF do 83,63% w przypadku oleju z nasion jeżyny wyekstrahowanego metodą wspomaganą ultradźwiękami [P5]. Udział procentowy MUFA w badanych olejach mieścił się w zakresie od 9,81% w oleju z nasion jeżyny (UAE) do 19,08% w oleju z nasion aronii (UAE) [P5].

5.6.4. Analiza termogravimetryczna olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, aronii, jeżyny i maliny wyekstrahowanych z użyciem ultradźwięków i pulsacyjnego pola elektrycznego

Przebieg krzywych TG/DTG był podobny dla wszystkich badanych olejów i nie był zależny od zastosowanej metody ekstrakcji. W publikacji [P5] zamieszczono przykładowe krzywe TG i DTG oraz szczegółowe wyniki procentowego ubytku masy

w zależności od temperatury w przebiegu analizy termogravimetrycznej. Termiczny rozkład olejów był typowy dla tłuszczów pochodzenia roślinnego i przebiegał w trzech głównych etapach, występujących w zakresie temperatur 180-550°C. W temperaturze końcowej eksperymentu (1000°C) zaobserwować można było jedynie śladowe pozostałości próbek. Znaczący rozkład próbek olejów nastąpił do temperatury 550°C. Wszystkie badane oleje z nasion owoców jagodowych były stabilne podczas ogrzewania do około 180°C. W początkowym etapie, przebiegającym w zakresie temperatur 180-370°C rozkład obejmował uwalnianie lotnych związków oraz degradację wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Z uwagi na wysoki udział procentowy PUFA w profilu kwasów tłuszczowych, utraty masy w tym zakresie były największe i wynosiły około 40%. W drugim etapie rozkładu termicznego (w zakresie temperatur 370-420°C) degradacji ulegały głównie jednonienasycone kwasy tłuszczowe, a w trzecim (w temperaturach 420-550°C) następował rozkład nasyconych kwasów tłuszczowych. Procentowy udział SFA w profilu kwasów tłuszczowych olejów z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, jeżyny, aronii oraz maliny był niewielki, dlatego związany z ich rozkładem termicznym ubytek masy był najmniejszy (poniżej 20%) [120, 121].

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Badania zrealizowane w ramach niniejszej pracy oraz uzyskane wyniki umożliwiły zweryfikowanie i potwierdzenie postawionych hipotez. Tym samym można stwierdzić, iż alternatywne metody ekstrakcji mogą być użytecznym narzędziem do pozyskiwania związków bioaktywnych i oleju z odpadów owocowych. Na podstawie wyników uzyskanych w toku badań sformułowano poniższe stwierdzenia i wnioski:

1. Zastosowanie sonikacji w procesie ekstrakcji oleju z nasion czarnej i czerwonej porzeczki, aronii, jeżyny oraz maliny skutkowało polepszeniem wydajności procesu oraz otrzymaniem oleju o wydłużonym czasie indukcji utleniania. Profil kwasów tłuszczowych, rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach sn-1,3 i sn-2 triacylogliceroli oraz przebieg krzywych mięknienia olejów uzyskanych na drodze ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami nie uległy znaczącym zmianom w porównaniu do prób kontrolnych. Zastosowanie ultradźwięków przyczyniło się do zwiększenia ekstraktywności związków (w tym związków bioaktywnych) z materiału do rozpuszczalnika, ale nie spowodowało zmian w składzie chemicznym tych związków. Wspomagana ultradźwiękami ekstrakcja olejów, jako technika intensyfikująca proces, umożliwiła skrócenie czasu procesu. Zasada działania ultradźwięków opiera się na zjawisku kawitacji akustycznej, która odpowiada za występowanie intensywnych zjawisk w polu ultradźwiękowym zwiększających transfer masy pomiędzy wnętrzem komórki a otaczającym ją rozpuszczalnikiem.
2. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami pozwoliła uzyskać wodne ekstrakty z wyłoków owocowych pozbawionych nasion, w których oznaczona zawartość antocyjanów, polifenoli ogółem i aktywność przeciwutleniająca były wyższe niż w ekstraktach uzyskanych metodami bez zastosowania ultradźwięków. Wzrost zawartości polifenoli ogółem i aktywności przeciwutleniającej był skutkiem zjawisk występujących w polu ultradźwiękowym, które intensyfikują przepływ substancji bioaktywnych z komórek roślinnych do rozpuszczalnika.
3. Zaprojektowanie doświadczenia metodą płaszczyzny odpowiedzi umożliwiło dopasowanie modeli matematycznych opisujących zależność wydajności ekstrakcji oraz czasu indukcji reakcji utleniania oleju, a w przypadku związków bioaktywnych - zawartości polifenoli ogółem i aktywności przeciwutleniającej ekstraktów od amplitudy ultradźwięków i czasu ekstrakcji. Otrzymane równania

matematyczne pozwoliły na wyznaczenie najkorzystniejszych wariantów ekstrakcji, umożliwiających uzyskanie olejów z najwyższą wydajnością oraz o najwyższej stabilności oksydacyjnej oraz ekstraktów charakteryzujących się najwyższą zawartością polifenoli ogółem i aktywnością przeciwutleniającą. Takie rozwiązanie umożliwiło też ograniczenie liczby wykonanych prób eksperymentalnych.

4. Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego o odpowiednich parametrach w procesie ekstrakcji oleju z nasion owoców jagodowych skutkowało wydłużeniem czasu indukcji utleniania, przy jednoczesnym braku wpływu na profil kwasów tłuszczowych i przebieg krzywych mięknięcia olejów. Użycie PEF mogło przyczynić się do zwiększonej ekstraktywności związków bioaktywnych, które spowalniają procesy utleniania oleju.
5. Produkty odpadowe w postaci wyłoków z owoców jagodowych mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w przemyśle spożywczym ze względu na możliwość wyekstrahowania z nich oleju o unikalnym składzie oraz wyizolowania związków bioaktywnych.

7. SPIS LITERATURY

1. *Agricultural Production Statistics 2000-2022 FAOSTAT Analytical Brief 79*. Rome, 2023.
2. Venkidasamy B, Samynathan R, Ramasamy P, Santhosh Kumar M, Thiruvengadam M, Khayrullin M, Shariati M, Nile A, Nile S. Unveiling novel applications of fruit pomace for sustainable production of value-added products and health benefits: A review. *Food Bioscience* 2024; **61**: 104533, 1-17.
3. Sagar NA, Pareek S, Sharma S, Yahia EM, Lobo MG. Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2018; **17**: 512-531.
4. *Produkcja Upraw Rolnych i Ogrodniczych w 2023 Roku*. Warszawa: Główny Urząd Statystyczny, 2024.
5. Reißner AM, Al-Hamimi S, Quiles A, Schmidt C, Struck S, Hernando I, Turner C, Rohm H. Composition and physicochemical properties of dried berry pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2019; **99**: 1284-1293.
6. Ying Q, Wojciechowska P, Siger A, Kaczmarek A, Rudzińska M. Phytochemical Content, Oxidative Stability, and Nutritional Properties of Unconventional Cold-pressed Edible Oils. *Journal of Food and Nutrition Research* 2018; **6**: 476-485.
7. Yang HY, Dong SS, Zhang CH, Wu WL, Lyu LF, Li WL. Investigation of Tocopherol Biosynthesis in Blackberry Seeds (*Rubus* spp.). *Russian Journal of Plant Physiology* 2020; **67**: 76-84.
8. Zlatanov MD. Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1999; **79**: 1620–4.
9. Dulf FV, Andrei S, Bunea A, Socaciu C. Fatty acid and phytosterol contents of some Romanian wild and cultivated berry pomaces. *Chemical Papers* 2012; **66**: 925-934.
10. Piasecka I, Górka A, Ostrowska-Ligęza E, Kalisz S. The study of thermal properties of blackberry, chokeberry and raspberry seeds and oils. *Applied Sciences* 2021; **11**: 7704, 1-15.

11. Van Hoed V, De Clercq N, Echim C, Andjelkovic M, Leber E, Dewettinck K, Verhé R. Berry seeds: A source of specialty oils with high content of bioactives and nutritional value. *Journal of Food Lipids* 2009; **16**: 33-49.
12. Bada JC, León-Camacho M, Copovi P, Alonso L. Characterization of berry and currant seed oils from Asturias, Spain. *International Journal of Food Properties* 2014; **17**: 77-85.
13. Oomah BD, Ladet S, Godfrey D V., Liang J, Girard B. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food Chemistry* 2000; **69**: 187-193.
14. Knothe G. Fuel properties of methyl esters of borage and black currant oils containing methyl γ -linolenate. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2013; **115**: 901-908.
15. Dobson G, Shrestha M, Hilz H, Karjalainen R, McDougall G, Stewart D. Lipophilic components in black currant seed and pomace extracts. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2012; **114**: 575-582.
16. Johansson A, Laine T, Linna MM, Kallio H. Variability in oil content and fatty acid composition in wild northern currants. *European Food Research and Technology* 2000; **211**: 277-283.
17. Gao F, Birch J. Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2016; **118**: 1042-1052.
18. Li H, Fan YW, Li J, Tang L, Hu JN, Deng ZY. Evaluating and Predicting the Oxidative Stability of Vegetable Oils with Different Fatty Acid Compositions. *Journal of Food Science* 2013; **78**: 633-641.
19. Kochhar SP, Henry CJK. Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2009; **60**: 289-296.
20. FAO/WHO. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Fats and Fatty Acids in Human Nutrition.*, 2010.

21. Mazidi M, Mikhailidis DP, Sattar N, Toth P, Judd S, Blaha M, Hernandez A, Penson P, Banach M. Association of types of dietary fats and all-cause and cause-specific mortality: A prospective cohort study and meta-analysis of prospective studies with 1,164,029 participants. *Clinical Nutrition* 2020; **39**: 3677-3686.
22. Jang H, Park K. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition* 2020; **39**: 765-773.
23. Wanders AJ, Blom WAM, Zock PL, Geleijnse JM, Brouwer IA, Alsema M. Plant-derived polyunsaturated fatty acids and markers of glucose metabolism and insulin resistance: A meta-analysis of randomized controlled feeding trials. *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2019; **7**: 1-10.
24. Górnaś P, Soliven A, Segliņa D. Seed oils recovered from industrial fruit by-products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP-HPLC/FLD. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2015; **117**: 773-777.
25. De Filette M, Schatteman K, Geuens J. Characterization of Six Cold-Pressed Berry Seed Oils and Their Seed Meals. *Applied Sciences* 2024; **14**: 439, 1-11.
26. Parry J, Su L, Luther M, Zhou K, Peter Yurawecz M, Whittaker P, Yu L. Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; **53**: 566-573.
27. Raczyk M, Bryś J, Brzezińska R, Ostrowska-Ligęza E, Wirkowska-Wojdyła M, Górka A. Raspberry and Blackberry Seed Oils Intended for Cosmetic Purposes. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 2021; **20**: 127-133.
28. Symoniuk E, Ratusz K, Ostrowska-Ligęza E, Krygier K. Impact of Selected Chemical Characteristics of Cold-Pressed Oils on their Oxidative Stability Determined Using the Rancimat and Pressure Differential Scanning Calorimetry Method. *Food Analytical Methods* 2018; **11**: 1095-1104.
29. Islam M, Bełkowska L, Konieczny P, Fornal E, Tomaszewska-Gras J. Differential scanning calorimetry for authentication of edible fats and oils - what can we learn from

the past to face the current challenges? *Journal of Food and Drug Analysis* 2022; **30**: 185-201.

30. Rajagukguk YV, Islam M, Grygier A, Tomaszewska-Gras J. Thermal and spectroscopic profiles variation of cold-pressed raspberry seed oil studied by DSC, UV/VIS, and FTIR techniques. *Journal of Food Composition and Analysis* 2023; **124**: 105723, 1-11.

31. Micić DM, Ostojić SB, Simonović MB, Pezo LL, Simonović BR. Thermal behavior of raspberry and blackberry seed flours and oils. *Thermochimica Acta* 2015; **617**: 21-27.

32. Han X, Shen T, Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences* 2007; **8**: 950-988.

33. Ma G, Chen Y. Polyphenol supplementation benefits human health via gut microbiota: A systematic review via meta-analysis. *Journal of Functional Foods* 2020; **66**: 103829, 1-11.

34. Farag S, Tsang C, Al-Dujaili EAS, Murphy PN. Effect of Polyphenol Supplementation on Memory Functioning in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2024; **16**: 474, 1-26.

35. Ammar A, Trabelsi K, Boukhris O, Bouaziz B, Müller P, M Glenn J, Bott N, Müller N, Chtourou H, Driss T, Hökelmann A. Effects of Polyphenol-Rich Interventions on Cognition and Brain Health in Healthy Young and Middle-Aged Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine* 2020; **9**: 1598, 1-25.

36. Grabska-Kobyłecka I, Szpakowski P, Król A, Książek-Winiarek D, Kobyłecki A, Głabiński A, Nowak D. Polyphenols and Their Impact on the Prevention of Neurodegenerative Diseases and Development. *Nutrients* 2023; **15**: 3454 1-34.

37. Winiarska-Mieczan A, Kwiecień M, Jachimowicz-Rogowska K, Donaldson J, Tomaszewska E, Baranowska-Wójcik E. Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Neuroprotective Effects of Polyphenols—Polyphenols as an Element of Diet Therapy in Depressive Disorders. *International Journal of Molecular Sciences* 2023; **24**: 2258, 1-32.

38. Matacchione G, Gurău F, Baldoni S, Prattichizzo F, Silvestrini A, Giuliani A, Pugnali A, Espinosa E, Amenta F, Bonafè M, Procopio A, Rippo M, Olivieri F, Sabbatinelli J. Pleiotropic effects of polyphenols on glucose and lipid metabolism: Focus on clinical trials. *Ageing Research Reviews* 2020; **61**: 101074, 1-11.
39. Feldman F, Koudoufio M, Desjardins Y, Spahis S, Delvin E, Levy E. Efficacy of Polyphenols in the Management of Dyslipidemia: A Focus on Clinical Studies. *Nutrients* 2021; **13**: 672, 1-42.
40. Nardini M, Natella F, Scaccini C. Role of dietary polyphenols in platelet aggregation. A review of the supplementation studies. *Platelets* 2007; **18**: 224-243.
41. Farghadani R, Naidu R. The anticancer mechanism of action of selected polyphenols in triple-negative breast cancer (TNBC). *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2023; **165**: 115170, 1-14.
42. Okpoghono J, Isoje EF, Igbuku UA, Ekayoda O, Omoike G, Adonor T, Igue U, Okom S, Ovowa F, Stephen-Onojedje Q, Ejueyitsi E, Seigha A. Natural polyphenols: A protective approach to reduce colorectal cancer. *Heliyon* 2024; **10**: e32390, 1-19.
43. Schmid V, Steck J, Mayer-Miebach E, Behnlian D, Briviba K, Bunzel M, Karbstein H, Emin M. Impact of defined thermomechanical treatment on the structure and content of dietary fiber and the stability and bioaccessibility of polyphenols of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace. *Food Research International* 2020; **134**: 109232, 1-11.
44. Tolić MT, Jurčević IL, Krbavčić IP, Marković K, Vahčić N. Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food Technology and Biotechnology* 2015; **53**: 171-179.
45. Rodríguez-Werner M, Winterhalter P, Esatbeyoglu T. Phenolic Composition, Radical Scavenging Activity and an Approach for Authentication of *Aronia melanocarpa* Berries, Juice, and Pomace. *Journal of Food Science* 2019; **84**: 1791-1798.
46. Sójka M, Król B. Composition of industrial seedless black currant pomace. *European Food Research and Technology* 2009; **228**: 597-605.

47. Jara-Palacios MJ, Santisteban A, Gordillo B, Hernanz D, Heredia FJ, Escudero-Gilete ML. Comparative study of red berry pomaces (blueberry, red raspberry, red currant and blackberry) as source of antioxidants and pigments. *European Food Research and Technology* 2019; **245**: 1-9.
48. Cacace JE, Mazza G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* 2003; **59**: 379-389.
49. Osorio-Tobón JF. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology* 2020; **57**: 4299-4315.
50. Hong Geow C, Ching Tan M, Pin Yeap S, Ling Chin N, Geow C, Tan M, Yeap S, Chin N. A Review on Extraction Techniques and Its Future Applications in Industry. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2021; **123**: 2000302, 1-10.
51. Chemat F, Zill-E-Huma, Khan MK. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 2011; **18**: 813-835.
52. Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 2017; **34**: 540-560.
53. Teng H, Chen L, Huang Q, Wang J, Lin Q, Liu M, Lee W, Song H. Ultrasonic-assisted extraction of raspberry seed oil and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *PLoS ONE* 2016; **11**: 1-17.
54. Milanović J, Malićanin M, Rakić V, Jevremović N, Karabegović I, Danilović B. Valorization of winery waste: Prokupac grape seed as a source of nutritionally valuable oil. *Agronomy* 2021; **11**: 1864, 1-12.
55. Zafra-Rojas QY, Cruz-Cansino NS, Quintero-Lira A, Gómez-Aldapa C, Alanís-García E, Cervantes-Elizarrarás A, Güemes-Vera N, Ramírez-Moreno E. Application of ultrasound in a closed system: Optimum condition for antioxidants extraction of blackberry (*Rubus fruticosus*) residues. *Molecules* 2016; **21**: 950, 1-13.

56. Sady S, Matuszak L, Błaszczuk A. Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from Chokeberry Pomace using response surface methodology. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 2019; **18**: 249-256.
57. Zhang C, Lyu X, Arshad RN, Aadil R, Tong Y, Zhao W, Yang R. Pulsed electric field as a promising technology for solid foods processing: A review. *Food Chemistry* 2023; **403**: 134367, 1-14.
58. Kumari B, Tiwari BK, Hossain MB, Brunton NP, Rai DK. Recent Advances on Application of Ultrasound and Pulsed Electric Field Technologies in the Extraction of Bioactives from Agro-Industrial By-products. *Food and Bioprocess Technology* 2018; **11**: 223-241.
59. Rábago-Panduro LM, Morales-de la Peña M, Martín-Belloso O, Welti-Chanes J. Application of Pulsed Electric Fields PEF on Pecan Nuts *Carya illinoensis* Wangenh. K. Koch: Oil Extraction Yield and Compositional Characteristics of the Oil and Its By-product. *Food Engineering Reviews* 2021; **13**: 676-685.
60. Guderjan M, Elez-Martínez P, Knorr D. Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2007; **8**: 55-62.
61. Moradi N, Rahimi M. Effect of simultaneous ultrasound/pulsed electric field pretreatments on the oil extraction from sunflower seeds. *Separation Science and Technology* 2018; **53**: 2088-2099.
62. Bobinaitė R, Pataro G, Lamanaskas N, Šatkauskas S, Viškelis P, Ferrari G. Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *Journal of Food Science and Technology* 2015; **52**: 5898-5905.
63. Zhou Y, Zhao X, Huang H. Effects of Pulsed Electric Fields on Anthocyanin Extraction Yield of Blueberry Processing By-Products. *Journal of Food Processing and Preservation* 2015; **39**: 1898-1904.

64. Ni Q, Gao Q, Yu W, Liu X, Xu G, Zhang Y. Supercritical carbon dioxide extraction of oils from two *Torreya grandis* varieties seeds and their physicochemical and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology* 2015; **60**: 1226-1234.
65. Wirkowska-Wojdyla M, Brys J, Gorska A, Ostrowska-Ligeza E. Effect of enzymatic interesterification on physiochemical and thermal properties of fat used in cookies. *LWT* 2016; **74**: 99-105.
66. Wirkowska-Wojdyla M, Ostrowska-Ligeza E, Gorska A, Brys J. Application of chromatographic and thermal methods to study fatty acids composition and positional distribution, oxidation kinetic parameters and melting profile as important factors characterizing amaranth and quinoa oils. *Applied Sciences* 2022; **12**: 2166, 1-12.
67. Embaby HE, Miyakawa T, Hachimura S, Muramatsu T, Nara M, Tanokura M. Crystallization and melting properties studied by DSC and FTIR spectroscopy of goldenberry (*Physalis peruviana*) oil. *Food Chemistry* 2022; **366**: 130645, 1-7.
68. Brys J, Flores Inês FV, Gorska A, Wirkowska-Wojdyla M, Ostrowska-Ligeza E, Brys A. Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2017; **130**: 319-327.
69. Polish Norm: PN-EN ISO: 5509:2001: *Animal and Vegetable Fats and Oils. Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids*. Warsaw, Poland: Polish Committee for Standardization, 2001.
70. Pina-Rodriguez AM, Akoh CC. Enrichment of Amaranth Oil with Ethyl Palmitate at the sn-2 Position by Chemical and Enzymatic Synthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; **57**: 4657-4662.
71. Dolatowska-Żebrowska K, Ostrowska-Ligeza E, Wirkowska-Wojdyla M, Brys J, Gorska A. Characterization of thermal properties of goat milk fat and goat milk chocolate by using DSC, PDSC and TGA methods. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2019; **138**: 2769-2779.
72. Gao X, Ohlander M, Jeppsson N, Björk L, Trajkovski V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae*

rhamnoides L.) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000; **48**: 1485-1490.

73. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 1999; **26**: 1231-1237.

74. Goiffon J-P, Mouly PP, Gaydou EM. Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 1999; **382**: 39-50.

75. Senrayan J, Venkatachalam S. Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction (UASE) based on oil yield, antioxidant activity and evaluation of fatty acid composition and thermal stability of *Coriandrum sativum* L. seed oil. *Food Science and Biotechnology* 2019; **28**: 377-386.

76. Piasecka I, Brzezińska R, Ostrowska-Ligęza E, Wiktor A, Górka A. Ultrasound-assisted extraction of cranberry seed oil: food waste valorization approach. *European Food Research and Technology* 2023; **249**: 2763-2775.

77. Sebayang AH, Ideris F, Silitonga AS, Shamsuddin A, Zamri M, Pulungan M, Siahaan S, Alfansury M, Kusumo F, Milano J. Optimization of ultrasound-assisted oil extraction from *Carica candamarcensis*; A potential Oleaginous tropical seed oil for biodiesel production. *Renewable Energy* 2023; **211**: 434-444.

78. Ciemnińska-Żytkiewicz H, Ratusz K, Bryś J, Reder M, Koczoń P. Determination of the oxidative stability of hazelnut oils by PDSC and Rancimat methods. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014; **118**: 875-881.

79. Mushtaq A, Roobab U, Denoya GI, Inam-Ur-Raheem M, Gullón B, Lorenzo J, Barba F, Zeng X, Wali A, Aadil R. Advances in green processing of seed oils using ultrasound-assisted extraction: A review. *Journal of Food Processing and Preservation* 2020; **44**: e14740, 1-14.

80. Thilakarathna RCN, Siow LF, Tang TK, Lee YY. A review on application of ultrasound and ultrasound assisted technology for seed oil extraction. *Journal of Food Science and Technology* 2022; **60**: 1222-1236.

81. Wanasundara PKJPD, Shahidi F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. John Wiley & Sons, Ltd, 2005, 1-61.
82. Malićanin M, Rac V, Antić V, Antić M, Palade L, Kefalas P, Rakić V. Content of antioxidants, antioxidant capacity and oxidative stability of grape seed oil obtained by ultra sound assisted extraction. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society* 2014; **91**: 989-999.
83. Stevanato N, da Silva C. Radish seed oil: Ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent and assessment of its potential for ester production. *Industrial Crops and Products* 2019; **132**: 283-291.
84. Pérez-Saucedo MR, Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Ragazzo-Sánchez J, Ulloa J, Ramírez-Ramírez J, Gastón-Peña C, Bautista-Rosales P. Properties of the avocado oil extracted using centrifugation and ultrasound-assisted methods. *Food Science and Biotechnology* 2021; **30**: 1051-1061.
85. Böger BR, Salviato A, Valezi DF, Di Mauro E, Georgetti SR, Kurozawa LE. Optimization of ultrasound-assisted extraction of grape-seed oil to enhance process yield and minimize free radical formation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2018; **98**: 5019-5026.
86. Kenari RE, Dehghan B. Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil using RSM: Evaluation of oxidative stability and physicochemical properties of oil. *Food Science & Nutrition* 2020; **8**: 4976-4986.
87. Adhvaryu A, Erhan SZ, Liu ZS, Perez JM. Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochimica Acta* 2000; **364**: 87-97.
88. Qi B, Zhang Q, Sui X, Wang Z, Li Y, Jiang L. Differential scanning calorimetry study—Assessing the influence of composition of vegetable oils on oxidation. *Food Chemistry* 2016; **194**: 601-607.

89. Amft J, Meissner PM, Steffen-Heins A, Hasler M, Stöckmann H, Meynier A, Birault L, Velasco J, Vermoesen A, Perez-Portabella I, Prió B, Porcellana T, Forte E, Yesiltas B, Merckx D, Hennebelle M, Wang J, van Duynhoven J, Losada-Barreiro S, Bravo-Diaz C, Bernal C, Abramovič H, Manzanos M, Martínez-Yusta A, Nieva-Echevarría B, Guillén M, Frühwirth S, Pignitter M, Wołosiak R, Derewiaka D, Costa M, Paiva-Martins F, Jacobsen C, Schwarz K. Interlaboratory study on lipid oxidation during accelerated storage trials with rapeseed and sunflower oil analyzed by conjugated dienes as primary oxidation products. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2023; **125**: 2300067, 1-11.
90. Farhoosh R, Hoseini-Yazdi SZ. Evolution of Oxidative Values during Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in the Rancimat Test. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2014; **91**: 281-293.
91. Gila A, Sánchez-Ortiz A, Jiménez A, Beltrán G. The ultrasound application does not affect to the thermal properties and chemical composition of virgin olive oils. *Ultrasonics Sonochemistry* 2021; **70**: 105320, 1-8.
92. Rezvankhah A, Emam-Djomeh Z, Safari M, Askari G, Salami M. Investigation on the extraction yield, quality, and thermal properties of hempseed oil during ultrasound-assisted extraction: A comparative study. *Journal of Food Processing and Preservation* 2018; **42**: e13766, 1-11.
93. Rajagukguk YV, Islam M, Tomaszewska-Gras J. Influence of Seeds' Age and Clarification of Cold-Pressed Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Oil on the DSC Oxidative Stability and Phase Transition Profiles. *Foods* 2023; **12**: 358, 1-9.
94. Dahimi O, Rahim AA, Abdulkarim SM, Hassan M, Hashari S, Siti Mashitoh A, Saadi S. Multivariate statistical analysis treatment of DSC thermal properties for animal fat adulteration. *Food Chemistry* 2014; **158**: 132-138.
95. Marikkar JMN, Ghazali HM, Che Man YB, Lai OM. The use of cooling and heating thermograms for monitoring of tallow, lard and chicken fat adulterations in canola oil. *Food Research International* 2002; **35**: 1007-1014.

96. Tan CX, Chong GH, Hamzah H, Ghazali HM. Comparison of subcritical CO₂ and ultrasound-assisted aqueous methods with the conventional solvent method in the extraction of avocado oil. *The Journal of Supercritical Fluids* 2018; **135**: 45-51.
97. Gasparini A, Ferrentino G, Angeli L, Morozova K, Zatelli D, Scampicchio M. Ultrasound assisted extraction of oils from apple seeds: A comparative study with supercritical fluid and conventional solvent extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2023; **86**: 103370, 1-8.
98. Thilakarathna RCN, Siow LF, Tang TK, Chan ES, Lee YY. Physicochemical and antioxidative properties of ultrasound-assisted extraction of mahua (*Madhuca longifolia*) seed oil in comparison with conventional Soxhlet and mechanical extractions. *Ultrasonics Sonochemistry* 2023; **92**: 106280, 1-10.
99. Matei PL, Deleanu I, Brezoiu AM, Chira N, Busuioc C, Isopencu G, Cîlțea-Udrescu M, Alexandrescu E, Stoica-Guzun A. Ultrasound-assisted extraction of blackberry seed oil: Optimization and oil characterization. *Molecules* 2023; **28**: 1-21.
100. Mildner-Szkudlarz S, Róžańska M, Siger A, Kowalczewski PŁ, Rudzińska M. Changes in chemical composition and oxidative stability of cold-pressed oils obtained from by-product roasted berry seeds. *LWT* 2019; **111**: 541-547.
101. Ispiryan A, Bobinaite R, Urbonaviciene D, Sermuksnyte-Alesiuniene K, Viskelis P, Miceikiene A, Viskelis J. Physico-Chemical Properties, Fatty Acids Profile, and Economic Properties of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Seed Oil, Extracted in Various Ways. *Plants* 2023; **12**: 2706, 1-17.
102. Bryś J, Wirkowska M. Znaczenie struktury triacylogliceroli w projektowaniu lipidów strukturyzowanych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* 2010; **2**: 86-89.
103. Endo Y, Hoshizaki S, Fujimoto K. Oxidation of synthetic triacylglycerols containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids: Effect of oxidation system and triacylglycerol structure. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society* 1997; **74**: 1041-1045.

104. Dash DR, Pathak SS, Pradhan RC. Extraction of oil from *Terminalia chebula* kernel by using ultrasound technology: Influence of process parameters on extraction kinetics. *Industrial Crops and Products* 2021; **171**: 113893, 1-8.
105. Tiwari BK, Patras A, Brunton N, Cullen PJ, O'Donnell CP. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry* 2010; **17**: 598-604.
106. Liao J, Xue H, Li J. Extraction of phenolics and anthocyanins from purple eggplant peels by multi-frequency ultrasound: Effects of different extraction factors and optimization using uniform design. *Ultrasonics Sonochemistry* 2022; **90**: 106174, 1-9.
107. Dos Santos SS, Paraíso CM, Rodrigues LM, Madrona GS. Agro-industrial waste as a source of bioactive compounds: ultrasound-assisted extraction from blueberry (*Vaccinium myrtillus*) and raspberry (*Rubus idaeus*) pomace. *Acta Scientiarum. Technology* 2021; **43**: e55564, 1-8.
108. Mazza KEL, Santiago MCPA, do Nascimento LSM, Godoy R, Souza E, Brígida A, Borguini R, Tonon R. Syrah grape skin valorisation using ultrasound-assisted extraction: Phenolic compounds recovery, antioxidant capacity and phenolic profile. *International Journal of Food Science & Technology* 2019; **54**: 641-650.
109. Anticono M, Blesa J, Lopez-Malo D, Frigola A, Esteve MJ. Effects of ultrasound-assisted extraction on physicochemical properties, bioactive compounds, and antioxidant capacity for the valorization of hybrid Mandarin peels. *Food Bioscience* 2021; **42**: 101185, 1-10.
110. Razola-Díaz M del C, Aznar-Ramos MJ, Guerra-Hernández EJ, García-Villanova B, Gómez-Caravaca AM, Verardo V. Establishment of a sonotrode ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from apple pomace. *Foods* 2022; **11**: 3809, 1-15.
111. Zhao H, Fan W, Dong J, Lu J, Chen J, Shan L, Lin Y, Kong W. Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. *Food Chemistry* 2008; **107**: 296–304.

112. Ponder A, Hallmann E, Kwolek M, Średnicka-Tober D, Kazimierczak R. Genetic differentiation in anthocyanin content among berry fruits. *Current Issues in Molecular Biology* 2021; **43**: 51, 1-16.
113. Sójka M, Kołodziejczyk K, Milala J. Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Industrial Crops and Products* 2013; **51**: 77-86.
114. Szymanowska U, Karaś M, Bochnak-Niedźwiecka J. Antioxidant and anti-inflammatory potential and consumer acceptance of wafers enriched with Freeze-Dried Raspberry Pomace. *Applied Sciences* 2021; **11**: 6807, 1-19.
115. Gonçalves AC, Nunes AR, Falcão A, Alves G, Silva LR. Dietary effects of anthocyanins in human health: A comprehensive review. *Pharmaceuticals* 2021; **14**: 690, 1-34.
116. Bimakr M, Rahman RA, Taip FS, Adzahan NM, Islam Sarker MZ, Ganjloo A. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Crude Oil from Winter Melon (*Benincasa hispida*) Seed Using Response Surface Methodology and Evaluation of Its Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Fatty Acid Composition. *Molecules* 2012; **17**: 11748-11762.
117. Kaseke T, Opara UL, Fawole OA. Fatty acid composition, bioactive phytochemicals, antioxidant properties and oxidative stability of edible fruit seed oil: effect of preharvest and processing factors. *Heliyon* 2020; **6**: e04962, 1-15.
118. Zarrinmehr MJ, Daneshvar E, Nigam S, Gopinath K, Biswas J, Kwon E, Wang H, Farhadian O, Bhatnagar A. The effect of solvents polarity and extraction conditions on the microalgal lipids yield, fatty acids profile, and biodiesel properties. *Bioresource Technology* 2022; **344**: 126303, 1-10.
119. Wei C, Xiao K, Li H, Qi Y, Zou Z, Liu Z. Optimization of ultrasound assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Cinnamomum camphora* seeds. *LWT* 2022; **164**: 113689, 1-11.

120. Gouveia de Souza A, Oliveira Santos JC, Conceição MM, Dantas Silva MC, Prasad S. A Thermoanalytic and Kinetic Study of Sunflower Oil. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 2004; **21**: 265-273.
121. Dodoo D, Adjei F, Tulashie SK, Adukpoh K, Agbolelegbe R, Gawou K, Manu G. Quality evaluation of different repeatedly heated vegetable oils for deep-frying of yam fries. *Measurement: Food* 2022; **7**: 100035, 1-14.

8. DOROBK NAUKOWY

Wykształcenie

2020-2024 r.	Doktorant w dyscyplinie technologia żywności i żywienia Instytut Nauk o Żywności Szkola Doktorska Szkola Glowna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
2017-2023 r.	Magister farmacji Wydział Farmaceutyczny Warszawski Uniwersytet Medyczny
2017-2019 r.	Magister dietetyki Wydział Nauk o Zdrowiu Warszawski Uniwersytet Medyczny
2014-2017 r.	Licencjat dietetyki Wydział Nauki o Zdrowiu Warszawski Uniwersytet Medyczny

Spis publikacji

Publikacje stanowiące rozprawę doktorską

1. **Piasecka Iga**, Wiktor Artur, Górka Agata: Alternative methods of bioactive compounds and oils extraction from berry fruit by-products—a review, Applied Sciences, 2022, 12(3), 1-35, numer artykułu: 1734, DOI:10.3390/app120317
2. **Piasecka Iga**, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, 2024, 57, 1-11, numer artykułu: 103511, DOI:10.1016/j.fbio.2023.103511
3. **Piasecka Iga**, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response surface methodology for optimization of ultrasound-assisted antioxidants extraction from blackberry, chokeberry and raspberry pomaces, Plants, 2024, 13(8), 1-14 numer artykułu: 1120, DOI:10.3390/plants13081120

4. **Piasecka Iga**, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata: Response surface methodology for ultrasound-assisted oil extraction optimization from blackberry, chokeberry, and raspberry waste products, *Applied Sciences*, 2024, 14(16), numer artykułu: 7214, DOI:10.3390/app14167214
5. **Piasecka Iga**, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2024, 1-15, DOI:10.1007/s10973-024-13230-4

Pozostałe publikacje

6. Bogusz Radosław, Onopiuk Anna, Żbik Klara, Pobiega Katarzyna, **Piasecka Iga**, Nowacka Małgorzata: Chemical and Microbiological Characterization of Freeze-Dried Superworm (*Zophobas morio* F.) Larvae Pretreated by Blanching and Ultrasound Treatment, *Molecules*, 2024, 29(22), Numer artykułu: 5447, s. 1-15, DOI:10.3390/molecules29225447
7. Ostrowska-Ligęza Ewa, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Brzezińska Rita, **Piasecka Iga**, Synowiec Alicja, Gondek Ewa, Górka Agata: Application of Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetry for Thermal Analysis of Dark Chocolates, *Applied Sciences-Basel*, 2024, 14(20), Numer artykułu: 9502, s. 1-25, DOI:10.3390/app14209502
8. Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Ostrowska-Ligęza Ewa, Górka Agata, Brzezińska Rita, **Piasecka Iga**: Evaluation of the Thermal Behavior of Commercial Cold-Pressed Oils Obtained from Apricot and Peach By-Products, *Applied Sciences-Basel*, 2024, (14)23, Numer artykułu: 10917, s. 1-13, DOI:10.3390/app142310917,
9. Ostrowska-Ligęza Ewa, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Brzezińska Rita, **Piasecka Iga**, Górka Agata: The influences of agglomeration and storage on the thermal properties and stability of fats in infant formulas, *Applied Sciences*, 2024, 14(5), 1-23, numer artykułu: 2103, DOI:10.3390/app14052103
10. Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Ostrowska-Ligęza Ewa, Górka Agata, Brzezińska Rita, **Piasecka Iga**: Assessment of the nutritional potential and

- resistance to oxidation of sea buckthorn and rosehip oils, *Applied Sciences*, 2024, 14(5), 1-13, numer artykułu: 1867, DOI:10.3390/app14051867
11. Brzezińska Rita, Górską Agata, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, **Piasecka Iga**: Application of response surface methodology to optimize the extraction process of bioactive compounds obtained from coffee silverskin, *Applied Sciences*, 2023, 13(9), 1-16, numer artykułu: 5388, DOI:10.3390/app13095388
 12. Brzezińska Rita, Górską Agata, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, **Piasecka Iga**: Response surface methodology as a tool for optimization of extraction process of bioactive compounds from spent coffee grounds, *Applied Sciences*, 2023, 13(13), 1-16, numer artykułu: 7634, DOI:10.3390/app13137634
 13. Górską Agata, **Piasecka Iga**, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Bryś Joanna, Kienc Kinga, Brzezińska Rita, Ostrowska-Ligęza Ewa: Berry seeds—a by-product of the fruit industry as a source of oils with beneficial nutritional characteristics, *Applied Sciences*, 2023, 13(8), 1-12, numer artykułu: 5114, DOI:10.3390/app13085114
 14. Ostrowska-Ligęza Ewa, Dolatowska-Żebrowska Karolina, Brzezińska Rita, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Bryś Joanna, **Piasecka Iga**, Górską Agata: Characterization of thermal properties of ruby chocolate using DSC, PDSC and TGA methods, *Applied Sciences*, 2023, 13(9), 1-13, numer artykułu: 5221, DOI:10.3390/app13095221
 15. Ostrowska-Ligęza Ewa, Sidoruk Karolina, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Brzezińska Rita, **Piasecka Iga**, Górską Agata: Thermal properties of expanded amaranth seed oil, *Biology and Life Sciences Forum*, 2023, 26(1), 2023, 1-6, numer artykułu: 73, DOI:10.3390/Foods2023-15101
 16. **Piasecka Iga**, Ostrowska-Ligęza Ewa, Kalisz Stanisław, Górską Agata: Charakterystyka właściwości termicznych nasion z czarnej i czerwonej porzeczki, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2023, 30(2), 33-44, DOI:10.15193/zntj/2023/135/445
 17. **Piasecka Iga**, Górską Agata, Obranović Marko, Kalisz Stanisław, Dobrinić Ana, Dobroslavić Erika, Ostrowska-Ligęza Ewa, Brzezińska Rita, Dragović-Uzelac Verica: The quality assessment of oils obtained from berry fruit seeds using pressurized liquid extraction, *Biology and Life Sciences Forum*, 2023, 26 (1), 1-7, numer artykułu: 84, DOI:10.3390/Foods2023-15138

18. **Piasecka Iga**, Brzezińska Rita, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound-assisted extraction of cranberry seed oil: food waste valorization approach, *European Food Research and Technology*, 2023, 249, 1-13, DOI:10.1007/s00217-023-04326-6
19. Górka Agata, **Piasecka Iga**, Kienc Kinga, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wirkowska-Wojdyła Magdalena, Bryś Joanna: Quality assessment of black currant, strawberry and cranberry seeds' lipid fraction, *Biology and Life Sciences Forum*, 2022, 18(31), 1-2, DOI:10.3390/Foods2022-12953
20. **Piasecka Iga**, Górka Agata, Kalisz Stanisław, Brzezińska Rita, Wiktor Artur: Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from black currant and chokeberry pomaces, *Biology and Life Sciences Forum*, 2022, 18(14), 1-2, DOI:10.3390/foods2022-12954
21. Wierzchowska Katarzyna, Pakulska Anna, Derewiaka Dorota, **Piasecka Iga**, Zieniuk Bartłomiej, Nowak Dorota, Fabiszewska Agata: Concept of batch and fed-batch cultures of *Yarrowia lipolytica* as a valuable source of sterols with simultaneous valorization of molasses and post-frying rapeseed oil, *Applied Sciences*, 2022, 12(24), 1-14, numer artykułu: 12877, DOI:10.3390/app122412877
22. **Piasecka Iga**, Brzezińska Rita, Górka Agata: Charakterystyka olejów z pestek owocowych, W: *Zagadnienia aktualnie poruszane przez młodych naukowców 19* / Piech Krzysztof (red.), 2021, Creativetime, ISBN 978-83-66772-06-9, s. 38-42
23. **Piasecka Iga**, Górka Agata: Możliwości zagospodarowania produktów odpadowych przemysłu owocowego, W: *Zagadnienia aktualnie poruszane przez młodych naukowców 19* / Piech Krzysztof (red.), 2021, Creativetime, ISBN 978-83-66772-06-9, s. 34-37
24. **Piasecka Iga**, Górka Agata, Ostrowska-Ligęza Ewa, Kalisz Stanisław: The study of thermal properties of blackberry, chokeberry and raspberry seeds and oils, *Applied Sciences*, 2021, 11(16), 1-15, numer artykułu: 7704, DOI:10.3390/app11167704
25. **Piasecka Iga**, Górka Agata: Possible uses of fruit pomaces in food technology as a fortifying additive – a review, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2020, 600, 43-54, DOI:10.22630/ZPPNR.2020.600.5

Udział w konferencjach

1. Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców VIII Edycja 12.12.2020, Charakterystyka olejów z pestek owocowych (poster i artykuł w monografii), autorzy: **Iga Piasecka**, Rita Brzezińska, Agata Górską
2. Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców VIII Edycja 12.12.2020, Możliwości zagospodarowania produktów odpadowych przemysłu owocowego (poster i artykuł w monografii), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górską-**wyróżnienie**
3. Ogólnopolska Konferencja Doktorantów "Cztery Żywiecy- Współczesne Problemy w Naukach o Życiu" 18.12.2020, Zastosowanie wytlóków owocowych w produkcji żywności (prezentacja ustna), autor: **Iga Piasecka**, opiekun naukowy: Agata Górską- **wyróżnienie**
4. XIII Konferencja z cyklu „Żywność XXI Wieku” „Żywność A Oczekiwania Współczesnego Konsumenta” Kraków, 16-17.09.2021, Właściwości termiczne pestek wybranych owoców jagodowych (prezentacja ustna), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górską, Ewa Ostrowska-Ligęza, Stanisław Kalisz
5. VII Sympozjum Inżynierii Żywności Warszawa 29-30 czerwca 2022, Zastosowanie sonikacji do ekstrakcji oleju z pestek żurawiny (poster online), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górską, Rita Brzezińska, Artur Wiktor
6. The 3rd International Electronic Conference on Foods: Food, Microbiome, and Health 1-15.10.2022, Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from black currant and chokeberry pomaces (e-poster), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górską, Stanisław Kalisz, Rita Brzezińska, Artur Wiktor- **nagroda (Best Poster Award)**
7. The 3rd International Electronic Conference on Foods: Food, Microbiome, and Health 1-15.10.2022, Quality assessment of black currant, strawberry and cranberry seeds' lipid fraction (e-poster), autorzy: Agata Górską, **Iga Piasecka**, Kinga Kienc, Ewa Ostrowska-Ligęza, Magdalena Wirkowska-Wojdyła, Joanna Bryś
8. 10th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Zagrzeb, Chorwacja 30.11-2.12.2022, Polyphenol profiles and antioxidant capacity of different berry fruit pomace and seeds (poster), autorzy:

Ana Dobrinčić, Erika Dobrosłavić, **Iga Piasecka**, Ena Cegledi, Zoran Zorić, Sandra Pedisić, Verica Dragović Uzelac

9. Ogólnopolska Konferencja Doktorantów "Cztery Żywioly- Współczesne Problemy w Naukach o Życiu" 14.12.2022, Wpływ pulsacyjnego pola elektrycznego na wydajność ekstrakcji oraz jakość oleju z pestek żurawiny (prezentacja ustna), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górka, Katarzyna Rybak, Artur Wiktor
10. 2nd Food Chemistry Congress, Antalya, Turcja, 16-19.03.2023, Quality Assessment of Oils Obtained from Black and Red Currant Seeds in Ultrasound-Assisted Extraction Process (prezentacja ustna i artykuł w monografii), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górka, Rita Brzezińska, Stanisław Kalisz, Ewa Ostrowska-Ligęza, Dagmara Gniotek, Artur Wiktor
11. Food Symposium 3.0 – LSU AgCenter/MENDELU/SGGW, Baton Rouge, Louisiana, USA, 20-24.03.2023, Application of alternative extraction methods to obtain oil from cranberry seeds (prezentacja ustna online), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górka, Rita Brzezińska, Katarzyna Rybak, Artur Wiktor
12. XXVII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej „Rozwój Nauk o Żywności. Zrównoważona przyszłość” Warszawa 11-12.05.2023, Thermal Properties of Blackcurrant and Redcurrant seeds (poster), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górka, Stanisław Kalisz, Ewa Ostrowska-Ligęza
13. Chemsession '23 XIX Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, Warszawa 23.06.2023, Ekstrakcja ultradźwiękowa składników bioaktywnych i oleju z wyłoków owocowych (poster), autorzy: **Iga Piasecka**, Rita Brzezińska, Stanisław Kalisz, Artur Wiktor, Agata Górka
14. 7th Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry (CEEC-TAC7), Brno, Czechy 28-31.08.2023, The influence of the ultrasound and pulsed electric field application in extraction process on thermal properties of berry seed oils (prezentacja ustna), autorzy: **Iga Piasecka**, Ewa Ostrowska-Ligęza, Rita Brzezińska, Stanisław Kalisz, Artur Wiktor, Agata Górka
15. The 4th International Electronic Conference on Foods: Focus on Sustainable Food Systems: Current Trends and Advances, 15-30.10.2023, The Quality Assessment of Oils Obtained From Berry Fruit Seeds Using Pressurized Liquid Extraction (e-poster), autorzy: **Iga Piasecka**, Agata Górka, Marko Obranović, Stanisław

Kalisz, Ana Dobrincić, Erika Dobroslavić, Ewa Ostrowska-Ligęza, Rita Brzezińska, Verica Dragović-Uzelac

16. The 4th International Electronic Conference on Foods: Focus on Sustainable Food Systems: Current Trends and Advances, 15-30.10.2023, Thermal properties of expanded amaranth seed oil (e-poster), autorzy: Ewa Ostrowska-Ligęza, Karolina Sidoruk, Magdalena Wirkowska-Wojdyła, Rita Brzezińska, **Iga Piasecka**, Agata Górka
17. 23rd International Workshop for Young Scientists 'BioPhys Spring 2024' Lublin, 23-24.05.2024, Extraction method influence on thermal properties of blackberry seed oil (prezentacja ustna), autorzy: **Iga Piasecka**, Ewa Ostrowska-Ligęza, Artur Wiktor, Agata Górka

Stáže, warsztaty, szkolenia w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

- Udział w Szkole Jesiennej EEA School on Adding Value to Food Side Streams (7-18.10.2021) w Reykjavíku (Islandia) organizowanej przez Matis Institute, University of Iceland i Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie w ramach Inicjatywy Bilateralnej finansowanej przez Mechanizm Finansowy Europejskiego Obszaru Gospodarczego i Norweski Mechanizm Finansowy
- Udział w Warsztatach Przedsiębiorczości EOG jako kontynuacja ww. projektu w Olsztynie (13-15.12.2021)
- Louisiana State University AgCenter course: Food Safety Analysis Workshop (14.04.2022), szkolenie stacjonarne w Warszawie
- Staż naukowy w University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology (20.06-20.09.2022), Zagrzeb, Chorwacja, opiekun: prof. Verica Dragović-Uzelac
- Staż naukowy w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Państwowym Instytucie Badawczym, Zakład Bezpieczeństwa i Analizy Chemicznej Żywności (1.09-1.11.2023), Warszawa, opiekun: dr hab. Marek Roszko, prof. IBPRS
- Udział w Szkole Letniej „Tasting the Land” ELLS Summer School (1-8.09.2023) Chalkidiki, Grecja organizowanej przez Czech University of Life Sciences Prague

- Udział w Szkole Letniej „Decentralized water and waste management systems: appropriate technologies and solutions for resilience and sustainability. Rural and isolated communities in developing countries” z programu Erasmus (24.06-02.07.2024) University of Brescia, Brescia, Włochy
- Udział w Szkole Letniej „Nutrition and nutrition education” z programu Erasmus (09.09-13.09.2024) University of Ljubljana, Lublana, Słowenia

Wyróżnienia, nagrody, stypendia i patenty

- Wyróżnienie: Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców VIII Edycja 12.12.2020, Możliwości zagospodarowania produktów odpadowych przemysłu owocowego (poster) autorzy: Iga Piasecka, Agata Górską
- Wyróżnienie: Ogólnopolska Konferencja Doktorantów "Cztery Żywioły- Współczesne Problemy w Naukach o Życiu" 18.12.2020, Zastosowanie wytlóków owocowych w produkcji żywności (prezentacja ustna), autor: Iga Piasecka, opiekun naukowy: Agata Górską
- Best poster award: Piasecka I., Górską A., Kalisz S., Brzezińska R., Wiktor A., Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from black currant and chokeberry pomaces, The 3rd International Electronic Conference on Foods: Food, Microbiome and Health, Online, 01-15.10.2022, poster online
- Stypendium w ramach programu PROM-Międzynarodowa Wymiana Stypendialna Doktorantów i Kadry Akademickiej na wyjazd na Konferencję Naukową, Antalya, Turcja 15-20.03.2023
- Stypendium Własnego Funduszu Stypendialnego SGGW na zagraniczny staż naukowy- University of Zagreb, Chorwacja, 06-09.2022
- Dyplom uznania Dziekana Wydziału Technologii Żywności SGGW za działalność organizacyjną, 01.10.2023
- Zgłoszenie patentowe pt. „Sposób otrzymywania oleju z nasion aronii i maliny metodą ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami oraz oleje uzyskane sposobem”, nr P.448825, data zgłoszenia: 13.06.2024
- Nagroda Zespołowa III Stopnia za osiągnięcia badawcze przyznana przez Rektora SGGW, 30.08.2024
- Wyróżnienie w konkursie organizowanym przez Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie pn. „Kobiety tworzą innowacje” w kategorii Naukowczynie w produkcji zwierzęcej i przetwórstwie rolno-spożywczym, 04.09.2024

- Dyplom uznania Dziekana Wydziału Technologii Żywności SGGW za zaangażowanie w działalności na rzecz społeczności akademickiej Wydziału Technologii Żywności i Instytutu Nauk o Żywności, 03.10.2024

Projekty i inne aktywności

- Członkini grupy roboczej ‘Lipids, carbohydrates (energy ratios), and fat-soluble compounds such as sterols’ w projekcie COST Action CA23127 - Group on Insect Nutrition: To Open Nutritional Innovative Challenges (GIN-TONIC) od 2024 roku
- Członkini grup roboczych ‘Agrofood loss and waste management’ i ‘Valorisation of agrofood waste and a circular bio-economy’ w projekcie COST Action CA22134 - Sustainable Network for agrofood loss and waste prevention, management, quantification and valorisation (FoodWaStop) od 2024 roku
- Członkini Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Oddział Warszawski od 2021 roku
- Uczestnictwo w specjalistycznych szkoleniach i kursach dotyczących obsługi aparatury, bezpieczeństwa żywności, gospodarki odpadami spożywczymi
- Członkini komitetów organizacyjnych konferencji organizowanych przez SGGW
- Recenzje artykułów naukowych do czasopism: Biomass conversion and biorefinery, Chemical engineering research & design, Food chemistry, Heliyon, Scientific Reports, Discover Food, Food and Bioprocess Technology, Journal of Chemometrics

**9. PUBLIKACJE STANOWIĄCE ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ WRAZ Z
OŚWIADCZENIAMI WSPÓŁAUTORÓW**

Review

Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review

Iga Piasecka ^{1,*} , Artur Wiktor ²  and Agata Górka ¹ 

¹ Department of Chemistry, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159c Nowoursynowska Street, 02-776 Warsaw, Poland; agata_gorska@sggw.edu.pl

² Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159c Nowoursynowska Street, 02-776 Warsaw, Poland; artur_wiktor@sggw.edu.pl

* Correspondence: iga_piasecka@sggw.edu.pl; Tel.: +48-22-5937607

Abstract: Berry fruit by-products are a source of polyphenol compounds and highly nutritious oils and can be reused to fulfill the requirements of the circular economy model. One of the methods of obtaining polyphenol-rich extracts or oils is extraction. Applying conventional solvent extraction techniques may be insufficient to reach high polyphenol or lipid fraction yields and selectivity of specific compounds. Alternative extraction methods, mainly ultrasound-assisted extraction, pulsed electric field-assisted extraction, microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction, are ways to improve the efficiency of the isolation of bioactive compounds or oils from berry fruit by-products. Additionally, non-conventional techniques are considered as green extraction methods, as they consume less energy, solvent volume and time. The aim of this review is to summarize the studies on alternative extraction methods and their relationship to the composition of extracts or oils obtained from berry waste products.

Keywords: berry fruit by-products; alternative extraction methods; waste management; green extraction; PEF-assisted extraction; ultrasound-assisted extraction



Citation: Piasecka, I.; Wiktor, A.; Górka, A. Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 1734. <https://doi.org/10.3390/app12031734>

Academic Editor: Dino Musmarra

Received: 15 January 2022

Accepted: 6 February 2022

Published: 8 February 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

From a botanical point of view, berry fruit is an artificial fruit classification. However, it is the term that is commonly used to refer to the the group of fruits from *Rubus* (raspberry, blackberry), *Ribes* (currants, gooseberry), *Aronia* (chokeberry), *Vaccinium* (cranberry, blueberry) and *Fragaria* (strawberry) genera. According to FAO statistics, berry fruit production reaches an amount of over 12.2 million tons worldwide [1]. The latest data, including area and quantity of production, is presented in Figure 1.

Berries, as well as other fruits, may be consumed raw or can be processed to such products as, e.g., frozen, dried or canned fruits, juices. Those products may be further processed as well [2]. However, every step of processing and transport may generate losses reaching, according to the FAO, even 45% of fruits and vegetables produced [3]. Such significant percentages of loss and waste not only have economic consequences, but also affect the natural environment, especially water use [4]. In order to obtain economic and environmental benefits it is widely recommended to apply circular economy model concepts in the food production chain. The model includes the further use of by-products as a way of managing and minimizing production of wastes when they are still a source of bioactive, highly nutritive compounds [5]. Berries are mainly processed to juices and concentrates. The technological scheme of juice production leads to pomace generation—a major fruit processing by-product, which contains stem cells, skins and seeds of fruits. The aim of this review is to present and systematize possible methods of bioactive compounds and oils extraction from chosen berry fruit pomaces and the impact of certain extraction methods on the quality and composition of those extracts.

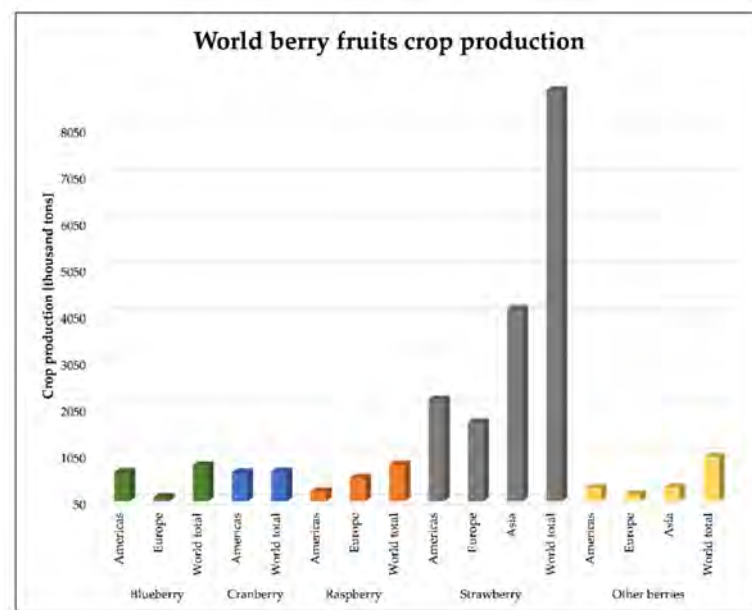


Figure 1. World berry fruits crop production (2019).

2. Composition of Berry Pomaces

2.1. General Information

Contents of pomaces depend on the berry species, but as they are rich in the seeds and skins of fruits, dietary fiber is a dominant component of pomaces. For instance, chokeberry pomace powder consists of ca. 3.61% of fat, 5.97% of protein, 28.8% of carbohydrates and 57.8% [6] to 59.5% [7] of fiber (mostly insoluble fraction). McDougall and Beames [8] studied the composition of raspberry pomace and the composition of the studied by-product was described as follows: 11.1% of fat, 10.0% of protein and 59.5% dietary fiber. In a different study conducted by Górnas et al. [9], the concentrations of constituents in raspberry pomace were: 9.1%, 8.7% and 54.2% for fat, protein and dietary fiber, respectively. In the same study, the composition of strawberry and blackcurrant pomaces was determined. In strawberry pomace, concentrations of nutrients were at levels 3.4%, 9.2% and 33.9% and in blackcurrant pomace at levels 0.7%, 6.9% and 38.5% for fat, protein and dietary fiber, respectively. Based on the studies conducted by Reißner et al. [7], it can be stated that the physicochemical properties of currant pomace depend on the color group of the berry. Blackcurrant (*Ribes nigrum*) pomace powder was found to contain about 61.0% of seeds. The percentage contents of the nutritional components of blackcurrant pomace were as follows: 20.21% fat, 15.71% protein, 2.20% carbohydrates and 59.13% fiber, with a predominance of insoluble fiber. Redcurrant (*Ribes rubrum*) pomace consisted of 40.4% seeds and, based on the obtained results, it can be treated as a source of 14.23% fat, 11.76% protein, 12.65% carbohydrates and 58.1% fiber, mostly insoluble fiber. Gooseberry pomace powder in turn consisted of 34.2% seeds, 10.93% fat, 12.40% protein and 56.6% dietary fiber, over 87% of which was an insoluble fraction.

2.2. Polyphenols

2.2.1. Role of Polyphenols

Polyphenols belong to a group of secondary metabolites present in plant-derived food. They are the most common antioxidants in the human diet and consist of different compounds; however, their classification is not strict. Generally, the term ‘polyphenols’ refers to flavonoids (with the subgroups: anthocyanins, flavanols, flavanones, flavones, flavonols and isoflavonoids), tannins, stilbenes and phenolic acids and their derivatives [10].

Although polyphenols are considered as non-nutritive compounds, they play a role in disease prevention and help to improve health due to their ability to neutralize free radicals [11]. There are a number of results of meta-analyses available concerning the influence

of polyphenols on human functions. They may have potential in improving performance in groups of healthy humans [12], stimulating the growth of health-promoting species but inhibiting development of pathogenic organisms in gut microbiota [13]. Supplementation of polyphenolic compounds can be helpful in inflammatory bowel disease therapy [14], brain functions [15], lipid profile and inflammation status [16] improvement. In addition, an association between anthocyanins intake and lowered risk of hypertension [17] and cancer [18] was found.

2.2.2. Bioavailability of Polyphenols

However, there are limitations related to the bioavailability of some polyphenols and their stability during processing or storage. There are several factors that may affect the stability of phenolic compounds, for instance, pH, temperature, interactions with other food components, access to light and oxygen and metal ions presence and abundance [19]. Polyphenols tend to be more stable in acidic than in alkaline conditions; also, storing or processing foods at high temperatures leads to decreases in polyphenol content [20–22]. There are some studies which indicate that increased temperature may result in the appearance of other polyphenols in heated material as compared to unheated samples. This might be an effect of polymerization or polyphenol release from certain components [23].

2.2.3. Polyphenol Content in Berry Pomaces and Their Antioxidant Activity

Industrial chokeberry pomace consists of a solid number of bioactive compounds. Total polyphenol content (TPC) of chokeberry pomace reaches 5.5 g/100 g dm (dry mass), expressed as catechin monohydrate, determined using the Folin–Ciocalteu method. The main groups of polyphenols were found to be anthocyanins at 1.80 g/100 g dm, followed by phenolic acids at 0.31 g/100 g dm and flavonols at 0.184 g/100 g dm. AA (antioxidant activity) was measured as 1111 $\mu\text{mol FE/g}$ in the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay [6]. Consistent results were obtained in a composition analysis of a store-bought product which contained 100% chokeberry pomace. TPC measured using the Folin–Ciocalteu method reached 4233 mg GAE/100 g dm and anthocyanins content determined by the pH differential method was 1165 mg CGE/100 g dm. AA, measured in a FRAP assay amounted to 47.38 mmol FE/100 g dm and was measured in a DPPH assay as 131.06 mmol TE/100 g dm [24]. The main phenolic compounds in chokeberry pomace, detected using HPLC, were polymeric procyanidins with a concentration of 9586 mg/100 g dm, which was two-fold higher than the result for fresh berries and almost seven-fold higher than that for juice [25].

The TPC of industrially obtained seedless blackcurrant pomace, measured using the Folin–Ciocalteu method, was in a range of 1855.5–2241.6 mg EE/100 g pomace. Specific polyphenol composition determined using HPLC indicated that anthocyanins are the dominant components, reaching values of 344.6–1046.1 mg/100 g pomace and depending on the year of fruit harvest. AA values determined in a DPPH assay ranged from 93.3–126.5 $\mu\text{mol TE/g pomace}$ [26]. A comprehensive study of redcurrant, raspberry and blackberry pomaces conducted by Jara-Palacios et al. [27] showed that redcurrant pomace was characterized by the highest values of TPC, as determined by the Folin–Ciocalteu method, which were equal to 3446.59 mg GAE/100 g dm, followed by 2014.66 mg GAE/100 g dm for raspberry pomace and 1699.62 mg GAE/100 g dm for blackberry pomace. Anthocyanin concentrations, determined in a HPLC/MS analysis, were similar for all pomaces and ranged from 149.91 mg/100 g dm for redcurrant pomace to 188.05 mg/100 g dm for raspberry pomace. As AA was correlated with TPC, redcurrant was characterized by the highest AA (tested using ABTS), 60.83 mmol TE/100 g dm, while lower AA values for raspberry and blackberry were observed, these being, respectively, 29.75 and 22.54 mmol TE/100 g dm.

TPC, as determined by the Folin–Ciocalteu method, in blackberry pomace extract obtained from wild fruits ranged from 48.28–50.16 mg GAE/g dm and from cultivated fruits ranged from 26.30–35.40 mg GAE/g dm, which indicates that phenolic compound concentrations are higher among wild blackberries [28]. The phenolic composition of raspberry pomace was described. TPC, measured using HPLC, was determined as 238.36 mg/100 g dm.

Anthocyanins were the dominant phenolic compounds, reaching nearly 83% of the TPC, followed by ellagic acid and flavanols [29].

2.2.4. Applications of Polyphenolic Extracts

As berry pomaces are rich in polyphenols, they may yield polyphenol-rich extracts. The use of extracts obtained from berry pomaces is gaining the interest of researchers. There are papers reporting applying chokeberry pomace extract to enrich the composition of apple juice. Fortified products represent increased acidity, levels of vitamin C, TPC, total flavonoids, total anthocyanins and higher AA, as determined by the ABTS method [30]. Raspberry pomace extract can be recognized as an antioxidative but also as an antibacterial ingredient [31]. Extracts from chokeberry pomace were considered for use as an ingredient of chitosan-based packaging films. Adding the extract in film formulation resulted in its decreased solubility and has a possible application as a pH-indicating film due to the high stability in acidic conditions of anthocyanins [32]. Berry pomace extracts may also be applied as natural, antioxidant colorants [27].

2.3. Lipid Fraction

As pomaces contain seeds, they are a source of lipophilic components. Oils obtained from berry by-products using traditional methods (solid–liquid extraction, maceration, cold-pressing) vary in composition and concentration of fatty acids, phospholipids, tocopherols, sterols and other bioactive compounds, e.g., carotenoids. They may also have different oxidative and thermal stabilities or shelf lives. This variation is caused by species differences in fruits [33], fruit growing conditions [34] and conditions of storage of material and oil [35].

2.3.1. Fatty Acid Composition

Fatty acid profiles may differ significantly even in the same genus of a berry plant. The results of the research conducted by Šavikin et al. [36] on *Ribes* sp. show variation of specific FAs depending on the color of fruit, with blackcurrant reaching the highest values of LA and GLA, but the lowest for ALA and OA. Red- and white currant presented similar concentrations of LA, GLA and ALA, whereas the white type was characterized by the highest values of OA. Results showing SFA content were not diverse. Table 1 presents the fatty acid profiles of berry oils. According to this summary, it can be concluded that the considered berry seed oils are rich in unsaturated, mostly polyunsaturated (PUFA), fatty acids. However, they differ in terms of specific fatty acid profiles. The dominant fatty acid in berry seed oils is linoleic acid (C18:2, *n*6); its content ranges from 33.86% for gooseberry [37] to 71.1% for chokeberry oil [38]. Additionally, the content of linolenic acids is high, except for chokeberry oil. The composition of fatty acids results in oil properties. High PUFA contents (especially linoleic and α -linolenic acids) lower the stability of plant oils, so they are more susceptible to oxidation and are characterized by shorter shelf lives [39–41]. Moreover, a high amount of MUFAs results in reduced stability values, although to a lesser degree than with PUFAs [42]. However, the nutritional value of unsaturated fatty acids is significant. FAO/WHO recommends replacing intake of saturated fatty acids with unsaturated fatty acids, especially PUFAs [43]. Numerous meta-analyses and review papers describe the positive impact on human health of marine-derived PUFAs, EPA and DHA [44–47], although plant-derived PUFAs can be elongated and desaturated into AA, EPA or DHA in the human system [48]. In addition, some reports claim that all-source-derived PUFA intake reduced all-cause mortality [49], while *n*3 PUFA intake reduced the risk of metabolic syndrome [50]. Plant-derived PUFAs' ability to regulate serum insulin levels has been described [51]. The most common FAs in berry oils, linoleic acid and α -linolenic acid, are classified as essential fatty acids and have to be delivered by food consumption due to the human disability for their endogenic production [52]. MUFAs can be produced in the human organism [53], but food-derived MUFAs were also found to have a role in disease prevention, especially in glucose–insulin management and reduced risk of co-existing diseases, in a group of diabetic patients [54–56].

Table 1. Fatty acid profiles (%) of oils extracted from berry pomaces. (C16:0—palmitic acid, C16:1—palmitoleic acid, C18:0—stearic acid, C18:1—oleic acid, C18:2—linoleic acid, C18:3—linolenic acid, C18:4—stearidonic acid, C20:0—arachidic acid, C20:1—paullinic acid, C20:2—eicosadienoic acid, C22:0—behenic acid.)

Source of Oil	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:4	C20:0	C20:1	C20:2	C22:0	Reference
Chokeberry	5.1–7.22	0.15–0.53	1.1–1.39	<i>n9 cis</i> : 23.47, <i>n9 trans</i> : 0.93 or total: 17.48–21.4	64.67–71.1	<i>n3</i> : 0.34–0.92 or total: 0.5	-	0.6–0.81	0.25	5.26	0.38–0.8	[38,57,58]
Raspberry	2.43–2.92	0.08–0.12	0.87–1.45	<i>n9</i> : 11.74–11.76 <i>n7</i> : 0.80 or total: 10.87–11.99	51.44–54.52	<i>n3</i> : 6.68–31.68 <i>n6</i> : 0.07 or total: 29.11	-	0.37–0.62	0.13–0.14	0.03–0.33	0.10–0.34	[37,38,58–60]
Raspberry (wild)	2.61	0.06	1.19	<i>n9 cis</i> : 26.22 <i>n9 trans</i> : 0.23	51.07	<i>n3</i> : 17.93	-	0.43	0.05	-	0.14	[57]
Blackberry	3.47–4.52	0.03–0.13	2.10–2.87	<i>n9</i> : 7.50–12.17 <i>n7</i> : 0.56 or total: 14.72	61.22–67.96	<i>n3</i> : 15.60–17.60 <i>n6</i> : 0.07	-	0.47–1.06	0.31–0.38	0.15	0.12–0.16	[37,58,59]
Blackcurrant	4.49–6.5	0.03–0.1	1.4–1.93	<i>n9</i> : 10.2–13.79 <i>n7</i> : 0.35–0.7 or total: 16.1	41.41–57.8	<i>n3</i> : 12.91–14.9 <i>n6</i> : 13.9–15.6 or total: 13.2	2.7–3.89	0.04–0.2	0.16–1.0	0.06–0.3	0.1–4.7	[38,59,61,62]
Redcurrant	4.8–6.88	0.09	1.29–3.0	<i>n9</i> : 9.61–17.8 <i>n7</i> : 0.6–0.72	40.7–44.0	<i>n3</i> : 23.34–24.5 <i>n6</i> : 5.6–9.16	3.0–4.48	0.13	0.71	0.27	0.09	[59,63]
Blueberry	4.98–7.64	0.08	1.93–3.31	<i>n9 cis</i> : 50.74, <i>n9 trans</i> : 0.38 <i>n9 total</i> : 18.00 <i>n7</i> : 0.56	30.0–35.84	<i>n3</i> : 7.06–36.08 <i>n6</i> : 0.14	-	0.19–0.49	0.14	0.05	0.11	[57,59]
Gooseberry	8.12	-	1.83	<i>n9</i> : 14.32	33.86	<i>n3</i> : 20.54 <i>n6</i> : 8.48	5.45	-	-	-	-	[64]
Strawberry	4.32	-	1.68	14.55	42.22	<i>n3</i> : 36.48	-	0.71	-	-	-	[37]

2.3.2. Tocopherols and Tocotrienols

Tocopherols and tocotrienols (also commonly called tocols or, generally, vitamin E) are phenolic compounds, lipid-soluble antioxidants. Due to their oxidation-preventive ability, they protect PUFAs from oxidation and are widely present in edible, unsaturated fatty acid-rich oils [65]. However, the loss of their antioxidant efficacy and even an adverse oxidation-promoting effect of tocopherols have been observed at high temperatures [66] or in oils enriched with high levels of tocopherols, especially in highly unsaturated oils [67]. In studies describing the decomposition of tocols during storage, some differences were found: α -tocopherol is described as the least stable, with a rapid decrease in stability index observed, and δ -tocopherol as the most stable section of tocopherols [68]. In addition, there are findings confirming that higher levels of α -tocopherol in oils lead to a decreased oxidative stability index of oils [69]. The composition of tocols fractions may differ depending on oil processing conditions and berry cultivar. [65]. Tocopherol composition in chosen berry oils is presented in Table 2. The values vary in relation to the species of the berries. However, certain common characteristics exist. Tocopherols reach higher concentrations than tocotrienols in all of the described studies [37,38,59,60,70]. For blackberry, raspberry, redcurrant and blackcurrant oils, in almost any case, γ -tocopherol is their main tocopherol. For chokeberry oil, the major tocols fraction was α -tocopherol [38]. From a nutritional point of view, vitamin E proper uptake is essential, however, α -tocopherol is the most active antioxidant in the human system and the only tocol that is able to cover human vitamin E demand [71].

Table 2. Tocopherol composition of berry oils (mg/100 g oil). (TP- tocopherols; T3- tocotrienols.)

Source of Oil	α -TP	β -TP	γ -TP	δ -TP	α -T3	β -T3	γ -T3	δ -T3	Reference
Chokeberry	70.6	28.2	0.2	0.2	-	-	0.8	-	[38]
Raspberry	27.74–46.1	0.65	58.19–164.0	5.83–22.59	-	2.71	7.2	-	[37,59,60]
Blackberry	0.89–2.54	0.18	42.41–131.1	3.17–6.97	-	0.44	2.0	-	[37,59]
Blackcurrant	28.85–36.9	0.2–0.55	23.01–55.4	4.09–6.9	0.09–0.1	0.3–0.65	0.2–0.26	-	[38,59]
Redcurrant	3.04–5.75	0.56–0.79	33.64–156.39	19.38–41.13	0.10	0.31	0.13	0.03	[59,70]
Gooseberry	5.26	0.20	60.35	3.32	-	-	-	-	[70]
Blueberry	0.44	-	3.44	-	-	-	33.04	0.6	[37]
Strawberry	-	-	26.03	2.0	-	-	-	-	[37]

2.3.3. Sterols

Plant-derived sterols, also called phytosterols, are amphiphilic steroid alcohols. They play a role as a plant cell membrane compound. Most common are sitosterol, stigmasterol and campesterol [72]. Table 3 presents the sterol contents of analyzed berries oils. In all of them, sterols composition corresponds with common values and the main sterol occurring is β -sitosterol. Specific sterol contents may differ depending on variety, year, fruit maturity and processing conditions, e.g., temperature [73,74]. Additionally, sterols' thermal stability depends on their structure, mainly on the number and location of double bonds. In the structure of β -sitosterol there is one double bond that results in its thermosensitivity at a medium range [75]. Afinisha-Deepam et al. [76] and T. Wang [77] reported that sterols do not affect the stability of oils, so their concentration in products does not influence oxidative reactions or the length of the shelf life of oil. However, there are also findings describing the sterol fraction stigmasterol as prooxidative at temperatures around 60 °C but antioxidative at frying or baking temperatures around 180 °C [78]. Furthermore, sterol esters added to oils or to different fats, e.g., margarine, can decrease their oxidation stability [79,80]. In human nutrition, sterols are believed to be competitors of cholesterol and as a result of that they reduce cholesterol absorption from dietary sources, which leads to reductions

in concentrations of plasma cholesterol. This property may be useful in lipids-correlated disorders prevention and treatment, e.g., hypercholesterolemia [81,82].

Table 3. Sterol composition of lipid fraction of berry pomaces (%).

Source of Oil	Cholesterol	Campesterol	Stigmasterol	β -Sitosterol	D5-Avenasterol	D7-Stigmasterol	D7.25-Stigmasterol	Reference
Chokeberry	2.95	5.5	3.85	81.8	1.85	1.8	1.8	[38]
Blackberry	0.33	5.3–7.03	1.8–4.87	77.77–84.7	3.02–7.0	1.41	-	[37,59]
Raspberry	0.43	4.5–4.51	0.84–1.2	79.6–83.95	5.35–7.2	1.24	-	[37,59]
Blackcurrant	2.5	1.25	4.9	86.6	1.3	0.85	1.4	[38]
Blackcurrant	0.31	8.14	0.42	81.09	3.10	1.92	-	[59]
Redcurrant	0.36	10.01	0.24	87.58	0.36	-	-	[59]
Blueberry	0.24	3.4–4.63	0.3–0.37	66.5–82.85	2.14–13.8	3.97	-	[37,59]
Strawberry	-	5.4	2.3	71.1	8.7	-	-	[37]

3. Processing and Extraction

Bioactive compounds may be isolated from pomaces by physical techniques, such as cold pressing, or chemical techniques, i.e., extraction, and extracts as well as oils may be products of these processes. Conventional methods of extraction may, however, require extended energy intake and use of organic solvents in large quantities. To help to reduce the environmental and financial impact of extraction processes caused by both high energy and organic solvent consumption, non-conventional extraction methods have been proposed. Particular novel extraction methods may lead to the obtention of extracts or oils with improved properties. A scheme for the procedures of extraction of bioactive compounds and oils from berry fruit by-products is presented in Figure 2.

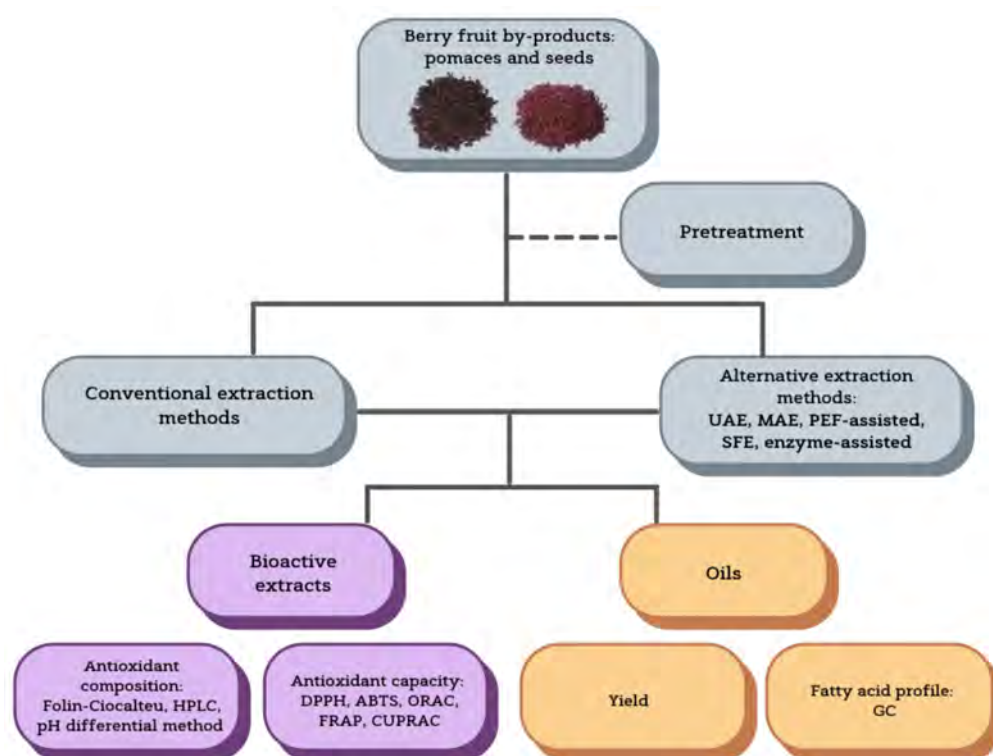


Figure 2. A scheme for the extraction procedures for bioactive compounds and oils from berry fruit by-products.

3.1. Conventional Extraction Methods

Conventional, liquid–liquid and solid–liquid extraction methods are the most commonly used at a laboratory scale. In these processes, usually organic solvents, like methanol, ethanol, hexane and acetone, are used, but aqueous solvents might also be employed. The mechanism of the process involves removing a soluble fraction from an insoluble solid. The concentration of compounds released from plant tissues to the solvent reaches equilibrium with the concentrations of unreleased substances as described by the equilibrium distribution constant. Fick's second law of diffusion describes how fast the compounds are able to dissolve and reach equilibrium [83]. Factors that may improve extraction efficiency are increased solvent concentration and reduced particles of solids. Increasing solvent concentration enhances the gradient of concentrations in two phases and reducing the size of particles decreases the diffusion distance of a solution within the solid and, additionally, increases the concentration gradient, too. Temperature also helps to increase diffusivity, according to the Einstein equation. However, due to solvents' toxicity with respect to the environment or human health, conventional methods are perceived as inappropriate in the food processing industry. What is more, not all of the phenolic or lipid compounds are possible to extract using these methods. Increased temperature may also lead to damage of some thermolabile structures [83]. The efficiency of solvent extraction is determined mainly by the type of solvent and the material/solvent ratio [84]. Tables 4 and 5 compare the conditions and effectiveness (in the case of oils, yield and fatty acid profiles; in the case of phenolic extracts, antioxidant composition and antioxidant capacity of extracts) of conventional extractions of antioxidants and oils from berry by-products.

3.1.1. Lipid Fraction

The composition of fatty acids in extracted oils is mainly determined by the species of fruit as the source of seeds. However, the yield appears to be dependent on extraction conditions, i.e., solvent type, time of extraction and pomace pretreatment method. In the case of the solvent type, organic solvents used in conventional extraction methods are characterized by different polarities. They are defined by different dielectric constant values—a measure of solvent polarity which determines the solute–solvent correlation. The optimum dielectric constant values range from 6–8 and result in higher oil yields. However, the higher polarity of solvents results in limitations in the solubility of extracted lipids and can lead to their hydrolysis. What is more, TAGs are amphipathic compounds and some solvents may cause hydrogen bonding of TAG ester groups. So, in conclusion, higher polarity may be a reason of lower oil yield, despite the fact that increasing the polarity of the solvent causes the opening of cell walls and improves compound release. What is more, in the case of plant oils, they also contain more polar constituents, e.g., phospholipids and tocopherols, which are the source of components that may present greater affinity to more polar solvents [85,86]. Hexane is a widely employed solvent in fat extraction processes due to its low polarity and it was used in most of the reviewed studies. However, it is a chemical substance with proven toxicity and water-polluting ability, so it should not be used in the food industry [87]. Considering berry seed oils extraction, ethanol is used as a solvent in the extraction of fat from blackberry seeds, resulting in higher yields compared to hexane—11.8% and 14.2%, respectively [88]. The higher oil yield value, when a more polar solvent was used, may be connected to the phenomena of partly polar compounds in the fat fraction. The time of the process is also a factor influencing efficiency. Comparing the extraction of oil from dried raspberry seeds using hexane, a higher yield was connected with a longer extraction time: the process lasting 8 h gave a 14.33% yield [89] and a 2 h extraction resulted in a 10.7% yield [60]. The analyzed studies also showed the significant impact of seed pretreatment methods on extraction efficiency. Considering raspberry by-products, dried pomaces [59] or seeds [60] were more susceptible to oil extraction processes than wet material [57]. In addition, replacing drying at room temperature with oven-drying resulted in higher fat yield values [89].

3.1.2. Antioxidant Fraction

Conventional extraction methods for polyphenolic compounds from berries are also conducted usually using organic solvents; however, the polarity of the solvent has to be adjusted, as polyphenols are more polar components. On a laboratory scale, alcohols are the most commonly used solvents, but these substances may still be harmful to organisms or the environment, e.g., methanol. The specific antioxidant component composition and the antioxidant capacity of obtained extracts are influenced, as in the case of oils, by the species of fruit, pretreatment methods and sample preparation. Other factors that have an influence on the properties of extracts are solvent type, solid–liquid ratio, extraction time and solvent pH.

Table 4. Characteristics of lipid fractions extracted from berry by-products using conventional methods.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, M—Mass of Solid, t—Time, T—Temperature)	Oil Yield	Fatty Acids Profile (%) (PUFA/MUFA/SFA, Dominant FA)	Reference
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i> cv. Tenac) Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Meeker) Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i> cv. Ivanhoe) Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i> cv. Junifer) Redcurrant (<i>Ribes rubrum</i> cv. Smoothstem) pomaces	Seeds separated from pomace dried at room temperature using sieves, then ground	S: hexane Soxhlet apparatus	Blackberry pomace: 15.68% Raspberry pomace: 10.55%, Blueberry pomace: 13.27% Blackcurrant pomace: 26.15% Redcurrant pomace: 9.11%	Blackberry pomace PUFA: 83.78 MUFA: 8.40 SFA: 6.49 Dominant: C18:2 n6 Raspberry pomace PUFA: 81.05 MUFA: 12.81 SFA: 4.13 Dominant: C18:2 n6 Blueberry pomace PUFA: 72.11 MUFA: 18.78 SFA: 6.75 Dominant: C18:3 n3 Blackcurrant pomace PUFA: 73.16 MUFA: 14.33 SFA: 6.46 Dominant: C18:2 n6 Redcurrant pomace PUFA: 81.25 MUFA: 11.13 SFA: 8.39 Dominant 18:2 n6	[59]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i> cv. Čačanska beztrna) Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Willamette) seeds	Seeds obtained from the pomace dried at room temperature or in oven	Standard laboratory method S: hexane t: 8 h	Blackberry seeds: 13.97–14.34% Raspberry seeds: 13.44–14.33% (Higher values for pomaces dried in oven)	-	[89]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) different cv. seeds	Seeds air-dried in fluid bed dryer for 2 h/25 °C, then ground	S: hexane 1 L M: 100 g t: 2 h T: 4 °C Extraction performed 3 times	10.7%	Crude oil: PUFA: 83.63 MUFA: 11.99 SFA: 3.66 Dominant: C18:2 n6	[60]

Table 4. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid—Liquid Ratio, M—Mass of Solid, t—Time, T—Temperature)	Oil Yield	Fatty Acids Profile (%) (PUFA/MUFA/SFA, Dominant FA)	Reference
Wild: Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) Cowberry (<i>Vaccinium vitis-idaea</i>) Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) Cultivated: Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>) pomaces	Wet pomaces obtained after juice pressing	Methanol/chloroform homogenization procedure S: methanol (50 mL) and chloroform (100 mL) M: 5 g	Wild Blueberry pomace: 3.93% Cowberry pomace: 3.75% Raspberry pomace: 7.00% Cultivated Blueberry pomace: 2.80% Chokeberry pomace: 5.50%	Wild Blueberry pomace PUFA: 41.78 MUFA: 48.35 SFA: 9.80 Dominant: C18:1 n9 Cowberry pomace PUFA: 44.47 MUFA: 50.87 SFA: 4.65 Dominant: C18:1 n9 Raspberry pomace PUFA: 69.00 MUFA: 26.56 SFA: 4.44 Dominant: C18:2 n6 Cultivated Blueberry pomace PUFA: 37.00 MUFA: 51.20 SFA: 11.70 Dominant C18:1 n9 Chokeberry pomace PUFA: 65.01 MUFA: 24.93, SFA: 10.06 Dominant: C18:2 n6	[57]
Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i> cv. Ben Lomond and cv. Ben Tirran) pomaces	Pomaces were air-dried in oven or freeze-dried and (A) ground or (B) seeds separated from unground pomace using 500 µm sieve	Soxhlet extraction S: isohehexane M: 10 g t: 30 min Residue left after 5 cycles was reground and extracted in another 5 cycles	From seeds: 14.5% from ground pomace: 7.8% (w/dry)	Seeds PUFA: 79.4 MUFA: 12.0 SFA: 8.7 Dominant: C18:2 n6 Pomace PUFA: 72.0 MUFA: 11.7 SFA: 16.3 Dominant: 18:2 n6	[62]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) dust as a by-product from fruit lyophilization	Seeds separated from the dust by sieving and then ground	Soxhlet apparatus S: petroleum ether M: 100 g t: 6 h	14.5%	PUFA: 78.9 MUFA: 16.9 SFA: 4.2 Dominant: C18:2 n6	[90]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i> cv. Cacanska beztrna) and Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Willamette) pomaces obtained from pressing long-term frozen fruits	Pomaces dried at room temperature or in oven	Standard laboratory method S: hexane t: 8 h	-	Blackberry pomace (room temperature-dried): PUFA: 74.94 MUFA: 17.87 SFA: 7.13 Blackberry pomace (oven-dried): PUFA: 75.66 MUFA: 19.03 SFA: 7.48 Dominant: C18:2 n6 Raspberry pomace (room temperature-dried): PUFA: 82.52 MUFA: 13.21 SFA: 4.23 Raspberry pomace (oven-dried): PUFA: 87.30 MUFA: 12.57 SFA: 4.26 Dominant: C18:2 n6	[91]

Table 4. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid—Liquid Ratio, M—Mass of Solid, t—Time, T—Temperature)	Oil Yield	Fatty Acids Profile (%) (PUFA/MUFA/SFA, Dominant FA)	Reference
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) pomace	Pomace dried in the sun and milled	Soxhlet apparatus S: hexane 250 mL/ethanol 250 mL t: 8 h	Hexane 11.8% Ethanol 14.2%	Hexane extracted PUFA: 71.4 MUFA: 17.5 SFA: 11.1 Dominant: 18:2 n6 Ethanol extracted PUFA: 69.4 MUFA: 17.4 SFA: 13.2 Dominant: 18:2 n6	[88]
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>), strawberry (<i>Fragaria vesca</i>), blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>) pomaces	-	Sample homogenized S: chloroform and methanol (v/v, 2:1) M: 5.0 g	-	Chokeberry pomace PUFA: 73.58 MUFA: 16.91 SFA: 9.51 Dominant: C18:2 n6 Strawberry pomace PUFA: 55.77 MUFA: 18.16 SFA: 26.07 Dominant: C18:2 n6 Blackcurrant pomace PUFA: 69.11 MUFA: 11.56 SFA: 19.33 Dominant: C18:2 n6	[92]

Table 5. Antioxidant composition and capacity of berry by-product extracts obtained with the use of conventional methods.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid—Liquid Ratio, M—Mass of solid, t—Time, T—Temperature)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i> cv. Mortti), Green currant (<i>Ribes nigrum</i> cv. Verti), Redcurrant (<i>Ribes rubrum</i> cv. Red Dutch), White currant (<i>Ribes rubrum</i> cv. White Dutch) pomaces	None (thawed pomace)	S: 92% ethanol S—L: 1:2 (w/v)	Blackcurrant pomace TPC: 55.3 µmol GAE/g (fw) White currant pomace TPC: 24.7 µmol GAE/g Redcurrant pomace TPC: 20.5 µmol GAE/g Green currant pomace TPC: 17.1 µmol GAE/g	Blackcurrant pomace TRAP: 25.7 µmol TE/g (fw) ORAC: 88.8 µmol TE/g Redcurrant pomace TRAP: 11.6 µmol TE/g ORAC: 23.0 µmol TE/g Green currant pomace TRAP: 8.7 µmol TE/g ORAC: 32.9 µmol TE/g White currant pomace TRAP: 8.4 µmol TE/g ORAC: 16.8 µmol TE/g	[93]

Table 5. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid—Liquid Ratio, M—Mass of solid, t—Time, T—Temperature)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>), Blueberry (<i>Vaccinium angustifolium</i>) pomace	Pomace freeze-dried, then ground	S: 80% ethanol S—L: 1:5 (<i>w/v</i>) t: 1 h Mixed, obtained extracts were freeze-dried	<i>Cranberry pomace</i> TPC (Folin—Ciocalteu): 54.35 mg GAE/g (dm) TPC (Glories): 36.25 mg GAE/g Tartaric esters: 10.29 mg CAE/g Flavanols: 11.74 mg QE/g TAC: 11.14 mg C3 GE/g Tannins: 48.09 mg GAE/g <i>Blueberry pomace</i> TPC (Folin—Ciocalteu): 72.01 mg GAE/g TPC (Glories): 55.67 mg GAE/g Tartaric esters: 15.03 mg CAE/g Flavanols: 18.34 mg QE/g TAC: 38.53 mg C3GE/g Tannins: 58.87 mg GAE/g	<i>Cranberry pomace</i> ABTS: 306.77 μ mol TE/g (dm) FRAP: 243.61 μ mol TE/g <i>Blueberry pomace</i> ABTS: 468.79 μ mol TE/g FRAP: 372.22 μ mol TE/g	[94]
Bilberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>), Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>), Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>), Strawberry (<i>Fragaria vesca</i>) pomaces	None	S: 80% methanol with 0.05% acetic acid M: 20 g 3 times extracted: 60 min (160 mL of S), 30 min (80 mL of S) and 30 min (80 mL of S)	<i>Bilberry pomace</i> TPC: 11.16 mg GAE/g (fw) TFC: 10.47 mg RE/g TAC: 12.79 mg C3GE/g <i>Blackberry pomace</i> TPC: 8.05 mg GAE/g TFC: 2.45 mg RE/g TAC: 1.49 mg C3GE/g <i>Raspberry pomace</i> TPC: 6.38 mg GAE/g TFC: 5.92 mg RE/g TAC: 0.65 mg C3GE/g <i>Strawberry pomace</i> TPC: 4.88 mg GAE/g TFC: 2.96 mg RE/g TAC: 0.19 mg C3GE/g	<i>Bilberry pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.040 mg/mL (pomace extract) <i>Blackberry pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.017 mg/mL <i>Raspberry pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.040 mg/mL <i>Strawberry pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.038 mg/mL	[95]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) wild and cultivated (cv. Cacanska Bestrna and cv. Chester Thornless) pomaces	-	Soxhlet apparatus S: 80% ethanol t: 6 h extracts dried in a vacuum desiccator	<i>Blackberry cv. Chester Thornless pomace</i> TPC: 35.40 mg GAE/g fresh pomace (dm) TFC: 5.66 mg QE/g Flavanols: 6.63 mg QE/g Monomeric anthocyanins: 17.31 mg C3GE/g <i>Blackberry cv. Cacanska Bestrna pomace</i> TPC: 26.30 mg GAE/g TFC: 3.32 mg QE/g Flavanols: 2.55 mg QE/g Monomeric anthocyanins: 8.43 mg C3GE/g <i>Blackberry wild pomace</i> TPC: 48.28–50.16 mg GAE/g TFC: 7.45–7.73 mg QE/g Flavanols: 6.13–6.39 mg QE/g Monomeric anthocyanins: 13.05–13.40 mg C3GE/g	<i>Blackberry cv. Chester Thornless pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.178 mg/mL (pomace extract) ABTS IC ₅₀ : 0.035 mg/mL <i>Blackberry cv. Cacanska Bestrna pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.206 mg/mL ABTS IC ₅₀ : 0.047 mg/mL <i>Blackberry wild pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.106–0.127 mg/mL ABTS IC ₅₀ : 0.024–0.027 mg/mL	[28]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Meeker and cv. Willamette) pomace	None	S: 80% methanol with 0.05% acetic acid M: 20 g T: room temperature Two extractions in: 160 mL, 60 min and 80 mL, 30 min	<i>cv. Meeker pomace</i> TPC (HPLC): 338.80 mg/100 g (pomace) <i>cv. Willamette pomace</i> TPC: 410.66 mg/100 g	<i>cv. Meeker pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.67 mg/mL (pomace extract) <i>cv. Willamette pomace</i> DPPH IC ₅₀ : 0.54 mg/mL	[96]

Table 5. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, M—Mass of solid, t—Time, T—Temperature)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>), blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) and raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) pomace	Dehydrated, ground, separated into 2 groups depending on particle size (smaller particle size, 0.15 mm, and larger, 1 mm)	S: methanol S–L: 1:20 t: 1–24 h T: 40 °C using orbital shaker	Obtained after the most effective extraction parameters <i>Cranberry pomace</i> (1 h, larger particles) TPC: 138 mg GAE/g (fresh extract) <i>Blueberry pomace</i> (6 h, smaller particles) TPC: 172 mg GAE/g <i>Raspberry pomace</i> (18 h, smaller particles) TPC: 270 mg GAE/g	Obtained after the most effective extraction parameters <i>Cranberry pomace</i> (1 h, larger particles) DPPH EC ₅₀ : 3.73 mg/mL (pomace extract) <i>Blueberry pomace</i> (6 h, smaller particles) DPPH EC ₅₀ : - <i>Raspberry pomace</i> (18 h, smaller particles) DPPH EC ₅₀ : 0.30 mg/mL	[97]
Strawberry (<i>Fragaria vesca</i>) pomace	Pomace dried in convection dryer (temp. 65–70 °C, 8 h), sieved, particles over 5 mm were ground to obtain final material, with particle size between 2 and 5 mm	Water extraction S: water S–L: 4:1 M: 1500 g t: 1 h T: 65–70 °C 3 times extracted Ethanol extraction S: 60% ethanol (4 L) S–L: 4:1 M: 3.5 kg of aqueous extract t: 24 h T: 20 °C Repeated once using 3.5 L of ethanol	Water extract TPC (HPLC): 5.8 g/100 g (dm) Ethanol extract TPC: 29.71 g/100 g	-	[98]
Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) Redcurrant (<i>Ribes rubrum</i>) and Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) pomaces	Lyophilized and ground pomaces	S: 75% methanol with 1% HCl (5 mL) M: 1 g t: 12 h T: 25 °C	<i>Blueberry pomace</i> TPC: 19.55 mg GAE/g (dm) TAC (HPLC): 11.88 mg/g <i>Raspberry pomace</i> TPC: 20.15 mg GAE/g TAC: 1.88 mg/g <i>Redcurrant pomace</i> TPC: 34.47 mg GAE/g TAC: 1.50 mg/g <i>Blackberry pomace</i> TPC: 17.00 mg GAE/g TAC: 1.92 mg/g	<i>Blueberry pomace</i> ABTS: 269.8 µmol TE/g (dm) <i>Raspberry pomace</i> ABTS: 297.5 µmol TE/g <i>Redcurrant pomace</i> ABTS: 608.3 µmol TE/g <i>Blackberry pomace</i> ABTS: 225.4 µmol TE/g	[27]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Meeker and cv. Willamette)	None	S: 80% methanol with 0.05% acetic acid M: 70 g T: room temperature 2 times extracted (A) t: 60 min, 560 mL of solvent (B) t: 30 min, 280 mL of solvent	<i>cv. Meeker pomace</i> TPC: 26.3 mg GAE/g (dm) TFC: 25.2 mg RE/g TAC: 4.28 mg C3GE/g <i>cv. Willamette pomace</i> TPC: 43.7 mg GAE/g TFC: 22.0 mg RE/g TAC: 2.32 mg C3GE/g	<i>cv. Meeker pomace</i> DPPH EC ₅₀ : 0.072 mg/mL (pomace extract) <i>cv. Willamette pomace</i> DPPH EC ₅₀ : 0.042 mg/mL	[31]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) residues after pulp processing and blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) residues after juice processing	None	S: ethanol 200 mL M: 5 g t: 5 h T: 80 °C Soxhlet apparatus	<i>Blackberry pomace</i> TPC: 7.84 mg GAE/g (dm) Monomeric anthocyanins: 2.82 mg C3GE/g <i>Blueberry pomace</i> TPC: 6.83 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 2.58 mg C3GE/g	<i>Blackberry pomace</i> DPPH: 66.92 µmol TE/g (dm) ABTS: 124.14 µmol TE/g FRAP: 120.90 µmol TE/g <i>Blueberry pomace</i> DPPH: 40.38 µmol TE/g ABTS: 100.66 µmol TE/g FRAP: 63.90 µmol TE/g	[99]

* Results are expressed as written in the bracket after first given result.

3.2. Ultrasound Assisted Extraction

Ultrasound-assisted extraction (UAE) involves using ultrasound generating devices with the proper solvent to extract bioactive compounds. In a review by Medina-Torres et al. [100], the mechanism and effects on plant tissue of UAE is summed up. UAE utilizes the phenomenon of acoustic cavitation which results in damage to the cell walls of plant material, as shown in Figure 3. This leads to increased release of bioactive compounds. The operating principles of ultrasound are mechanical waves characterized by length, amplitude, frequency, speed, power and intensity. Ultrasonic wave frequency ranges from 20 kHz to 10 MHz. The sustainability of UAE is due to decreased solvent and energy consumption according to lower time and temperature requirements as compared to conventional extraction methods.

Table 6 presents a summary of pretreatment and extraction parameters used in ultrasound assisted extraction. UAE was successfully used as a method for the isolation of bioactive compounds from fresh berry fruits. It led to the improved yield of polyphenols (and therefore antioxidant activity) of extract obtained from chokeberry fruits. In addition, temperature increase and addition of ethanol to the solvent enhanced the efficiency of the process [101]. UAE prior to the separation and analysis of polyphenol compounds in strawberry fruits results in decreased extraction time [102]. It was also found that UAE allowed the use of a lower temperature and lower solvent concentrations in anthocyanin extraction from blueberry fruits and that it results in monomeric anthocyanin-rich extracts [103]. UAE has been applied to extract the lipid fractions from seeds other than berry fruit seeds. The crucial parameter for oil extraction yield from apricot kernels was temperature [104]. However, in UAE from papaya seeds, the most significant factors for oil extraction yield, AA and oil stability were time and temperature [105]. Fatty acid composition and the TAG profile of oil from papaya seed extracted by UAE does not vary significantly from oil extracted conventionally [106].

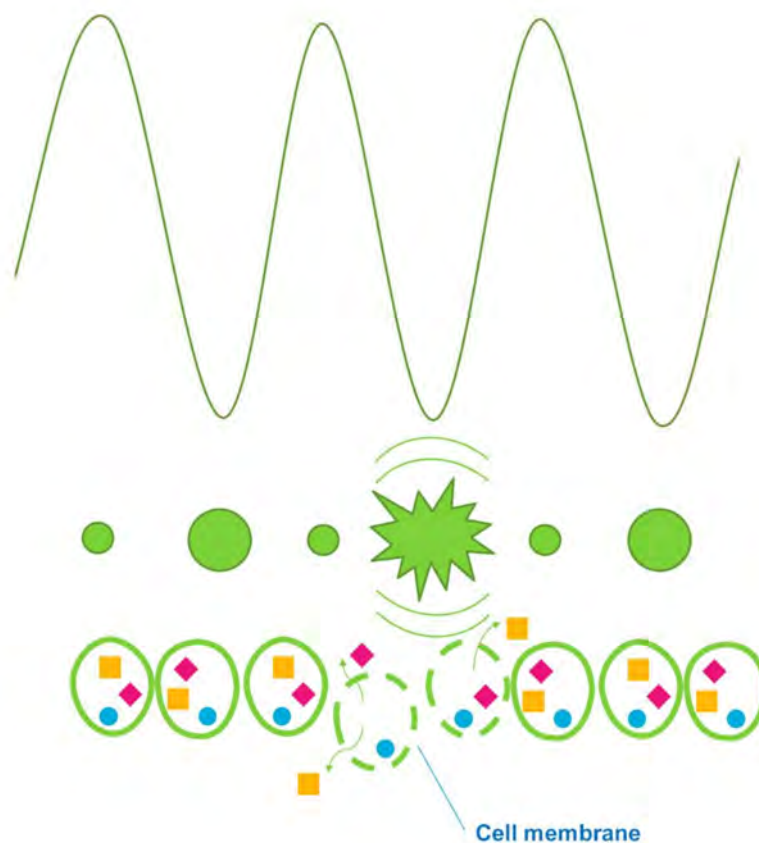


Figure 3. A scheme of ultrasound impact on the plant material.

3.2.1. Polyphenolic Compounds

Krivokapić et al. [107] examined raspberry pomace extraction using the UAE method and compared it to conventional maceration. UAE was conducted in an ultrasonic cleaner for 20 min at 50 °C and 50 kHz with acidulated methanol as a solvent. The obtained results showed that measured TPC, TFC and TAC were all significantly increased when UAE was used. It led to levels of 27.79 mg GAE/L of extract, 8.02 mg QE/g of pomace and 7.13 mg CGE/L of extract for TPC, flavonoid content and anthocyanin content, respectively. In addition, AA measured in FRAP and DPPH assays was higher in extracts treated with ultrasound. The values obtained for FRAP and DPPH were 1002.72 µmol FE/L of extract and 567.00 µmol TE/100 g of pomace, respectively. Ellagic acid was detected by HPLC as the most abundant polyphenol. Bamba et al. [108] conducted UAE of polyphenols from blueberry wine pomace. Before extraction, the pomace was stored as freeze-dried material. In this paper, it was summarized how individual parameters of UAE—sonication time, solid–liquid ratio, solvent type, temperature and pH—affected the quality of extracts. Qualitative parameters consisted of TPC, TFC, TAC and AA. The time of extraction significantly affected only TAC, which values were significantly higher in the case of a 90 min run. Solid–liquid ratio was a factor determining changes in all measured parameters. With water used as a solvent, TPC, TFC and TAC were highest for the lowest value of the solid–liquid ratio—1/40. A solid–liquid ratio of 50% ethanol at the lowest level of 1/20 resulted in the highest AA, TPC and TAC in extracts. However, TFC did not follow that trend and the highest values were reached with a 1/15 ratio. In addition, concentrations for all of the compounds, as well as the AA value, were significantly higher when 50% ethanol was used in UAE. Ethanol concentration was also a parameter affecting bioactive compound yield and AA of extracts. The most effective concentration was 50% (*v/v*) ethanol in water. The lowest TPC, TFC, TAE and AA values were obtained using the highest concentration of ethanol—90% (*v/v*). pH determined significantly TPC, TAC and AA, and for TPC and AA, pH 8.3 was the most effective; however, it resulted in decreased TAC, which was highest with pH 3.3. The temperature set at 60 °C resulted in significantly increased TFC and AA but decreased TPC, for which a temperature set at 20 °C was the most preferable. TAC was not significantly affected by temperature. The anthocyanidin profile was specified by HPLC. In both water and ethanolic extracts, the most abundant compound was malvidin and subsequently delphinidin, petunidin and cyanidin. Zafra-Rojas et al. [109] described UAE optimization using RSM. The experiment was held under constant conditions of frequency 20 kHz, S–L ratio 1:24 and a temperature of 4 °C at the beginning of the process and measured as 25 °C at the end. Variable parameters were the amplitude of ultrasounds, in a range of 80–90%, and the time of extraction, in a range of 10–15 min. Mathematical analysis revealed an amplitude and time of 91% and 15 min, respectively, as the most beneficial parameters for TPC, TAC and AA extracts at dm basis. Predicted values were 1200 mg GAE/100 g TPC, 380 mg/100 g TAC and 6300 µmol TE/100 g AA in an ABTS assay and 9600 µmol TE/100 g in a DPPH assay. The experimental values obtained at optimum UAE conditions were: 1201.23 mg GAE/100 g, 379 mg/100 g, 6318 µmol TE/100 g and 9617.22 µmol TE/100 g for TPC, TAC, AA (determined by ABTS) and AA (determined by DPPH), respectively. The UAE method was compared to conventional SLE with use of both water and ethanol. UAE yielded the highest values for TPC and AA in both assays. However, TAC in the extract obtained by UAE was not significantly different from the TAC of the extract obtained by SLE with water and was significantly lower compared to the result for SLE with ethanol. The impact of ultrasound treatment on other unconventional methods of extraction was also investigated. Xue et al. [110] combined UAE with enzymatic treatment of pectinase. The mechanism of enzyme impact on the extraction process was provided in the following text. Raspberry pomace obtained from the wine industry was freeze-dried until the moisture content was <5%. After 12 h at −18 °C, it was milled to 0.45 mm as the maximum size of particles. Conditions of UAE were determined using RSM. The most efficient parameters of anthocyanin extraction were chosen as follows: temperature 43.94 °C, ultrasound power 290.9 W, time 30 min and pectinase dosage 0.16%.

S–L ratio and type of solvent were constant and ranged from 1/30 and 60% (*v/v*) acidulated ethanol, respectively. To evaluate the mathematical method the following conditions were set: temperature 44 °C, power of ultrasound 290 W, time 30 min and pectinase dosage 0.16%. The obtained value of anthocyanin yield was 0.853 mg/g of pomace (dm) vs. the predicted 0.888 mg/100 g. Enzymatic extraction with US treatment was compared with conventional extraction methods: SLE with hot water, SLE with acidulated ethanol and EAE (without US). US resulted in the highest extraction efficiency and TAC values in obtained extracts. AA measured in DPPH and RP (reducing power) assays reached the highest values when US was used. The AA value of the product extracted using US, as determined in an ABTS assay, was not significantly different from conventional EAE but was significantly increased compared to the AA values of extracts obtained in both SLEs. Ramić et al. [111] used UAE to extract polyphenolic compounds from chokeberry by-products from a filter-tea factory, produced from pomace remaining after juice pressing. The most efficient parameters were chosen using RSM for every quantitative factor individually (TPC, TFC, monomeric anthocyanin content and proanthocyanins content). The common optimal parameter for all the measured properties of extracts was the temperature set at 70 °C. Other values of conditions predicted as the most efficient were as follows: for TPC—206.64 W and 80.1 min; for TFC—210.24 W and 75 min; for monomeric anthocyanins content—216 W and 70 min; and for proanthocyanins content—199.44 W and 70 min for power and time, respectively. The observed values of yields for individual compounds were 15.058 mg GAE/mL extract (vs. predicted 15.41 mg GAE/mL), 10.436 mg CE/mL (vs. predicted 9.86 mg CE/mL), 2.09 mg C3GE/mL (vs. predicted 2.26 mg C3GE/mL) and 19.82 mg CE/mL (vs. predicted 20.67 mg CE/mL) for TPC, TFC, monomeric anthocyanins content and proanthocyanins content, respectively. He et al. [112] used UAE to extract polyphenolic compounds from blueberry wine pomace. The experiment was designed using RSM and optimal parameters were predicted as follows: temperature 61 °C, S–L 1:22, time 24 min. It resulted in extraction yields of 16.03 mg GAE/g pomace and 4.19 mg C3GE/g pomace for TPC and TAC, respectively. (Predicted values were 15.81 mg GAE/g pomace for TPC and 4.12 mg C3GE/g pomace for TAC.) Compared to the conventional method, the SLE method with acidulated ethanol (70%) used as a solvent running for 35 min and with applied optimal conditions for UAE (temperature—61 °C; S–L ratio—1/22), UAE appeared to be significantly more efficient, despite a shorter extraction time. There were seven anthocyanins also identified, which were present in both extracts: delphinidin-3-O-glucoside, delphinidin-3-O-arabinoside, petunidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-O-arabinoside, cyanidin-3-O-glucoside, malvidin-3-O-glucoside and malvidin-3-O-arabinoside. Lončarić et al. [113] designed an experiment with different extraction methods (PEF-assisted—mentioned in the following text and high voltage electrical discharge-assisted). UAE with variable conditions of time, temperature and solvent type was conducted. The results showed that TPC, AA, TAC, flavanol and flavonol contents reached the highest levels when UAE was performed at 80 °C and lasted 15 min. The type of used solvent did not affect the obtained values. Only phenolic acid yield was associated with methanol used as a solvent, an applied temperature of 40 °C and an extraction time of 15 min. Compared to PEF-assisted and HVED-assisted extraction methods, UAE resulted in the lowest yields of polyphenolic compounds and AA.

The UAE method was also used to obtain blackberry seed extracts from three cultivars: Dirksen, Thornfree and Black Satin. Extract yields were dependent on the cultivar and, in the case of Black Satin, the highest yield of 7% was reached. Polyphenolic compounds of obtained extracts were also determined. LC/UV/MS analysis enabled the identification of 64 polyphenols in extracts: 47 ellagitannins, 10 ellagic acid derivatives, 4 gallic acid derivatives and traces of protocatechuic, chlorogenic and salicylic acid. The most abundant compound for both Thornfree and Dirksen seed extracts was free ellagic acid and the main constituent of Black Satin seed extract was lambertianin C. Additionally, three polyphenolic compounds were successfully isolated from extracts using a semipreparative HPLC method [114].

3.2.2. Lipid Fraction

Teng et al. [115] extracted oil from raspberry seeds using UAE. In the experimental design, optimal values of time and temperature were predicted in order to obtain the highest yield, vitamin E content and AA. The parameters for time and temperature were reported as 37 min and 54 °C, respectively. These conditions resulted in a 22.78% extraction yield (23% predicted), 15.21 mg/g dm vitamin E content (15 mg/g dm predicted) and 80.94 µmol TE/g dm AA (81.65 µmol TE/g dm predicted). Compared to conventional SLE using the Soxhlet apparatus method, all the examined determinants were increased when US was applied. The extract obtained using US presented an improved FA profile, containing significantly less SFA than conventionally obtained extract. However, in both extracts, the dominant FA was linoleic acid, followed by γ-linolenic acid.

3.2.3. Impact of Processing Conditions

The efficiency of the UAE process expressed as quantity of antioxidants and antioxidative capacity depends mostly on the species of fruit. There are also conditions of extraction that modulate the effectiveness of UAE, listed below.

Time: Researchers claim that time of sonication influenced polyphenol or lipid fraction yields. Only in the case of one analyzed study, sonication time did not influence the polyphenol content in extracts (besides TAC). With increasing sonication time, yields were higher; however, after reaching specific cutoff values, which may vary among the studies and among the examined compounds, yields decreased [109–113,115].

Temperature: The impact of temperature on extract yield and composition is reported. Generally, the relationship between increasing temperature and polyphenol yield is similar to the impact of time on the yield of extraction. With increasing temperature, polyphenol content increases but beyond a specified point starts to decrease [109,112]. Optimal temperature conditions may vary when its impact on specific fractions of polyphenols is being measured. For example, extracts with high TAC and phenolic acids are obtained at lower temperatures [110,113]. By contrast, higher temperatures result in increased quality and yield of oil obtained by UAE [115].

Solvent type: When different solvent types were compared, the use of ethanol resulted in the highest polyphenol yields. Reports, however, differ with respect to the data provided for the specific concentrations that are most effective in UAE. Machado et al. [99] found 70% ethanol to be optimal for polyphenol extraction yields from blackberry and blueberry pomaces, in contrast to Bamba et al.'s [108] research, which found 50% ethanol to be optimal. However, Lončarić et al. [113] reports that solvent type did not affect specific polyphenol extraction yields except for phenolic acids, whose content was highest when methanol was used.

Table 6. Conditions and results for ultrasound-assisted extraction of oils and bioactive compounds from berry by-products.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, P—Power, T—Temperature, t—Time, f—Frequency, S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, A—Amplitude)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) pomace	None	E: ultrasonic cleaner t: 120 min T: 50 °C f: 50 kHz S: acidulated methanol (80%)	TPC: 27.79 mg GAE/L (extract) TFC: 8.02 mg QE/g (pomace) TAC: 7.13 mg C3GE/L (extract)	FRAP: 1007.72 µmol/L FRAP DPPH: 567.00 µmol/100 g TE DPPH IC ₅₀ : 20.00 µL/mL	[107]

Table 6. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, P—Power, T—Temperature, t—Time, f—Frequency, S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, A—Amplitude)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Blueberry (<i>Vaccinium angustifolium</i>) pomace	Freeze-dried pomace	E: ultrasonic cleaner bath S–L: 1/10; 1/15; 1/20; 1/40 S: water or ethanol (10/50 or 90% <i>v/v</i> in water) t: 30;40;60;90 min T: 20/40/60 °C pH: 3.3/5.0/6.3/8.3 f: 35 kHz Study was divided into parts where one of the factors was modulated while the others were constant	<i>Effect of time</i> (S: water, S–L: 1/20, T: 40 °C): TPC, TFC, TAC highest in 90 min <i>Effect of S–L</i> (S: 50% ethanol, T: 40 °C, t: 60 min) TPC, TAC, DPPH highest in 1/20; TFC in 1/15 <i>Effect of ethanol concentration</i> (S–L: 1/15, T: 40 °C, t: 40 min): TPC, TFC, TAC, DPPH highest in 50% ethanol <i>Effect of pH</i> (S: 50% ethanol, S–L: 1/15, T: 40 °C, t: 40 min) TPC, TFC, DPPH highest at pH 8.3, TAC in pH 3.3 <i>Effect of temperature</i> (S: 50% ethanol, S–L: 1/15, t: 40 min): TPC, TAC highest at 20 °C, TFC, DPPH in 60 °C	[108]	
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) pomace	Lyophilized, milled and sieved (500 um particle size)	E: ultrasound processor f: 20 kHz S: water S–L: 1/24T: 4 °C (at the beginning), 25 °C (at the end of extraction) A: 80–90% t: 10–15 min	Optimum conditions A: 91% and t: 15 min TPC: 1201.23 mg GAE/100 g (dm) TAC: 379.12 mg/100 g	ABTS: 6318 µmol TE/100 g (dm) DPPH: 9617.22 µmol TE/100 g	[109]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) pomace	Freeze-dried, milled (0.45 mm)	UAE combined with enzymatic extraction E: not specified S–L: 1/30 S: acidulated 60% ethanol (<i>v/v</i>) t: 20/30/40 min T: 40/45/50 °C +enzyme (pectinase dosage): 0.10/0.15/0.20%	Optimum conditions T: 44 °C, P: 290 W, t: 30 min, pectinase dosage: 0.16% Anthocyanin yield: 0.853 mg/g (fw)	DPPH: 417.15 TE/g (extract) ABTS: 520.07 TE/g	[110]
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>) by-products from filter-tea production (tea produced from pomace)	None	M: 10.0 g S: 50% ethanol E: sonication water bath S–L: 1/5 f: 40 kHz P: 72/144/216 W T: 30/50/70 °C t: 30/60/90 min	Optimum conditions for each property in brackets TPC: 15.058 mg GAE/mL (extract) (P: 206.64 W, T: 70 °C, t: 80.1 min) TFC: 10.436 mg CE/mL (P: 210.24 W, T:70 °C, t: 75 min) Monomeric anthocyanins: 2.09 mg C3GE/mL (P: 216 W, T:70 °C, t: 45.6 min) Proanthocyanins: 19.82 mg CE/mL (P: 199.44 W, T:70 °C, t: 89.7 min)	-	[111]

Table 6. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, P—Power, T—Temperature, t—Time, f—Frequency, S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, A—Amplitude)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Blueberry (<i>Vaccinium ashei</i>) pomace	Pomace dried in air- circulating oven at 30 °C for 48 h, then milled	E: not specified S: acidulated ethanol (70% v/v) P: 400 W T: 50/60/70 °C t: 15/25/35 min S–L: 1/15, 1/20, 1/25	Optimal conditions T: 61 °C, S–L: 1/22 TPC: 16.03 mg GAE/g (pomace) TAC: 4.19 mg C3GE/g	-	[112]
Blueberry pomace	Freeze-dried, milled	E: ultrasonic bath F: 35 kHz S: acidulated ethanol (50%)/acidulated methanol (50%) t: 5/10/15 min T: 20/40/80 °C	Highest values for: TPC: 5.46 mg GAE/g (dm) (Ethanol, 15 min, 80 °C) TAC: 953.91 µg/g (Methanol, 15 min, 80 °C) Phenolic acids: 561.26 µg/g (Methanol, 15 min, 80 °C) Flavanols: 156.04 µg/g (Methanol, 15 min, 80 °C) Flavonols: 98.63 µg/g (Methanol, 15 min, 80 °C)	Highest values for: DPPH: 0.25 mmol TE/g (dm) (Methanol, 15 min, 80 °C)	[113]
Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>) pomace and blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) residues after pulp processing	None	E: ultrasonic bath F: 37 kHz P: 580 W S–L: 1/22,5 S: ethanol 50%/ethanol 70%/acidified water t: 90 min T: 80 °C	<i>Blackberry residues</i> Ethanol 50% TPC: 5.28 mg GAE/g (dm) Monomeric anthocyanins: 2.37 mg C3GE/g Ethanol 70% TPC: 5.86 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 2.38 mg C3GE/g Acidified water TPC: 2.08 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 1.26 mg C3GE/g <i>Blueberry residues</i> Ethanol 50% TPC: 4.40 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 2.07 mg C3GE/g Ethanol 70% TPC: 5.75 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 2.33 mg C3GE/g Acidified water TPC: 2.47 mg GAE/g Monomeric anthocyanins: 1.36 mg C3GE/g	<i>Blackberry residues</i> Ethanol 50% DPPH: 49.50 µmol TE/g (dm) ABTS: 67.35 µmol TE/g FRAP: 81.59 mg TE/g Ethanol 70% DPPH: 51.50 mol TE/g ABTS: 70.01 µmol TE/g FRAP: 85.09 mg TE/g Acidified water DPPH: 17.63 µmol TE/g ABTS: 24.34 µmol TE/g FRAP: 37.03 mg TE/g <i>Blueberry residues</i> Ethanol 50% DPPH: 33.90 µmol TE/g ABTS: 55.11 µmol TE/g FRAP: 49.94 mg TE/g Ethanol 70% DPPH: 42.51 µmol TE/g ABTS: 55.25 µmol TE/g FRAP: 54.82 mg TE/g Acidified water DPPH: 19.94 µmol TE/g ABTS: 19.36 µmol TE/g FRAP: 50.16 mg TE/g	[99]

Table 6. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, P—Power, T—Temperature, t—Time, f—Frequency, S—Solvent, S—L—Solid–Liquid Ratio, A—Amplitude)	Antioxidant Composition *	Antioxidant Capacity *	Reference
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i> cv. Nero) pomace	Freeze-dried and ground pomace	E: ultrasonic processor t: 10/13/20/27/30 min S–L: 1/10 S: 60/65/78/90/96% ethanol T: 25 °C A: 50 µm	Highest values for: TPC: 188 mg GAE/g (dm) (60% ethanol, 20 min) TAC: 89.3 mg C3GE/g (65% ethanol, 13 min)	Highest values for DPPH: 49.2 mmol TE/100 g (dm) (60% ethanol, 20 min)	[116]
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>) pomace	-	E: horn-type transducer with cooling bath S: ethanol-water (1:1)S–L: 1/10 f: 20 kHz A: 14 µm t: 600 s	TPC: 1046 mg/L GAE Monomeric anthocyanins: 631 mg/L C3GE	-	[32]
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i>) stems	Dried stems	E: ultrasonic water bath S: water t: 30 min S–L: 1/25	TPC: 5.22 mg GAE/g (dm) TFC: 3.94 mg RE/g	ABTS IC₅₀: 10.09 µg/mL (extract)	[117]
Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i> cv. Galicjanka) pomaces obtained from juice pressing from crushed and uncrushed fruits	Freeze-dried, ground pomaces	E: ultrasonic bath S: methanol with 2% formic acid S–L: 1/25 t: 25 min	<i>Pomace from crushed fruits</i> TPC (UPLC): 15.61 g/100 g (dm) <i>Pomace from uncrushed fruits</i> TPC: 24.45 g/100 g	<i>Pomace from crushed fruits</i> ABTS: 59.94 mmol TE/100 g (dm) FRAP: 32.61 mmol TE/100 g <i>Pomace from uncrushed fruits</i> ABTS: 81.63 mmol TE/100 g FRAP: 52.22 mmol TE/100 g	[118]
Lipid fractions					
Source of waste	Pretreatment method	Procedure	Oil yield	Fatty acid composition (%)	
Raspberry (<i>Rubus coreanus</i>) seeds	Seeds dried in a convection oven at 60 °C for 24 h, then milled	E: sonication cleaning bath f: 40 kHz P: 250 W S–L: 1/40 S: ethanol t: 10/20/30/40/50 min T: 30/40/50/60/70 °C	Optimal conditions: 54 °C, 37 min 22.78%	SFA: 2.45 MUFA: 0.55 PUFA: 92.25	[115]

* Results are expressed as written in the bracket after first given result.

3.3. Pulsed Electric Field-Assisted Extraction

A review by Kumari et al. [119] described a pulsed electric field (PEF) applied in short duration pulses of moderate voltage to a material placed between two electrodes. The effect of PEF includes electroporation caused by damage to cell membranes. The formation of pores leads to mechanical breakdown of cell membranes and the material is defined as disintegrated, as presented at Figure 4. Factors involved in PEF-assisted extraction are the intensity of the electric field, the duration of treatment, the waveform of the pulse, conductivity, the porosity of the material, pH and the ionic strength of the solvent. PEF

technology results in improved extraction of intracellular compounds due to increased diffusivity of intracellular substances and increased mass transfer rates. The conditions and effects of PEF applied in the pretreatment of berry fruits before juice pressing on antioxidant content and antioxidant capacity in pomace extracts are summarized in Table 7.

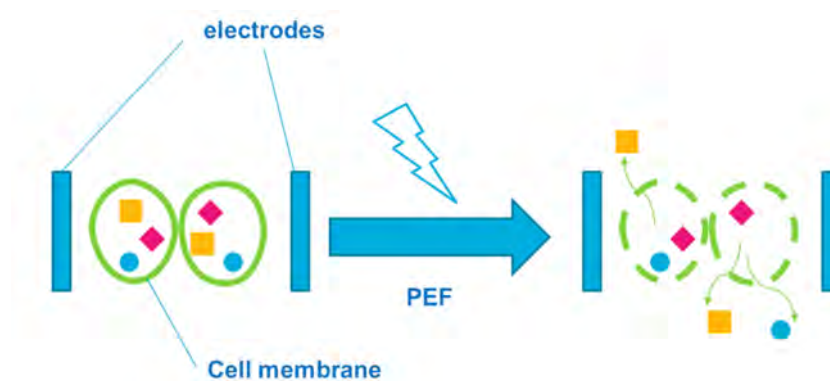


Figure 4. A scheme of PEF impact on plant material.

PEF was applied to improve the extraction of juice from blueberries. Anthocyanins from blueberry pomace were investigated by Pataro et al. [120]. Blueberries, cut in half, were pretreated by PEF with different input energy values—1 kJ/kg, 5 kJ/kg or 10 kJ/kg—before juice pressing. In all the samples of pomace obtained after pressing blueberries pretreated with PEF, TAC and AA were increased compared to the control (a sample of pomace remaining after pressing the juice from blueberries untreated with PEF). A correlation between increased energy input and increased values of both TAC and AA was noticed. PEF was also applied to crushed blueberries before juice-pressing in a study conducted by Bobinaite et al. [121]. An influence of field strength value on the SLE of pomace efficiency was studied and it was found that the highest used field strength—5 kV/cm—resulted in the highest antioxidant content and capacity of blueberry pomace extracts. The values of antioxidant content and antioxidant activity were increased compared to extracts obtained from blueberry pomace untreated with PEF before juice pressing. Loncarić et al. [113] applied PEF to freeze-dried and milled pomace, which was then extracted (SLE) with acidulated ethanol or with acidulated methanol used as a solvent. The correlation between specific phenolic yields and variable numbers of pulses, energy inputs and solvent types was studied. For TPC, phenolic acids and flavonols, the most suitable conditions were: 100 pulses, a field strength of 20 kV/cm and acidulated ethanol used as a solvent. For TAC and flavanols, the number of pulses and the field strength defined as most efficient did not change, but acidulated methanol was preferable as a solvent. The DPPH of an extract was highest (830 $\mu\text{mol TE/g dm}$) when the number of pulses was 100, the field strength was 20 kV/cm and acidulated ethanol was used as a solvent. Another example of PEF application in antioxidant extraction from blueberry pomace was described by Zhou et al. [122]. The researchers treated with PEF pomace thawed to a liquid state and ground in a colloid mill. The influence of variable conditions of treatment on anthocyanin yield was studied: the number of pulses, field strength and liquid–liquid ratio. The highest extraction yields were obtained after 10 pulses of PEF with a field strength of 20 kV/cm and using acidic ethanol in a ratio of one-to-six. Compared with UAE, PEF extraction resulted in higher anthocyanin extract yields despite a shorter time and lower temperature for the process.

As the above results for PEF-assisted extraction from by-products only concern blueberry pomace treatment, an example of extraction of polyphenolic compounds from blackcurrant juice preceded by PEF application could be mentioned (not included in the following table). The PEF procedure was conducted before juice production under optimized conditions, as determined by RSM modelling. The chosen conditions for the electric field—

1318 V/cm and 315 pulses (pulse width 100 ms)—followed by methanol (for TPC and AA determination) or ethanol (for monomeric anthocyanin content determination) liquid extraction of blackcurrant juice resulted in extracts with significantly lowered pH but increased TPC, AA and monomeric anthocyanin content compared to the control (blackcurrant juice untreated with PEF) [123]. Conditions of extraction also influence the effectiveness of PEF, as listed below.

Impact of Processing Conditions

Field strength: Most studies show that a higher field strength results in increased antioxidant compound yields. When field strength is greater, the potential difference outside and inside the cell membrane is higher than the critical membrane potential and this improves the dissolution rate of the cell membrane. However, applying too strong a field may promote antioxidant degradation [119].

Number of pulses: Study results are inconclusive regarding the influence of the number of PEF pulses on the antioxidant content and capacity of extracts. Lončarić et al. [113] claim that the highest number of pulses used (100) resulted in the highest antioxidant content and capacity, while Zhou et al. [122] claim that 12 pulses was less efficient than 10, this being the optimal number of PEF pulses for the anthocyanin extraction process.

Solvent type: The properties of solvents which may determine extraction efficiency are described in the paragraph focused on SLE.

Table 7. Conditions and results of pulsed electric field-assisted extraction of bioactive compounds from berry by-products.

Material	PEF Conditions (E—Equipment, P—Power, FS—Field Strength, f—Frequency, W—Pulse Width, I—Energy Input, S—Solvent, L—Liquid–Liquid Ratio)	Procedure	Antioxidant Composition *	Antioxidant Activity *	Reference
Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	E: generator of monopolar square wave pulses FS: 3 kV/cm f: 10 Hz W: 20 µs I: 1/5/10 kJ/kg	PEF was applied to blueberry fruits cut in half, before pressing, obtained pomace examined	Optimum conditions I: 10 kJ/kg TAC (HPLC): 1574.1 mg/100 g (pomace)	Optimum conditions I: 10 kJ/kg DPPH : 34.2 µmol TE/g (pomace) FRAP : 68.0 µmol TE/g	[120]
Blueberry (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	E: cylindrical PEF treatment chamber (monopolar square pulses) FS: 1/3/5 kV/cm f: 10 Hz W: 20 µs P: 20 kW (average) I: 10 kJ/kg	PEF applied to crushed fresh berries before juice pressing. By-product was extracted in SLE and examined.	Optimum conditions FS: 5 kV/cm TPC : 1782.64 mg GAE/100 g (fw) TAC : 1698.55 mg/100 g	Optimum conditions FS: 5 kV/cm FRAP : ca. 72 µmol TE/g (fw)	[121]
Blueberry pomace	E: laboratory PEF treatment chamber Pulse duration: 2 µs No. of pulses: 10/50/100 FS: 10/15/20 kV/cm	PEF applied to lyophilized and milled pomace, followed by SLE extraction with acidulated ethanol or acidulated methanol	Optimum conditions in brackets: TPC : 10.52 mg GAE/g (dm) (Ethanol, 20 kV/cm, 100 pulses) TAC : 1757.32 µg/g (Methanol, 20 kV/cm, 100 pulses) Phenolic acids : 625.47 µg/g (Ethanol, 20 kV/cm, 100 pulses) Flavanols : 297.86 µg/g (Methanol, 20 kV/cm, 100 pulses) Flavonols : 157.54 µg/g (Ethanol, 20 kV/cm, 100 pulses)	Optimum conditions in brackets: DPPH : 830 µmol TE/g (dm) (Ethanol, 20 kV/cm, 100 pulses)	[113]

Table 7. Cont.

Material	PEF Conditions (E—Equipment, P—Power, FS—Field Strength, f—Frequency, W—Pulse Width, I—Energy Input, S—Solvent, L—L—Liquid–Liquid Ratio)	Procedure	Antioxidant Composition *	Antioxidant Activity *	Reference
Blueberry pomace	E: PEF system Pulse duration: 2 μ s S: acidic ethanol L/L: 1:5/1:6/1:7 FS: 15/20/25 kV/cm No of pulses: 8/10/12 Flow rate: 7 mL/min	Thawed to liquid, grinded in colloid mill pomace was treated with PEF in liquid material chamber	Optimum conditions No of pulses: 10, FS: 20 kV/cm, L/L: 1:6 TAC: 223.13 mg C3GE/L (extract)	-	[122]

* Results are expressed as written in the bracket after first given result.

3.4. Microwave-Assisted Extraction (MAE)

Microwave-assisted extraction employs microwaves—non-ionizing electromagnetic waves—which cause changes in plant cell structure. The phenomena of heat and mass transfer which proceed in one direction occur in this type of extraction. The microwave energy is applied directly to material due to molecular interactions with the electromagnetic field through the conversion of electromagnetic energy to thermal energy. The heat must be then dissipated volumetrically inside the sample. These phenomena improve cell penetration and the internal and external diffusion of compounds is what finally leads to improved extraction yields [124]. The examples of microwaves applied in bioactive compound extraction processes for berry fruit wastes are presented in Table 8.

Pap et al. [125] studied the optimum conditions for MAE of anthocyanins from blackcurrant pomace. Variable values for power, time, solid–liquid ratio and the pH of the solvent were applied. Results have shown that the highest power (700 W) and solid–liquid ratio (1:20) but the shortest time (10 min) and the lowest pH (2) values were the most efficient conditions for anthocyanin extraction. In a HPLC study, delphinidin-3-rutose turned out to be the most abundant anthocyanin. Davis et al. [126] applied various types of solvents and levels of power in MAE of pectin and polyphenolic rich extracts from cranberry pomace. The highest yields of polyphenols were obtained with an alkaline extraction process with a power value of 36 W/g. When SLE and MAE used with different solvents of cranberry press residues were compared, MAE resulted in a higher yield of extraction in every variant of the experiment. Values of quercetin equivalents of powdered cranberry residues were highest for MAE with 100% acetone used as a solvent and were significantly increased compared to water and ethanol extraction processes [127]. Klavins et al. [128] compared different methods of extraction of phenolic compounds from cranberry pomace: SLE, UAE and MAE, using ethanol and trifluoroacetic acid as a solvent mixture. The extract obtained in MAE featured the lowest anthocyanin and polyphenol contents across all the studied samples.

Impact of Processing Conditions

Power: Inconclusive results of applied microwave power impact on efficiency were observed. A higher power value applied in MAE improved the extraction of anthocyanins from blackcurrant pomace [125] and also led to lower phenolic content in extracts from cranberry pomace [126]. These results are associated with the temperature increase when extended power is applied. The efficiency of MAE increases with increasing microwave power till the optimum temperature point is reached, after which it starts to decrease while the power (and temperature) is still rising [124].

Time: The shorter the time of microwave input, the better MAE efficiency was observed [125]. This may be related to the destructive impact of microwaves and the increased

temperature on the structure of bioactive compounds. A prolonged duration of microwave power applied to a sample can promote the degradation of antioxidants [124].

Solvent type: The solvent influence on the MAE process is similar to that described in SLE. However, the capacity of the solvent to absorb microwave energy should be taken into consideration while analysing MAE experiments. Considering the analysed studies, alkaline solvents result in higher TPCs of extracts [126], and replacing ethanol with acetone was found to improve the TPCs of extracts [127]. Acetone is a solvent polar enough to be heated by microwave energy, which results in better cell heating and improved diffusion of extracted compounds [124].

Table 8. Conditions and results of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from berry by-products.

Source of Waste	Pretreatment	Extraction Procedure (E—Equipment, f—Frequency, T—Temperature, P—Power, M—Sample Weight, S—L—Solid–Liquid Ratio, t—Time, S—Solvent)	Antioxidant Content *	Reference
Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>) pomace	Pomace was obtained from enzymatically treated fruits	E: single-mode cavity resonator f: 2.45 GHz T: 69.7 °C P: 140/420/700 W M: 28 g S–L: 1:10, 1:13.3, 1:20 t: 10/20/30 min solvent pH: 2/4.5/7	In optimum conditions P: 700 W, t: 10 min, S–L: 1:20, pH 2 TAC (HPLC): 20.4 mg/g (fw)	[125]
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) pomace	Freeze-dried and ground pomace	E: microwave reactor S–L: 1:30 M: 1 g P: 36/72 W/g pomace t: 4 min <i>Acidic extraction</i> S: 0.1 M HCl <i>Alkaline extraction</i> S: 0.15 M NaOH <i>Sequential acidic and alkaline extraction</i> S: 0.1 M HCl + 0.15 M NaOH	<i>Acidic extraction</i> P: 36 W/g TPC: 3.01 mg GAE/g (fw) P: 72 W/g TPC: 0.92 mg GAE/g <i>Alkaline extraction</i> P: 36 W/g TPC: 22.78 mg GAE/g P: 72 W/g TPC: 11.79 mg GAE/g <i>Sequential</i> P: 36 W/g TPC: 11.90 mg GAE/g P: 72 W/g TPC: 11.63 mg GAE/g	[126]
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) pomace	Oven-dried (1 h/100 °C) press cake, then ground	E: microwave press S: water/ethanol/acetone M: 3.5 g T: 125 °C t: 10 min	<i>Water</i> TPC: 0.02 mmol QE/g (extract) <i>50% ethanol</i> TPC: 0.12 mmol QE/g <i>100% ethanol</i> TPC: 0.30 mmol QE/g <i>50% acetone</i> TPC: 0.27 mmol QE/g <i>100% acetone</i> TPC: 0.53 mmol QE/g	[127]
Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) pomace	Freeze-dried and homogenized pomace	E: microwave extraction unit S: 96% ethanol and 0.5% trifluoroacetic acid 50 mL M: 0.5 g P: 600 W T: 80 °C t: 20 min	TAC (pH differential method): 0.054 g/100 g (berry powder) TPC (Folin–Ciocalteu): 1.09 g/100 g	[128]

* Results are expressed as written in the bracket after first given result.

3.5. Supercritical Fluid Extraction

Supercritical fluid extraction (SFE) includes the use of solvents at temperatures and pressures above the critical values for temperature and pressure. These conditions exhibit both the gaseous and liquid properties of solvents. SFE is commonly performed using carbon dioxide (CO₂), as it has a low critical pressure and temperature and is considered non-toxic, non-flammable and not expensive. It is also a non-polar and hydrophobic solvent.

This is the reason why SFE is mostly used to extract lipid fractions from plant material. SFE also provides high selectivity of extraction which may be modulated by changing the conditions of extraction [129].

Examples of supercritical fluid extraction application are given in Table 9. Campalani et al. [130] compared SFE with the SLE of lipid fractions from raspberry, blueberry, blackcurrant, blackberry and strawberry pomaces. Oil yield obtained with SFE was increased compared to SLE only in the case of raspberry and blackberry oils. The study also showed particular fatty acid yields, and despite the general value of the oil yield, applying SFE resulted in higher percentage of FAs for each extract. This proves the better selectivity of SFE towards FAs. Marić et al. [131] studied differences between cold pressing and SFE of raspberry seeds. A higher oil yield was reached when cold pressing was applied, and a lower tocopherol content was observed in oil obtained with SFE. Applying SFE, Milala et al. [132] extracted oils from raspberry, chokeberry and strawberry by-products. Oil yields ranged from 12% for raspberry to 18% for strawberry pomaces. The lipid fraction was collected at particular times of the extraction process. The properties of oil—tocopherol content and fatty acid and pigment composition—were dependent on the oil collection time. Correa et al. [133] studied different conditions of SFE of oil from blackberry seeds and a comparison between SFE and SLE methods. The difference between oil yields under optimum conditions for SFE and SLE was significant. Using propane as a solvent at a temperature of 70 °C and a pressure of 20 MPa during SFE resulted in a 2.32% oil yield. By comparison, SLE conducted using hexane resulted in a 10.51% oil yield. Antioxidant content was also measured and extracts obtained in SFE with CO₂ as a solvent under optimum conditions were characterized by higher TPC values than oils extracted traditionally. Wajs-Bonikowska et al. [88] also studied properties of blackberry seed oil extracted using the SFE method. Lipid fraction yield in the case of SFE was similar to the yield when SLE with hexane was applied. SFE resulted in oil with a lower tocopherol content compared to SLE. Despite the results summarized in the Table 9, Pavlić et al. [134], on the basis of their studies applying SFE in the process of oil isolation from raspberry seeds, concluded that higher oil yields were determined by higher pressure and CO₂ flow rate.

Basegmez et al. [135] obtained polyphenol-rich extracts using SFE in their research. The optimum conditions of the process were 45 MPa, 60 °C and 120 min, and resulted in a TPC of 24.34 mg GAE/g extract.

Impact of Processing Conditions

Pressure of solvent: In studies which aim was to optimize the SFE method it may be noticed that higher oil and polyphenol rich extract yields were noted when higher (but not the highest possible) pressures were applied [133,135]. This is connected to the increasing solubility of compounds when pressure is increased [136].

Temperature: The higher the temperature, the greater the oil and bioactive extract yields obtained [133,135]. Increased temperature improves the diffusion and solubility of substances [136].

Flow rate: In the reviewed studies, oils were extracted more effectively when the flow rate was high enough to be diffusion-limited [88,130–132,135]. However, this is connected with the increased amounts of solvents used in the process [136].

Table 9. Conditions and results of supercritical fluid extraction of oils and bioactive compounds from berry by-products.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, M—Sample Weight, S—Solvent, p—Pressure, V—Volume, T—Temperature, t—Time, FR—Flow Rate)	Oil Yield	Fatty Acids Profile (PUFA/MUFA/SFA, Dominant FA)	Reference
Raspberry, blueberry, blackcurrant, blackberry, strawberry frozen pomaces	Air-dried with water rinsing (15 min water rinsing, 24 h drying) pomace	S: CO ₂ M: 3 g FR: 5.0/2.5 cm ³ /min p: 300 bar T: 70 °C t: 5 h Collected by venting into hexane	Raspberry pomace 7.5% Blueberry pomace 9.7% Blackcurrant pomace 4.6% Blackberry pomace 6.6% Strawberry pomace 13.5%	Fatty acid yields in mg/g Raspberry pomace PUFA: 191.0 MUFA: 61.2 SFA: 50.7 Dominant: C18:2 Blueberry pomace PUFA: 134.9 MUFA: 74.2 SFA: 25.6 Dominant: C18:2 Blackcurrant pomace PUFA: 60.3 MUFA: 0.0 SFA: 104.3 Dominant: C18:2 Blackberry pomace PUFA: 197.0 MUFA: 66.3 SFA: 31.4 Dominant: C18:2 Wild strawberry pomace PUFA: 145.8 MUFA: 64.0 SFA: 46.8 Dominant: C18:2	[130]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i>) cv. Willamette seeds	Milled seeds	E: high pressure extraction plant S: CO ₂ M: 70 g P: 300 bar T: 40 °C FR: 0.194 kg/h t: 3 h	8.82%	PUFA: 77.90 MUFA: 14.47 SFA: 6.20 Dominant: C18:2 n6	[131]
Raspberry (<i>Rubus idaeus</i> cv. Polka and cv. Polana) Chokeberry (<i>Aronia melanocarpa</i> cv. Nero), Strawberry (<i>Fragaria vesca</i> cv. Honeoye, cv. Senga Sengana and cv. Polka) pomaces	Pomace dried convectively in industrial vacuum dryers at 70 °C for 8 h. Seeds separated in industrial sieving machines, then crushed in mill crusher and sieved again under CO ₂ or nitrogen atmosphere	E: plant for extraction S: CO ₂ M: 14.2 kg strawberry, 14.5 kg chokeberry, 13.3 kg raspberry p: 250 bar, one step separation at 53 bar T: 40 °C FR: 200 kg/h, t: 180–225 min with fractionation (particular collection times)	Strawberry pomace 18% Chokeberry pomace 15% Raspberry pomace 12%	Values for first collection (after 15 min) Strawberry pomace PUFA: 78.9 MUFA: 15.1 SFA: 5.5 Dominant: C18:2 Chokeberry pomace PUFA: 76.6 MUFA: 16.4 SFA: 5.4 Dominant: C18:2 Raspberry pomace PUFA: 84.1 MUFA: 10.8 SFA: 4.8 Dominant: C18:2	[132]

Table 9. Cont.

Source of Waste	Pretreatment Method	Extraction Conditions (E—Equipment, M—Sample Weight, S—Solvent, p—Pressure, V—Volume, T—Temperature, t—Time, FR—Flow Rate)	Oil Yield	Fatty Acids Profile (PUFA/MUFA/SFA, Dominant FA)	Reference
Blackberry (<i>Rubus</i> ssp. cv. Xavante) seeds	Seeds dried in air circulation oven (40 °C/48 h), milled, classified according to particle size using vibratory sieve shaker	E: special apparatus M: 30 g S: CO ₂ and propane p: ranging 15.0–25.0 MPa when using CO ₂ and 10.0–20.0 MPa when using propane T: 40.0–70.0 °C for CO ₂ and 30.0–70.0 °C for propane t: for CO ₂ : 150 min, propane: 60 min	Optimum conditions in brackets S: CO ₂ (70 °C, 25 MPa): 1.89% S: propane (70 °C, 20 MPa): 2.32%	-	[133]
Blackberry (<i>Rubus fruticosus</i>) pomace	Pomace dried in the sun and crushed four times in a cylinder mill	E: plant scale fluid extractor S: CO ₂ M: 3500 g P: 300 bar T: 50 °C FR: 80 kg/h t: 150 min	11.4%	FA expressed as g/100 g PUFA: 58.2 MUFA: 12.6 SFA: 7.2	[88]
Polyphenol-rich extracts					
Source of waste	Pretreatment	Extraction procedure	Antioxidant composition	Antioxidant activity *	Reference
Blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>) pomace	Lyophilized, ground pomace	E: SFE system M: 15 g p: 30–55 MPa T: 30–60 °C t: 60–150 min FR: 3.6 g/min	Optimum conditions: 45 MPa, 60 °C, 120 min TPC: 24.34 mg GAE/g extract	DPPH: 1.59 mg TE/g (extract) ORAC: 11.35 mg TE/g FRAP: 25.00 mg TE/g	[135]

* Results are expressed as written in the bracket after first given result.

3.6. Other Alternative Methods of Extraction

3.6.1. Pressurized Liquid Extraction

Pressurized liquid extraction (PLE) is one of the pressurized approaches, next to SFE. PLE may, however, be used to extract high- and medium-polarity substances, whereas SFE results in extracts rich in non-polar compounds, as supercritical CO₂ is used as a solvent. Combining those two methods has the benefit of obtaining extracts containing compounds characterized by different polarities [137]. There are studies reporting the extraction of compounds from residues after SFE-CO₂. Brazdauskas et al. [138] studied PLE of compounds from black chokeberry pomace remaining after SFE-CO₂. Water, ethanol and formic acid mixture was used as a solvent, a constant pressure was set at 10.3 MPa and variable conditions of temperature, ethanol and formic acid concentrations were examined. The optimum values were 165 °C, 46% ethanol and 1.8% formic acid, and resulted in response variables of 72.53% yield, 236.64 mg GAE/g extract TPC (Folin–Ciocalteu method), 4.346 mmol TE/g extract TEAC and 5.92 µg/mL as the EC₅₀ value in a DPPH assay. Grunovaite et al. [139] also described PLE of chokeberry pomace residues after SFE-CO₂. The procedure was performed at 70 °C, 10.3 MPa, using 96% ethanol or 100% acetone as a solvent and resulted in a 22.70% yield when ethanol was used and a 17.90% yield when acetone was used. Ethanol extract was characterized by a TPC of

89.41 mg GAE/g extract in a Folin–Ciocalteu assay (all values expressed per dm basis) and antioxidant activities: 2.52 mmol TE/g extract, 1.99 mmol TE/g extract and 3.03 mmol TE/g extract in ABTS, DPPH and ORAC assays, respectively. Pressurized acetone extraction resulted in a TPC value of 35.35 mg GAE/g extract and antioxidant activities for ABTS, DPPH and ORAC assays amounting to 0.91 mmol TE/g extract, 0.24 mmol TE/g extract and 3.84 mmol TE/g extract, respectively. In this study, also PLE alone, conducted with different conditions of temperature and using different solvents—hexane, methanol, water, acetone with water mixture and a methanol with water mixture—was examined. The optimum parameters of the process were: 130 °C and methanol used as a solvent. The conditions mentioned above allowed the obtention of the highest extraction yields (48.13%) and values for TPC (410.20 mg GAE/g extract) and antioxidant activity of the extract, as measured in an ABTS (2.17 mmol TE/g extract) assay. Antioxidant activity, as determined by ORAC and DPPH, was highest when an acetone and water mixture under 130 °C was used in extraction. It can be concluded that PLE extraction without a previous SFE-CO₂ procedure results in higher extraction yields. However, antioxidant activity determined in ABTS and DPPH assays assumes higher values when the residue after SFE-CO₂ is extracted again using PLE with ethanol as a solvent.

Kryževičūtė et al. [140] used pressurized liquid extraction with 50% ethanol of raspberry pomace remaining after SFE-CO₂ extraction to obtain antioxidative compounds which were used to prevent beef burger spoilage during prolonged storage. The extraction yield was 19.3% and the obtained extracts were characterized by the following antioxidant capacities: 936 µmol TE/g (extract) and 123 µmol TE/g in ORAC and ABTS assays, respectively. The TPC of the extract was 208.3 mg GAE/g. It was concluded that 1% PLE extract application helped to prevent oxidation in the burgers.

3.6.2. Enzyme-Assisted Extraction

Enzymes, such as cellulases, hemicellulases and pectinases, are used in the pretreatment of plant material prior to extraction processes to disintegrate the cell walls of material, resulting in enhanced penetration of solvents and increased extraction yields. Other benefits include shorter extraction times, reduced quantities of solvents and improved quality. However, the cost of enzymes and time and the limited ability of enzymes to complete cell wall disintegration along with the strict conditions for enzymes application are significant disadvantages of this extraction method [141].

For instance, enzymatic-assisted extraction (EAE) was used to obtain bioactive compounds from bilberry pomace, which was firstly defatted in an SFE-CO₂ procedure. After removing the lipophilic fraction, enzymes were applied in particular conditions (pH, volume of solution, temperature) and water-soluble fractions obtained under optimal chosen conditions (pH 4.5, 46 °C, 1 h, enzyme concentration 2 active units/g of pomace) were then examined. A water-soluble fraction obtained in SLE was used as a control sample. Values for yield, TPC, ABTS, ORAC and CUPRAC assays were higher when EAE was applied [142]. Kitryte et al. [143] optimized the EAE of bioactive compounds from chokeberry pomace using cellulolytic and xylanolytic enzymes. Variable values of E–S (enzyme–solid) ratio, temperature, pH and extraction time were applied. The optimal parameters were defined as: E/S 6%, temperature 40 °C, pH 3.5 and 7 h of extraction time. The influence of the type of enzyme on polyphenol and oil extraction yields from raspberry pomace was studied by Saad et al. [144]. The enzyme that improved extraction efficiency was alkaline protease. Using that enzyme, the optimization of EAE was conducted by the authors and optimal conditions were chosen: particle size of material 50–750 µm, pH 9, enzyme concentration of 1.2 units/100 g pomace, temperature of 60 °C, S–L of 9% and a hydrolysis time of 2 h, which resulted in a 5.87 g/100 g pomace (fw) extraction yield.

As the studies show, the conditions of EAE should be optimized to obtain the best possible extraction yield results. Enzymes are substances sensitive to different environmental factors and their efficiency is strictly connected with them. EAE may be considered a green

extraction method which may be helpful in reducing solvent quantities or power levels used in the process; however, it is also a costly and demanding technique.

4. Conclusions

The study has shown a range of possible extraction methods which are applied to extract bioactive compounds or oils from berry fruit by-products: ultrasound-assisted, pulsed electric field-assisted, microwave-assisted, supercritical fluid, pressurized liquid and enzyme-assisted methods. There are some major differences between the presented methods with respect to their usefulness. The basic issue concerns the equipment needed for the extraction procedures. Some of the devices used in, e.g., SFE or PEF-assisted methods are advanced and costly units compared to the simple-to-operate SLE apparatus. Additionally, there are some preferable solvents and S–L ratios used in extraction, depending on the chosen method. Traditional SLE involves the use of high amounts of organic solvents, although in UAE, MAE or enzyme-assisted extraction these could be replaced with water or water–organic solvent mixtures, whereas SFE requires specific supercritical-state solvents. Time consumption is another factor that differs among the considered methods. SLE takes time, up to 24 h, and using alternative extraction methods can reduce the duration of extraction processes to a few hours or even minutes in the case of UAE or MAE. There are, also, specific, unique parameters of conditions for each extraction method which also influence the final results but which it is not possible to compare.

The conventional (solid–liquid) processing methods involve high energy and solvent consumption, which may be harmful to the environment and financially unfavorable. However, SLE is often the most effective extraction technique, considering extraction yield. Novel, alternative extraction methods are beneficial due to their high selectivity. They are also classified as ‘green’ extraction methods, which means they are environment-saving. The alternative extractions conditions are still being modified to obtain the most efficient model of extraction technique and further research in this area should be carried out.

Author Contributions: Conceptualization, I.P., A.W. and A.G.; methodology, I.P., A.W. and A.G.; investigation, I.P.; resources, I.P.; data curation, I.P.; writing—original draft preparation, I.P.; writing—review and editing, A.W. and A.G.; visualization, I.P. and A.W.; supervision, A.W. and A.G.; project administration, I.P., A.W. and A.G.; funding acquisition, A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

AA	Antioxidant activity
C3GE	Cyanidin-3-glucoside equivalent
CAE	Caffeic acid equivalent
CUPRAC	Cupric reducing antioxidant capacity
DF	Dietary fiber
dm	Dry mass
EAE	Enzyme-assisted extraction
EE	Epicatechin equivalent
FA	Fatty acid
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FE	Iron (Fe ²⁺) equivalent
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
fw	Fresh weight

GAE	Gallic acid equivalent
MAE	Microwave-assisted extraction
ME	Malvidin equivalent
MUFA	Monounsaturated fatty acid
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PEF	Pulsed electric field
PLE	Pressurized liquid extraction
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
QE	Quercetin equivalent
RE	Rutin equivalent
RSM	Response-surface methodology
SFA	Saturated fatty acid
SFE	Supercritical fluid extraction
SLE	Solid–liquid extraction
T3	Tocotrienol
TAC	Total anthocyanin content
TE	Trolox equivalent
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TFC	Total flavonoid content
TP	Tocopherol
TPC	Total polyphenolic content
UAE	Ultrasound-assisted extraction
WHO	World Health Organization

References

1. FAO FAOSTAT Crop Statistics. Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed on 1 March 2021).
2. Fruits and Derived Products. Available online: <http://www.fao.org/es/faodef/fdef08e.htm> (accessed on 6 May 2021).
3. Food Loss and Waste Facts. Available online: <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/en/c/317265> (accessed on 6 May 2021).
4. FAO. *Moving Forward on Food Loss and Waste Reduction*; Food and Agriculture Organization of The United Nations: Rome, Italy, 2019.
5. Campos, D.A.; Gómez-García, R.; Vilas-Boas, A.A.; Madureira, A.R.; Pintado, M.M. Management of Fruit Industrial By-Products—A Case Study on Circular Economy Approach. *Molecules* **2020**, *25*, 320. [\[CrossRef\]](#)
6. Schmid, V.; Steck, J.; Mayer-Miebach, E.; Behnlian, D.; Briviba, K.; Bunzel, M.; Karbstein, H.P.; Emin, M.A. Impact of defined thermomechanical treatment on the structure and content of dietary fiber and the stability and bioaccessibility of polyphenols of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace. *Food Res. Int.* **2020**, *134*, 109232. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Reißner, A.-M.; Alhamimi, S.; Quiles, A.; Schmidt, C.; Struck, S.; Hernando, I.; Turner, C.; Rohm, H. Composition and physico-chemical properties of dried berry pomace. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99*, 1284–1293. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. McDougall, N.; Beames, R. Composition of raspberry pomace and its nutritive value for monogastric animals. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1994**, *45*, 139–148. [\[CrossRef\]](#)
9. Górnas, P.; Juhņeviča-Radenkova, K.; Radenkovs, V.; Mišina, I.; Pugajeva, I.; Soliven, A.; Segliņa, D. The impact of different baking conditions on the stability of the extractable polyphenols in muffins enriched by strawberry, sour cherry, raspberry or black currant pomace. *LWT Food Sci. Technol.* **2016**, *65*, 946–953. [\[CrossRef\]](#)
10. Han, X.; Shen, T.; Lou, H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int. J. Mol. Sci.* **2007**, *8*, 950–988. [\[CrossRef\]](#)
11. Williamson, G. The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutr. Bull.* **2017**, *42*, 226–235. [\[CrossRef\]](#)
12. Somerville, V.; Bringans, C.; Braakhuis, A. Polyphenols and Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med.* **2017**, *47*, 1589–1599. [\[CrossRef\]](#)
13. Ma, G.; Chen, Y. Polyphenol supplementation benefits human health via gut microbiota: A systematic review via meta-analysis. *J. Funct. Foods* **2020**, *66*, 103829. [\[CrossRef\]](#)
14. Liu, F.; Li, D.; Wang, X.; Cui, Y.; Li, X. Polyphenols intervention is an effective strategy to ameliorate inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2020**, *72*, 14–25. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Ammar, A.; Trabelsi, K.; Boukhris, O.; Bouaziz, B.; Müller, P.; Glenn, J.M.; Bott, N.T.; Müller, N.; Chtourou, H.; Driss, T.; et al. Effects of Polyphenol-Rich Interventions on Cognition and Brain Health in Healthy Young and Middle-Aged Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1598. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Shah, K.; Shah, P. Effect of Anthocyanin Supplementations on Lipid Profile and Inflammatory Markers: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Cholest* **2018**, *2018*, 8450793. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Godos, J.; Vitale, M.; Micek, A.; Ray, S.; Martini, D.; Del Rio, D.; Riccardi, G.; Galvano, F.; Grosso, G. Dietary Polyphenol Intake, Blood Pressure, and Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Antioxidants* **2019**, *8*, 152. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

18. Fantini, M.; Benvenuto, M.; Masuelli, L.; Frajese, G.V.; Tresoldi, I.; Modesti, A.; Bei, R. In Vitro and in Vivo Antitumoral Effects of Combinations of Polyphenols, or Polyphenols and Anticancer Drugs: Perspectives on Cancer Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 9236–9282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Cao, H.; Saroglu, O.; Karadag, A.; Diaconeasa, Z.; Zoccatelli, G.; Conte-Junior, C.A.; Gonzalez-Aguilar, G.A.; Ou, J.; Bai, W.; Zamarioli, C.M.; et al. Available technologies on improving the stability of polyphenols in food processing. *Food Front.* **2021**, *2*, 109–139. [[CrossRef](#)]
20. Zeng, L.; Ma, M.; Li, C.; Luo, L. Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *Int. J. Food Prop.* **2017**, *20*, 1–18. [[CrossRef](#)]
21. Chethan, S.; Malleshi, N. Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability. *Food Chem.* **2007**, *105*, 862–870. [[CrossRef](#)]
22. Teleszko, M.; Nowicka, P.; Wojdyła, A. Effect of cultivar and storage temperature on identification and stability of polyphenols in strawberry cloudy juices. *J. Food Compos. Anal.* **2016**, *54*, 10–19. [[CrossRef](#)]
23. Chen, J.; Sun, H.; Wang, Y.; Wang, S.; Tao, X.; Sun, A. Stability of Apple Polyphenols as a Function of Temperature and pH. *Int. J. Food Prop.* **2014**, *17*, 1742–1749. [[CrossRef](#)]
24. Tolić, M.-T.; Jurčević, I.L.; Krbavčić, I.P.; Marković, K.; Vahčić, N. Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Quality of Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Products. *Food Technol. Biotechnol.* **2015**, *53*, 171–179. [[CrossRef](#)]
25. Rodríguez-Werner, M.; Winterhalter, P.; Esatbeyoglu, T. Phenolic Composition, Radical Scavenging Activity and an Approach for Authentication of *Aronia melanocarpa* Berries, Juice, and Pomace. *J. Food Sci.* **2019**, *84*, 1791–1798. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Sójka, M.; Król, B. Composition of industrial seedless black currant pomace. *Eur. Food Res. Technol.* **2009**, *228*, 597–605. [[CrossRef](#)]
27. Jara-Palacios, M.J.; Santisteban, A.; Gordillo, B.; Hernanz, D.; Heredia, F.J.; Escudero-Gilete, M.L. Comparative study of red berry pomaces (blueberry, red raspberry, red currant and blackberry) as source of antioxidants and pigments. *Eur. Food Res. Technol.* **2019**, *245*, 1–9. [[CrossRef](#)]
28. Jazić, M.; Kukrić, Z.; Vulić, J.; Četojević-Simin, D. Polyphenolic composition, antioxidant and antiproliferative effects of wild and cultivated blackberries (*Rubus fruticosus* L.) pomace. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2019**, *54*, 194–201. [[CrossRef](#)]
29. Mildner-Szkudlarz, S.; Bajerska, J.; Górnaś, P.; Seglina, D.; Pilarska, A.; Jesionowski, T. Physical and Bioactive Properties of Muffins Enriched with Raspberry and Cranberry Pomace Powder: A Promising Application of Fruit By-Products Rich in Biocompounds. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2016**, *71*, 165–173. [[CrossRef](#)]
30. Žlabur, J. Šic; Dobričević, N.; Pliestic, S.; Galić, A.; Bilić, D.P.; Voća, S. Antioxidant Potential of Fruit Juice with Added Chokeberry Powder (*Aronia melanocarpa*). *Molecules* **2017**, *22*, 2158. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Četojević-Simin, D.D.; Velićanski, A.S.; Cvetković, D.D.; Markov, S.L.; Četković, G.S.; Šaponjac, V.T.T.; Vulić, J.J.; Čanadanović-Brunet, J.M.; Djilas, S.M. Bioactivity of Meeker and Willamette raspberry (*Rubus idaeus* L.) pomace extracts. *Food Chem.* **2015**, *166*, 407–413. [[CrossRef](#)]
32. Halász, K.; Csóka, L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. *Food Packag. Shelf Life* **2018**, *16*, 185–193. [[CrossRef](#)]
33. Raczky, M.; Bryś, J.; Brzezińska, R.; Ostrowska-Ligeza, E.; Wirkowska-Wojdyła, M.; Górka, A. Quality assessment of cold-pressed strawberry, raspberry and blackberry seed oils intended for cosmetic purposes. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2021**, *20*, 127–133. [[CrossRef](#)]
34. Yang, H.Y.; Dong, S.S.; Zhang, C.H.; Wu, W.L.; Lyu, L.F.; Li, W.L. Investigation of Tocopherol Biosynthesis in Blackberry Seeds (*Rubus* spp.). *Russ. J. Plant Physiol.* **2020**, *67*, 76–84. [[CrossRef](#)]
35. Ying, Q.; Wojciechowska, P.; Siger, A.; Kaczmarek, A.; Rudzińska, M. Phytochemical Content, Oxidative Stability, and Nutritional Properties of Unconventional Cold-pressed Edible Oils. *J. Food Nutr. Res.* **2018**, *6*, 476–485. [[CrossRef](#)]
36. Šavikin, K.P.; Đorđević, B.S.; Ristić, M.S.; Krivokuća-Đokić, D.; Pljevljakušić, D.S.; Vulić, T. Variation in the Fatty-Acid Content in Seeds of Various Black, Red, and White Currant Varieties. *Chem. Biodivers.* **2013**, *10*, 157–165. [[CrossRef](#)]
37. Van Hoed, V.; De Clercq, N.; Echim, C.; Andjelkovic, M.; Leber, E.; Dewettinck, K.; Verhe, R. Berry Seeds: A Source of Specialty Oils with High Content of Bioactives and Nutritional Value. *J. Food Lipids* **2009**, *16*, 33–49. [[CrossRef](#)]
38. Zlatanov, M.D. Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *79*, 1620–1624. [[CrossRef](#)]
39. Gao, F.; Birch, J. Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2015**, *118*, 1042–1052. [[CrossRef](#)]
40. Li, H.; Fan, Y.-W.; Li, J.; Tang, L.; Hu, J.-N.; Deng, Z.-Y. Evaluating and Predicting the Oxidative Stability of Vegetable Oils with Different Fatty Acid Compositions. *J. Food Sci.* **2013**, *78*, H633–H641. [[CrossRef](#)]
41. Kochhar, S.P.; Henry, C.J.K. Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2009**, *60*, 289–296. [[CrossRef](#)]
42. Nosratpour, M.; Farhoosh, R.; Sharif, A. Quantitative Indices of the Oxidizability of Fatty Acid Compositions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2017**, *119*, 1700203. [[CrossRef](#)]
43. FAO/WHO Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Fats and Fatty Acids in Human Nutrition*; Food and Agriculture Organization of The United Nations: Rome, Italy, 2010.

44. Dyall, S.C. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: A review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front. Aging Neurosci.* **2015**, *7*, 52. [\[CrossRef\]](#)
45. Mozaffarian, D.; Wu, J.H.Y. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2011**, *58*, 2047–2067. [\[CrossRef\]](#)
46. Costantini, L.; Molinari, R.; Farinon, B.; Merendino, N. Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 2645. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Hu, Y.; Hu, F.B.; Manson, J.E. Marine Omega-3 Supplementation and Cardiovascular Disease: An Updated Meta-Analysis of 13 Randomized Controlled Trials Involving 127 477 Participants. *J. Am. Heart Assoc.* **2019**, *8*, e013543. [\[CrossRef\]](#)
48. Roche, H.M. Unsaturated Fatty Acids. *Proc. Nutr. Soc.* **1999**, *58*, 397–401.
49. Mazidi, M.; Mikhailidis, D.P.; Sattar, N.; Toth, P.P.; Judd, S.; Blaha, M.J.; Hernandez, A.V.; Penson, P.E.; Banach, M. Association of types of dietary fats and all-cause and cause-specific mortality: A prospective cohort study and meta-analysis of prospective studies with 1,164,029 participants. *Clin. Nutr.* **2020**, *39*, 3677–3686. [\[CrossRef\]](#)
50. Jang, H.; Park, K. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr.* **2020**, *39*, 765–773. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Wanders, A.J.; Blom, W.; Zock, P.; Geleijnse, J.M.; A Brouwer, I.; Alsema, M. Plant-derived polyunsaturated fatty acids and markers of glucose metabolism and insulin resistance: A meta-analysis of randomized controlled feeding trials. *BMJ Open Diabetes Res. Care* **2019**, *7*, e000585. [\[CrossRef\]](#)
52. Das, U.N. Essential fatty acids: Biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnol. J.* **2006**, *1*, 420–439. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Tocher, D.R.; Glencross, B.D. Lipids and Fatty Acids. In *Dietary Nutrients, Additives and Fish Health*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 47–94. ISBN 9781119005568.
54. Schwab, U.; Lauritzen, L.; Tholstrup, T.; Halldorsson, T.; Riserus, U.; Uusitupa, M.; Becker, W. Effect of the amount and type of dietary fat on cardiometabolic risk factors and risk of developing type 2 diabetes, cardiovascular diseases, and cancer: A systematic review. *Food Nutr. Res.* **2014**, *58*, 1–26. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Bozzetto, L.; Prinster, A.; Annuzzi, G.; Costagliola, L.; Mangione, A.; Vitelli, A.; Mazzarella, R.; Longobardo, M.; Mancini, M.; Vigorito, C.; et al. Liver Fat Is Reduced by an Isoenergetic MUFA Diet in a Controlled Randomized Study in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* **2012**, *35*, 1429–1435. [\[CrossRef\]](#)
56. Qian, F.; Korat, A.A.; Malik, V.; Hu, F.B. Metabolic Effects of Monounsaturated Fatty Acid–Enriched Diets Compared With Carbohydrate or Polyunsaturated Fatty Acid–Enriched Diets in Patients With Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Diabetes Care* **2016**, *39*, 1448–1457. [\[CrossRef\]](#)
57. Dulf, F.V.; Andrei, S.; Bunea, A.; Socaci, C. Fatty acid and phytosterol contents of some Romanian wild and cultivated berry pomaces. *Chem. Pap.* **2012**, *66*, 925–934. [\[CrossRef\]](#)
58. Piasecka, I.; Górska, A.; Ostrowska-Ligeza, E.; Kalisz, S. The Study of Thermal Properties of Blackberry, Chokeberry and Raspberry Seeds and Oils. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 7704. [\[CrossRef\]](#)
59. Bada, J.; León-Camacho, M.; Copovi, P.; Alonso, L. Characterization of Berry and Currant Seed Oils from Asturias, Spain. *Int. J. Food Prop.* **2013**, *17*, 77–85. [\[CrossRef\]](#)
60. Oomah, B.; Ladet, S.; Godfrey, D.V.; Liang, J.; Girard, B. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food Chem.* **2000**, *69*, 187–193. [\[CrossRef\]](#)
61. Knothe, G. Fuel properties of methyl esters of borage and black currant oils containing methyl γ -linolenate. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2013**, *115*, 901–908. [\[CrossRef\]](#)
62. Dobson, G.; Shrestha, M.; Hilz, H.; Karjalainen, R.; McDougall, G.; Stewart, D. Lipophilic components in black currant seed and pomace extracts. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, *114*, 575–582. [\[CrossRef\]](#)
63. Johansson, A.; Laine, T.; Linna, M.-M.; Kallio, H. Variability in oil content and fatty acid composition in wild northern currants. *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, *211*, 277–283. [\[CrossRef\]](#)
64. Piskernik, S.; Vidrih, R.; Demšar, L.; Koron, D.; Rogelj, M.; Žontar, T.P. Fatty acid profiles of seeds from different Ribes species. *LWT Food Sci. Technol.* **2018**, *98*, 424–427. [\[CrossRef\]](#)
65. Shahidi, F.; De Camargo, A.C. Tocopherols and Tocotrienols in Common and Emerging Dietary Sources: Occurrence, Applications, and Health Benefits. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 1745. [\[CrossRef\]](#)
66. Kamal-Eldin, A. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2006**, *108*, 1051–1061. [\[CrossRef\]](#)
67. Wagner, K.-H.; Elmadfa, I. Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2000**, *102*, 624–629. [\[CrossRef\]](#)
68. Player, M.; Kim, H.; Lee, H.; Min, D. Stability of α -, γ -, or δ -Tocopherol during Soybean Oil Oxidation. *J. Food Sci.* **2006**, *71*, C456–C460. [\[CrossRef\]](#)
69. Ayyildiz, H.F.; Topkafa, M.; Kara, H.; Sherazi, S.T.H. Evaluation of Fatty Acid Composition, Tocols Profile, and Oxidative Stability of Some Fully Refined Edible Oils. *Int. J. Food Prop.* **2015**, *18*, 2064–2076. [\[CrossRef\]](#)
70. Górnaś, P.; Soliven, A.; Segliņa, D. Seed oils recovered from industrial fruit by-products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP-HPLC/FLD. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *117*, 773–777. [\[CrossRef\]](#)
71. Schneider, C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.* **2004**, *49*, 7–30. [\[CrossRef\]](#)

72. Piironen, V.; Lindsay, D.G.; Miettinen, T.A.; Toivo, J.; Lampi, A.-M. Plant Sterols: Biosynthesis, Biological Function and Their Importance to Human Nutrition. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 939–966. [\[CrossRef\]](#)
73. Guillaume, C.; Ravetti, L.; Ray, D.L.; Johnson, J. Technological Factors Affecting Sterols in Australian Olive Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2011**, *89*, 29–39. [\[CrossRef\]](#)
74. Verleyen, T.; Sosinska, U.; Ioannidou, S.; Verhe, R.; Dewettinck, K.; Huyghebaert, A.; De Greyt, W. Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, *79*, 947–953. [\[CrossRef\]](#)
75. Hu, Y.; Xu, J.; Huang, W.; Zhao, Y.; Li, M.; Wang, M.; Zheng, L.; Lu, B. Structure–activity relationships between sterols and their thermal stability in oil matrix. *Food Chem.* **2018**, *258*, 387–392. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Deepam, L.S.A.; Sundaresan, A.; Arumugham, C. Stability of Rice Bran Oil in Terms of Oryzanol, Tocopherols, Tocotrienols and Sterols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2010**, *88*, 1001–1009. [\[CrossRef\]](#)
77. Wang, T.; Hicks, K.B.; Moreau, R. Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other phytosterol conjugates. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2002**, *79*, 1201–1206. [\[CrossRef\]](#)
78. Chang, M.; Xu, Y.; Li, X.; Shi, F.; Liu, R.; Jin, Q.; Wang, X. Effects of stigmasterol on the thermal stability of soybean oil during heating. *Eur. Food Res. Technol.* **2020**, *246*, 1755–1763. [\[CrossRef\]](#)
79. Qianchun, D.; Jie, S.; Mingming, Z.; Jiqu, X.; Chuyun, W.; Qingde, H.; Qi, Z.; Pingmei, G.; Fenghong, H.; Lan, W.; et al. Thermal Stability of Rapeseed Oil Fortified with Unsaturated Fatty Acid Sterol Esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2014**, *91*, 1793–1803. [\[CrossRef\]](#)
80. Lin, Y.; Knol, D.; Menéndez-Carreño, M.; Baris, R.; Janssen, H.-G.; Trautwein, E.A. Oxidation of sitosterol and campesterol in foods upon cooking with liquid margarines without and with added plant sterol esters. *Food Chem.* **2018**, *241*, 387–396. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
81. AbuMweis, S.S.; Barake, R.; Jones, P.J. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr. Res.* **2008**, *52*, 1–17. [\[CrossRef\]](#)
82. de Jong, A.; Plat, J.; Mensink, R.P. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). *J. Nutr. Biochem.* **2003**, *14*, 362–369. [\[CrossRef\]](#)
83. Cacace, J.; Mazza, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *J. Food Eng.* **2003**, *59*, 379–389. [\[CrossRef\]](#)
84. Brglez Mojzer, E.; Knez Hrnčič, M.; Škerget, M.; Knez, Ž.; Bren, U. Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules* **2016**, *21*, 901. [\[CrossRef\]](#)
85. Martakos, I.; Kostakis, M.; Dasenaki, M.; Pentogennis, M.; Thomaidis, N. Simultaneous Determination of Pigments, Tocopherols, and Squalene in Greek Olive Oils: A Study of the Influence of Cultivation and Oil-Production Parameters. *Foods* **2019**, *9*, 31. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
86. Tir, R.; Dutta, P.C.; Badjah-Hadj-Ahmed, A.Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2012**, *114*, 1427–1438. [\[CrossRef\]](#)
87. Sicaire, A.-G.; Vian, M.; Fine, F.; Joffre, F.; Carré, P.; Tostain, S.; Chemat, F. Alternative Bio-Based Solvents for Extraction of Fat and Oils: Solubility Prediction, Global Yield, Extraction Kinetics, Chemical Composition and Cost of Manufacturing. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 8430–8453. [\[CrossRef\]](#)
88. Wajs-Bonikowska, A.; Stobiecka, A.; Bonikowski, R.; Krajewska, A.; Sikora, M.; Kula, J. A comparative study on composition and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide, hexane and ethanol extracts from blackberry (*Rubus fruticosus*) growing in Poland. *J. Sci. Food Agric.* **2017**, *97*, 3576–3583. [\[CrossRef\]](#)
89. Dimic, E.; Vujasinovic, V.; Radocaj, O.; Pastor, O. Characteristics of blackberry and raspberry seeds and oils. *Acta Period. Technol.* **2012**, *43*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
90. Šućurović, A.; Vukelić, N.; Ignjatović, L.; Brčeski, I.; Jovanović, D. Physical-chemical characteristics and oxidative stability of oil obtained from lyophilized raspberry seed. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2009**, *111*, 1133–1141. [\[CrossRef\]](#)
91. Radočaj, O.; Vujasinović, V.; Dimić, E.; Basić, Z. Blackberry (*Rubus fruticosus* L.) and raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oils extracted from dried press pomace after longterm frozen storage of berries can be used as functional food ingredients. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, *116*, 1015–1024. [\[CrossRef\]](#)
92. Pieszka, M.; Gogol, P.; Pietras, M.; Pieszka, M. Valuable Components of Dried Pomaces of Chokeberry, Black Currant, Strawberry, Apple and Carrot as a Source of Natural Antioxidants and Nutraceuticals in the Animal Diet. *Ann. Anim. Sci.* **2015**, *15*, 475–491. [\[CrossRef\]](#)
93. Puganen, A.; Kallio, H.P.; Schaich, K.M.; Suomela, J.-P.; Yang, B. Red/Green Currant and Sea Buckthorn Berry Press Residues as Potential Sources of Antioxidants for Food Use. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 3426–3434. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
94. Ross, K.A.; Ehret, D.; Godfrey, D.; Fukumoto, L.; Diarra, M. Characterization of Pilot Scale Processed Canadian Organic Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) and Blueberry (*Vaccinium angustifolium*) Juice Pressing Residues and Phenolic-Enriched Extractives. *Int. J. Fruit Sci.* **2016**, *17*, 202–232. [\[CrossRef\]](#)
95. Vulić, J.J.; Tumbas, V.T.; Savatović, S.M.; Djilas, S.; Četković, G.S.; Čanadanović-Brunet, J.M. Polyphenolic content and antioxidant activity of the four berry fruits pomace extracts. *Acta Period. Technol.* **2011**, *42*, 271–279. [\[CrossRef\]](#)
96. Čanadanović-Brunet, J.; Vulić, J.; Čebović, T.; Četković, G.; Čanadanović, V.; Djilas, S.; Šaponjac, V.T. Phenolic Profile, Antiradical and Antitumour Evaluation of Raspberries Pomace Extract from Serbia. *Iran. J. Pharm. Res.* **2017**, *16*, 142–152.
97. Laroze, L.E.; Díaz-Reinoso, B.; Moure, A.; Zúñiga, M.E.; Domínguez, H. Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents. *Eur. Food Res. Technol.* **2010**, *231*, 669–677. [\[CrossRef\]](#)

98. Kosmala, M.; Zduńczyk, Z.; Kołodziejczyk, K.; Klimczak, E.; Juśkiewicz, J.; Zdunczyk, P. Chemical composition of polyphenols extracted from strawberry pomace and their effect on physiological properties of diets supplemented with different types of dietary fibre in rats. *Eur. J. Nutr.* **2013**, *53*, 521–532. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
99. Machado, A.P.D.F.; Pereira, A.L.D.; Barbero, G.F.; Martínez, J. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. *Food Chem.* **2017**, *231*, 1–10. [\[CrossRef\]](#)
100. Medina-Torres, N.; Ayora-Talavera, T.; Espinosa-Andrews, H.; Sánchez-Contreras, A.; Pacheco, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy* **2017**, *7*, 47. [\[CrossRef\]](#)
101. D'Alessandro, L.G.; Kriaa, K.; Nikov, I.; Dimitrov, K. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Sep. Purif. Technol.* **2012**, *93*, 42–47. [\[CrossRef\]](#)
102. Herrera, M.C.; de Castro, M.D.L. Ultrasound-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 1106–1112. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
103. Wang, W.; Jung, J.; Tomasino, E.; Zhao, Y. Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT Food Sci. Technol.* **2016**, *72*, 229–238. [\[CrossRef\]](#)
104. Gayas, B.; Kaur, G.; Gul, K. Ultrasound-Assisted Extraction of Apricot Kernel Oil: Effects on Functional and Rheological Properties. *J. Food Process Eng.* **2017**, *40*, e1243. [\[CrossRef\]](#)
105. Samaram, S.; Mirhosseini, H.; Tan, C.P.; Ghazali, H.; Bordbar, S.; Serjouie, A. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chem.* **2015**, *172*, 7–17. [\[CrossRef\]](#)
106. Samaram, S.; Mirhosseini, H.; Tan, C.P.; Ghazali, H.M. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) and Solvent Extraction of Papaya Seed Oil: Yield, Fatty Acid Composition and Triacylglycerol Profile. *Molecules* **2013**, *18*, 12474–12487. [\[CrossRef\]](#)
107. Krivokapić, S.; Vlaović, M.; Vratnica, B.D.; Perović, A.; Perović, S. Biowaste as a Potential Source of Bioactive Compounds—A Case Study of Raspberry Fruit Pomace. *Foods* **2021**, *10*, 706. [\[CrossRef\]](#)
108. Bamba, B.S.B.; Shi, J.; Tranchant, C.C.; Xue, S.J.; Forney, C.F.; Lim, L.-T. Influence of Extraction Conditions on Ultrasound-Assisted Recovery of Bioactive Phenolics from Blueberry Pomace and Their Antioxidant Activity. *Molecules* **2018**, *23*, 1685. [\[CrossRef\]](#)
109. Zafra-Rojas, Q.Y.; Cruz-Cansino, N.S.; Lira, A.Q.; Gómez-Aldapa, C.A.; Alanís-García, E.; Cervantes-Elizarrarás, A.; Güemes-Vera, N.; Ramírez-Moreno, E. Application of Ultrasound in a Closed System: Optimum Condition for Antioxidants Extraction of Blackberry (*Rubus fruticosus*) Residues. *Molecules* **2016**, *21*, 950. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
110. Xue, H.; Tan, J.; Li, Q.; Tang, J.; Cai, X. Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction of Anthocyanins from Raspberry Wine Residues: Process Optimization, Isolation, Purification, and Bioactivity Determination. *Food Anal. Methods* **2021**, *14*, 1369–1386. [\[CrossRef\]](#)
111. Ramić, M.; Vidović, S.; Zeković, Z.; Vladić, J.; Cvejin, A.; Pavlić, B. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrason. Sonochem.* **2015**, *23*, 360–368. [\[CrossRef\]](#)
112. He, B.; Zhang, L.-L.; Yue, X.-Y.; Liang, J.; Jiang, J.; Gao, X.-L.; Yue, P.-X. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food Chem.* **2016**, *204*, 70–76. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Lončarić, A.; Celeiro, M.; Jozinović, A.; Jelinić, J.; Kovač, T.; Jokić, S.; Babić, J.; Moslavac, T.; Zavadlav, S.; Lores, M. Green Extraction Methods for Extraction of Polyphenolic Compounds from Blueberry Pomace. *Foods* **2020**, *9*, 1521. [\[CrossRef\]](#)
114. Gođevac, D.; Tešević, V.; Vajs, V.; Milosavljević, S.; Stanković, M. Blackberry Seed Extracts and Isolated Polyphenolic Compounds Showing Protective Effect on Human Lymphocytes DNA. *J. Food Sci.* **2011**, *76*, C1039–C1043. [\[CrossRef\]](#)
115. Teng, H.; Chen, L.; Huang, Q.; Wang, J.; Lin, Q.; Liu, M.; Lee, W.Y.; Song, H. Ultrasonic-Assisted Extraction of Raspberry Seed Oil and Evaluation of Its Physicochemical Properties, Fatty Acid Compositions and Antioxidant Activities. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0153457. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
116. Sady, S.; Matuszak, L.; Błaszczak, A. Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from chokeberry pomace using response surface methodology. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2015**, *18*, 249–256. [\[CrossRef\]](#)
117. Cvetanović, A.; Švarc-Gajić, J.; Zeković, Z.; Mašković, P.; Đurović, S.; Zengin, G.; Delerue-Matos, C.; Lozano-Sánchez, J.; Jakšić, A. Chemical and biological insights on aronia stems extracts obtained by different extraction techniques: From wastes to functional products. *J. Supercrit. Fluids* **2017**, *128*, 173–181. [\[CrossRef\]](#)
118. Oszmiański, J.; Lachowicz, S. Effect of the Production of Dried Fruits and Juice from Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the Content and Antioxidative Activity of Bioactive Compounds. *Molecules* **2016**, *21*, 1098. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
119. Kumari, B.; Tiwari, B.K.; Hossain, M.B.; Brunton, N.P.; Rai, D.K. Recent Advances on Application of Ultrasound and Pulsed Electric Field Technologies in the Extraction of Bioactives from Agro-Industrial By-products. *Food Bioprocess Technol.* **2018**, *11*, 223–241. [\[CrossRef\]](#)
120. Pataro, G.; Bobinaite, R.; Bobinas, Česlovas; Satkauskas, S.; Raudonis, R.; Visockis, M.; Ferrari, G.; Viskelis, P. Improving the Extraction of Juice and Anthocyanins from Blueberry Fruits and Their By-products by Application of Pulsed Electric Fields. *Food Bioprocess Technol.* **2017**, *10*, 1595–1605. [\[CrossRef\]](#)
121. Bobinaite, R.; Pataro, G.; Lamanaukas, N.; Šatkauskas, S.; Viskelis, P.; Ferrari, G. Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52*, 5898–5905. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

122. Zhou, Y.; Zhao, X.; Huang, H. Effects of Pulsed Electric Fields on Anthocyanin Extraction Yield of Blueberry Processing By-Products. *J. Food Process. Preserv.* **2015**, *39*, 1898–1904. [\[CrossRef\]](#)
123. Gagneten, M.; Leiva, G.; Salvatori, D.; Schebor, C.; Olaiz, N. Optimization of Pulsed Electric Field Treatment for the Extraction of Bioactive Compounds from Blackcurrant. *Food Bioprocess Technol.* **2019**, *12*, 1102–1109. [\[CrossRef\]](#)
124. Veggi, P.C.; Martinez, J.; Meireles, M.A.A. Fundamentals of Microwave Extraction. In *Microwave-Assisted Extraction for Bioactive 15 Compounds: Theory and Practice*; Food Engineering Series; Springer Science and Business Media LLC: Boston, MA, USA, 2012; pp. 15–52.
125. Pap, N.; Beszédes, S.; Pongrácz, E.; Myllykoski, L.; Gábor, M.; Gyimes, E.; Hodúr, C.; Keiski, R.L. Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanins from Black Currant Marc. *Food Bioprocess Technol.* **2013**, *6*, 2666–2674. [\[CrossRef\]](#)
126. Davis, E.J.; Andreani, E.S.; Karboune, S. Production of Extracts Composed of Pectic Oligo/Polysaccharides and Polyphenolic Compounds from Cranberry Pomace by Microwave-Assisted Extraction Process. *Food Bioprocess Technol.* **2021**, *14*, 634–649. [\[CrossRef\]](#)
127. Raghavan, S.; Richards, M. Comparison of solvent and microwave extracts of cranberry press cake on the inhibition of lipid oxidation in mechanically separated turkey. *Food Chem.* **2007**, *102*, 818–826. [\[CrossRef\]](#)
128. Klavins, L.; Kvisies, J.; Klavins, M. Comparison of Methods of Extraction of Phenolic Compounds from American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.) Press Residues. *Agron. Res.* **2017**, *15*, 1316–1329.
129. Wrona, O.; Rafińska, K.; Możejki, C.; Buszewski, B. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials. *J. AOAC Int.* **2017**, *100*, 1624–1635. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
130. Campalani, C.; Amadio, E.; Zanini, S.; Dall'Acqua, S.; Panozzo, M.; Ferrari, S.; De Nadai, G.; Francescato, S.; Selva, M.; Perosa, A. Supercritical CO₂ as a green solvent for the circular economy: Extraction of fatty acids from fruit pomace. *J. CO₂ Util.* **2020**, *41*, 101259. [\[CrossRef\]](#)
131. Marić, B.; Abramović, B.; Ilić, N.; Krulj, J.; Kojić, J.; Perović, J.; Bodroža-Solarov, M.; Teslić, N. Valorization of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) seeds as a source of health beneficial compounds: Extraction by different methods. *J. Food Process. Preserv.* **2020**, *44*, e14744. [\[CrossRef\]](#)
132. Milala, J.; Grzelak-Błaszczak, K.; Sójka, M.; Kosmala, M.; Dobrzyńska-Inger, A.; Rój, E. Changes of bioactive components in berry seed oils during supercritical CO₂ extraction. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *42*, e13368. [\[CrossRef\]](#)
133. Correa, M.D.S.; Fetzer, D.L.; Hamerski, F.; Corazza, M.L.; Scheer, A.D.P.; Ribani, R.H. Pressurized extraction of high-quality blackberry (*Rubus* spp. Xavante cultivar) seed oils. *J. Supercrit. Fluids* **2021**, *169*, 105101. [\[CrossRef\]](#)
134. Pavlić, B.; Pezo, L.; Marić, B.; Tukuljac, L.P.; Zeković, Z.; Solarov, M.B.; Teslić, N. Supercritical fluid extraction of raspberry seed oil: Experiments and modelling. *J. Supercrit. Fluids* **2020**, *157*, 104687. [\[CrossRef\]](#)
135. Basegmez, H.I.O.; Povilaitis, D.; Kitrytė, V.; Kraujalienė, V.; Šulniūtė, V.; Alasalvar, C.; Venskutonis, P.R. Biorefining of blackcurrant pomace into high value functional ingredients using supercritical CO₂, pressurized liquid and enzyme assisted extractions. *J. Supercrit. Fluids* **2017**, *124*, 10–19. [\[CrossRef\]](#)
136. Sapkale, G.N.; Patil, S.M.; Surwase, U.S.; Bhatbhage, P.K. Supercritical Fluid Extraction. *Int. J. Chem. Sci.* **2010**, *8*, 729–743.
137. Mustafa, A.; Turner, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *703*, 8–18. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
138. Brazdauskas, T.; Montero, L.; Venskutonis, P.; Ibañez, E.; Herrero, M. Downstream valorization and comprehensive two-dimensional liquid chromatography-based chemical characterization of bioactives from black chokeberries (*Aronia melanocarpa*) pomace. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1468*, 126–135. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
139. Grunovaitė, L.; Pukalskienė, M.; Pukalskas, A.; Venskutonis, P.R. Fractionation of black chokeberry pomace into functional ingredients using high pressure extraction methods and evaluation of their antioxidant capacity and chemical composition. *J. Funct. Foods* **2016**, *24*, 85–96. [\[CrossRef\]](#)
140. Kryževičūtė, N.; Jaime, I.; Diez, A.M.; Rovira, J.; Venskutonis, P.R. Effect of raspberry pomace extracts isolated by high pressure extraction on the quality and shelf-life of beef burgers. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2017**, *52*, 1852–1861. [\[CrossRef\]](#)
141. Puri, M.; Sharma, D.; Barrow, C.J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends Biotechnol.* **2012**, *30*, 37–44. [\[CrossRef\]](#)
142. Syrpas, M.; Valanciene, E.; Augustiniene, E.; Malys, N. Valorization of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Pomace by Enzyme-Assisted Extraction: Process Optimization and Comparison with Conventional Solid-Liquid Extraction. *Antioxidants* **2021**, *10*, 773. [\[CrossRef\]](#)
143. Kitrytė, V.; Kraujalienė, V.; Šulniūtė, V.; Pukalskas, A.; Venskutonis, P.R. Chokeberry pomace valorization into food ingredients by enzyme-assisted extraction: Process optimization and product characterization. *Food Bioprod. Process.* **2017**, *105*, 36–50. [\[CrossRef\]](#)
144. Saad, N.; Louvet, F.; Tarrade, S.; Meudec, E.; Grenier, K.; Landolt, C.; Ouk, T.; Bressollier, P. Enzyme-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Pomace. *J. Food Sci.* **2019**, *84*, 1371–1381. [\[CrossRef\]](#)



Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction

Iga Piasecka^{a,*}, Rita Brzezińska^a, Stanisław Kalisz^b, Artur Wiktor^c, Agata Górka^a

^a Department of Chemistry, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Poland

^b Department of Food Technology and Assessment, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Poland

^c Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Poland

ARTICLE INFO

Keywords:

Blackcurrant

Redcurrant

Pomace

Ultrasound-assisted extraction

Oil

Bioactive compounds

ABSTRACT

An investigation of the ultrasound-assisted extraction (UAE) of polyphenols and oils from blackcurrant and redcurrant pomaces was carried out. The aim of the study was to select optimal conditions for the UAE process in order to obtain polyphenol-rich extracts with highest total polyphenol content and highest antioxidant capacity. In case of oils, the optimization was focused on choosing the UAE parameters to achieve the highest oil yield and the longest oxidation induction times. The most effective conditions of UAE were provided by the results of response surface methodology procedure, which involved variables of time (2–10 min) and ultrasound amplitude (30%–80%). Solvents used for extractions were distilled water and *n*-hexane for bioactive compounds and oils extractions, respectively. In terms of polyphenol-rich fractions the most effective conditions were: amplitude of around 51% and 3 min time for blackcurrant pomace and amplitude of around 91% and 11 min time for redcurrant pomace. In case of oils, the amplitude of 99% and 11.5 min time were chosen for blackcurrant. For redcurrant seed oil it was the amplitude of 96% and extraction time equal to 12 min. The actual results obtained in optimized conditions were comparable to the results predicted by models. It was proved that response surface methodology could be useful tool in optimization of UAE process for blackcurrant and redcurrant polyphenol-rich extracts and seed oils.

1. Introduction

Blackcurrants (BC) and redcurrants (RC) are widely grown plants with their fruits being processed to juices, jams, concentrates etc. The fruit pomace left after processing may be a rich source of bioactive compounds and oil (Iqbal, Schulz, & Rizvi, 2021). Extracts from blackcurrant and redcurrant pomaces were previously described as rich in polyphenols and with high antioxidative capacity (Babaoğlu, Unal, Dilek, Poçan, & Karakaya, 2022; Michalska, Wojdyło, Lech, Łysiak, & Figiel, 2017). Anthocyanins (Jara-Palacios et al., 2019) and flavonoids: rutin and catechin, phenolic acids: caffeic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid and gallic acid (Babaoğlu et al., 2022) were main polyphenols found in redcurrant pomace. In case of blackcurrant pomace, anthocyanins, especially delphinidin-3-rutinoside and glucoside, cyanidin-3-rutinoside and glucoside as major polyphenolic compounds and myricetin and quercetin as main flavonoids were determined (Sójka & Król, 2009). Also, the seeds present in currant pomaces could be considered as a source of oil with high polyunsaturated fatty acid

content and with remarkable presence of phytosterols and tocopherols (Bada, León-Camacho, Copovi, & Alonso, 2014). Therefore, valorization of fruit pomaces should be widely considered. The polyphenol and oil fractions may be recovered through extraction process. It is worth mentioning, that conventional extraction methods are now being gradually replaced by novel, alternative techniques, which are beneficial in terms of environmental protection and process efficiency, such as for example ultrasound assisted extraction (UAE) (Piasecka, Wiktor, & Górka, 2022).

The effects of ultrasound include cavitation phenomena which results in improved mass transfer from disrupted cells and increases the release of extracted substances (Chemat et al., 2017). Sonication was successfully applied to extract polyphenol fraction from grape (Bonfigli, Godoy, Reinheimer, & Scenna, 2017; Da Porto, Porretto, & Decorti, 2013; Da Rocha & Noreña, 2020), apple (Pingret, Fabiano-Tixier, Bourvellec, Renard, & Chemat, 2012) and blueberry (Bamba et al., 2018; He et al., 2016) pomaces. UAE of oils from fruit by-products was performed for, among others, raspberry (Teng et al., 2016), grape (Da

* Corresponding author.

E-mail address: iga_piasecka@sggw.edu.pl (I. Piasecka).

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103511>

Received 10 October 2023; Received in revised form 17 December 2023; Accepted 18 December 2023

Available online 21 December 2023

2212-4292/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Porto et al., 2013) and pomegranate (Barizão, Boeing, Martins, Visentainer, & Almeida, 2015) seeds. The conditions of the sonication play crucial role in forming properties of extract. Thus, the process needs to be optimized in order to obtain method characterized by high efficiency and high quality of the final product.

There were reported some results of UAE application in recovery of bioactive compounds from blackcurrant and redcurrant pomaces. Ethanolic ultrasound-assisted extraction was applied in the study by Milić et al. (2022), where extraction methods: solid-liquid, pressurized-liquid, microwave-assisted and UAE were compared with regard to bioactive compounds yield. All measured parameters i.e., total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC), monomeric anthocyanin content and antioxidant capacity measured in DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate (6)]) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays were significantly higher in extracts obtained in UAE than in conventional, solid-liquid extraction. Also, UAE was in summary the most favorable method of extraction of bioactive compounds, although, the least selective. UAE was also used in studies by Vorobyova et al. (2021) or Blejan, Nour, Păcularu-Burada, Popescu, and Blejan (2023) to obtain bioactive extracts with antioxidant properties from blackcurrant pomace. Considering UAE application in oil extraction, it was successfully used by Górnaś, Soliven, and Segliņa (2015) to extract red currant seed oil rich in tocopherols. However, neither UAE of blackcurrant seed oil nor optimization of UAE of oil from redcurrant or blackcurrant seeds was reported.

The aim of the present study was to optimize the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds and oils from blackcurrant and redcurrant pomaces. The optimization was carried out using response surface methodology in order to obtain polyphenol-rich extracts with the highest possible total polyphenol content measured using Folin-Ciocalteu reagent and with the most efficient antioxidant capacity assessed using ABTS radicals. Also, to obtain oil with the most effective yield and characterized by the longest maximum induction time measured by pressure differential scanning calorimetry. To achieve that, UAE at variable conditions of amplitude and extraction time was applied. Additional goal was to investigate how UAE affected anthocyanin content of polyphenol-rich extracts and how it influenced thermal properties and fatty acid profile of oils.

2. Materials

2.1. Plant materials

Blackcurrant (*Ribes nigrum* var. Ruben) and redcurrant (*Ribes rubrum* var. Jonkheer van Tets) were purchased as fresh from the local supplier. Then fruits were processed using hydraulic press (HPL 14, Bucher Unipektin, Niederweningen, Switzerland). Approximately 10 kg of raw fruits were placed in press and by applying maximum 3 Bar pressure, juice was obtained. Blackcurrant juice was obtained with 41.0% yield, whereas for redcurrant it was 68.7% yield. Collected pomaces were then dried in a prototype laboratory convective dryer at temperature of 45 °C and air flow 1.5 m/s.

The water activity (a_w) of dried currants was measured in Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic AG, Switzerland) hygrometer at 25 ± 0.3 °C. The a_w of dry blackcurrant and redcurrant pomaces were 0.362 ± 0.015 and 0.254 ± 0.012 , respectively. Both results were acceptable in terms of microbial safety and general stability (Palacha, 2008).

Seeds were separated by sieving from the pomace to obtain two fractions: Seedless pomace and separated seeds. Then, seedless pomace was used to extract polyphenol rich fraction. The seeds were milled in the laboratory IKA Tube Mill (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Germany) applying 20,000 rpm in 30 s time and used to extract oil.

Table 1

Coded and actual values of independent variables in the UAE experiments.

Run	X1: Ultrasound amplitude [%]		X2: Extraction time [min]	
	Coded	Actual	Coded	Actual
1	-1	30	-1	2
2	+1	80	-1	2
3	-1	30	+1	10
4	+1	80	+1	10
5	-1.414	19.75	0	6
6	+1.414	90.25	0	6
7	0	55	-1.414	0.344
8	0	55	+1.414	11.656
9	0	55	0	6
10	0	55	0	6

2.2. Chemicals

N-hexane, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid standard, sodium carbonate, potassium persulfate, hydrochloric acid, calcium chloride, diethyl ether, magnesium sulfate, acetic acid, methanol and potassium hydroxide were supplied by Chempur, Piekary Slaskie, Poland. 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate (6)] (ABTS), (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox) were purchased from Thermo Scientific Chemicals (Waltham, MA, USA). Bile salts solution, TRIS, pancreatic lipase and cyanidin-3-glucoside standard were purchased from Sigma-Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, USA).

3. Methods

3.1. Experimental design

In order to evaluate the influence of UAE parameters on the quality of oil and polyphenolic extracts and to perform possible optimization, central composite design (CCD) was implemented. The two independent variables chosen for the following study were the same for both extraction processes-ultrasound amplitude (A) and extraction time (t). The coded and actual values applied in the experiment are shown in Table 1. The specific values of parameters were chosen based on the preliminary studies, thus 10 experiments with double repetition in the centre point were carried out in triplicate. The suitable models were fit, and the experimental equations were specified according to the following formulas (1- for the quadratic model, 2- for the linear model and 3- for the two-factor interaction model):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (1)$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \quad (2)$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (3)$$

where: β_0 - the constant coefficient; β_1, β_2 - regression coefficients for the linear terms; β_{11}, β_{22} - regression coefficients for the quadratic terms; β_{12} - regression coefficient for the interaction terms; X_1, X_2 - coded values of independent variables.

In case of phenolic extracts, two independent variables were total phenolic content (TPC), measured using Folin-Ciocalteu reagent and antioxidative capacity measured in ABTS radical scavenging assay. For oil extraction, two independent variables were yield (Y) and maximum oxidation reaction induction time (τ_{max}) measured in pressure differential scanning calorimetry study.

3.2. Ultrasound assisted extraction

UAE of bioactive compounds as well as UAE of oils were conducted in UP400S ultrasound processor supplied by Hielscher Ultrasonics GmbH (Tetlow, Germany), with adjustable wave amplitude level, the output power of 400 W and replaceable sonotrode. The explanatory picture is

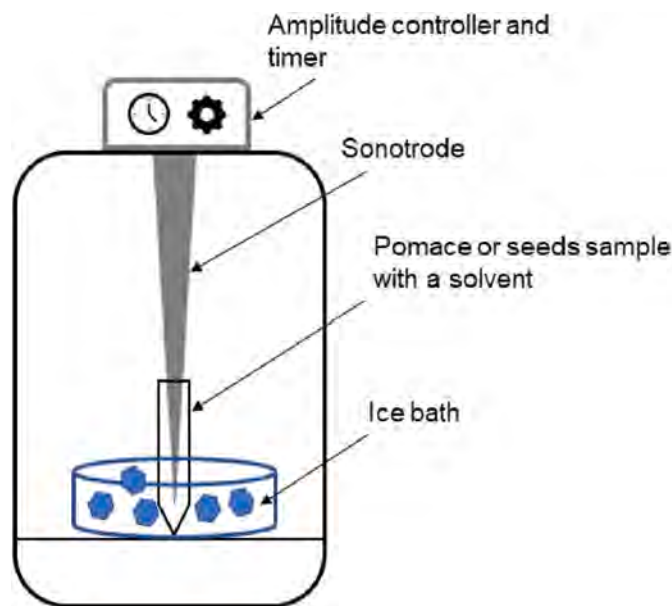


Fig. 1. The scheme of ultrasonic system used in the study.

presented in Fig. 1.

Procedure for polyphenolic fraction extraction was as follows: Two grams of blackcurrant or redcurrant seedless pomace were placed in 50 mL Falcon tube. Distilled water (30 mL) was used as a solvent and was added to pomace right before the extraction. Sonotrode was then immersed to the tube. Temperature of the process was monitored using immersive thermometer at up to 45 °C. Obtained extracts were then filtered using paper filter and frozen until further analysis.

For oil extraction, 2 g of milled blackcurrant or redcurrant seeds were placed in 50 mL Falcon tubes and mixed with 30 mL of *n*-hexane used as an extractant. Sonotrode was immersed to the tube immediately after adding the solvent. The temperature was controlled as for the polyphenol fraction extraction. After the procedure, extracts were filtered and dried with anhydrous magnesium sulfate. Hexane was evaporated in vacuum rotary evaporator (BR-215, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) at 40 °C. Additional removal of solvent was carried out in the nitrogen atmosphere.

3.3. Analysis of polyphenolic extracts

3.3.1. Total polyphenolic content

TPC was determined spectrophotometrically, using Folin-Ciocalteu reagent, according to the Gao, Ohlander, Jeppsson, Björk, and Trajkovski (2000). Briefly, 0.2 mL of diluted extracts, 0.4 mL Folin-Ciocalteu reagent, 4 mL distilled water and 2 mL of 15% sodium carbonate solution were added into a test tube, mixed on a Vortex mixer and placed in the darkness for 60 min. After that, absorbance was measured in Shimadzu UV–1650PC spectrophotometer (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) at wavelength 765 nm. Working standard solutions of gallic acid in concentrations 50 mg–250 mg/L were used to prepare calibration curve. The results of TPC were expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE) per g of dried sample.

3.3.2. Antioxidant capacity

Antioxidant activity of extracts towards ABTS cation radical solution was determined according to the method by Re et al. (1999). Diluted sample (40 µL) and 4 mL of ABTS solution were added into a test tube and absorbance was measured at wavelength of 734 nm after 8 min of incubation, using Shimadzu UV–1650PC spectrophotometer. Standard curve of Trolox was prepared from Trolox working standard solutions in concentrations of 0–1125 µmol/L. The results of antioxidative capacity

were expressed as µmol Trolox equivalent (TE) per g of dried sample.

3.3.3. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of anthocyanins

The HPLC (Shimadzu Corp.) with DAD detector and Luna 5 µm C18 (2), 250 mm × 4.6 mm column with precolumn (Phenomenex, Torrance, CA, USA) were used to analyze the content of anthocyanins. The anthocyanin content in the extracts prepared in the optimized and control conditions was determined using the HPLC method in accordance with the previous methodology (Goiffon, Mouly, & Gaydou, 1999). The analysis was conducted in an isocratic flow at a flow rate of 1 mL/min. The water, acetonitrile and formic acid mixture in a volumetric ratio of 830:70:100 was used as the mobile phase. The prepared samples were centrifuged in a laboratory centrifuge (MPW-350R, MPW Med Instruments, Warszawa, Poland), applying ca. 18000g in 10 min. The results were recorded at a wavelength of 520 nm. The total anthocyanin content was expressed as milligram content per 100 g of dried sample, which was calculated as cyanidin 3-*O*-glucoside. The concentration of compounds was determined in relation to a cyanidin-3-glucoside standard. Analyses were repeated thrice for each material. The total anthocyanin content (TAC) was calculated as a sum of individual anthocyanins based on the chromatograms analyzed in the LabSolutions software (v. 5.106, Shimadzu Corp.).

3.4. Analysis of oils

3.4.1. Extraction yield

Yield of the extraction was determined gravimetrically, according to the Ni et al. (2015). The yield was calculated by dividing mass of oil by initial mass of seeds and expressed as percent (Equation (4)).

$$Y = \frac{m_{oil}}{m_{seeds}} \times 100 \quad (4)$$

where: Y- yield (%); m_{oil} - mass of oil (g); m_{seeds} - initial mass of ground seeds (g).

3.4.2. Pressure differential scanning calorimetry

Oxidative stability of oils was studied in pressure differential scanning calorimetry (PDSC) study according to previously described method (Piasecka, Górska, Ostrowska-Ligęza, & Kalisz, 2021). DSC Q20 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, DE, USA) was used for the analysis. Maximum induction time (τ_{max}) was the result of the PDSC analysis of 3–4 mg of oil put in an aluminum pan in comparison with empty pan used as a reference. Both pans were closed in the cell purged with oxygen at a pressure of ca. 1400 kPa in isothermal conditions of 120 °C.

3.4.3. Oxidation kinetics

Kinetic parameters of oil oxidation were calculated based on the results of the PDSC measurements at five different temperatures: 110, 115, 120, 125, 130 °C. The equipment and conditions of measurement were as described for the pressure differential scanning calorimetry. The maximum induction time results were used to plot a graph of the logarithm of the induction time versus reversed temperature (in absolute scale). Then, activation energy, pre-exponential factor and reaction rate constant values were determined based on calculations described by Wirkowska-Wojdyła, Ostrowska-Ligęza, Górska, and Bryś (2022), which were the interpretation of Arrhenius and Ozawa-Flynn-Wall equations.

3.4.4. Differential scanning calorimetry

Melting characteristics of oils was assessed in the differential scanning calorimetry study (DSC). DSC Q200 TA Instrument (TA Instruments) calorimeter was used in the procedure as follows: 3–4 mg samples of oils were placed in hermetically sealed aluminum pans and placed in the apparatus with the reference empty pan. The flow rate of

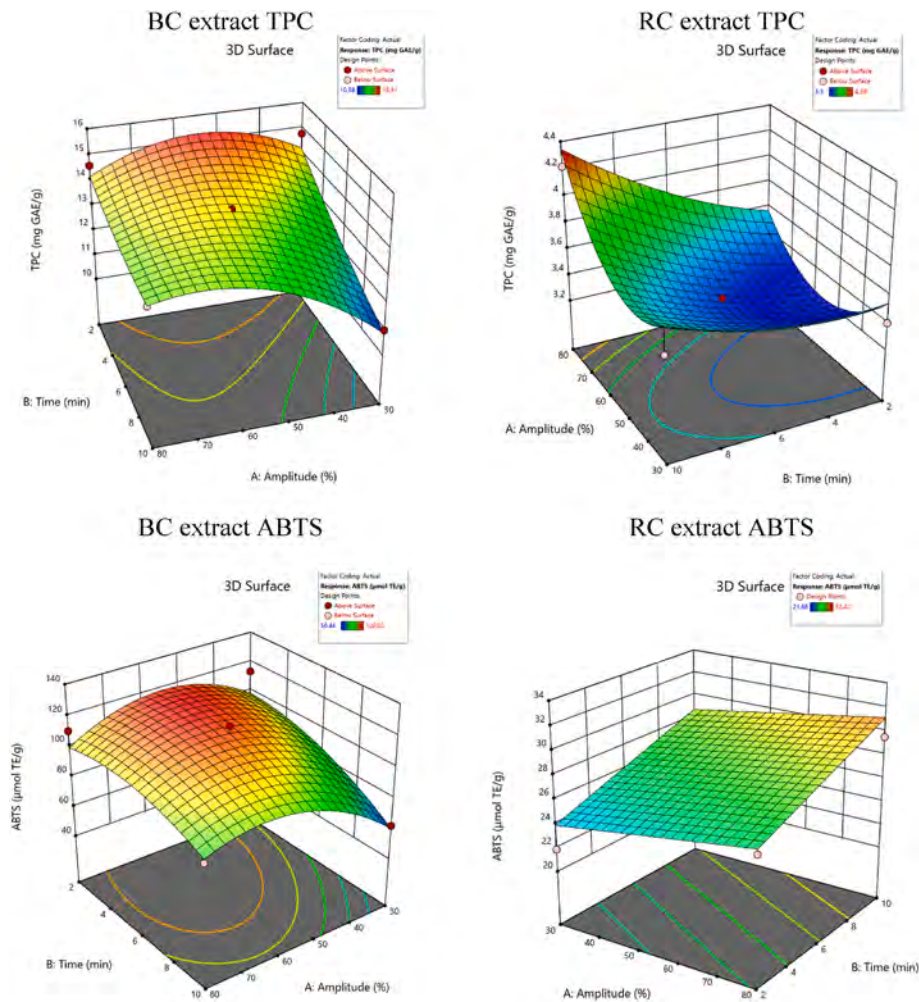


Fig. 2. The 3D graphs of response surfaces of TPC and antioxidant capacity (ABTS) of blackcurrant and redcurrant pomace extracts, depending on ultrasound amplitude (A) and extraction time (B).

cooling medium-nitrogen was set at 50 mL per minute. At first samples were brought to 80 °C and kept in that conditions for 10 min. Then, samples were cooled down to −80 °C with a cooling rate of 10 °C/min and maintained for 30 min. Last step was reheating samples to 80 °C at a rate of 15 °C/min. Curve recorded during last step of the procedure was then analyzed in terms of melting characteristics determination (Wir-kowska, Ostrowska-Ligęza, Górka, & Koczoń, 2012).

3.4.5. Fatty acid profile and distribution in triacylglycerols

The fatty acid profile analysis was preceded with fatty acids methylation according to the standard method (Polish Norm, 2001). Then, obtained fatty acid methyl esters (FAMES) analysis was performed in gas chromatography (GC) study based on the method by Bryś et al. (2017). The YL6100 GC apparatus (Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Republic of Korea) coupled with a flame ionization detector and equipped with a 60-m long BPX 70 capillary column (SGE Analytical Science, Milton Keynes, UK) with an inner diameter of 0.22 mm and a film thickness of 0.25 μm was used. The identification of FAMES on the chromatogram was conducted by retention time comparison with the standard FAMES mixture. The percentage of each fatty acid was calculated in area normalization procedure.

Fatty acids distribution in triacylglycerols (TAG) was assessed using regiospecific pancreatic lipase in order to hydrolyze the ester bonds in sn-1,3 positions of TAG followed by isolating of monoacylglycerols in preparative thin layer chromatography (TLC) technique (Bryś et al., 2019) coupled with a GC of sn-2 FAMES procedure as described above.

3.4.6. Scanning electron microscopy

The microstructures of powdered raw blackcurrant and redcurrant seeds and the seeds left after UAE in the most efficient conditions were analyzed in scanning electron microscopy (SEM) study. TM-3000 (HITACHI, Tokyo, Japan) microscope at magnification of 1000 × and beam voltage equal to 15 kV was used.

3.4.7. Statistical analysis

The experiment was designed using Design-Expert software (v. 22.0.2, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA), followed by model evaluation, including analysis of determination coefficient, lack of fit test, p-value and coefficient variation results. Statistical analysis, considering one-way ANOVA and Tukey's post hoc test of detailed results obtained in DSC study, kinetics study and GC studies was conducted using Statistica software (v. 13.3, StatSoft, Kraków, Poland). In all cases, a p-value equal to 0.05 was set as a threshold value.

4. Results and discussion

4.1. Optimization of polyphenol fraction extraction

The effects of two independent variables: ultrasound amplitude and extraction time were studied for UAE to evaluate polyphenol fraction total phenolic content and antioxidant capacity by analyzing model fit with fitted equations and ANOVA tests. The results were obtained based on 30 experimental runs for blackcurrant and redcurrant pomaces,

Table 2

The statistical tests' results of fitting the equations of the response surfaces to the values obtained experimentally ($\alpha = 0.05$) in the process of UAE of blackcurrant (BC) and redcurrant (RC) bioactive compounds; R^2 (determination coefficient), CV (coefficient of variation).

Source	Response	Model	R^2	CV [%]	Model p-value	Lack of fit p-value
BC	TPC	Quadratic	0.9516	3.52	0.0027	0.0506
	ABTS	Quadratic	0.8431	12.88	0.0444	0.0866
RC	TPC	Quadratic	0.8919	5.39	0.0457	0.1345
	ABTS	Linear	0.6102	8.30	0.0370	0.0941

respectively. Total phenolic content in blackcurrant extracts ranged from 10.98 to 15.31 mg GAE/g fw, and in redcurrant - from 3.30 to 4.36 mg GAE/g fw. The experimental quadratic polynomial equations were obtained for blackcurrant (Equation (5)) and redcurrant (Equation (6)), as follows:

$$TPC_{BC} = 11.4206 + 0.181939 \bullet Amplitude - 0.760312 \bullet Time + 0.006425 \bullet Amplitude \bullet Time - 0.001778 \bullet Amplitude^2 + 0.012578 \bullet Time^2 \quad (5)$$

$$TPC_{RC} = 5.00375 - 0.063397 \bullet Amplitude - 0.080404 \bullet Time + 0.00135 \bullet Amplitude \bullet Time + 0.000556 \bullet Amplitude^2 + 0.005781 \bullet Time^2 \quad (6)$$

The equations contain only significant ($p < 0.05$) variables with their correlations and could be applied to count predicted TPC value of RC or BC extract obtained in UAE. The graphical expression of the model fit is shown in Fig. 2. According to ANOVA results (Table 2), quadratic model of fit in terms of TPC of extracts was significant ($p < 0.05$) for both black and redcurrant pomaces. Model fit p-values showed significance ($p < 0.05$) and lack of fit p-values did not indicate significance ($p < 0.05$). Generally, the effect of increased cavitation intensity, while higher values of ultrasound amplitude are applied, should contribute to polyphenol yield increment due to the improved solvent penetration into the solid and accelerated mass transfer (Dzah et al., 2020). However, rapid phenomena occurring in UAE process might result in degradation of some compounds. In the following study, moderate amplitude level seemed to be relevant for UAE of polyphenolic fraction from blackcurrant pomace, while bioactive compounds from redcurrant pomace were more prone to extract in higher amplitude conditions. Aliño-González et al. (2020) also reported higher values of ultrasound amplitude (70%) as optimal for blueberry phenolic extracts obtained in UAE with methanol used as a solvent. The high abundance of anthocyanins, which were previously proved to degrade during prolonged UAE with high amplitude (Tiwari, Patras, Brunton, Cullen, & O'Donnell, 2010) may be responsible for the decrease of TPC of blackcurrant pomace when time and amplitude level increased. Similar findings were reported for UAE with the use of ethanol in case of chokeberry pomace, where the highest TPC was achieved when moderate ultrasound power was applied (Ramić et al., 2015), as well as for the aqueous UAE of bioactive compounds from apple pomace (Egüés, Hernandez-Ramos,

Rivilla, & Labidi, 2021).

Regarding antioxidant capacity, the results ranged from 56.44 to 120.02 $\mu\text{mol TE/g fw}$ for blackcurrant pomace extract and from 21.86 to 32.42 $\mu\text{mol TE/g fw}$ in case of redcurrant pomace extract. Based on the model fit results presented in Table 2 (p-value of model, p-value of lack of fit and R^2), quadratic model was significant in terms of blackcurrant pomace UAE and linear model was significant in terms of redcurrant pomace UAE. Experimental equations-quadratic to predict antioxidative capacity of blackcurrant pomace extract (Equation (7)) and linear to describe the experimental effects on antioxidative capacity of redcurrant pomace extracts (Equation (8)) were determined.

$$ABTS_{BC} = 25.84993 - 3.30456 \bullet Amplitude - 0.252046 \bullet Time + 0.07005 \bullet Amplitude \bullet Time - 0.031107 \bullet Amplitude^2 - 0.550104 \bullet Time^2 \quad (7)$$

$$ABTS_{RC} = 21.22898 + 0.049908 \bullet Amplitude + 0.591351 \bullet Time \quad (8)$$

The graphical expressions of the aforementioned calculations are shown in Fig. 2. For blackcurrant pomace extract, longer time resulted in lower antioxidant capacity, however higher ultrasound amplitude had contributed to higher antioxidant capacity. Similar findings, when excessive time of UAE resulted in lower antioxidant capacity, were described for bioactive compounds extraction from apple pomace using ethanol (Razola-Díaz et al., 2022). In the case of redcurrant pomace, longer time and increased amplitude favored antioxidant capacity growth. According to Gómez-Cruz et al. (2021) longer UAE time also resulted in higher antioxidant capacity measured in ABTS assay for the olive oil pomace extracted with acetone.

The optimization carried out in statistical software revealed solutions for maximized TPC and antioxidant capacity in extracts obtained in UAE process. For the blackcurrant pomace amplitude of 51.49% and time 2.36 min were expected to give extracts with TPC level at 15.13 mg GAE/g fw and ABTS equal to 118.40 $\mu\text{mol TE/g fw}$. Applying actual parameters: 50% amplitude in 2.36 min time resulted in blackcurrant pomace extracts with TPC of 16.00 mg GAE/g fw and antioxidant capacity 117.63 $\mu\text{mol TE/g fw}$. In terms of redcurrant pomace, the maximum TPC at level 5.13 mg GAE/g fw and antioxidant capacity equal to 32.62 mg GAE/g fw were predicted when applying 91.66% amplitude and 11.53 min time. The result was validated in the UAE process with 90% amplitude and 11.53 min time. The actual values of TPC and antioxidant capacity of redcurrant pomace extracts were 5.56 mg GAE/g fw and 29.55 $\mu\text{mol TE/g fw}$, respectively. The results show that RSM enabled to fit the statistical model that reflected in actual results obtained in chosen conditions of UAE. González, Carrera, Barbero, and Palma (2022) optimized the anthocyanin UAE process from blackcurrant by-products applying Box Behnken design, using methanol in concentration 50%–100%, other variables were temperature (5–50 °C), amplitude (10%–50%), pH (2–8), and sample to solvent ratio (0.1–0.2 g/15 mL). The optimal conditions for the ultrasound-assisted anthocyanin recovery were: 65% methanol concentration, temperature- 5 °C, amplitude- 50%, pH- 4.97 and sample to solvent ratio- 0.1 g of sample per 15 mL of solvent. Comparing to the optimization carried out in the following study, optimal amplitude value was similar to the blackcurrant UAE.

Table 3

Anthocyanin content in blackcurrant and redcurrant pomaces water extracts obtained in UAE (BC_US, RC_US) and maceration (BC_C, RC_C) [mg/1000 g fw]; DP3GLU-delphinidin-3-glucoside; DP3RUT-delphinidin-3-rutinoside; CY3-SOPHO- cyanidin-3-sophoroside; CY3GLU- cyanidin-3-glucoside; CY3-2XYL-RUT-cyanidin-3-(2-xylosyl)rutinoside; CY3RUT-cyanidin-3-rutinoside; TAC- total anthocyanin content expressed as cyanidin 3-glucoside.

Sample	DP3GLU	DP3RUT	CY3-SOPHO	CY3-2GLU-RUT	CY3GLU	CY3-2XYL-RUT	CY3RUT	TAC
BC_US	246 $\pm$ 14 ^b	875 $\pm$ 1 ^b	–	–	116 $\pm$ 3 ^d	–	652 $\pm$ 1 ^d	1889 $\pm$ 17 ^d
BC_C	143 $\pm$ 14 ^a	506 $\pm$ 49 ^a	–	–	65 $\pm$ 6 ^c	–	376 $\pm$ 36 ^c	1090 $\pm$ 105 ^c
RC_US	–	–	2 $\pm$ 0 ^b	16 $\pm$ 0 ^b	2 $\pm$ 0 ^b	82 $\pm$ 0 ^b	10 $\pm$ 0 ^b	112 $\pm$ 0 ^b
RC_C	–	–	1 $\pm$ 0 ^a	6 $\pm$ 0 ^a	1 $\pm$ 0 ^a	38 $\pm$ 1 ^a	4 $\pm$ 0 ^a	50 $\pm$ 2 ^a

The results are mean values from duplicate tests of three independent extract samples $\pm$ standard deviation; different letters ^{a-d} indicate significant differences at $p < 0.05$.

Table 4

The statistical tests' results of fitting the equations of the response surfaces to the values obtained experimentally ($\alpha = 0.05$) for BC and RC seed oils isolated by UAE; R^2 (determination coefficient), CV (coefficient of variation).

Source	Response	Model	R^2	CV [%]	Model p-value	Lack of fit p-value
BC	Yield	Quadratic	0.9388	10.33	0.0047	0.1444
	$\tau_{\max}$	2FI	0.6553	4.96	0.0478	0.2220
RC	Yield	2FI	0.7442	9.45	0.0329	0.5331
	$\tau_{\max}$	2FI	0.7703	3.28	0.0241	0.6210

There were not reported any UAE optimization studies for redcurrant pomace yet.

4.2. Composition of polyphenol fractions

According to the literature, the most abundant phenolic compounds of both blackcurrant and redcurrant are anthocyanins (Borges, Dege-neve, Mullen, & Crozier, 2010) and thus, anthocyanin compositions in the extracts of blackcurrant and redcurrant pomaces obtained in optimized UAE conditions and control samples were determined. The results are shown in Table 3.

In general, the results showed that ultrasound-assisted extraction conducted in optimized conditions gave extracts with significantly ($p < 0.05$) higher content of identified anthocyanins. The same dependence was found for both blackcurrant and redcurrant extracts. Furthermore, based on the results, it can be concluded that redcurrant pomace extracts

were characterized by significantly lower content of anthocyanins compared to extracts obtained from blackcurrant pomace. Regarding detailed analysis, the following specific anthocyanins were detected for blackcurrant extracts: delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside and delphinidin-3-rutinoside as the most abundant one with the content equal to 874.90 ± 0.89 mg/1000 g fw for UAE extract and 505.87 ± 48.86 mg/1000 g fw for extract obtained in conventional process. For redcurrant pomace extract cyanidin-3-sophoroside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-(2-xylosyl) rutinoside, cyanidin-3-rutinoside were detected. The highest content of 82.35 ± 0.18 and 38.26 ± 1.31 mg/1000 g fw in case of UAE extract and conventional extract, respectively, was marked for cyanidin-3-(2-xylosyl) rutinoside.

Values of anthocyanin content similar to those in the conventionally obtained extracts were obtained for methanolic extracts from raw blackcurrant and redcurrant fruits in study by Ponder, Hallmann, Kwolek, Średnicka-Tober, and Kazimierzak (2021). That proved high efficiency of the UAE process as it was capable to extract almost the same amount of anthocyanin from pomace as it was extracted from raw fruits. Comparing to microwave-assisted extraction (MAE) method described by Pap et al. (2013), optimized UAE in the following study was slightly less efficient in terms of BC anthocyanin recovery than MAE which resulted in 2040 mg/1000 g total anthocyanin (TA). However, the results in cited study were given for the wet pomace mass units, unlike in the following study per mass unit of dried pomace. The acidified methanolic extract from redcurrant pomace obtained in conventional solid-liquid process was studied by Jara-Palacios et al. (2019). The TA

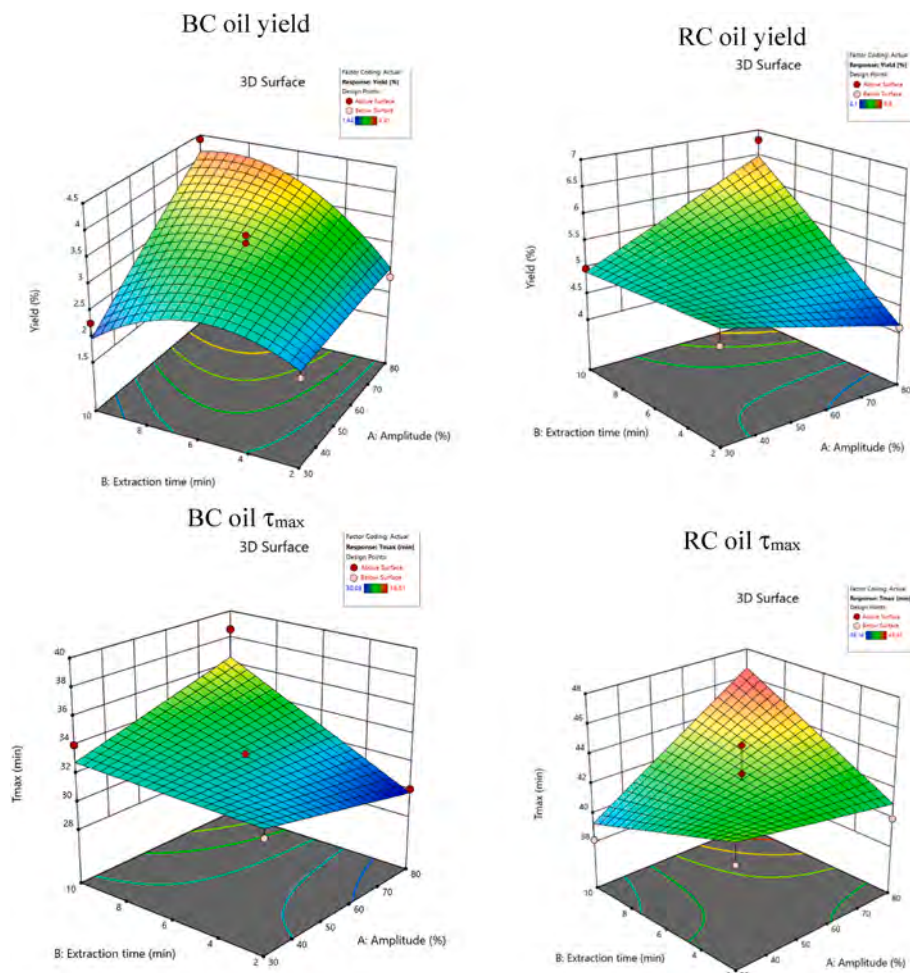


Fig. 3. The 3D graphs of response surfaces of yield and maximum induction time ($\tau_{\max}$) of blackcurrant (BC) and redcurrant (RC) seed oils, depending on ultrasound amplitude (A) and extraction time (B).

content measured in HPLC study was higher than in the following study-1499.1 mg/1000 g but expressed as content in dry matter.

4.3. Optimization of oil extraction

The effects of ultrasound amplitude and extraction time on the oil yield and maximum induction time of oils obtained in 30 runs for blackcurrant and 30 runs for redcurrant seeds were analyzed. The ANOVA tests results are shown in Table 4. The models fitted on the basis of the obtained results were quadratic model for the blackcurrant seed oil yield and two-factor interaction (2FI) models for blackcurrant seed oil $\tau_{\max}$ and for redcurrant seed oil yield and $\tau_{\max}$. The graphical expression of the models is shown on Fig. 3.

The overall observation is that oil yield improvement is positively correlated with increase of both, extraction time and ultrasound amplitude. The exact equations describing the mathematical dependence are Equations (9) and (10). The obtained results are in agreement with previous study concerning UAE of oil from cranberry seeds optimization (Piasecka, Brzezińska, Ostrowska-Ligęza, Wiktor, & Górska, 2023). The yield of cranberry seed oil which was dependent on both extraction time and US amplitude was the highest when the conditions were set at their highest values. Sebayang et al. (2023) also found that extended UAE time as well as higher US amplitude in oil extraction process from *Carica Candamarcensis* seeds resulted in higher yields. In terms of time effect on the yield, Moradi, Rahimi, Moeini, and Parsa-moghadam (2017) claimed that UAE efficiency of sunflower oil was a function of time and that most of the oil was extracted within first 15 min of the process.

$$Yield_{BC} = 1.7317 - 0.001035 \bullet Amplitude + 0.269004 \bullet Time + 0.005075$$

$$\bullet Amplitude \bullet Time - 0.000052 \bullet Amplitude^2 - 0.039062 \bullet Time^2 \quad (9)$$

$$Yield_{RC} = 6.02538 - 0.030764 \bullet Amplitude - 0.20423 \bullet Time + 0.0062$$

$$\bullet Amplitude \bullet Time \quad (10)$$

According to the model fitting, maximum induction times of blackcurrant and redcurrant seed oils extracted utilizing UAE were also reliant on both variable factors and the $\tau_{\max}$ mean values were within the range of 30.03–38.61 min and 38.14–45.93 min in case of blackcurrant and redcurrant seed oil, respectively. Within the limits of variables proposed in the following study, the effect of extraction time and ultrasound amplitude was similar, and it can be concluded jointly for both that higher values of variables resulted in higher maximum induction time values for oils. Kenari and Dehghan (2020) who studied optimization of UAE of hempseed oil found that the longer extraction time was, the lower oil stability measured as peroxide value was determined. However, their conditions were more extreme, as US in 90 min time maximum was applied. The prolonged UAE time may result in free radicals' formation and thus lower the oil quality and resistance to oxidation. Nevertheless, in the study by Malićanin et al. (2014) it was discovered that longer time (105–120 min) of ultrasound application led to higher antioxidant compounds liberation in oil extracted from grape seeds and therefore, higher oxidative stability expressed as oxidation onset temperature, measured by DSC assay. The following and discussed results suggest that US treatment may be beneficial in terms of oil quality, but the conditions have to be adjusted properly.

$$\tau_{\max BC} = 35.08911 - 0.087513 \bullet Amplitude - 0.447086 \bullet Time + 0.0161$$

$$\bullet Amplitude \bullet Time \quad (11)$$

Table 5

Kinetic parameters of blackcurrant (BC) and redcurrant (RC) seed oils oxidation reactions; a,b-values from linear equation, E_a -activation energy, Z-pre-exponential factor, k-constant rate.

Parameter	BC_C	BC_US	RC_C	RC_US
a	5.49	5.00	4.18	4.48
b	12.52	11.24	9.07	9.78
E_a [kJ/mol]	99.88 ± 3.16^c	91.13 ± 2.92^b	76.11 ± 2.01^a	81.53 ± 1.75^a
Z [1/min]	5.69×10^{10}	3.24×10^9	2.65×10^7	1.27×10^8
k at 110 °C	1.37×10^{-3}	1.22×10^{-3}	1.11×10^{-3}	9.74×10^{-4}
k at 115 °C	2.06×10^{-3}	1.76×10^{-3}	1.52×10^{-3}	1.35×10^{-3}
k at 120 °C	3.05×10^{-3}	2.53×10^{-3}	2.05×10^{-3}	1.87×10^{-3}
k at 125 °C	4.48×10^{-3}	3.59×10^{-3}	2.74×10^{-3}	2.55×10^{-3}
k at 130 °C	6.51×10^{-3}	5.05×10^{-3}	3.65×10^{-3}	3.47×10^{-3}

The results are mean values from duplicate tests of three independent oil samples $\pm$ standard deviation; different letters ^{a-c} indicate significant differences at $p < 0.05$.

$$\tau_{\max RC} = 46.35251 - 0.084883 \bullet Amplitude - 1.15083 \bullet Time + 0.0233$$

$$\bullet Amplitude \bullet Time \quad (12)$$

The solutions specified by statistical software indicating conditions which should result in the most desirable values of yield and $\tau_{\max}$ of oils were as follows: 99% ultrasound amplitude and 11.50 min of extraction time in case of blackcurrant seed oil should give 4.83% yield and 39.61 min $\tau_{\max}$. Applying actual parameters 95% amplitude and 11.50 min of the process led to 4.59% yield and 38.83 min $\tau_{\max}$. The statistical optimization of redcurrant seed oil extraction predicted the most effective conditions of the UAE: 96% amplitude and 12.00 min time with output values 7.76% yield and 51.24 min $\tau_{\max}$. The actual utilized conditions were 95% amplitude and 12.00 min extraction time which resulted in 7.04% yield and 48.65 min $\tau_{\max}$. Obtained results show that model fits were relevant in the conditions of the experiment and predictions were validated by actual measurements without significant deviation comparing to the model.

4.4. Oil characteristics

4.4.1. Oxidation kinetics

The oxidation reaction kinetic study results of UAE and the control oils from blackcurrant and redcurrant seeds are summarized in Table 5. The activation energy (E_a) of oxidation in case of vegetable oils depends mostly on unsaturation level of triacylglycerols. Oils with higher percentage share of polyunsaturated fatty acids are described by lower activation energy and oils with higher percentage share of mono-unsaturated fatty acids have higher activation energy values (Adhvaryu, Erhan, Liu, & Perez, 2000). The results for studied oils are in accordance with that statement, as the fatty acid profile study showed higher abundance of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in redcurrant seed oils than in blackcurrant seed oils; also, blackcurrant seed oils is characterized by higher percentage of oleic acid - the only monounsaturated fatty acid (MUFA) identified in the GC assay, than redcurrant seed oils (see subchapter Fatty acid profile and distribution in triacylglycerols). Oils with higher activation energy values tend to exhibit delayed oxidation onset times and therefore primary oxidation products formation is postponed. Also, value of constant rates of reaction (k) at different temperatures was described as affected by oil composition, especially dependent from MUFA percentage (Qi et al., 2016). The present study recorded higher k values for oils with a higher percentage of oleic acid. The US application effect on kinetic parameters of oxidation reaction is not conclusive, as the E_a of UAE blackcurrant seed oil was lower than control sample and opposite results were obtained for redcurrant seed oils.

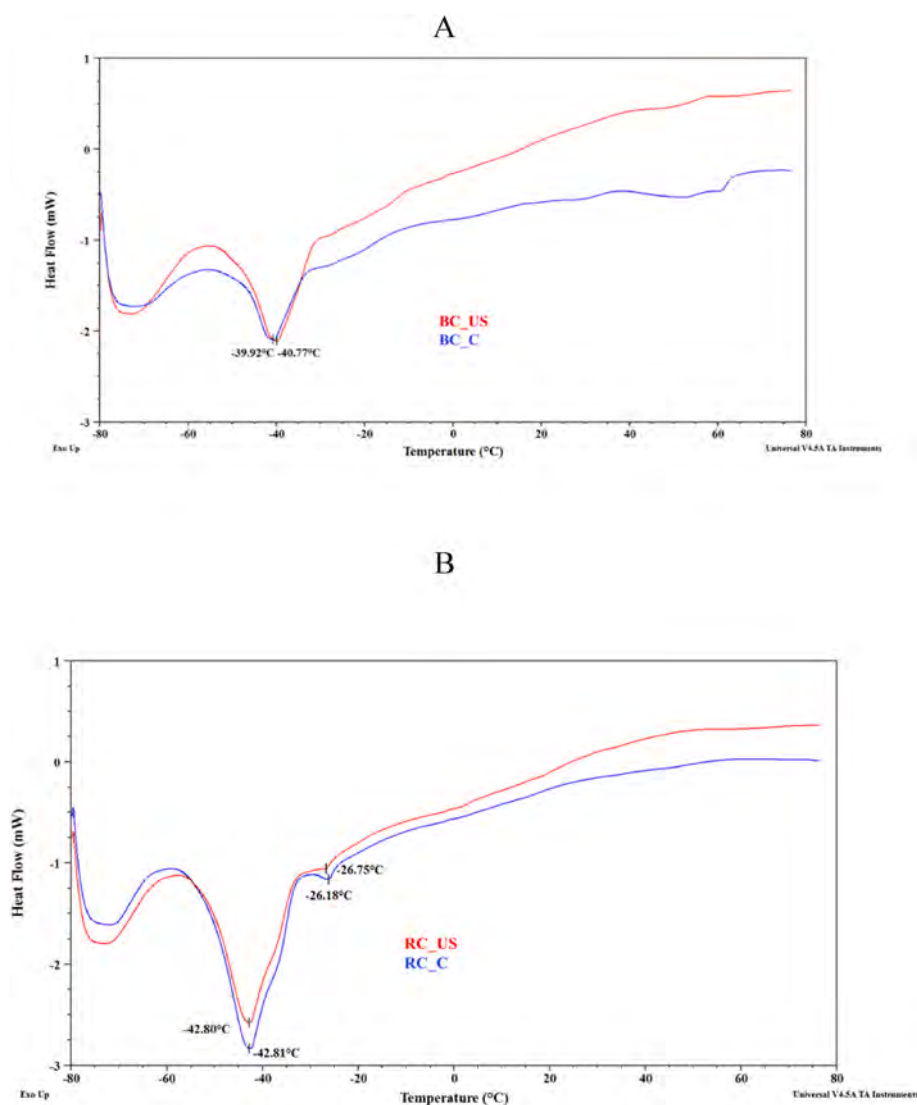


Fig. 4. The examples of DSC curves obtained for (A) blackcurrant seed oils obtained in the optimized conditions of UAE (BC_US) and oil obtained conventionally (BC_C) and (B) redcurrant seed oil obtained in the optimized conditions of UAE (RC_US) and oil obtained conventionally (RC_C).

Table 6

DSC study results for blackcurrant seed oil obtained in optimized conditions of UAE (BC_US) and in conventional extraction (BC_C) and for redcurrant seed oil obtained in optimized conditions of UAE (RC_US) and in conventional extraction (RC_C).

Oil	Temperature of I st endothermal transition [°C]	Temperature of II nd endothermal transition [°C]
BC_US	-39.87 ± 0.07^c	–
BC_C	-40.56 ± 0.30^b	–
RC_US	-42.83 ± 0.04^a	-26.72 ± 0.04^a
RC_C	-42.80 ± 0.01^a	-26.19 ± 0.01^b

The results are mean values from duplicate tests of three independent oil samples $\pm$ standard deviation; different letters ^{a-c} indicate significant differences at $p < 0.05$.

4.4.2. Melting characteristics

The courses of melting curves (examples shown in Fig. 4) differ depending on the source of oil; however, the US-extracted oils are not significantly different from the control ones. Blackcurrant seed oil was characterized with one endothermal transition, when redcurrant seed oil was characterized by two transitions. Specific mean temperature values of the observed transitions are presented in Table 6. As the DSC method

may be considered as authentication method for the examined oil samples (Islam, Belkowska, Konieczny, Fornal, & Tomaszewska-Gras, 2022), the lack of significant differences between US-extracted and control oil samples is nothing unexpected. Górska et al. (2023) obtained similar results for blackcurrant seed oil extracted using Soxhlet

Table 7

Percentage share of fatty acids in the blackcurrant (BC) and redcurrant (RC) seed oils (%); C16:0-palmitic acid, C18:0- stearic acid, C18:1 n-9- oleic acid, C18:2 n-6 linoleic acid, C18:3 n-6- γ -linolenic acid, C18:3 n-3- α -linolenic acid, C20:0-eicosanoic acid.

Fatty acid	BC_C	BC_US	RC_C	RC_US
C 16:0	6.11 ± 0.71^b	5.83 ± 0.33^{ab}	5.17 ± 0.04^b	5.18 ± 0.05^a
C 18:0	1.97 ± 0.01^d	1.81 ± 0.04^c	1.27 ± 0.06^b	1.37 ± 0.01^a
C 18:1 n-9	16.35 ± 0.11^d	15.97 ± 0.09^c	11.79 ± 0.10^a	11.92 ± 0.02^b
C 18:2 n-6	46.46 ± 0.52^a	46.92 ± 0.16^a	41.29 ± 0.12^a	41.02 ± 0.06^a
C 18:3 n-6	11.98 ± 0.18^c	12.40 ± 0.01^d	4.52 ± 0.01^a	4.64 ± 0.03^b
C 18:3 n-3	13.05 ± 0.17^a	13.47 ± 0.01^b	32.96 ± 0.11^c	32.82 ± 0.04^d
C 20:0	2.44 ± 0.01^a	2.53 ± 0.03^b	3.02 ± 0.01^c	3.07 ± 0.01^d
other	1.65 ± 0.09^b	1.09 ± 0.04^a	–	–

The results are mean values from duplicate tests of three independent oil samples $\pm$ standard deviation; different letters ^{a-d} indicate significant differences at $p < 0.05$.

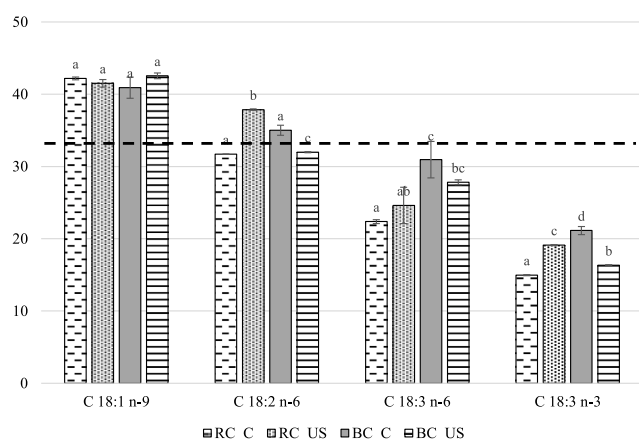


Fig. 5. The diagram of fatty acid percentage in sn-2 position of TAGs (%). The dotted line indicates the constant share of fatty acid occupying sn-2 position assuming the equilibrium of all positions in the TAG molecule; C 18:1 n-9- oleic acid, C 18:2 n-6- linoleic fatty acid, C 18:3 n-6- γ -linolenic acid, C 18:3 n-3- α -linolenic acid; the results are mean values from duplicate tests of three independent oil samples $\pm$ standard deviation; different letters ^{a-d} indicate significant differences at $p < 0.05$.

apparatus, describing one endothermal event in course of melting curve at -37.41°C . The range of temperatures of endothermal transitions described for blackcurrant and redcurrant seed oils in the following study indicates the presence of polyunsaturated fatty acids of triacylglycerols (Tan & Man, 2002) and that was confirmed in GC fatty acid profile analysis (described further). Since the melting curve course depends on fatty acid profile, low temperatures of endothermal transitions are characteristic for plant oils rich in PUFAs and that was previously described for flaxseed oil (Zhang, Li, Zhang, Liu, & Wang, 2014) and goldenberry oil (Embaby et al., 2022).

Overall, the obtained results suggest that extraction method does not

affect melting curve course significantly and confirms that DSC is a valuable method for oil authenticity assessment.

4.4.3. Fatty acid profile and distribution in triacylglycerols

Fatty acid percentage share of examined blackcurrant and redcurrant seed oils is presented in Table 7. Fatty acid with the highest percentage share amongst all studied samples was linoleic fatty acid (C18:2 n-6). Obtained results are with the accordance with previously published fatty acid profile characteristics of blackcurrant and redcurrant seed oils (Zlatanov, 1999). When it comes to the variation in percentage share of fatty acids caused by oil extraction method, the slight, however significant differences were noted for all detected fatty acids except the dominant one, linoleic acid. It was previously reported that extraction method conditions influenced the fatty acid profile of obtained oils in case of blackcurrant seed oil extracted using supercritical fluid method (Wójciak et al., 2022) and thus, percentage share of fatty acids.

The distribution of the fatty acids with the highest percentage share in fatty acid profile in TAGs of oils is presented in Fig. 5. The differences detected in the percentage of PUFAs share in sn-2 position of TAGs do not change the overall fatty acids distribution in TAGs. Their profile is still characteristic for vegetable oils with high level of unsaturation (Bryś & Wirkowska, 2010). Any changes in the fatty acid distribution may be contributed to the local rapid events occurring in the US field. Also, the slight changes in fatty acid and thus fatty acid distribution in UAE oils were previously reported in case of cranberry seed oil (Piasecka et al., 2023) and papaya seed oil (Samaram, Mirhosseini, Tan, & Ghazali, 2013).

4.4.4. Scanning electron microscopy

According to the SEM pictures shown in Fig. 6 it can be observed that UAE is responsible for the textural changes in the extracted material, which may be contributed to the improved extractability as well as enhanced simultaneous extraction of other ingredients. Intensified release of plant polyphenols during oil extraction may be responsible for improved oil resistance to oxidation and therefore, prolonged shelf-life. The intensified material depletion was previously observed by Matei

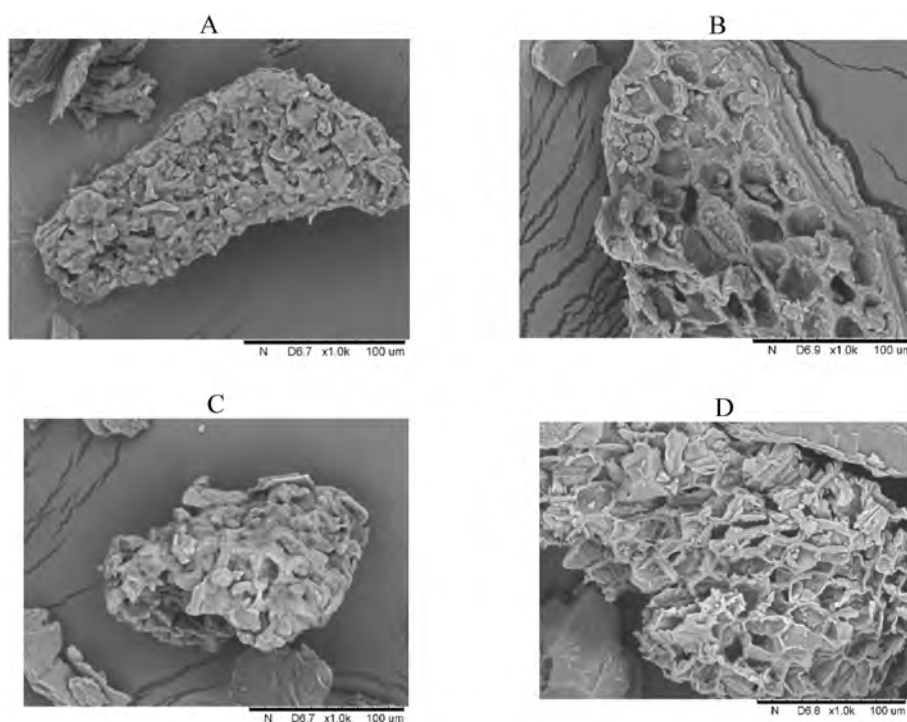


Fig. 6. SEM pictures of milled seeds of raw blackcurrant seeds (A), blackcurrant seeds which undergone UAE (B), raw redcurrant seeds (C) and redcurrant seeds after UAE (D).

et al. (2023) in the blackberry seeds after ultrasound oil extraction. Also, Dash, Pathak, and Pradhan (2021) observed creation of similar inter-particular spaces and pores in the kernel powder of *Terminalia chebula*. The phenomenon of structure loosening is responsible for enhanced mass transfer and permeability of solvent inside the plant material.

5. Conclusions

The study showed that ultrasound may be a useful tool to accelerate solvent extraction of oil from berry fruit seeds. It can also improve aqueous extraction of bioactive compounds from berry fruit pomace. That reveals the opportunity for food industry to add value to the by-products that occur during fruit processing. Also, utilization of response surface methodology allowed to determine the most efficient conditions of time and amplitude of ultrasound-assisted extraction in order to obtain oil with the highest yield and longer oxidation induction time and to obtain bioactive-rich extracts with the highest total polyphenol content and antioxidative capacity. Extracts obtained in the optimized conditions of extraction had significantly higher concentrations of anthocyanins assessed in the HPLC study. Thermal properties and fatty acid profile of blackcurrant and redcurrant seed oils obtained in the conditions chosen as optimal were not affected by ultrasound application. Ultrasound remains promising alternative to conventional extraction methods, as it could contribute to reduce waste amount in the fruit industry. Valorization of fruit by-products using ultrasound in a large scale may also bring financial profits by creating new products based on extracted compounds. Presented results were obtained in a laboratory scale, further usage of ultrasound technology in fruit waste processing needs to be studied deeply, using material from industrial scale and then, implementing solutions into actual manufacturing systems.

CRedit authorship contribution statement

Iga Piasecka: Writing – original draft, Visualization, Validation, Software, Resources, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Rita Brzezińska:** Visualization, Software. **Stanisław Kalisz:** Formal analysis. **Artur Wiktor:** Conceptualization. **Agata Górka:** Writing – review & editing, Supervision, Funding acquisition, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgements

Some research equipment was purchased as part of the “Food and Nutrition Centre - modernisation of the WULS campus to create a Food and Nutrition Research and Development Centre (CZiZ)” co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund under the Regional Operational Programme of the Mazowieckie Voivodeship for 2014–2020 (Project No. RPMA.01.01.00-14-8276/17).

References

Adhvaryu, A., Erhan, S. Z., Liu, Z. S., & Perez, J. M. (2000). Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy.

- Thermochimica Acta*, 364(1–2), 87–97. [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(00\)00626-2](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(00)00626-2)
- Aliaño-González, M. J., Jarillo, J. A., Carrera, C., Ferreiro-González, M., Álvarez, J. Á., Palma, M., et al. (2020). Optimization of a novel method based on ultrasound-assisted extraction for the quantification of anthocyanins and total phenolic compounds in blueberry samples (*Vaccinium corymbosum* L.). *Foods*, 9(12), 1763. <https://doi.org/10.3390/FOODS9121763>
- Babaoğlu, A. S., Unal, K., Dilek, N. M., Poçan, H. B., & Karakaya, M. (2022). Antioxidant and antimicrobial effects of blackberry, black chokeberry, blueberry, and red currant pomace extracts on beef patties subject to refrigerated storage. *Meat Science*, 187, Article 108765. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2022.108765>
- Bada, J. C., León-Camacho, M., Copovi, P., & Alonso, L. (2014). Characterization of berry and currant seed oils from Asturias, Spain. *International Journal of Food Properties*, 17(1), 77–85. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.614369>
- Bamba, B. S. B., Shi, J., Tranchant, C. C., Xue, S. J., Forney, C. F., & Lim, L. T. (2018). Influence of extraction conditions on ultrasound-assisted recovery of bioactive phenolics from blueberry pomace and their antioxidant activity. *Molecules*, 23(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23071685>
- Barizão, É. O., Boeing, J. S., Martins, A. C., Visentainer, J. V., & Almeida, V. C. (2015). Application of response surface methodology for the optimization of ultrasound-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2392–2400. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0135-5>
- Blejan, A. M., Nour, V., Păcuraru-Burada, B., Popescu, S. M., & Blejan, M. (2023). Wild bilberry, blackcurrant, and blackberry by-products as a source of nutritional and bioactive compounds. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1579–1595. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2224530>
- Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A., & Scenna, N. J. (2017). Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 207, 56–72. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2017.03.011>
- Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., & Crozier, A. (2010). Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3901–3909. <https://doi.org/10.1021/jf902263n>
- Bryś, J., Flores, Inês F. V., Górka, A., Ostrowska-Ligeza, E., Bryś, A., Niemiec, T., et al. (2019). The synthesis followed by spectral and calorimetric evaluation of stability of human milk fat substitutes obtained from thistle milk and lard. *International Journal of Analytical Chemistry*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/5417962>, 2019.
- Bryś, J., Flores, Inês F. V., Górka, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Ostrowska-Ligeza, E., & Bryś, A. (2017). Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130(1), 319–327. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6452-8>
- Bryś, J., & Wirkowska, M. (2010). Znaczenie struktury triacylogliceroli w projektowaniu lipidów strukturyzowanych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2, 86–89.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2016.06.035>
- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076–1080. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2012.12.002>
- Da Rocha, C. B., & Noreña, C. P. Z. (2020). Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from grape pomace. *International Journal of Food Engineering*, 16(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0191>
- Dash, D. R., Pathak, S. S., & Pradhan, R. C. (2021). Extraction of oil from *Terminalia chebula* kernel by using ultrasound technology: Influence of process parameters on extraction kinetics. *Industrial Crops and Products*, 171, Article 113893. <https://doi.org/10.1016/J.IJDCROP.2021.113893>
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., et al. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35, Article 100547. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2020.100547>
- Egués, I., Hernandez-Ramos, F., Rivilla, I., & Labidi, J. (2021). Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from apple pomace. *Molecules*, 26, 3783. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26133783>
- Embaby, H. E., Miyakawa, T., Hachimura, S., Muramatsu, T., Nara, M., & Tanokura, M. (2022). Crystallization and melting properties studied by DSC and FTIR spectroscopy of goldenberry (*Physalis peruviana*) oil. *Food Chemistry*, 366, Article 130645. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130645>
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1485–1490. <https://doi.org/10.1021/JF991072G>
- Goiffon, J.-P., Mouly, P. P., & Gaydou, E. M. (1999). Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 382, 39–50.
- Gómez-Cruz, I., Contreras, M. D. M., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Roseiro, L. B., Romero, I., et al. (2021). Recovery of bioactive compounds from industrial exhausted olive pomace through ultrasound-assisted extraction. *Biology*, 10, 514. <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY10060514/S1>
- González, M. J. A., Carrera, C., Barbero, G. F., & Palma, M. (2022). A comparison study between ultrasound-assisted and enzyme-assisted extraction of anthocyanins from

- blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Food Chemistry X*, 13, Article 100192. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2021.100192>
- Górnaś, P., Soliven, A., & Segliņa, D. (2015). Seed oils recovered from industrial fruit by-products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP-HPLC/FLD. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(6), 773–777. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400566>
- Górska, A., Piasecka, I., Wirkowska-Wojdyła, M., Bryś, J., Kienc, K., Brzezińska, R., et al. (2023). Berry seeds—a by-product of the fruit industry as a source of oils with beneficial nutritional characteristics. *Applied Sciences*, 13, 5114. <https://doi.org/10.3390/app13085114>
- He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., et al. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food Chemistry*, 204, 70–76. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.02.094>
- Iqbal, A., Schulz, P., & Rizvi, S. S. H. (2021). Valorization of bioactive compounds in fruit pomace from agro-food industries: Present Insights and future challenges. *Food Bioscience*, 44, Article 101384. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101384>
- Islam, M., Bełkowska, L., Konieczny, P., Fornal, E., & Tomaszewska-Gras, J. (2022). Differential scanning calorimetry for authentication of edible fats and oils - what can we learn from the past to face the current challenges? *Journal of Food and Drug Analysis*, 30(2), 185–201. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3402>
- Jara-Palacios, M. J., Santisteban, A., Gordillo, B., Hernanz, D., Heredia, F. J., & Escudero-Gilete, M. L. (2019). Comparative study of red berry pomaces (blueberry, red raspberry, red currant and blackberry) as source of antioxidants and pigments. *European Food Research and Technology*, 245(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3135-z>
- Kenari, R. E., & Dehghan, B. (2020). Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil using RSM: Evaluation of oxidative stability and physicochemical properties of oil. *Food Science and Nutrition*, 8(9), 4976–4986. <https://doi.org/10.1002/FSN3.1796>
- Malićanin, M., Rac, V., Antić, V., Antić, M., Palade, L. M., Kefalas, P., et al. (2014). Content of antioxidants, antioxidant capacity and oxidative stability of grape seed oil obtained by ultra sound assisted extraction. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(6), 989–999. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2441-2>
- Matei, P. L., Deleanu, I., Brezoiu, A. M., Chira, N. A., Busuioc, C., Isopencu, G., et al. (2023). Ultrasound-assisted extraction of blackberry seed oil: Optimization and oil characterization. *Molecules*, 28(6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules28062486>
- Michalska, A., Wojdyła, A., Lech, K., Łysiak, G. P., & Figiel, A. (2017). Effect of different drying techniques on physical properties, total polyphenols and antioxidant capacity of blackcurrant pomace powders. *LWT*, 78, 114–121. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.12.008>
- Milić, A., Daničić, T., Horecki, A. T., Šumić, Z., Teslić, N., Kovačević, D. B., et al. (2022). Sustainable extractions for maximizing content of antioxidant phytochemicals from black and red currants. *Foods*, 11(3), 325. <https://doi.org/10.3390/FOODS11030325/S1>
- Moradi, N., Rahimi, M., Moeini, A., & Parsamoghadam, M. A. (2017). Impact of ultrasound on oil yield and content of functional food ingredients at the oil extraction from sunflower. *Separation Science and Technology*, 53(2), 261–276. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1384016>
- Ni, Q., Gao, Q., Yu, W., Liu, X., Xu, G., & Zhang, Y. (2015). Supercritical carbon dioxide extraction of oils from two *Torreya grandis* varieties seeds and their physicochemical and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 1226–1234. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.09.007>
- Pałacha, Z. (2008). Aktywność wody. Ważny parametr trwałości żywności. *Przemysł Spożywczy*, 4, 22–26.
- Pap, N., Beszédes, S., Pongrácz, E., Myllykoski, L., Gábor, M., Gyimes, E., et al. (2013). Microwave-assisted extraction of anthocyanins from black currant marc. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2666–2674. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0964-9>
- Piasecka, I., Brzezińska, R., Ostrowska-Liègeza, E., Wiktor, A., & Górska, A. (2023). Ultrasound-assisted extraction of cranberry seed oil: Food waste valorization approach. *European Food Research and Technology*, 249, 2763–2775. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04326-6>
- Piasecka, I., Górska, A., Ostrowska-Liègeza, E., & Kalisz, S. (2021). The study of thermal properties of blackberry, chokeberry and raspberry seeds and oils. *Applied Sciences*, 11, 7704. <https://doi.org/10.3390/app11167704>
- Piasecka, I., Wiktor, A., & Górska, A. (2022). Alternative methods of bioactive compounds and oils extraction from berry fruit by-products—a review. *Applied Sciences*, 12, 1734. <https://doi.org/10.3390/app12031734>
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., Bourvellec, C. Le, Renard, C. M. G. C., & Chemat, F. (2012). Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 73–81. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2012.01.026>
- Polish Norm: PN-EN ISO: 5509:2001. (2001). *Animal and vegetable fats and oils. Preparation of methyl esters of fatty acids*. Polish Committee for Standardization.
- Ponder, A., Hallmann, E., Kwolek, M., Średnicka-Tober, D., & Kazimierczak, R. (2021). Genetic differentiation in anthocyanin content among berry fruits. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(1), 51. <https://doi.org/10.3390/CIMB43010004>
- Qi, B., Zhang, Q., Sui, X., Wang, Z., Li, Y., & Jiang, L. (2016). Differential scanning calorimetry study—assessing the influence of composition of vegetable oils on oxidation. *Food Chemistry*, 194, 601–607. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.07.148>
- Ramić, M., Vidović, S., Zeković, Z., Vradić, J., Cvejin, A., & Pavlič, B. (2015). Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 360–368. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2014.10.002>
- Razola-Díaz, M. del C., Aznar-Ramos, M. J., Guerra-Hernández, E. J., García-Villanova, B., Gómez-Caravaca, A. M., & Verardo, V. (2022). Establishment of a sonotrode ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from apple pomace. *Foods*, 11(23), 3809. <https://doi.org/10.3390/FOODS11233809/S1>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., & Ghazali, H. M. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) and solvent extraction of papaya seed oil: Yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile. *Molecules*, 18(10), 12474–12487. <https://doi.org/10.3390/molecules181012474>
- Sebayang, A. H., Ideris, F., Silitonga, A. S., Shamsuddin, A. H., Zamri, M. F. M. A., Pulungan, M. A., et al. (2023). Optimization of ultrasound-assisted oil extraction from *Carica candamarcensis*: A potential Oleaginous tropical seed oil for biodiesel production. *Renewable Energy*, 211, 434–444. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2023.04.099>
- Sójka, M., & Król, B. (2009). Composition of industrial seedless black currant pomace. *European Food Research and Technology*, 228(4), 597–605. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0968-x>
- Tan, C. P., & Man, Y. B. C. (2002). Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: I. Effects of heating rate variation. *Phytochemical Analysis*, 13, 129–141. <https://doi.org/10.1002/pca.633>
- Teng, H., Chen, L., Huang, Q., Wang, J., Lin, Q., Liu, M., et al. (2016). Ultrasonic-assisted extraction of raspberry seed oil and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *PLoS One*, 11(4), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153457>
- Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(3), 598–604. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2009.10.009>
- Vorobyova, V., Skiba, M., Vasyliov, G., & Chygyrynets, O. (2021). Component composition and antioxidant activity of the blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and apricot pomace (*Prunus armeniaca* L.) extracts. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 56, 710–719.
- Wirkowska-Wojdyła, M., Ostrowska-Liègeza, E., Górska, A., & Bryś, J. (2022). Application of chromatographic and thermal methods to study fatty acids composition and positional distribution, oxidation kinetic parameters and melting profile as important factors characterizing amaranth and quinoa oils. *Applied Sciences*, 12(4), 2166. <https://doi.org/10.3390/APP12042166>
- Wirkowska, M., Ostrowska-Liègeza, E., Górska, A., & Koczko, P. (2012). Thermal properties of fats extracted from powdered baby formulas. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 110(1), 137–143. <https://doi.org/10.1007/s10973-012-2245-2>
- Wójciak, M., Mazurek, B., Tyśkiewicz, K., Kondracka, M., Wójcicka, G., Blicharski, T., et al. (2022). Blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) seeds—a valuable byproduct for further processing. *Molecules*, 27(24), 8679. <https://doi.org/10.3390/molecules27248679>
- Zhang, Z. S., Li, D., Zhang, L. X., Liu, Y. L., & Wang, X. De (2014). Heating effect on the DSC melting curve of flaxseed oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 115(3), 2129–2135. <https://doi.org/10.1007/s10973-013-3270-5>
- Zlatanov, M. D. (1999). Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1620–1624. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199909\)79:12<1620::AID-JSFA410>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1620::AID-JSFA410>3.0.CO;2-G)

Article

Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces

Iga Piasecka ^{1,*} , Rita Brzezińska ¹ , Stanisław Kalisz ² , Artur Wiktor ³  and Agata Górska ¹ 

¹ Department of Chemistry, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 166 Nowoursynowska Street, 02-787 Warsaw, Poland; rita_brzezinska@sggw.edu.pl (R.B.); agata_gorska@sggw.edu.pl (A.G.)

² Department of Food Technology and Assessment, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 166 Nowoursynowska Street, 02-787 Warsaw, Poland; stanislaw_kalisz@sggw.edu.pl

³ Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 166 Nowoursynowska Street, 02-787 Warsaw, Poland; artur_wiktor@sggw.edu.pl

* Correspondence: iga_piasecka@sggw.edu.pl

Abstract: An investigation of the ultrasound-assisted extraction (UAE) of polyphenol-rich aqueous extracts from blackberry, chokeberry and raspberry pomaces was carried out. The aim of the study was to choose optimal conditions for UAE in order to obtain extracts rich in phenolic compounds. The optimization was carried out based on response surface methodology. The variable conditions were amplitude of ultrasound wave and extraction time, whereas responses were total polyphenol content and antioxidant capacity. Based on the ANOVA analysis, mathematical models were fitted and verified. The most effective conditions of amplitude and time were 98% and 5.00 min, 78% and 10.32 min and 90% and 11.56 min for blackberry pomace, chokeberry pomace and raspberry pomace, respectively. The actual results obtained in optimized conditions were comparable to the results predicted by the models. Additionally, the anthocyanin content in extracts was determined in the high-performance liquid chromatography assay. It was proven that response surface methodology could be a useful tool in the optimization of UAE processes for obtaining polyphenol-rich extracts from berry fruit pomaces.

Keywords: ultrasound-assisted extraction; by-products; pomace; response surface methodology; polyphenols



Citation: Piasecka, I.; Brzezińska, R.; Kalisz, S.; Wiktor, A.; Górska, A. Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces. *Plants* **2024**, *13*, 1120. <https://doi.org/10.3390/plants13081120>

Academic Editors: Ernandes Rodrigues De Alencar and Leda R. A. Faroni

Received: 28 February 2024

Revised: 6 April 2024

Accepted: 13 April 2024

Published: 17 April 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pomace is a main by-product of juice, concentrate or wine production. Conventional upcycling procedures include using pomaces as animal feed or fertilizer [1]. However, they are still abundant in antioxidants, like anthocyanins, phenolic acids, flavanols, etc. [2,3]. The recovery of phenolic compounds may be beneficial since it adds value to the side streams of fruit production and saves useful ingredients from being wasted. To maximize the benefits of antioxidant recovery from pomaces while minimizing environmental impact, the separation method should be carefully selected. Conventional extraction methods including solid–liquid extraction are characterized by their high consumption of time and organic solvents. Also, they are not always sufficiently effective. To reduce the aforementioned adverse effects, alternative isolation methods such as ultrasound-assisted extraction (UAE) could be taken into consideration. UAE utilizes the phenomenon of collapsing cavitation bubbles, which causes local events in the extracted material and in the liquid solvent. These events include intensified transportation of matrix compounds to the liquid, accelerated penetration of the solvent into the plant material and the fragmentation or erosion of solid material [4]. The advantages of using UAE instead of conventional

extraction methods include higher extraction yields, decreased processing time and higher selectivity (depending on relevant solvent selection) [5]. To classify UAE as a fully green method, green solvents have to be selected as well. In the case of phenolic compounds, the most popular solvents are organic short-chain alcohols, like ethanol [6]. However, their use poses a risk of food contamination, which is why water was chosen as a solvent in the present study.

The variety of possible conditions for UAE is large, as the time, ultrasound amplitude, temperature, solvent, solid-to-liquid ratio, etc., are all modifiable. To reduce the number of experiments and optimize the process, response surface methodology (RSM) seems to be a useful tool. Briefly, RSM is composed of statistical and mathematical methods based on the fit of a polynomial model to the data in order to generate statistical predictions. It is used to optimize processes where the results (responses) are dependent on several variables [7]. It has been successfully employed in the optimization of the UAE of bioactive compounds from carrot pomace [8], blueberry pomace [9], apple pomace [10], grape pomace [11] and apricot pomace [12].

The main aim of the following study was to optimize the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from blackberry (BB), chokeberry (CH) and raspberry (RB) pomaces using response surface methodology. The central composite design of the experiment was established in order to achieve the highest possible total polyphenol content (TPC) and antioxidant capacity measured spectrophotometrically. Then, the best parameters chosen were checked to determine whether the solution predicted by the software is actually well-fitted. Additionally, the extracts obtained in the optimized conditions and control extracts were subjected to anthocyanin content and profile analyses using high-performance liquid chromatography. Also, the correlation between the TPC and antioxidant capacity was studied.

2. Results and Discussion

2.1. Total Polyphenol Content

The TPCs of aqueous pomace extracts were measured through a colorimetric assay using spectrophotometry and Folin–Ciocalteu reagent. The used method is fast and simple—the color intensity is correlated with the concentration of reducing compounds, e.g., polyphenols. The reaction is not specific, and as a result, total polyphenol content estimation may be determined [13].

The effects of the ultrasound amplitude (X_1) and extraction time (X_2) variables on the TPC were analyzed based on 10 experimental runs carried out in 3 repetitions for each pomace. The specific TPC values obtained in the experiment were in the ranges of 14.62–17.12 mg GAE/g, 13.39–20.93 mg GAE/g and 10.38–16.06 mg GAE/g for BB, CH and RB pomace extracts, respectively. The response surface graphs of the experimental results were shown in Figure 1. There are visible surfaces with more effective results in terms of TPC. Briefly, the application of higher amplitude levels resulted in higher TPCs in all of the extracts. In terms of extraction time, CH and RB pomace extracts obtained through longer-lasting extraction procedures had higher TPCs; for BB pomace extract, moderate extraction times were the most effective.

The results of TPC analyses constituted the basis of the fitting of the mathematical models, described by the following equations (Equations (1)–(3)):

$$TPC_{BB} = 12.61 + 0.03 \cdot X_1 + 0.75 \cdot X_2 - 0.003 \cdot X_1 X_2 + 0.000001 \cdot X_1^2 - 0.05 \cdot X_2^2 \quad (1)$$

$$TPC_{CH} = 12.70 - 0.08 \cdot X_1 + 0.7 \cdot X_2 + 0.008 \cdot X_1 X_2 + 0.001 \cdot X_1^2 - 0.05 \cdot X_2^2 \quad (2)$$

$$TPC_{RB} = 16.02 + -0.09 \cdot X_1 - 0.84 \cdot X_2 + 0.02 \cdot X_1 X_2 \quad (3)$$

where X_1 is the ultrasound amplitude and X_2 is the extraction time.

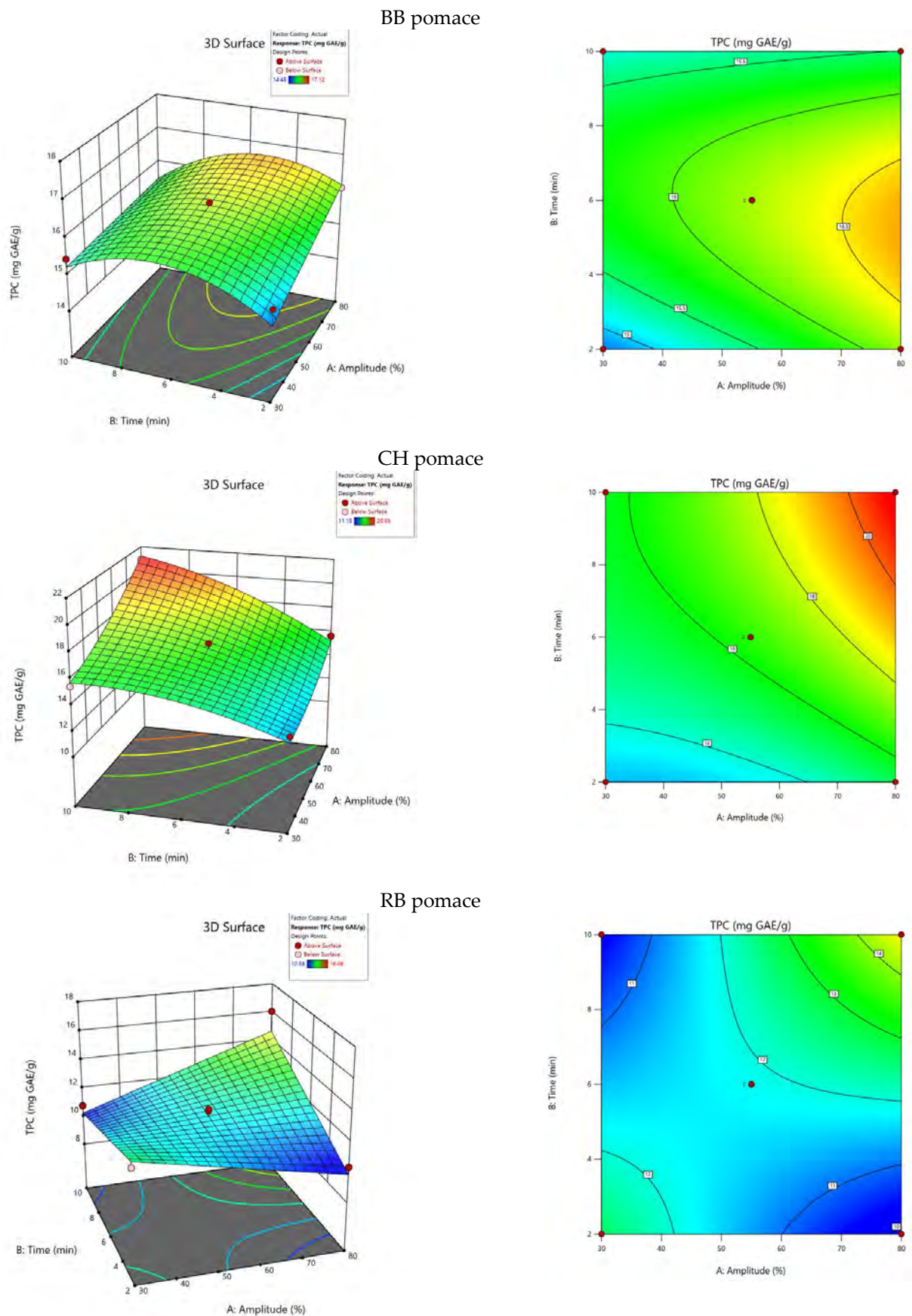


Figure 1. Three-dimensional and contour graphs showing total polyphenol content dependence from extraction time and ultrasound amplitude.

Based on the ANOVA analysis, mathematical models were verified (Table 1). For BB and CH pomace extracts, the quadratic model was significant (at $p < 0.05$), with an insignificant ($p > 0.05$) lack of fit. RB pomace extraction was described with a two-factorial model ($p < 0.05$), and the lack of fit was not significant ($p > 0.05$). For all models, ANOVA results indicated relatively high F-values, which means that models were fitted with proper accuracy.

Table 1. ANOVA results for model fitting of TPC in pomace extracts.

Pomace	Model	R ²	CV [%]	Model <i>p</i> -Value	Model F-Value	Lack of Fit <i>p</i> -Value
BB	Quadratic	0.8914	2.62	0.0461	6.57	0.1650
CH	Quadratic	0.9815	3.76	0.0015	42.35	0.5659
RB	2FI	0.7061	9.10	0.0490	4.80	0.0680

Generally, the higher the ultrasound amplitude is, the greater the compounds' outflow into the liquid medium is improved. That is why TPC values in higher amplitudes were improved. However, acoustic cavitation effects also include rapid events, like collapsing cavitation bubbles, which results in local increments in temperature and pressure. These desirable effects accelerate the mass transfer, but can also be responsible for the degradation of thermolabile compounds, like polyphenols [14]. Thus, prolonged extraction times may result in decreases in the TPC.

The obtained results are similar to some previously published by other authors. Kaur et al. [15] found that moderate UAE times but high US power were the most efficient conditions for Java plum pomace extraction. Liao et al. [16] described the time effect of UAE on the TPC of eggplant peel extract. The TPC increased gradually as the time prolonged, but after reaching a critical time point—35 min in this case—the TPC started to decrease. However, some researchers have reported the opposite effect of time. Blueberry and raspberry extracts obtained using UAE over 45 min were characterized by higher TPC values than extracts obtained with a UAE time of 15 min using the same US power [17]. Silva Junior et al. [18] concluded that applying the longest time (15 min) and the highest value of ultrasound amplitude (100%) resulted in ciriguela peel extracts with the highest TPC results.

2.2. Antioxidant Capacity

The antioxidant capacity of pomace extracts was measured using radical-2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate (6)] (ABTS). This assay is based on the reduction of radical cations by bioactive compounds. In particular, the color intensity of the ABTS solution measured spectrophotometrically decreases in the presence of antioxidants [19].

Similarly to the TPC, the impact of ultrasound amplitude and extraction time on the antioxidant capacity of extracts was investigated based on 10 experimental runs repeated thrice for BB, CH and RB pomaces. The results of the assays varied in ranges of 26.21–109.21 $\mu\text{mol TE/g}$, 142.03–242.13 $\mu\text{mol TE/g}$ and 39.23–62.25 $\mu\text{mol TE/g}$ for BB, CH and RB, respectively. The response surface 3D and contour graphs were shown in Figure 2. The antioxidant capacity of the studied pomaces follows a similar trend as the TPC. The application of higher amplitude values was connected to increased antioxidant capacity results. In the cases of the CH and RB pomace extracts, longer extraction times resulted in higher antioxidant activities as well. However, in contrast, BB pomace extract obtained in a shorter time had higher antioxidant capacity values. The antioxidant capacity results are directly correlated with the TPC results [20] and are due to the same phenomena occurring during UAE as were explained for the TPC dependencies.

application of higher amplitude values was connected to increased antioxidant capacity results. In the cases of the CH and RB pomace extracts, longer extraction times resulted in higher antioxidant activities as well. However, in contrast, BB pomace extract obtained in a shorter time had higher antioxidant capacity values. The antioxidant capacity results are directly correlated with the TPC results [20] and are due to the same phenomena occurring during UAE as were explained for the TPC dependencies.

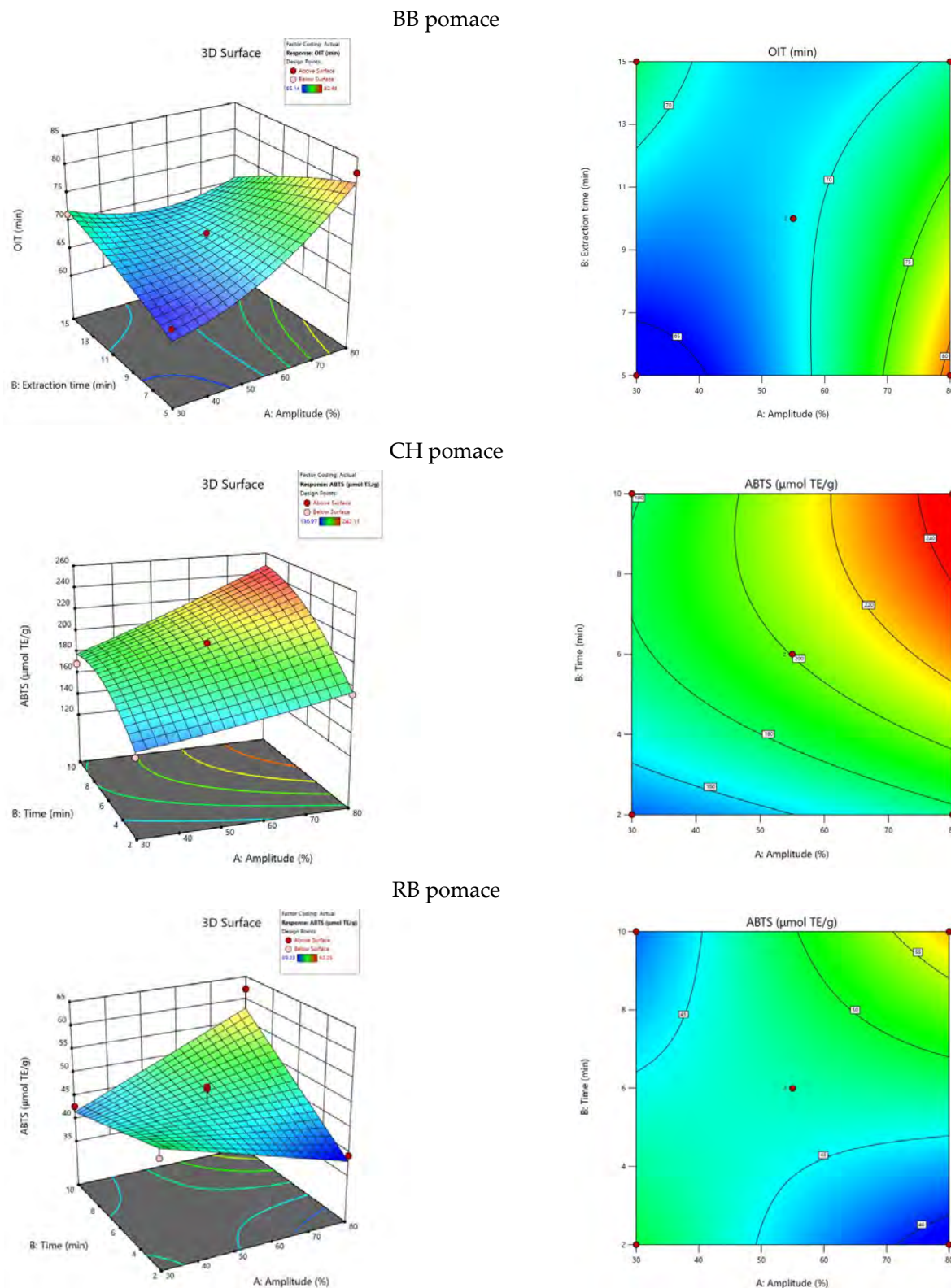


Figure 2. Three-dimensional and contour graphs showing antioxidant capacity dependence from extraction time and ultrasound amplitude.

Equations (4)–(6) describe the mathematical dependence of the ABTS assay results on the applied ultrasound amplitude and extraction time. They reflect the fitting of the values to the proper statistical models:

$$ABTS_{BB} = -27.65 + 0.77 \cdot X_1 + 18.66 \cdot X_2 - 0.05 \cdot X_1 X_2 + 0.002 \cdot X_1^2 - 1.32 \cdot X_2^2 \quad (4)$$

$$ABTS_{CH} = 116.3 + 0.07 \cdot X_1 + 11.83 \cdot X_2 + 0.1 \cdot X_1 X_2 + 0.003 \cdot X_1^2 - 0.92 \cdot X_2^2 \quad (5)$$

$$ABTS_{RB} = 62.07 - 0.36 \cdot X_1 - 3.04 \cdot X_2 + 0.07 \cdot X_1 X_2 \quad (6)$$

where X_1 is the ultrasound amplitude and X_2 is the extraction time.

The ANOVA test results for the models' fitting are summarized in Table 2. For the antioxidant capacity of ultrasound-extracted BB and CH pomaces, the quadratic model was significant ($p < 0.05$) with a not significant result for lack of fit ($p > 0.05$). The antioxidant capacity of RB pomace extract obtained via the use of ultrasound was described as significant using the two-factorial model ($p < 0.05$) and had an insignificant lack of fit ($p > 0.05$). High R^2 and F-values of the models indicate proper model fitting and their significance.

Table 2. ANOVA results for model fitting of antioxidant capacity in pomace extracts.

Pomace	Model	R^2	CV [%]	Model p -Value	Model F-Value	Lack of Fit p -Value
BB	Quadratic	0.8991	22.68	0.0402	7.12	0.3987
CH	Quadratic	0.9747	4.65	0.0027	30.8	0.2730
RB	2FI	0.7354	8.73	0.0362	5.56	0.0684

In the study by Mazza et al. [21], the antioxidant capacity (ABTS) of grape skin extract also increased with the increasing ultrasound power. Similarly to the CH and RB pomace extracts, Anticono et al. [22] observed higher antioxidant activity, measured in DPPH and ABTS assays when a longer extraction time was applied (30 min). Results comparable to those of the BB pomace extract's antioxidant capacity were obtained for the UAE of banana peel extract [23]. The highest values for the ABTS assay were observed when high ultrasound power was applied in a short time—250 W and 5 min, respectively.

2.3. Optimization

Based on the fitted mathematical models and their equations, the optimal parameters were determined using statistical software. The ultrasound amplitude taken into consideration for optimization was set in a range of 20–100%, the time was set as in a range of 2–12 min and the responses were set as high as possible. As a result, one solution with the highest desirability for each pomace extraction was chosen. Table 3 shows the optimal conditions suggested by the software with actual conditions applied, as the ultrasound processor has some limitations in terms of setting the ultrasound amplitude. The predicted results of responses are also specified—namely, the TPC and ABTS. Comparing to the experimentally obtained TPC and ABTS results, it can be observed that the model predictions were adequate, and all the results were within the 95% confidence interval.

Table 3. Optimal ultrasound-assisted extraction parameters with predicted vs. actual responses obtained.

Pomace	Optimum Ultrasound Amplitude [%]	Actual Ultrasound Amplitude Applied [%]	Optimum Extraction Time [min]	Predicted TPC [mg GAE/g]	Predicted ABTS [μ mol TE/g]	Actual TPC [mg GAE/g]	Actual ABTS [μ mol TE/g]
BB	98	95	5.00	17.04	106.14	17.60 ± 0.03	101.11 ± 1.01
CH	78	80	10.32	21.06	246.00	20.22 ± 0.14	252.26 ± 2.11
RB	90	90	11.75	16.83	66.62	16.21 ± 0.23	64.00 ± 1.55

Previously conducted optimization of polyphenols obtained via UAE from blackcurrant and redcurrant pomaces revealed that the optimal ultrasound amplitudes and times were 51% in 3 min and 91% in 11 min for blackcurrant and redcurrant, respectively [24]. Silva et al. [25] optimized the ethanolic UAE of polyphenols from acerola waste and a reported similar extraction time—13.6 min—to be the most efficient in terms of TPC, total flavonoid content and antioxidant capacity, as measured in a DPPH assay. The UAE of BB pomace with water was previously optimized by Zafra-Rojas et al. [26]. The chosen optimal conditions were similar to the values obtained in the present study. Researchers stated that a 91% amplitude and 15 min extraction time were the most effective. Applying those conditions, a TPC equal to 12.01 mg GAE/g and an antioxidant capacity (ABTS) equal to 63.19 $\mu\text{mol TE/g}$ were obtained. Also, dos Santos et al. [27] described similar results for the optimization of aqueous UAE of BB pomace. In their findings, a 40% amplitude in 10 min and a solid concentration of 25 mg/mL were the optimal conditions. Their application resulted in a TPC of 44.12 mg GAE/g. The optimization of CH pomace extraction using ultrasound and ethanol as a solvent was conducted by Ramić et al. [28]. The optimal conditions in terms of the highest TPC value (15.41 mg GAE/mL of extract) were an ultrasonic power, temperature and time of 206.64 W, 70 °C and 80.1 min, respectively. However, as the design of that study was slightly different than that of the present study, it is not possible to credibly compare their results with those from the present study. The optimization of RB pomace extraction was conducted by Xue et al. [29]; however, they applied an ultrasound-assisted enzyme extraction procedure. The optimal parameters were an ultrasound power, temperature, pectinase dosage and extraction time of 290 W, 44 °C, 0.16% and 30 min, respectively.

2.4. Anthocyanin Content

Extracts obtained using the optimal ultrasound treatment conditions were analyzed for their anthocyanin content using an HPLC assay. The results of the HPLC assay are summarized in Table 4. Chokeberry pomace extract stands out as the most abundant in anthocyanins, especially cyanidin-3-galactoside. Extracts from blackberry and raspberry pomaces were characterized by over 2-fold lower total anthocyanin contents (TACs) than extracts obtained from chokeberry pomace. Concerning anthocyanins identified in blackberry pomace extract, cyanidin-3-glucoside represented over 91%. In raspberry pomace extract, cyanidin-3-sophoroside was the most abundant anthocyanin. The anthocyanin profiles of pomaces are dependent on the fruit variety, cultivation method and conditions.

Table 4. Anthocyanin content (mg/100 g fresh weight) of blackberry, chokeberry and raspberry pomace extracts, obtained under optimal UAE conditions.

Anthocyanin Name	Blackberry	Chokeberry	Raspberry
Cyanidin-3-galactoside	-	305.4 $\pm$ 6.5	-
Cyanidin-3-glucoside	107.9 $\pm$ 1.7	18.3 $\pm$ 0.1	31.6 $\pm$ 0.7
Cyanidin-3-arabinoside	1.4 $\pm$ 0.1	115.3 $\pm$ 1.9	-
Cyanidin-3-xyloside	8.1 $\pm$ 0.2	15.9 $\pm$ 0.4	-
Cyanidin-3-sophoroside	-	-	41.8 $\pm$ 0.5
Cyanidin-3-glucosylrutoside	-	-	20.2 $\pm$ 0.4
Cyanidin-3-rutinoside	-	-	19.0 $\pm$ 0.8
Pelargonidin-3-sophoroside	-	-	2.8 $\pm$ 0.1
TAC	117.4 $\pm$ 1.9 ^a	454.8 $\pm$ 8.4 ^b	115.3 $\pm$ 2.5 ^a

TAC—total anthocyanin content; ‘-’ stands for not detected; ^{a,b}—different letters in superscript indicate significantly different groups of results at $p < 0.05$.

In the study by Jara-Palacios et al. [30], the most abundant anthocyanin in blackberry pomace extract was also cyanidin-3-glucoside, with an 86% share in the TAC. However, in contrast to our study, another identified anthocyanin was cyanidin-3-rutinoside, which was not detected in the present work. Considering chokeberry pomace extract, cyanidin-3-

galactoside was identified as major anthocyanin in studies by Rodríguez-Werner et al. [31] and Sójka et al. [32]. A similar profile of anthocyanins in raspberry (var. Polana) pomace was obtained in the study by Szymanowska et al. [33]. However, in the present study, five anthocyanins were identified for the raspberry pomace extract. In the cited work, only three anthocyanins were identified—cyanidin-3-sophoroside, which represented over 70% of the anthocyanin content, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-rutinoside. The results are also consistent with an HPLC study of anthocyanins in freeze-dried Polana raspberries, where cyanidin-3-sophoroside has been described as a predominant compound, followed by cyanidin-3-glucoside [34]. HPLC analysis showed that substantial amounts of anthocyanins which have numerous health benefits [35] may be obtained through a green extraction procedure from berry fruit wastes.

2.5. TPC and Antioxidant Capacity Correlation

To investigate the dependencies of pomace extracts' antioxidant activity, the correlation between the TPC and antioxidant capacity, measured using an ABTS assay, was determined. A graphical illustration of the correlations is shown in Figure 3. The results obtained for different pomace extracts varied. In the cases of the CH and RB pomace extracts, the correlation between the TPC and antioxidant capacity was stronger— $r = 0.9699$ and $r = 0.9806$, respectively. BB pomace extract was characterized by a lower correlation, $r = 0.8823$. However, the obtained results are still quite high compared to, e.g., Babbar et al. [36], who studied the correlation between TPC and ABTS in extracts from different fruit residues. The overall correlation coefficient was equal to 0.70, but the researchers in this study used the seeds, pericarp or peels of litchi, kinnow and banana, not berry fruit pomaces. In the case of berry fruits, Dragović-Uzelac et al. [37] obtained a correlation coefficient value of $r = 0.78$ – 0.84 for the polyphenol-rich extracts of blueberries. Also, Rojas-Ocampo et al. [38] reported strong correlation between the TPC and antioxidant capacity, measured using DPPH and ABTS assays, for extracts from pulp and bagasse from blueberry, elderberry, blackberry and goldenberry. Similar results were presented by de Souza et al. [39] for blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. The high r correlation coefficients between the TPC and ABTS indicate that most antioxidants in the studied berry fruit pomaces were derived from polyphenolic compounds, with non-polyphenolic constituents, like ascorbic acid or carotenoids, having an only marginal influence.

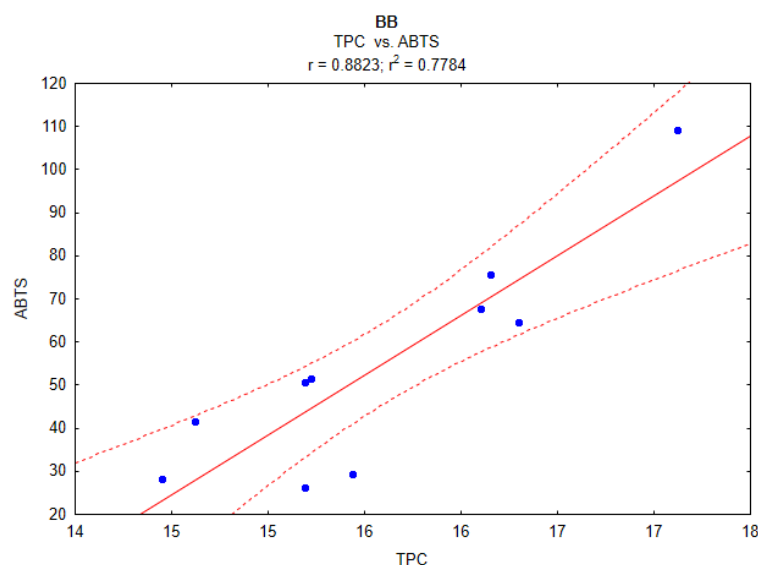
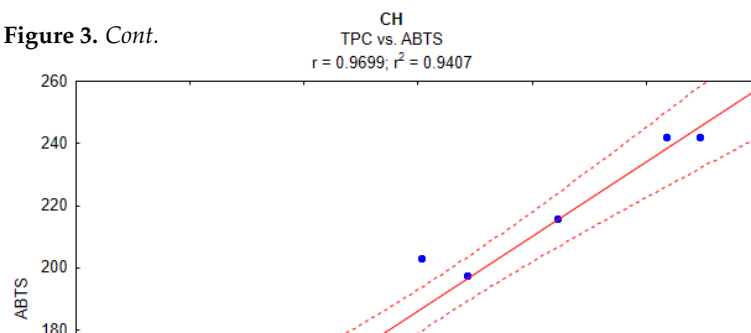


Figure 3. Cont.



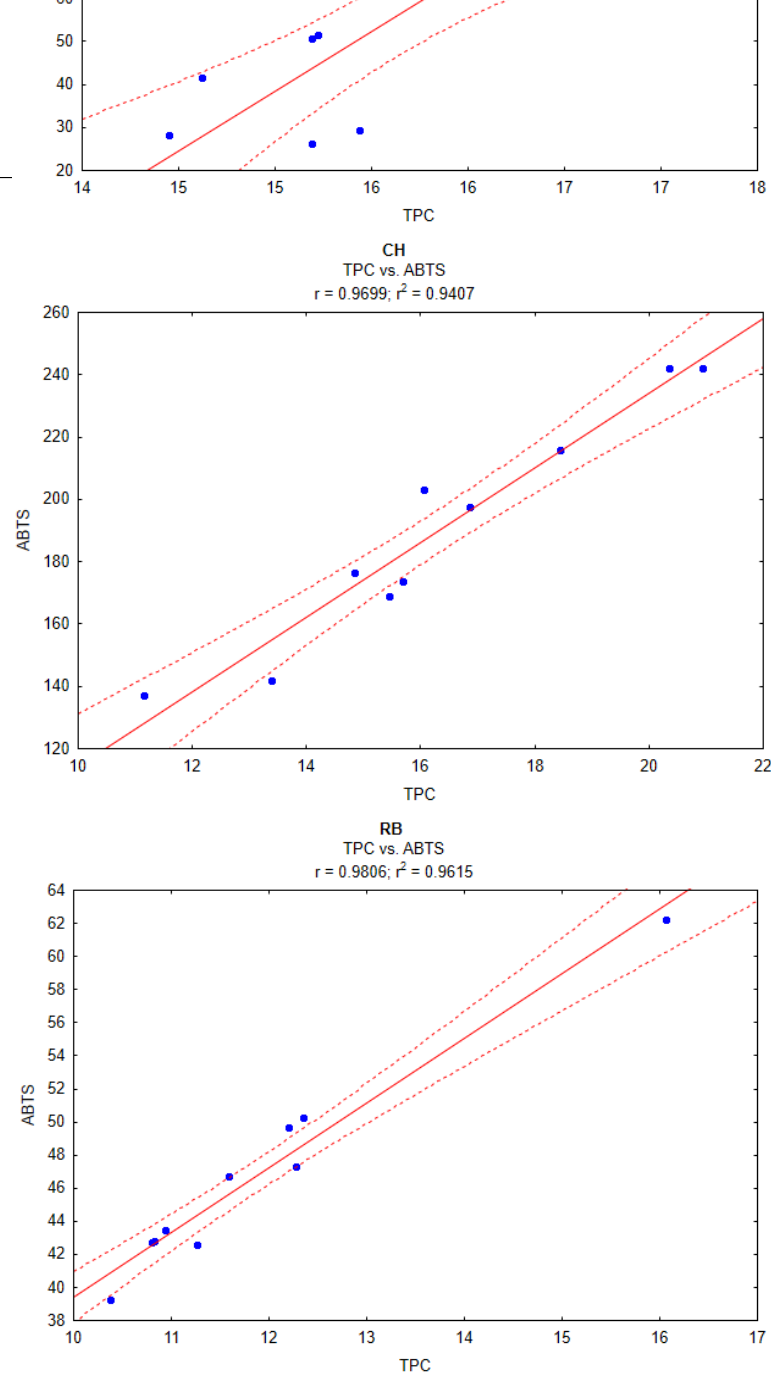


Figure 3. Graphs illustrating correlation between TPC and antioxidant capacity (ABTS) of pomace extracts. Dashed line marks 95% confidence interval.

3. Materials and Methods

3.1. Materials

Local farmers in Pulawy, Poland, supplied fresh raspberries (*Rubus idaeus* var. Polana) and chokeberries (*Aronia melanocarpa* var. Nero). The blackberries (*Rubus fruticosus* var. Brzezina) were obtained from the Horticulture-National Research Institute in Skierniewice, Poland, and the fruit came from a *Rubus* collection carried out as a part of the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development's targeted task of ex situ conservation of horticultural plant genetic resources. Juices were extracted from around 10 kg of fruits using a hydraulic press (HPL 14, Bucher Unipektin, Niederweningen, Switzerland) at a maximum pressure of 3 bar. Pomaces obtained from juice pressing were dried in a laboratory convection drier at 45 °C and 1.5 m/s airflow. Using a Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic AG, Bassersdorf, Switzerland) hygrometer, the water content of dried pomaces was measured at 25 ± 0.3 °C. The water content values for all samples were lower than 0.4. The pomaces were then sieved to remove the seeds, and seedless pomaces were used as the study material.

3.2. Methods

3.2.1. Ultrasound-Assisted Extraction

UAE was performed using the previously reported method [24] in a UP400S ultrasound processor (Hielscher Ultrasonics, Teltow, Germany) with an output power of 400 W. For every sample, two grams of pomace were placed in a falcon tube and filled with distilled water at a solid/liquid ratio of 1:15 shortly before extraction. To maintain a temperature below 45 °C, the falcon tube was immersed in an ice bath. An immersion, a thermometer was utilized to monitor the solid/solvent mixture. Following that, the extracts were filtered through a paper filter and analyzed.

3.2.2. Total Polyphenol Content

TPC was determined using Folin–Ciocalteu reagent reaction, as described by Gao et al. [40]. In brief, 0.2 mL of diluted extracts, 0.4 mL Folin–Ciocalteu reagent, 4 mL distilled water and 2 mL of 15% sodium carbonate solution were combined in a test tube, stirred with a Vortex mixer and left in the dark for 60 min. After that, spectrophotometric analysis was carried out. The absorbance was measured at 765 nm with a Shimadzu UV-1650PC spectrophotometer (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). The calibration curve was prepared using working standard solutions of gallic acid at concentrations ranging from 50 mg to 250 mg/L. TPC values were given in milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per gram of dried material.

3.2.3. Antioxidant Capacity

Antioxidant capacity was determined using ABTS cation radical solution according to the method described by Re et al. [41]. Diluted extract (40 µL) was mixed with 4 mL ABTS working solution, stirred in a Vortex mixer and left in the dark for 8 min. After incubation, the absorbance of the samples was measured at 734 nm using a Shimadzu UV-1650PC spectrophotometer (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Trolox standard curves were created using working standard solutions at concentrations ranging from 0 to 1125 µmol/L. Antioxidant capacity was given as µmol Trolox equivalent (TE) per gram of dried sample.

3.2.4. High-Performance Liquid Chromatography

The anthocyanin content was examined using a HPLC device (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) equipped with a DAD detector and a Luna 5 µm C18 (2), 250 mm × 4.6 mm column with precolumn (Phenomenex, Torrance, CA, USA). Using the HPLC method in compliance with an earlier approach [42], the anthocyanin content in the extracts obtained under optimal and control conditions was ascertained. One milliliter per minute of isocratic flow was used for the analysis. The mobile phase consisted of a combination of water, acetonitrile and formic acid at a volumetric ratio of 830:70:100. At a wavelength of 520 nm, the findings were recorded. The compounds' concentrations were measured in reference to a standard consisting of cyanidin-3-glucoside. For every sample, three separate analyses were conducted. With the help of the LabSolutions software (v. 5.106, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), the total anthocyanin content (TAC) was computed by adding the individual anthocyanins concentrations.

3.2.5. Experimental Design

Experimental runs were carried out in triplicate in the conditions summarized in Table 5. The results were analyzed in order to fit appropriate mathematical models and equations explaining the influence of variables on the experimental responses according to the following formulas (Equation (7) for the two-factor interaction model and Equation (8) for the quadratic model):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (7)$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (8)$$

where β_0 —the constant coefficient; β_1 , β_2 —regression coefficients for the linear terms; β_{11} , β_{22} —regression coefficients for the quadratic terms; β_{12} —regression coefficient for the interaction terms; and X_1 , X_2 —coded values of independent variables.

Table 5. Experimental design—coded and actual values of ultrasound amplitude and extraction time.

Run	Ultrasound Amplitude X_1		Extraction Time X_2	
	Coded	Actual [%]	Coded	Actual
1	−1	30	−1	2
2	+1	80	−1	2
3	−1	30	+1	10
4	−1.414	80	+1	10
5	+1.414	19.75	0	6
6	0	90.25	0	6
7	0	55	−1.414	0.34
8	0	55	+1.414	11.66
9	0	55	0	6
10	0	55	0	6

3.2.6. Statistical Analysis

The experiment was designed and analyzed in terms of model fitting (determination coefficients, lack-of-fit tests, ANOVA tests for fitted models and equation determination) and optimization using Design-Expert software (v. 22.0.2, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA). The correlation between TPC and ABTS of extracts and statistical analysis (ANOVA, followed by post hoc Tukey's test) of HPLC results were carried out in Statistica software (v. 13.3, Statsoft, Kraków, Poland). A *p* value of 0.05 was applied to determine the significant differences.

4. Conclusions

Blackberry, chokeberry and raspberry pomaces can be used as materials to extract polyphenols. By-products from the fruit-processing industry are still abundant in valuable bioactive compounds, and thus their extraction and further processing appear to be reasonable waste-management solutions. In order to achieve a fully green process, ultrasound-assisted extraction using water as an extractant can be considered. In the present study, it was shown that the quality of an extract depends on the amplitude of the ultrasound applied and the extraction time. Based on the conducted experiments, the extraction method was optimized in order to achieve the highest possible responses in terms of total polyphenol content and antioxidant capacity of water extracts. By applying response surface methodology, specific extraction conditions were calculated which should yield the predicted maximized response values. The mathematical models predicted values close to the actual obtained results with high accuracy, which is a proof RSM's usability in optimization procedures. The extracts obtained in the most favorable conditions were also subjected to HPLC analysis of their anthocyanin content. The collected results demonstrate that pomaces can be a source of bioactive compounds; however, the extraction method has to be modified in order to provide efficient but also cost-effective and environmentally friendly process. The ultrasound-assisted extraction method can be considered as such a process, and its optimization confers maximized utilization of by-products.

Author Contributions: Conceptualization, I.P., A.G. and A.W.; methodology, I.P.; software, I.P. and R.B.; validation, I.P.; formal analysis, I.P. and S.K.; investigation, I.P.; resources, I.P.; data curation, I.P.; writing—original draft preparation, I.P.; writing—review and editing, A.G.; visualization, I.P. and R.B.; supervision, A.G.; project administration, A.G.; funding acquisition, A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Some research equipment was purchased as part of the “Food and Nutrition Centre—modernisation of the WULS campus to create a Food and Nutrition Research and Development Centre (CŻiŻ)”, co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund under the Regional Operational Programme of the Mazowieckie Voivodeship for 2014–2020 (Project No. RPMA.01.01.00-14-8276/17).

Data Availability Statement: Data presented in the following study are available upon reasonable request from the corresponding author.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge Justyna Wójcik-Seliga from Cultivar Testing, Nursery and Gene Bank Resources Department, Institute of Horticulture-National Research Institute in Skierniewice, Poland, for providing *Rubus* var. Brzezina fruits cultivated from the gene bank collection in Dabrowice, Poland.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Perra, M.; Bacchetta, G.; Muntoni, A.; De Gioannis, G.; Castangia, I.; Rajha, H.N.; Manca, M.L.; Manconi, M. An Outlook on Modern and Sustainable Approaches to the Management of Grape Pomace by Integrating Green Processes, Biotechnologies and Advanced Biomedical Approaches. *J. Funct. Foods* **2022**, *98*, 105276. [\[CrossRef\]](#)
- Antoniolli, A.; Fontana, A.R.; Piccoli, P.; Bottini, R. Characterization of Polyphenols and Evaluation of Antioxidant Capacity in Grape Pomace of the Cv. Malbec. *Food Chem.* **2015**, *178*, 172–178. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Suárez, B.; Álvarez, Á.L.; García, Y.D.; del Barrio, G.; Lobo, A.P.; Parra, F. Phenolic Profiles, Antioxidant Activity and in Vitro Antiviral Properties of Apple Pomace. *Food Chem.* **2010**, *120*, 339–342. [\[CrossRef\]](#)
- Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A.G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A.S.; Abert-Vian, M. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review. *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *34*, 540–560. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Picó, Y. Ultrasound-Assisted Extraction for Food and Environmental Samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2013**, *43*, 84–99. [\[CrossRef\]](#)
- Alara, O.R.; Abdurahman, N.H.; Ukaegbu, C.I. Extraction of Phenolic Compounds: A Review. *Curr. Res. Food Sci.* **2021**, *4*, 200–214. [\[CrossRef\]](#)
- Yolmeh, M.; Jafari, S.M. Applications of Response Surface Methodology in the Food Industry Processes. *Food Bioprocess Technol.* **2017**, *10*, 413–433. [\[CrossRef\]](#)
- Umair, M.; Jabbar, S.; Nasiru, M.M.; Lu, Z.; Zhang, J.; Abid, M.; Murtaza, M.A.; Kieliszek, M.; Zhao, L. Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Carrot Pomace and Their Optimization through Response Surface Methodology. *Molecules* **2021**, *26*, 6763. [\[CrossRef\]](#)
- He, B.; Zhang, L.L.; Yue, X.Y.; Liang, J.; Jiang, J.; Gao, X.L.; Yue, P.X. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Anthocyanins from Blueberry (*Vaccinium ashei*) Wine Pomace. *Food Chem.* **2016**, *204*, 70–76. [\[CrossRef\]](#)
- Egüés, I.; Hernandez-Ramos, F.; Rivilla, I.; Labidi, J. Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Apple Pomace. *Molecules* **2021**, *26*, 3783. [\[CrossRef\]](#)
- Minjares-Fuentes, R.; Femenia, A.; Garau, M.C.; Meza-Velázquez, J.A.; Simal, S.; Rosselló, C. Ultrasound-Assisted Extraction of Pectins from Grape Pomace Using Citric Acid: A Response Surface Methodology Approach. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *106*, 179–189. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kasapoğlu, E.D.; Kahraman, S.; Tornuk, F. Optimization of Ultrasound Assisted Antioxidant Extraction from Apricot Pomace Using Response Surface Methodology. *J. Food Meas. Charact.* **2021**, *15*, 5277–5287. [\[CrossRef\]](#)
- Gao, M.R.; Xu, Q.D.; He, Q.; Sun, Q.; Zeng, W.C. A Theoretical and Experimental Study: The Influence of Different Standards on the Determination of Total Phenol Content in the Folin–Ciocalteu Assay. *J. Food Meas. Charact.* **2019**, *13*, 1349–1356. [\[CrossRef\]](#)
- Chemat, F.; Zill-e-Huma; Khan, M.K. Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrason. Sonochem.* **2011**, *18*, 813–835. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kaur, N.; Aggarwal, P.; Kumar, V.; Kaur, S. Ultrasound-Assisted Extraction of Phytochemicals from Java Plum (*Syzygium cumini* L.) Pomace: Process Optimization, Phytochemical Characterization Using HPLC, FTIR, SEM and Mineral Profiling. *Waste Biomass Valorization* **2023**, *14*, 949–961. [\[CrossRef\]](#)
- Liao, J.; Xue, H.; Li, J. Extraction of Phenolics and Anthocyanins from Purple Eggplant Peels by Multi-Frequency Ultrasound: Effects of Different Extraction Factors and Optimization Using Uniform Design. *Ultrason. Sonochem.* **2022**, *90*, 106174. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dos Santos, S.S.; Paraíso, C.M.; Rodrigues, L.M.; Madrona, G.S. Agro-Industrial Waste as a Source of Bioactive Compounds: Ultrasound-Assisted Extraction from Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) and Raspberry (*Rubus idaeus*) Pomace. *Acta Sci. Technol.* **2021**, *43*, e55564. [\[CrossRef\]](#)
- Silva Júnior, M.E.; Araújo, M.V.R.L.; Santana, A.A.; Silva, F.L.H.; Maciel, M.I.S. Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Ciriguela (*Spondias purpurea* L.) Peel: Optimization and Comparison with Conventional Extraction and Microwave. *Arab. J. Chem.* **2021**, *14*, 103260. [\[CrossRef\]](#)

19. Munteanu, I.G.; Apetrei, C.; Hadjipavlou-Litina, D. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 3380. [\[CrossRef\]](#)
20. Zhao, H.; Fan, W.; Dong, J.; Lu, J.; Chen, J.; Shan, L.; Lin, Y.; Kong, W. Evaluation of Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents of Typical Malting Barley Varieties. *Food Chem.* **2008**, *107*, 296–304. [\[CrossRef\]](#)
21. Mazza, K.E.L.; Santiago, M.C.P.A.; do Nascimento, L.S.M.; Godoy, R.L.O.; Souza, E.F.; Brígida, A.I.S.; Borguini, R.G.; Tonon, R.V. Syrah Grape Skin Valorisation Using Ultrasound-Assisted Extraction: Phenolic Compounds Recovery, Antioxidant Capacity and Phenolic Profile. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2019**, *54*, 641–650. [\[CrossRef\]](#)
22. Anticono, M.; Blesa, J.; Lopez-Malo, D.; Frigola, A.; Esteve, M.J. Effects of Ultrasound-Assisted Extraction on Physicochemical Properties, Bioactive Compounds, and Antioxidant Capacity for the Valorization of Hybrid Mandarin Peels. *Food Biosci.* **2021**, *42*, 101185. [\[CrossRef\]](#)
23. Vu, H.T.; Scarlett, C.J.; Vuong, Q.V. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Conditions for Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity from Banana (*Musa cavendish*) Peel. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *41*, e13148. [\[CrossRef\]](#)
24. Piasecka, I.; Brzezińska, R.; Kalisz, S.; Wiktor, A.; Górska, A. Recovery of Antioxidants and Oils from Blackcurrant and Redcurrant Wastes by Ultrasound-Assisted Extraction. *Food Biosci.* **2024**, *57*, 103511. [\[CrossRef\]](#)
25. Silva, P.B.; Mendes, L.G.; Rehder, A.P.B.; Duarte, C.R.; Barrozo, M.A.S. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Acerola Waste. *J. Food Sci. Technol.* **2020**, *57*, 4627–4636. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Zafra-Rojas, Q.Y.; Cruz-Cansino, N.S.; Quintero-Lira, A.; Gómez-Aldapa, C.A.; Alanís-García, E.; Cervantes-Elizarrarás, A.; Güemes-Vera, N.; Ramírez-Moreno, E. Application of Ultrasound in a Closed System: Optimum Condition for Antioxidants Extraction of Blackberry (*Rubus fruticosus*) Residues. *Molecules* **2016**, *21*, 950. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Santos, S.S.D.; de Santana Magalhães, F.; Paraíso, C.M.; Ogawa, C.Y.L.; Sato, F.; de Oliveira Santos Junior, O.; Visentainer, J.V.; Madrona, G.S.; Reis, M.H.M. Enhanced Conditions for Anthocyanin Extraction from Blackberry Pomace under Ultrasound Irradiation. *J. Food Process. Eng.* **2023**, *46*, e14077. [\[CrossRef\]](#)
28. Ramić, M.; Vidović, S.; Zeković, Z.; Vladić, J.; Cvejin, A.; Pavlić, B. Modeling and Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenolic Compounds from Aronia Melanocarpa by-Products from Filter-Tea Factory. *Ultrason. Sonochem.* **2015**, *23*, 360–368. [\[CrossRef\]](#)
29. Xue, H.; Tan, J.; Li, Q.; Tang, J.; Cai, X. Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction of Anthocyanins from Raspberry Wine Residues: Process Optimization, Isolation, Purification, and Bioactivity Determination. *Food Anal. Methods* **2021**, *14*, 1369–1386. [\[CrossRef\]](#)
30. Jara-Palacios, M.J.; Santisteban, A.; Gordillo, B.; Hernanz, D.; Heredia, F.J.; Escudero-Gilete, M.L. Comparative Study of Red Berry Pomaces (Blueberry, Red Raspberry, Red Currant and Blackberry) as Source of Antioxidants and Pigments. *Eur. Food Res. Technol.* **2019**, *245*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
31. Rodríguez-Werner, M.; Winterhalter, P.; Esatbeyoglu, T. Phenolic Composition, Radical Scavenging Activity and an Approach for Authentication of Aronia Melanocarpa Berries, Juice, and Pomace. *J. Food Sci.* **2019**, *84*, 1791–1798. [\[CrossRef\]](#)
32. Sójka, M.; Kołodziejczyk, K.; Milala, J. Polyphenolic and Basic Chemical Composition of Black Chokeberry Industrial By-Products. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *51*, 77–86. [\[CrossRef\]](#)
33. Szymanowska, U.; Karaś, M.; Bochnak-Niedźwiecka, J. Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential and Consumer Acceptance of Wafers Enriched with Freeze-Dried Raspberry Pomace. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 6807. [\[CrossRef\]](#)
34. Sparzak, B.; Merino-Arevalo, M.; Vander Heyden, Y.; Krauze-Baranowska, M.; Majdan, M.; Fecka, I.; Głód, D.; Bączek, T. HPLC Analysis of Polyphenols in the Fruits of *Rubus idaeus* L. (Rosaceae). *Nat. Prod. Res.* **2010**, *24*, 1811–1822. [\[CrossRef\]](#)
35. Gonçalves, A.C.; Nunes, A.R.; Falcão, A.; Alves, G.; Silva, L.R. Dietary Effects of Anthocyanins in Human Health: A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 690. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Babbar, N.; Oberoi, H.S.; Uppal, D.S.; Patil, R.T. Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Extracts Obtained from Six Important Fruit Residues. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 391–396. [\[CrossRef\]](#)
37. Dragović-Uzelac, V.; Savić, Z.; Brala, A.; Levaj, B.; Bursać Kovačević, D.; Biško, A. Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Blueberry Cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) Grown in the Northwest Croatia. *Food Technol. Biotechnol.* **2010**, *48*, 214–221.
38. Rojas-Ocampo, E.; Torrejón-Valqui, L.; Muñoz-Astecker, L.D.; Medina-Mendoza, M.; Mori-Mestanza, D.; Castro-Alayo, E.M. Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Phenolic Compounds of Pulp and Bagasse of Four Peruvian Berries. *Heliyon* **2021**, *7*, e07787. [\[CrossRef\]](#)
39. de Souza, V.R.; Pereira, P.A.; da Silva, T.L.; de Oliveira Lima, L.C.; Pio, R.; Queiroz, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem.* **2014**, *156*, 362–368. [\[CrossRef\]](#)
40. Gao, X.; Ohlander, M.; Jeppsson, N.; Björk, L.; Trajkovski, V. Changes in Antioxidant Effects and Their Relationship to Phytonutrients in Fruits of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during Maturation. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1485–1490. [\[CrossRef\]](#)

41. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *26*, 1231–1237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Goiffon, J.-P.; Mouly, P.P.; Gaydou, E.M. Anthocyanic Pigment Determination in Red Fruit Juices, Concentrated Juices and Syrups Using Liquid Chromatography. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *382*, 39–50. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry, and Raspberry Waste Products

Iga Piasecka ^{1,*} , Rita Brzezińska ¹ , Artur Wiktor ²  and Agata Górka ^{1,*} 

¹ Department of Chemistry, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159c Nowoursynowska St., 02-776 Warsaw, Poland; rita_brzezinska@sggw.edu.pl

² Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159c Nowoursynowska St., 02-776 Warsaw, Poland; artur_wiktor@sggw.edu.pl

* Correspondence: iga_piasecka@sggw.edu.pl (I.P.); agata_gorska@sggw.edu.pl (A.G.)

Abstract: Berry fruit seeds which are considered as a fruit industry waste product can be a source of oil with unique chemical, physical, and nutritional properties. The blackberry, chokeberry, and raspberry seeds can be perceived as an alternative source of oil. However, conventional oil extraction is merged with financial and environmental expanses. Therefore, alternative extraction methods, ultrasound-assisted, for example, are being gradually introduced to the common practice. The aim of the following study was to determine the optimal conditions of ultrasound-assisted extraction of oil from blackberry, chokeberry, and raspberry seeds in order to obtain oil with high yield and improved oxidative stability. The variables of the experiment were extraction time and ultrasound amplitude. Based on the results, the mathematical models were fit, and optimum conditions of time and amplitude were calculated: 8.20 min and 72.98%, 10.11 min and 59.18%, 8.43 min and 95.57% for blackberry, chokeberry, and raspberry seed oils, respectively. Additionally, oils obtained in the optimized conditions were assessed in differential scanning calorimetry study to evaluate their melting and crystallization characteristics. The results showed that ultrasound application affected thermal properties of oils only slightly. The evaluation of oxidation kinetics led to the conclusion that ultrasound may cause an activation energy increase. Also, the profile of fatty acids and their distribution in triacylglycerol molecules were studied. The output values of experiments were comparable between oils obtained from the same berry seeds. All of the oils were characterized with a high share of polyunsaturated fatty acids (over 70%) with predominant content of linoleic acid. Summarized results show that the ultrasound technique can be successfully applied in the oil extraction procedure. The benefits contain improved yield, longer oxidation induction time, and invariance of the specific oil chemical and physical properties.

Keywords: ultrasound-assisted extraction; by-products; berry seeds; vegetable oils; RSM



Citation: Piasecka, I.; Brzezińska, R.; Wiktor, A.; Górka, A. Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry, and Raspberry Waste Products. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 7214. <https://doi.org/10.3390/app14167214>

Academic Editor: Anna Lante

Received: 16 July 2024

Revised: 13 August 2024

Accepted: 14 August 2024

Published: 16 August 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Berry fruit wastes, mainly pomace obtained during juice pressing or wine production, are nowadays considered as a promising source of bioactive compounds. On a large scale, they are processed into animal feed or fertilizers. However, due to polyphenol content or seed oil abundance, the waste can have a high added value through the extraction of these valuable components [1]. The proximate analysis of berry fruit pomaces shows a high abundance of carbohydrates (40–70%), followed by protein (5–10%) and fat (2.5–12.5%) [2–4]. Alternative extraction methods, e.g., ultrasound-assisted, pulsed electric field-assisted, and microwave-assisted may accelerate the process and also be beneficial in terms of financial and environmental savings when compared to conventional extraction procedures, like solid/liquid or Soxhlet methods [5].

Special emphasis is put on ultrasound-assisted extraction (UAE) as it is an easy, quick, and efficient extraction method. It utilizes cavitation phenomenon, which involves forming and collapsing cavitation bubbles in liquid media and results in rapid local events such as mixing, turbulent liquid movement, particle breakdown, sonoporation, fragmentation, detexturation, and erosion in the surface of solid material [6]. All these effects contribute to improved diffusivity and mass transfer, which are crucial for extraction efficiency.

UAE was used in numerous studies to obtain oil from by-products with effective yield and with beneficial properties. Gasparini et al. [7] applied UAE to obtain oil from apple seeds. Compared to conventional extraction and supercritical extraction, UAE results in oil with higher unsaturated fatty acid content and increased concentration of antioxidant compounds. It was also stated that UAE was time efficient when compared to other extraction methods. Milanović et al. [8] extracted oil from winery grape by-products. UAE was found to be more efficient than cold pressing in terms of oil yield, antioxidant capacity, and abundance of α -tocopherol in grape seed oil. Oxidative stability of oil obtained in UAE was also improved. Pérez-Saucedo et al. [9] studied the UAE of avocado seed oil. The main effects of US application improved oxidative stability, acidity, peroxide, and iodine indexes. The time/yield ratio was also significantly improved by US.

Taking into account all the possible benefits of UAE, the aim of the study was to attempt US application in the oil extraction process from blackberry (BB), chokeberry (CH), and raspberry (RB) seeds, considered as by-products of the fruit industry. The objective of the work was also optimization of UAE variables (extraction time and amplitude level) in order to obtain oil with highest possible yield and longest oxidation induction time. Oils obtained in optimized conditions with control samples obtained in conventional solid/liquid extraction process were additionally subjected to detailed chemical analyses: fatty acid profile and distribution determination, oxidation kinetics, melting and crystallization characteristic studies. The results of the study were expected to point out opportunities to valorize food side streams.

2. Materials and Methods

2.1. Material

Fresh fruits of raspberry (*Rubus idaeus* var. Polana) and chokeberry (*Aronia melanocarpa* var. Nero) were supplied by local farmers from Pulawy, Poland. Blackberry (*Rubus fruticosus* var. Brzezina) was obtained from Horticulture National Research Institute in Skierniewice, Poland, and fruit came from the *Rubus* collection formed as part of the targeted task of the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development—an ex situ conservation of genetic resources of horticultural plants. Approximately 10 kg of fruits was used to press juices in the hydraulic press (HPL 14, Bucher Unipektin, Niederweningen, Switzerland), applying a maximum of 3 Bar of pressure. The pomace left after juice pressing was then dried in the laboratory convective dryer at 45 °C and with the air flow of 1.5 m/s. The water activity of the dried pomace was measured at 25 ± 0.3 °C using Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic AG, Bassersdorf, Switzerland) hygrometer. The results for all samples were under 0.4. The seeds were then separated from the pomace using sieves and they were used further as a material.

2.2. Methods

2.2.1. Ultrasound-Assisted Extraction

UAE was carried out according to the previously described methodology [10] in the UP400S ultrasound processor (Hielscher Ultrasonics, Teltow, Germany) with the output power of 400 W. Seed samples (2 g) were milled using an IKA Tube Mill (IKA-Werke, Staufen im Breisgau, Germany) at 20,000 rpm for 30 s and then placed in a falcon tube and filled with n-hexane at a solid/liquid ratio of 1:15 just before extraction. To keep the temperature below 45 °C, the falcon tube was immersed in an ice bath, and an immersion thermometer was used to monitor the temperature of the solid-solvent mixture. Following that, the extracts were filtered, dried with anhydrous magnesium sulfate, and evaporated

under pressure at 70 mbar. Under nitrogen atmosphere, residual n-hexane was removed from oil samples.

2.2.2. Experimental Design

Extraction conditions varied in terms of ultrasound amplitude level (X_1) and extraction time (X_2). The parameters were determined using central composition design (CCD). Coded and actual values of ten experiments are summarized in Table 1. The conditions of experiment were chosen based on previous studies [10,11] in which, based on the optimization results, it was shown that longer extraction time and higher amplitude level are more efficient in terms of oil yield and oxidation induction time (OIT) of oil.

Table 1. Experimental design—coded and actual values of ultrasound amplitude and extraction time.

Run	Ultrasound Amplitude X_1		Extraction Time X_2	
	Coded	Actual [%]	Coded	Actual [min]
1	−1	30	−1	5
2	+1	80	−1	5
3	−1	30	+1	15
4	+1	80	+1	15
5	−1.414	19.7	0	10
6	+1.414	90.4	0	10
7	0	55	−1.414	2.93
8	0	55	+1.414	17.07
9	0	55	0	10
10	0	55	0	10

All runs were carried out in triplicate. Based on model fitting results, experimental equations were specified according to the following formulas ((1)—for the linear model, (2)—for the two-factor interaction model (2FI), and (3)—for the quadratic model):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \quad (1)$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (2)$$

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (3)$$

where β_0 —the constant coefficient; β_1 , β_2 —regression coefficients for the linear terms; β_{11} , β_{22} —regression coefficients for the quadratic terms; β_{12} —regression coefficient for the interaction terms; X_1 , X_2 —coded values of independent variables.

2.2.3. Oil Yield Determination

The yield of oil extracted from berry seeds in the UAE procedure was determined in the gravimetric assay by dividing the mass of oil by the initial mass of seeds and expressed as percents (Equation (4)) [12],

$$Yield [\%] = \frac{m_o}{m_s} \times 100 \quad (4)$$

where m_o —mass of oil; m_s —mass of seeds.

2.2.4. Conventional Extraction

In order to obtain relevant control samples for PDSC, DSC, and GC studies, conventional solid/liquid extraction of oil was carried out. Milled seeds (2 g) were placed with 30 mL of n-hexane in the Falcon tube and immersed into a water bath. The extraction was conducted at 40 °C with constant agitation for 2 h. After that, the extract was filtered, and the solvent was evaporated following the same procedure as described for ultrasound-assisted extraction.

2.2.5. Oxidation Induction Time

The oxidation induction time (OIT) of oils was assessed in the pressure differential scanning calorimetry (PDSC) assay. The sample of oil (3–4 mg) was placed in an open aluminum pan with the empty reference pan in the test chamber of a DSC Q20 (TA Instruments, New Castle, DE, USA) apparatus. The OIT was measured in isothermal conditions of 120 °C and under initial pressure of 1400 kPa in pure oxygen atmosphere. OIT (expressed in min) was determined based on the heat flow in the function of time curve, analyzed in the TA Software (v. 4.5A) [13].

2.2.6. Oxidation Kinetics

To assess oxidation kinetic parameters including activation energy (E_a), pre-exponential factor (Z), and reaction rate constant (k), the non-isothermal PDSC variant was employed [14]. The samples of oil (3–4 mg) were heated at rates (β) of 2.5 °C/min, 5.0 °C/min, 7.5 °C/min, 10.0 °C/min, and 12.5 °C/min between 30 and 300 °C. The experiments were conducted in an oxygen atmosphere at a gas flow rate of 50 mL/min and a starting pressure of 100 kPa. The onset oxidation temperature (t_{on}) was determined by finding the intersection of the leading edge (tangent line) of the recorded curve and the extrapolated baseline. The experimental t_{on} values as a function of heating rates (β) were recalculated on absolute onset temperatures (T_{on}). The graphs of the logarithm of heating rate versus temperature of oil oxidation were plotted, and based on that, T_{on} dependence was described by regression Equation (5):

$$\log \beta = a \left(\frac{1}{T_{on}} \right) + b \quad (5)$$

where β —heating rate; T_{on} —onset absolute temperature (K). Activation energy (E_a) values and pre-exponential factor (Z) were calculated using Equations (6)–(8) and according to the Ozawa–Flynn–Wall methodology.

$$E_a = -2.19R \cdot \frac{d \log \beta}{d \frac{1}{T}} \quad (6)$$

where E_a —activation energy; R —gas constant.

$$Z = \frac{\beta E_a e^{\frac{E_a}{RT}}}{RT^2} \quad (7)$$

$$k = Z \exp \frac{-E_a}{RT} \quad (8)$$

where k —reaction rate constant; Z —pre-exponential factor.

2.2.7. Melting and Crystallization Behavior

To assess melting and crystallization characteristics, a differential scanning calorimetry (DSC) study was carried out using DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, DE, USA) calorimeter. Samples of oils (3–4 mg) were placed in an aluminum pan with a lid, hermetically sealed, with an empty pan used as a reference. Analyses were carried out in nitrogen atmosphere. Melting characteristics assay started with heating oil samples to 80 °C in order to melt the crystals and erase thermal memory. Following that, samples were chilled to −80 °C and then heated once more to 80 °C at a rate of 15 °C/min. Crystallization characteristics were determined by cooling oil samples from 20 °C to −80 °C with a cooling rate of 2 °C/min [15,16].

2.2.8. Gas Chromatography

In gas chromatography (GC) research, the fatty acid profile was evaluated. By combining the oil samples with hexane and methanolic potassium hydroxide, the oil samples were derivatized to methyl esters (PN-EN ISO: 5509:2001) [17]. The resulting fatty acid methyl

esters (FAMES) were then analyzed using the YL6100 GC equipment (Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Republic of Korea) equipped with a flame ionization detector and a 60 m long BPX 70 capillary column (SGE Analytical Science, Milton Keynes, UK). Split injection mode was employed, with nitrogen serving as the carrier gas being applied at a ratio of one to fifty. The temperature of the detector was 250 °C, and the injector was 225 °C. The oven's temperature program was as follows: The sample was first heated to 70 °C for 0.5 min, then to 160 °C at a rate of 15 °C/min, and finally to 200 °C at a rate of 1.1 °C/min. These temperatures were maintained for 6 min. Afterwards, the sample was heated once more to 225 °C at a rate of 30 °C/min. Based on retention durations on the chromatogram in comparison to the FAME mixture standard (Supelco 37 Component FAME Mix, Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA), the fatty acids were identified. A percentage share of each identified fatty acid in the sample was computed for the results [18].

The fatty acid distribution in triacylglycerols (TAGs) was also assessed in GC analysis. The distribution was determined by the selective hydrolysis of ester bonds in the sn-1,3 positions by pancreatic lipase. The isolation was carried out on a silica gel TLC plate. Isolated sn-2 monoacylglycerols were scraped off with gel and extracted using diethyl ether. Samples were then derivatized and subjected to GC analysis [19].

2.2.9. Statistical Analysis

The experimental design, model fitting, and optimization was carried out using Design-Expert software (v. 22.0.2, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA). The fit summary with determination coefficient, lack of fit test, ANOVA test for fitted model, and equation determination were performed.

The results from detailed oil analyses (oxidation kinetics, DSC, GC) were subjected to the statistical analysis in Statistica software (v. 13.3, Statsoft, Kraków, Poland). Analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc Tukey's test were carried out. A *p*-value of 0.05 was applied to determine significant differences.

3. Results and Discussion

3.1. Extraction Yield

One of the main discriminants justifying usage of alternative extraction methods, like UAE, is oil yield improvement. The goal is to reach maximum possible yield with lowest possible energy and time consumption in order to make the process profitable. Multiple studies proved UAE was an effective method in terms of oil yield improvement [20–23].

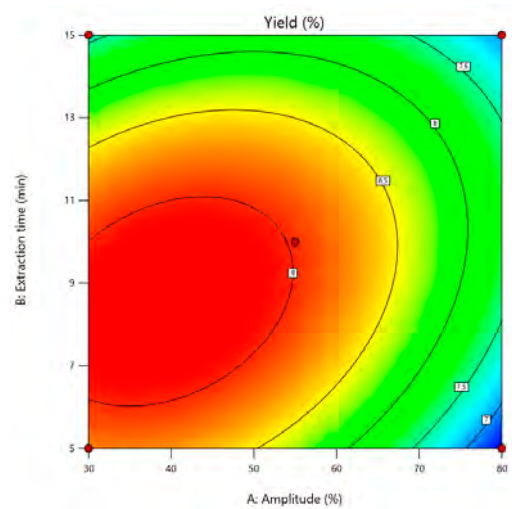
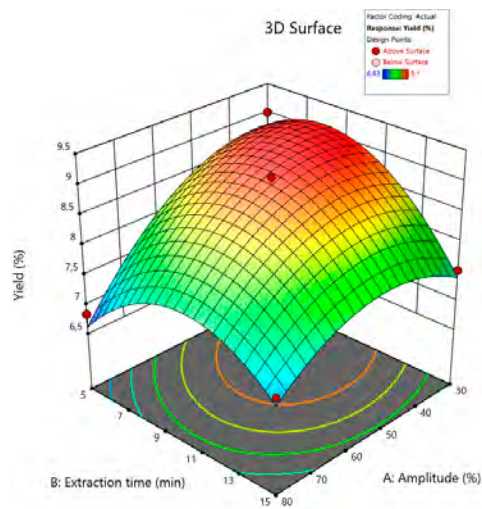
Results of extraction yield obtained in 30 experimental runs for each oil were used to fit the mathematical models and their equations which reflected changes in response depending on extraction time and ultrasound amplitude. The graphical expressions of three-dimensional surface plots and contour graphs of variable interactions are shown in Figure 1. The suggested mathematical models were verified by the coefficient of determination (R^2) and in the ANOVA tests (Table 2). Also, adequate Equations (9)–(11) outlining existing relationships between variables and responses were determined. For BB and CH seed oils, the yield quadratic model was significant ($p < 0.05$), with a non-significant lack of fit value ($p > 0.05$). The interactions between variables were less essential in case of RB seed oil extraction yield, as the two-factorial model was fit with significance ($p < 0.05$).

Table 2. Model fitting of oil extraction yields.

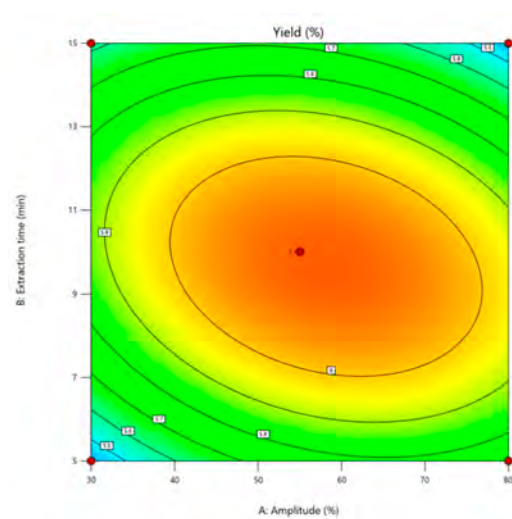
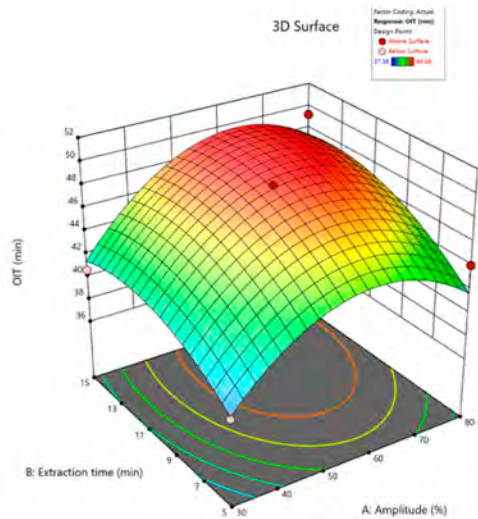
Oil	Model	R^2	CV (%)	Model <i>p</i> -Value	Model F-Value	Lack of Fit <i>p</i> -Value
BB	Quadratic	0.9676	3.48	0.0044	23.97	0.4097
CH	Quadratic	0.9030	2.47	0.0373	7.44	0.5320
RB	2FI	0.7258	7.42	0.0402	5.29	0.1294

CV—coefficient of variation.

BB oil



CH oil



RB oil

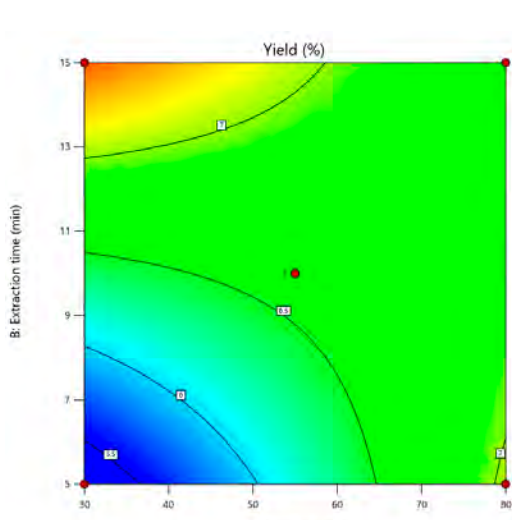
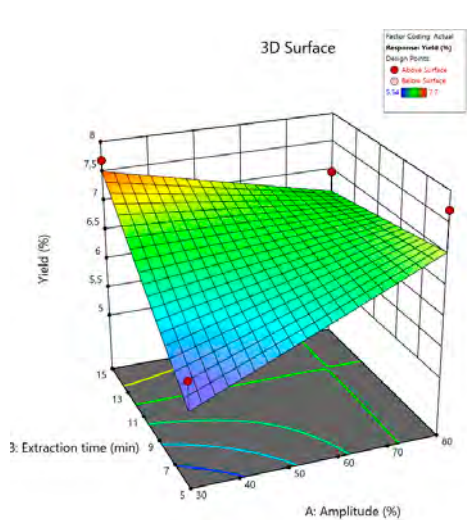


Figure 11. Three-dimensional and contour graphs showing oil yield dependence from extraction time and ultrasound amplitude.

Cavitation affects transport and extraction rates, which are impacted by acoustic power, frequency, and ultrasonic intensity [6]. Thus, ultrasound amplitude level significantly influenced the oil yield. However, the results differed slightly depending on seeds used in the extraction procedure. Generally, mild extraction conditions, considering ultrasound amplitude, were the most suitable in terms of oil yield. In previous studies, for cranberry seed oil [10] and black and redcurrant seed oils [11], the most favorable were the highest ultrasound amplitude values.

From surface plots, it can be observed that increasing the time up to around 10 min for BB and CH and to around 15 min for RB seeds leads to the highest oil yield results. The effect of time connects with prolonged sonoporation, erosion, and detexturation of the matrix, which promotes mass transfer from cells to the solvent [6]. However, prolonged time may result in the more local rapid events presence in the ultrasonic field. That may lead to solvent evaporation which may have a negative impact on the yield, as it was described by Senrayan and Venkatachalam [24].

$$Yield_{BB} = 6.18 + 0.05 \cdot X_1 + 0.48 \cdot X_2 + 0.003 \cdot X_1 X_2 - 0.001 \cdot X_1^2 - 0.04 \cdot X_2^2 \quad (9)$$

$$Yield_{CH} = 3.18 + 0.04 \cdot X_1 + 0.34 \cdot X_2 - 0.001 \cdot X_1 X_2 - 0.0003 \cdot X_1^2 - 0.02 \cdot X_2^2 \quad (10)$$

$$Yield_{RB} = 2.28 + 0.06 \cdot X_1 + 0.38 \cdot X_2 - 0.005 \cdot X_1 X_2 \quad (11)$$

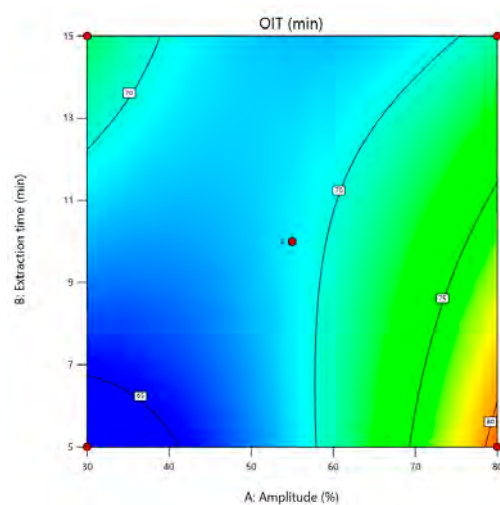
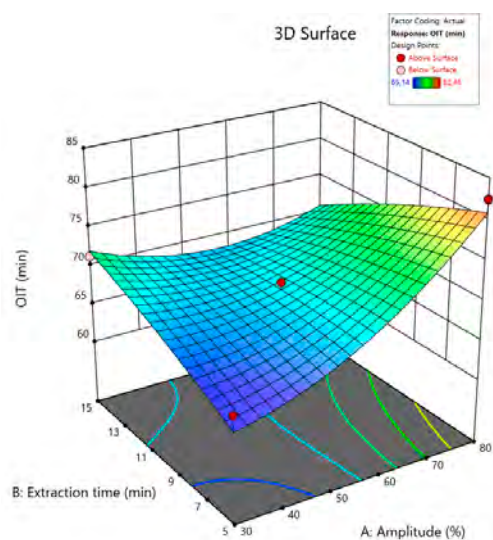
3.2. Oxidation Induction Time

Oxidation induction time (OIT) is an important oil feature as it reflects the stability of oil and its resistance to the oxidation process [25]. The PDSC method applied in the following study allows assessing OIT in an accelerated mode [26]. The mass transfer improvement during UAE can also include bioactive compound co-extraction [27]. Also, the inactivation of oxidative enzymes, i.e., peroxidase and lipase, may occur during UAE [28]. These mechanisms can be responsible for longer OIT of oils and thus prolong their shelf life. Ultrasound treatment may, however, lead to formation of free radicals, which may induce lipid oxidation reactions [29]. That is why the UAE process needs to be adjusted in order to balance the influence of both factors.

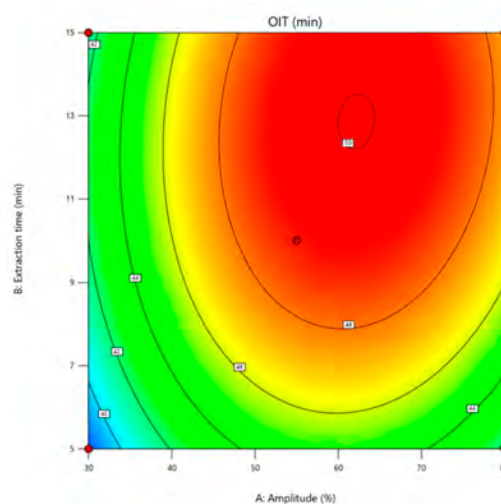
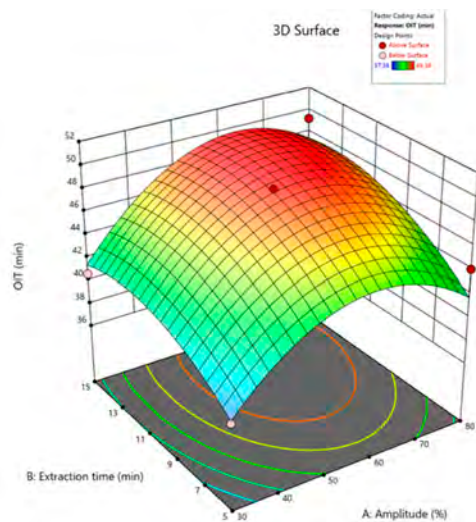
The response surface 3D graphs with contour graphs showing the extraction time and amplitude influence on OIT are presented in Figure 2. Based on the results, adequate models described by Equations (12)–(14) were fit, tested in ANOVA analysis, and verified by the coefficient of determination (R^2) (Table 3). As OIT of BB and CH seed oils was dependent on the amplitude and extraction time and their interactions, they were described by quadratic models ($p < 0.05$) with non-significant lack of fit values ($p > 0.05$). The OIT of RB seed oil dependence was fit using a linear mathematical model ($p < 0.05$).

The impact of amplitude on OIT is consistent for all studied oils. With the increase in amplitude, the OIT was also increasing. Longer extraction time in the case of CH and RB oils also resulted in higher OIT values. The elevated oxidative stability among oils subjected to longer US treatment was also found by Malićanin et al. [30]. Except the sample that was treated with US for 135 min, the oxidative stability parameter (which was oxidation onset temperature) was increasing gradually as the time of UAE was prolonged. The study of radish seed oil revealed that oil extracted in optimized UAE conditions was characterized by almost two times longer OIT than oil extracted in the Soxhlet procedure (72.5 min vs. 36.5 min, measured in 130 °C) [31]. Our findings were also in agreement with previous results obtained in the optimization studies for cranberry seed oil [10] and black and red currant seed oils [11].

BB oil



CH oil



RB oil

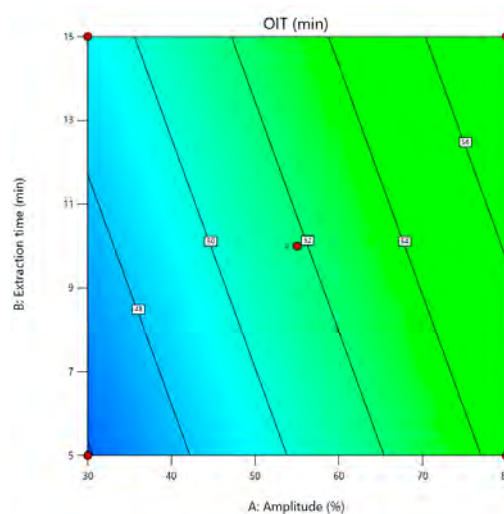
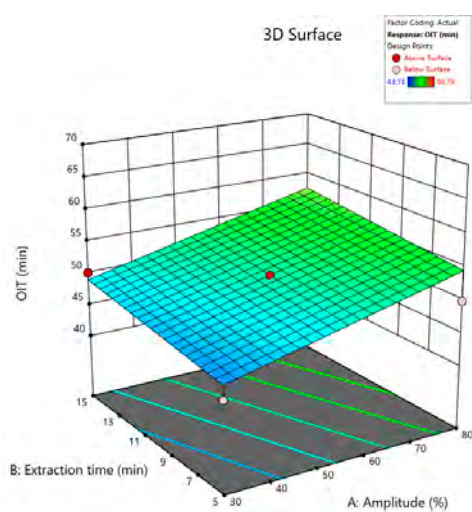


Figure 2. Three-dimensional and contour graphs showing oil oxidation induction time dependence from extraction time and ultrasound amplitude.

Table 3. Model fitting of oil oxidation induction time.

Oil	Model	R ²	CV (%)	Model <i>p</i> -Value	Model F-Value	Lack of Fit <i>p</i> -Value
BB	Quadratic	0.9412	2.99	0.0142	12.81	0.3282
CH	Quadratic	0.9067	5.02	0.0346	7.78	0.1272
RB	Linear	0.5815	8.04	0.0474	4.86	0.1355

CV—coefficient of variation.

On the contrary, in the study by Perez-Saucedo et al. [9], it was described that ultrasound treatment resulted in decreased oxidation induction time of avocado oil when compared to Soxhlet extraction. Furthermore, Böger et al. [21] described that US application significantly accelerated free radical formation during storage, which was correlated with the decreased oxidation resistance of grape seed oils obtained during UAE.

$$OIT_{BB} = 52.53 + 0.001 \cdot X_1 + 2.47 \cdot X_2 - 0.04 \cdot X_1 X_2 + 0.005 \cdot X_1^2 - 0.02 \cdot X_2^2 \quad (12)$$

$$OIT_{CH} = 11.17 + 0.87 \cdot X_1 + 1.82 \cdot X_2 + 0.005 \cdot X_1 X_2 - 0.008 \cdot X_1^2 - 0.08 \cdot X_2^2 \quad (13)$$

$$OIT_{RB} = 39.14 + 0.17 \cdot X_1 + 0.31 \cdot X_2 \quad (14)$$

3.3. Optimization of Ultrasound Oil Extraction

Based on the mathematical formulas, the optimal conditions of BB, CH, and RB oil extractions were determined. The optimization criteria were chosen in order to obtain maximum responses values. The variable conditions were set as in a range of 5–15 min extraction time and 20–100% ultrasound amplitude. One solution with appropriate desirability result was chosen for each oil extraction. The optimized conditions of UAE with actually applied conditions and predicted responses with real values measured are summarized in Table 4. The optimal conditions were adjusted to the capability of the ultrasound processor and applied in order to verify predicted values of experiment responses. It can be noted that the actual means of yield and OIT values were within maximum $\pm 5\%$ deviation from predicted results. It means that the predictions of the models were accurate and that applying RSM helps to forecast the results of the conducted experiment.

Table 4. Optimization results of ultrasound-assisted extraction of blackberry, chokeberry, and raspberry seed oils.

Oil	Optimum Ultrasound Amplitude (%)	Actual Ultrasound Amplitude Applied (%)	Optimum Extraction Time (min)	Predicted Yield (%)	Predicted OIT (min)	Yield (%)	OIT (min)
BB	72.98	70	8.20	8.05	75.05	8.10 $\pm$ 0.41	71.15 $\pm$ 3.79
CH	59.18	60	10.11	6.10	49.38	6.02 $\pm$ 0.97	48.78 $\pm$ 0.69
RB	95.57	95	8.43	7.17	58.29	6.96 $\pm$ 0.60	61.22 $\pm$ 6.65

The optimization of UAE of oil from BB, CH, or RB seeds was not discussed widely so far. Matei et al. [32] studied the UAE of blackberry seed oil optimization. In the cited paper, ultrasound intensity, and extraction temperature and time were variables and extraction efficiency was a response. Researchers used n-hexane as a solvent in a 1/20 solid/liquid ratio. Based on the experiments, 13.77 W/cm², 45 °C, and 15 min were chosen as optimum ultrasound intensity, extraction temperature and time, respectively. Regarding the optimum time of extraction, in the following study, shorter extraction time was enough to achieve maximized response values for BB seed oil. Teng et al. [33] optimized the ethanolic UAE of RB seed oil. The independent variables in their study were sonication time (10–50 min) and extraction temperature (30–70 °C), while one of the responses was extraction yield. The optimum conditions were described as 37 min extraction time in 54 °C temperature, which resulted in 22.78 $\pm$ 0.27% extraction yield. Since the range of extraction time variable

differed from the extraction time values applied in the following study, the comparison is not exactly possible. However, it could be concluded that Teng et al. [33] reached very high extraction yield for RB seed oil, but it required longer sonication. Studies on optimization of UAE from other berry seeds were also carried out. Isopencu et al. [34] described the UAE of sea buckthorn seed oil. The maximum extraction efficiency was reached while applying ultrasound intensity of 13.77 W/cm^2 , temperature of 40°C , and time of 10 min. For the cranberry seed oil, 95% ultrasound amplitude and 11.38 min time were chosen as optimum conditions, which resulted in an almost 22% extraction yield and maximum induction time equal to $52.6 \pm 1.0 \text{ min}$ [10]. Generally, it could be summarized that rather higher operating conditions of ultrasound intensity or amplitude are more effective in terms of extraction yield or efficiency. By applying a higher power of ultrasound, acceptable oil yield can be reached in shorter time.

3.4. Kinetic Parameters of Oil Oxidation

Based on the oxidation onset temperatures obtained in the PDSC assay in different heating rates, regression analysis was carried out. The results are shown in Table 5. Activation energies ranged from 82.98 to 92.01 kJ/mol. In the case of all the studied seed oils, UAE resulted in slightly higher E_a values. The findings were similar to results obtained for UAE cranberry seed oil [10] and redcurrant seed oil [11]. Also, activation energy values for berry seed oils were higher than activation energies of rapeseed and sunflower oils obtained in the accelerated storage study [35]. However, similar E_a (97.43–99.94 kJ/mol) were obtained for olive oils by Farhoosh and Hoseini-Yazidi [36]. According to Adhvaryu et al. [37], E_a is correlated with the fatty acid profile of oil, and the more PUFAs are found in oil, the higher E_a values are observed. Also, bioactive compounds presence influences the E_a of oil. Oxidation rate constants in $100\text{--}140^\circ\text{C}$ ranged from 0.0018 to 0.053, with only slight differences between oils obtained in different extraction procedures. Briefly, it can be observed that extraction method does not influence the kinetic parameters of oil oxidation and that these features are mostly dependent on the source of oil.

Table 5. Regression analysis of the PDSC data, activation energies (E_a), pre-exponential factors (Z), and oxidation rate constants (k) at different temperatures for oils obtained in optimized UAE conditions (BB_US, CH_US, RB_US) and in conventional extraction (BB_C, CH_C, RB_C).

Kinetic Parameter	BB_US	BB_C	CH_US	CH_C	RB_US	RB_C
$-a$	5054	4741	4923	4914	4976	4558
b	11.961	11.230	11.776	11.746	11.659	10.817
R^2	0.9993	0.9994	0.9954	0.9883	0.9978	0.9952
E_a (kJ/mol)	92.01	86.30	89.63	89.47	90.59	82.98
Z (min^{-1})	1.71×10^{10}	3.38×10^9	1.14×10^{10}	1.07×10^{10}	8.58×10^9	1.36×10^9
k at 100°C (min^{-1})	0.0022	0.0027	0.0032	0.0032	0.0018	0.0033
k at 110°C (min^{-1})	0.0048	0.0057	0.0068	0.0067	0.0039	0.0066
k at 120°C (min^{-1})	0.010	0.011	0.014	0.014	0.0078	0.013
k at 130°C (min^{-1})	0.020	0.022	0.028	0.027	0.016	0.024
k at 140°C (min^{-1})	0.039	0.041	0.053	0.052	0.030	0.043

3.5. DSC Assessment

The BB, CH, and RB seed oils obtained in optimized ultrasound treatment conditions and control samples were subjected to detailed DSC analysis. Melting and crystallization profiles were obtained and expressed as curves with specific temperatures describing recorded peaks (Table 6). The DSC curves picturing melting profiles of oils are shown in Figure 3. It can be noted that the courses of melting curves are similar for the oils obtained from the same source. This confirms DSC as an oil authentication method [38]. In the study by Gila et al. [39], ultrasound treatment influence on olive oil quality was assessed. They also reported that US did not influence the crystallization nor melting characteristics of oils recorded by DSC. However, Rezvankhah et al. [40] found that melting

and crystallization behavior of hempseed oil was affected by US applied in the extraction process. It was discovered that UAE oil was characterized by lower melting point than the control sample obtained in Soxhlet extraction, which could be attributed to the PUFA/SFA ratio, triacylglycerol composition, or crystalline structure.

Considering detailed results in melting characteristics of BB and CH seed oils, two peaks were visible. In the case of BB seed oils, one major peak around -42°C and minor around -21°C were observed, which is in agreement with previous findings [41]. The DSC curve of CH seed oils consisted of one exothermic peak around -63°C and one endothermic at 35°C . For RB seed oils, three peaks were recorded, two endothermic at 120°C and 126°C and one exothermic, at around -40°C . Similar curves were reported by Rajaguru et al. [41] for the cold-pressed hempseed oil and by Micić et al. [41] for hexane-extracted raspberry seed oil. Any appearing differences may have been caused by changes in fatty acid profile or distribution in TAGs, as thermal events recorded during DSC in oil samples are associated with them. Low melting fractions of TAGs consist mainly of PUFAs, middle-melting TAGs consist of MUFAs and PUFAs, and control samples were subjected to detailed DSC analysis. Melting and crystallization SFA-based TAGs are not common in the vegetable oils; thus, the peaks correlated to fully saturated TAGs were not recorded in the present study [45].

Crystallization was a one-step thermal event for all studied samples. Some differences between samples of oil obtained in optimized UAE conditions and control samples were found. In the case of oils extracted using US treatment, lower crystallization temperatures than for conventionally extracted oils were observed. The differences can be contributed to the changes in degree of saturation of TAGs, fatty acid chain length, and fatty acid distribution [43]. However, Renkhan et al. [40] found that melting and crystallization behavior of hempseed oil was affected by US applied in the extraction process. The present study found UAE oil was characterized by lower crystallization temperature than the control sample obtained in Soxhlet extraction, which could be attributed to the PUFA/SFA ratio, triacylglycerol composition, or crystalline structure.

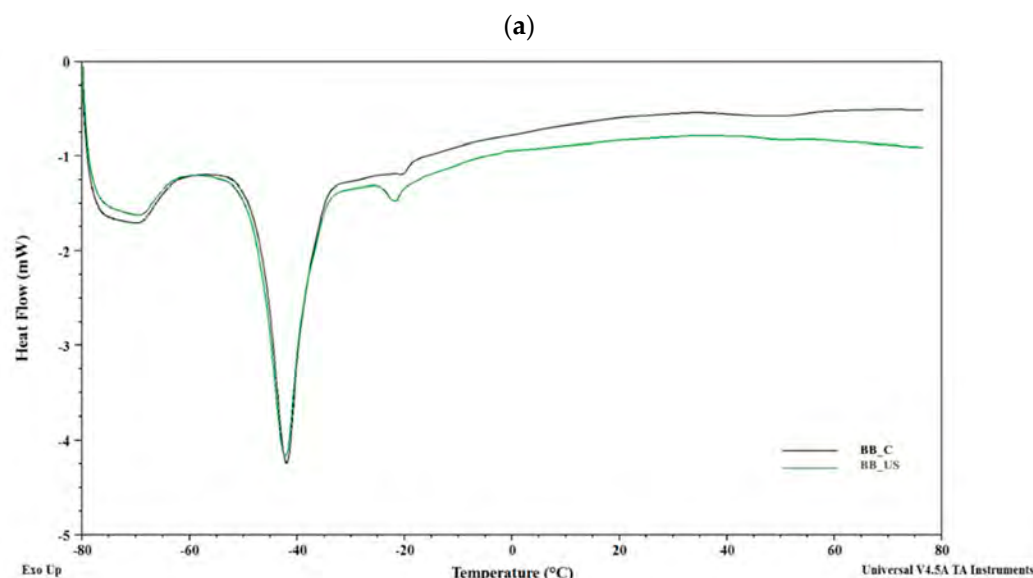


Figure 3. Cont.

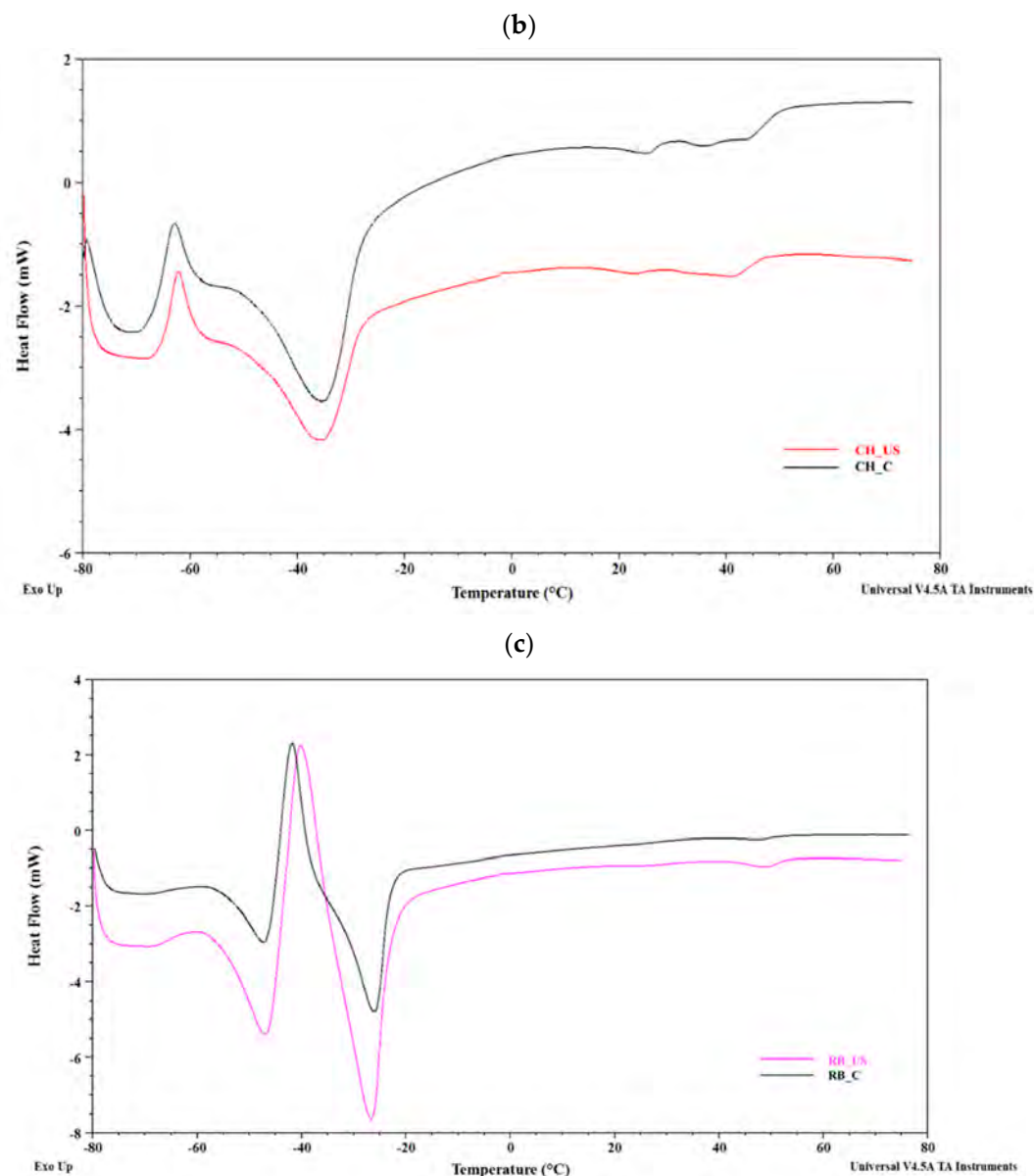


Figure 3. DSC melting curves for (a) blackberry, (b) chokeberry, (c) raspberry seed oils obtained in optimized UAE conditions and in conventional extraction.

Table 6. Melting and crystallization DSC assessment results for oils obtained in optimized UAE conditions (BB_US, CH_US, RB_US) and in conventional extraction (BB_C, CH_C, RB_C).

Oil	Melting Peak Temperature (°C)						Melting Enthalpy (J/g)						Crystallization Peak Temperature (°C)			Crystallization Enthalpy (J/g)	
	T _{m1}	T _{m1}	T _{m2}	T _{m2}	T _{m3}	T _{m3}	ΔH _{m1}	ΔH _{m1}	ΔH _{m2}	ΔH _{m2}	ΔH _{m3}	ΔH _{m3}	T _c	T _c	T _c	ΔH _c	ΔH _c
BB_US	42.2 ± 0.1 ^c	42.2 ± 0.1 ^c	21.6 ± 0.2 ^c	21.6 ± 0.2 ^c	—	—	38.7 ± 3.0 ^c	38.7 ± 3.0 ^c	1.6 ± 1.1 ^b	1.6 ± 1.1 ^b	—	—	−71.3 ± 0.8 ^b	−71.3 ± 0.8 ^b	−71.3 ± 0.8 ^b	−9.3 ± 2.4 ^b	−9.3 ± 2.4 ^b
BB_C	41.7 ± 0.2 ^c	41.7 ± 0.2 ^c	21.0 ± 0.8 ^c	21.0 ± 0.8 ^c	—	—	37.5 ± 1.5 ^c	37.5 ± 1.5 ^c	0.4 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1 ^b	—	—	−70.1 ± 0.1 ^c	−70.1 ± 0.1 ^c	−70.1 ± 0.1 ^c	−14.0 ± 0.1 ^{ab}	−14.0 ± 0.1 ^{ab}
CH_US	62.1 ± 0.2 ^a	62.1 ± 0.2 ^a	35.0 ± 0.4 ^b	35.0 ± 0.4 ^b	—	—	−5.9 ± 0.7 ^a	−5.9 ± 0.7 ^a	22.9 ± 2.6 ^c	22.9 ± 2.6 ^c	—	—	−73.6 ± 1.0 ^b	−73.6 ± 1.0 ^b	−73.6 ± 1.0 ^b	−8.6 ± 1.3 ^b	−8.6 ± 1.3 ^b
CH_C	63.9 ± 3.7 ^a	63.9 ± 3.7 ^a	35.2 ± 1.4 ^b	35.2 ± 1.4 ^b	—	—	−5.2 ± 3.5 ^a	−5.2 ± 3.5 ^a	21.2 ± 4.8 ^c	21.2 ± 4.8 ^c	—	—	−70.8 ± 0.2 ^c	−70.8 ± 0.2 ^c	−70.8 ± 0.2 ^c	−11.8 ± 3.8 ^{ab}	−11.8 ± 3.8 ^{ab}
RB_US	46.5 ± 0.4 ^b	46.5 ± 0.4 ^b	39.5 ± 0.7 ^a	39.5 ± 0.7 ^a	0.2 ± 0.5 ^b	0.2 ± 0.5 ^b	122.2 ± 0.4 ^a	122.2 ± 0.4 ^a	0.3 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.1 ^b	1.5 ± 0.3 ^a	1.5 ± 0.3 ^a	−77.2 ± 0.3 ^a	−77.2 ± 0.3 ^a	−77.2 ± 0.3 ^a	−17.8 ± 0.6 ^a	−17.8 ± 0.6 ^a
RB_C	47.0 ± 0.2 ^b	47.0 ± 0.2 ^b	41.5 ± 0.5 ^a	41.5 ± 0.5 ^a	0.2 ± 0.5 ^b	0.2 ± 0.5 ^b	121.7 ± 1.2 ^a	121.7 ± 1.2 ^a	1.2 ± 1.4 ^b	1.2 ± 1.4 ^b	0.5 ± 0.5 ^a	0.5 ± 0.5 ^a	−75.7 ± 0.1 ^a	−75.7 ± 0.1 ^a	−75.7 ± 0.1 ^a	−14.7 ± 0.6 ^{ab}	−14.7 ± 0.6 ^{ab}

Different letters in superscript and underlining indicate significantly different groups of results at $p < 0.05$.

Considering detailed results, in melting characteristics of BB and CH seed oils, two peaks were visible. In the case of BB seed oils, one major peak around −42 °C and minor around −21 °C were observed, which is in agreement with previous findings [41]. The DSC curve of CH seed oils consisted of one exothermic peak around −63 °C and one

contributed to the changes in degree of saturation of TAGs, fatty acid chains length, and fatty acid distribution in TAGs [44]. Also, oils with higher SFA content crystallize in higher temperatures [45]. In regard to the literature, the crystallization peak temperatures of RB and BB oils in the present study are lower than those reported by Rajagukguk et al. [42], Micić et al. [41], or Oomah et al. [46]. Crystallization behavior descriptions for the CH seed oil have not been found yet.

3.6. GC Analysis of Fatty Acid Profile and Distribution in sn-1,3 and sn-2 Positions in Triacylglycerols

Fatty acid profile could determine the possible application of oils. Figure 4 shows the percentage share of fatty acids in tested oils. All the tested samples presented a specific fatty acid profile for their plant oils. Major groups of detected fatty acids were PUFAs with a high fatty acid (C18:2 n6) and predominant. The fatty acid composition was similar to that of previously described oils [32,47,48].

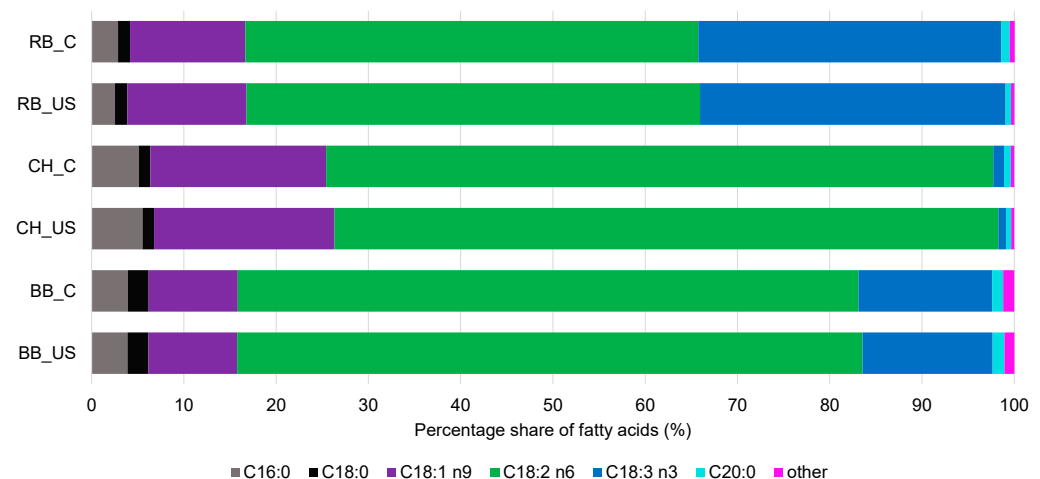


Figure 4. The percentage share of fatty acids in tested oils obtained in conventional extraction procedure (BB_C, CH_C, RB_C) and under optimized UAE conditions (BB_US, CH_US, RB_US), C16:0—palmitic acid, C18:0—stearic acid, C18:1—oleic acid, C18:2—linoleic fatty acid, C18:3— α -linolenic acid, C20:0—arachidic acid.

The percentage share of studied oils did not depend significantly on the extraction method applied. This is in agreement with previous findings by Gasparini et al. [7] and Thilakarathna et al. [49] who reported that fatty acid content may differ when different extraction methods are applied; however, the proportion of fatty acids remains stable or changes slightly, and it is a characteristic feature of oil originating from the same source.

Taking into account fatty acid distribution in TAG structure, the tendency remains similar to percentage share of fatty acids. The proportions are specific for particular oil, without significant impact of the extraction method applied. The type of TAG molecules determines its nutritional properties. The sn-2 position of TAGs in plant oils is usually occupied by unsaturated fatty acids [50], which was also confirmed for the studied oils (Figure 5). However, chokeberry seed oil was surprisingly characterized by high contribution of palmitic acid (C16:0) in the sn-2 position of TAG. The fatty acid position in TAG may affect the oxidative stability of oils, and according to Endo et al. [51], unsaturated fatty acids located in the sn-2 position contribute to improved oxidative stability of oil, which stands in agreement with our findings, as chokeberry seed oil was characterized by lower OIT than other oils.

(Figure 5). However, chokeberry seed oil was surprisingly characterized by high contribution of palmitic acid (C16:0) in the sn-2 position of TAG. The fatty acid position in TAG may affect the oxidative stability of oils, and according to Endo et al. [51], unsaturated fatty acids located in the sn-2 position contribute to improved oxidative stability of oil, which stands in agreement with our findings, as chokeberry seed oil was characterized by lower OIT than other oils.

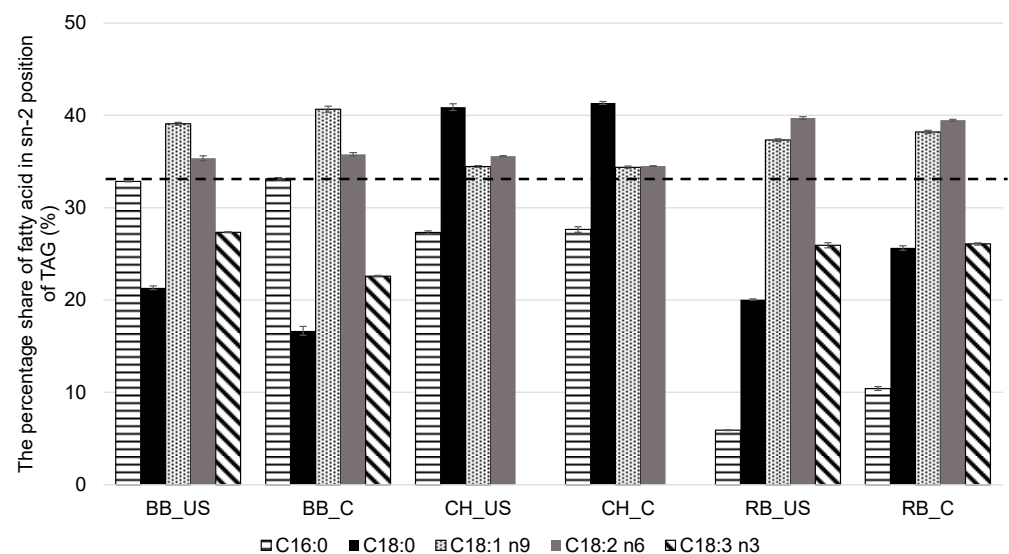


Figure 5. The percentage share of fatty acids in the sn-2 position of triacylglycerols in tested oils obtained under optimized UAE conditions (BB_US, CH_US, RB_US) and in conventional extraction (BB_C, CH_C, RB_C). The dashed line indicates the constant share of fatty acid occupying the sn-2 position assuming the equilibrium of all positions in the triacylglycerol molecule.

4.4 Conclusions

The present work reveals great potential of ultrasound application in waste management and food processing industries. Ultrasound-assisted extraction is not only a faster and more sustainable method of oil extraction compared to the conventional process, but it also results in a product with improved oxidative stability. The response surface methodology turns out to be useful in optimizing parameters of ultrasound-assisted extraction of oil from blackberry, chokeberry, and raspberry seeds. As a result of the process carried out in optimized conditions, oil with relatively high yield (6.02–8.10%) and long oxidation induction time (48.78–71.15 min) is extracted. All that proves that ultrasound significantly affects mass transfer from solid to liquid medium; thus, yield and bioactive compound recovery, which prevent oil from oxidation, can be maximized. Apart from that, ultrasound does not have any adverse effect on the studied parameters of oils, like kinetic parameters, melting and crystallization characteristics, fatty acid profile and distribution in triacylglycerols. The studies on the topic should be continued in order to deepen the knowledge of specific mechanisms controlling the ultrasound-assisted process and to determine the way in which it influences the quality of products obtained.

Author Contributions: Conceptualization, I.P., A.G. and A.W.; methodology, I.P.; software, I.P. and R.B.; validation, I.P.; formal analysis, I.P.; investigation, I.P.; resources, I.P.; data curation, I.P.; writing—original draft preparation, I.P.; writing—review and editing, A.G.; visualization, I.P. and R.B.; supervision, A.G.; project administration, A.G.; funding acquisition, A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Some research equipment was purchased as part of the “Food and Nutrition Centre—modernisation of the WULS campus to create a Food and Nutrition Research and Development Centre (CŻiŻ)” co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund under the Regional Operational Programme of the Mazowieckie Voivodeship for 2014–2020 (Project No. RPMA.01.01.00-14-8276/17).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data presented in the following study are available on reasonable request from the corresponding author.

Acknowledgments: Authors acknowledge Justyna Wójcik-Seliga from Cultivar Testing, Nursery and Gene Bank Resources Department, Institute of Horticulture National Research Institute in Skierniewice, Poland for providing Rubus var. Brzezina fruits cultivated from the gene bank collection in Dabrowice, Poland and Sandra Czarnecka for help in carrying out the analyses and technical support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Diez-Sánchez, E.; Quiles, A.; Hernando, I. Use of Berry Pomace to Design Functional Foods. *Food Rev. Int.* **2023**, *39*, 3204–3224. [\[CrossRef\]](#)
2. Pecyna, A.; Krzywicka, M.; Blicharz-Kania, A.; Buczaj, A.; Kobus, Z.; Zdybel, B.; Domin, M.; Siłuch, D. Impact of Incorporating Two Types of Dried Raspberry Pomace into Gluten-Free Bread on Its Nutritional and Antioxidant Characteristics. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 1561. [\[CrossRef\]](#)
3. Saracila, M.; Untea, A.E.; Oancea, A.G.; Varzaru, I.; Vlaicu, P.A. Comparative Analysis of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) Fruit, Leaves, and Pomace for Their Phytochemical Composition, Antioxidant Potential, and Polyphenol Bioaccessibility. *Foods* **2024**, *13*, 1856. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Čechovičienė, I.; Šlepetienė, A.; Gumbytė, M.; Paulauskienė, A.; Tarasevičienė, Ž. Composition and Physicochemical Properties of Pomace of Various Cultivars of Blackberry (*Rubus fruticosus* L.). *Horticulturae* **2023**, *10*, 38. [\[CrossRef\]](#)
5. Piasecka, I.; Wiktor, A.; Górka, A. Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 1734. [\[CrossRef\]](#)
6. Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A.G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A.S.; Abert-Vian, M. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review. *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *34*, 540–560. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Gasparini, A.; Ferrentino, G.; Angeli, L.; Morozova, K.; Zatelli, D.; Scampicchio, M. Ultrasound Assisted Extraction of Oils from Apple Seeds: A Comparative Study with Supercritical Fluid and Conventional Solvent Extraction. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2023**, *86*, 103370. [\[CrossRef\]](#)
8. Milanović, J.; Malićanin, M.; Rakić, V.; Jevremović, N.; Karabegović, I.; Danilović, B. Valorization of Winery Waste: Prokupac Grape Seed as a Source of Nutritionally Valuable Oil. *Agronomy* **2021**, *11*, 1864. [\[CrossRef\]](#)
9. Pérez-Saucedo, M.R.; Jiménez-Ruiz, E.I.; Rodríguez-Carpena, J.G.; Ragazzo-Sánchez, J.A.; Ulloa, J.A.; Ramírez-Ramírez, J.C.; Gastón-Peña, C.R.; Bautista-Rosales, P.U. Properties of the Avocado Oil Extracted Using Centrifugation and Ultrasound-Assisted Methods. *Food Sci. Biotechnol.* **2021**, *30*, 1051–1061. [\[CrossRef\]](#)
10. Piasecka, I.; Brzezińska, R.; Ostrowska-Ligeza, E.; Wiktor, A.; Górka, A. Ultrasound-Assisted Extraction of Cranberry Seed Oil: Food Waste Valorization Approach. *Eur. Food Res. Technol.* **2023**, *249*, 2763–2775. [\[CrossRef\]](#)
11. Piasecka, I.; Brzezińska, R.; Kalisz, S.; Wiktor, A.; Górka, A. Recovery of Antioxidants and Oils from Blackcurrant and Redcurrant Wastes by Ultrasound-Assisted Extraction. *Food Biosci.* **2024**, *57*, 103511. [\[CrossRef\]](#)
12. Ni, Q.; Gao, Q.; Yu, W.; Liu, X.; Xu, G.; Zhang, Y. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Oils from Two *Torreya Grandis* Varieties Seeds and Their Physicochemical and Antioxidant Properties. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *60*, 1226–1234. [\[CrossRef\]](#)
13. Bryś, J.; Wirkowska, M.; Górka, A.; Ostrowska-Ligeza, E.; Bryś, A.; Koczko, P. The Use of DSC and FT-IR Spectroscopy for Evaluation of Oxidative Stability of Interesterified Fats. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2013**, *112*, 481–487. [\[CrossRef\]](#)
14. Wirkowska-Wojdyła, M.; Bryś, J.; Górka, A.; Ostrowska-Ligeza, E. Effect of Enzymatic Interesterification on Physicochemical and Thermal Properties of Fat Used in Cookies. *LWT* **2016**, *74*, 99–105. [\[CrossRef\]](#)
15. Piasecka, I.; Górka, A.; Ostrowska-Ligeza, E.; Kalisz, S. The Study of Thermal Properties of Blackberry, Chokeberry and Raspberry Seeds and Oils. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 7704. [\[CrossRef\]](#)
16. Embaby, H.E.; Miyakawa, T.; Hachimura, S.; Muramatsu, T.; Nara, M.; Tanokura, M. Crystallization and Melting Properties Studied by DSC and FTIR Spectroscopy of Goldenberry (*Physalis peruviana*) Oil. *Food Chem* **2022**, *366*, 130645. [\[CrossRef\]](#)
17. PN-EN ISO: 5509:2001; Animal and Vegetable Fats and Oils. Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids. Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2001.
18. Bryś, J.; Flores Lnês, F.V.; Górka, A.; Wirkowska-Wojdyła, M.; Ostrowska-Ligeza, E.; Bryś, A. Use of GC and PDSC Methods to Characterize Human Milk Fat Substitutes Obtained from Lard and Milk Thistle Oil Mixtures. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2017**, *130*, 319–327. [\[CrossRef\]](#)
19. Pina-Rodríguez, A.M.; Akoh, C.C. Enrichment of Amaranth Oil with Ethyl Palmitate at the Sn-2 Position by Chemical and Enzymatic Synthesis. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 4657–4662. [\[CrossRef\]](#)
20. Dash, D.R.; Pathak, S.S.; Pradhan, R.C. Extraction of Oil from Terminalia Chebula Kernel by Using Ultrasound Technology: Influence of Process Parameters on Extraction Kinetics. *Ind. Crops Prod.* **2021**, *171*, 113893. [\[CrossRef\]](#)
21. Böger, B.R.; Salviato, A.; Valezi, D.F.; Di Mauro, E.; Georgetti, S.R.; Kurozawa, L.E. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Grape-Seed Oil to Enhance Process Yield and Minimize Free Radical Formation. *J. Sci. Food Agric.* **2018**, *98*, 5019–5026. [\[CrossRef\]](#)

22. Wong, S.T.; Tan, M.C.; Geow, C.H. Optimization of Ultrasound-Assisted Ethanol Extraction of Hazelnut Oil. *J. Food Process. Preserv.* **2019**, *43*, e14138. [\[CrossRef\]](#)
23. Sanwal, N.; Mishra, S.; Sahu, J.K.; Naik, S.N. Effect of Ultrasound-Assisted Extraction on Efficiency, Antioxidant Activity, and Physicochemical Properties of Sea Buckthorn (*Hippophae salicifolia*) Seed Oil. *LWT* **2022**, *153*, 112386. [\[CrossRef\]](#)
24. Senrayan, J.; Venkatachalam, S. Optimization of Ultrasound-Assisted Solvent Extraction (UASE) Based on Oil Yield, Antioxidant Activity and Evaluation of Fatty Acid Composition and Thermal Stability of *Coriandrum sativum* L. Seed Oil. *Food Sci. Biotechnol.* **2019**, *28*, 377–386. [\[CrossRef\]](#)
25. Ciemniewska-Żytikiewicz, H.; Ratusz, K.; Bryś, J.; Reder, M.; Koczoń, P. Determination of the Oxidative Stability of Hazelnut Oils by PDSC and Rancimat Methods. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2014**, *118*, 875–881. [\[CrossRef\]](#)
26. Symoniuk, E.; Ratusz, K.; Ostrowska-Ligeza, E.; Krygier, K. Impact of Selected Chemical Characteristics of Cold-Pressed Oils on Their Oxidative Stability Determined Using the Rancimat and Pressure Differential Scanning Calorimetry Method. *Food Anal. Methods* **2018**, *11*, 1095–1104. [\[CrossRef\]](#)
27. Mushtaq, A.; Roobab, U.; Denoya, G.I.; Inam-Ur-Raheem, M.; Gullón, B.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Zeng, X.A.; Wali, A.; Aadil, R.M. Advances in Green Processing of Seed Oils Using Ultrasound-Assisted Extraction: A Review. *J. Food Process. Preserv.* **2020**, *44*, e14740. [\[CrossRef\]](#)
28. Thilakarathna, R.C.N.; Siow, L.F.; Tang, T.K.; Lee, Y.Y. A Review on Application of Ultrasound and Ultrasound Assisted Technology for Seed Oil Extraction. *J. Food Sci. Technol.* **2022**, *60*, 1222–1236. [\[CrossRef\]](#)
29. Wanasundara, P.K.J.P.D.; Shahidi, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2005.
30. Malićanin, M.; Rac, V.; Antić, V.; Antić, M.; Palade, L.M.; Kefalas, P.; Rakić, V. Content of Antioxidants, Antioxidant Capacity and Oxidative Stability of Grape Seed Oil Obtained by Ultra Sound Assisted Extraction. *JAOCS J. Am. Oil Chem. Soc.* **2014**, *91*, 989–999. [\[CrossRef\]](#)
31. Stevanato, N.; da Silva, C. Radish Seed Oil: Ultrasound-Assisted Extraction Using Ethanol as Solvent and Assessment of Its Potential for Ester Production. *Ind. Crops Prod.* **2019**, *132*, 283–291. [\[CrossRef\]](#)
32. Matei, P.L.; Deleanu, I.; Brezoiu, A.M.; Chira, N.A.; Busuioc, C.; Isopencu, G.; Cîlțea-Udrescu, M.; Alexandrescu, E.; Stoica-Guzun, A. Ultrasound-Assisted Extraction of Blackberry Seed Oil: Optimization and Oil Characterization. *Molecules* **2023**, *28*, 2486. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Teng, H.; Chen, L.; Huang, Q.; Wang, J.; Lin, Q.; Liu, M.; Lee, W.Y.; Song, H. Ultrasonic-Assisted Extraction of Raspberry Seed Oil and Evaluation of Its Physicochemical Properties, Fatty Acid Compositions and Antioxidant Activities. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0153457. [\[CrossRef\]](#)
34. Isopencu, G.; Stroescu, M.; Brosteanu, A.; Chira, N.; Pârvulescu, O.C.; Busuioc, C.; Stoica-Guzun, A. Optimization of Ultrasound and Microwave Assisted Oil Extraction from Sea Buckthorn Seeds by Response Surface Methodology. *J. Food Process. Eng.* **2019**, *42*, e12947. [\[CrossRef\]](#)
35. Amft, J.; Meissner, P.M.; Steffen-Heins, A.; Hasler, M.; Stöckmann, H.; Meynier, A.; Birault, L.; Velasco, J.; Vermoesen, A.; Perez-Portabella, I.; et al. Interlaboratory Study on Lipid Oxidation during Accelerated Storage Trials with Rapeseed and Sunflower Oil Analyzed by Conjugated Dienes as Primary Oxidation Products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2023**, *125*, 2300067. [\[CrossRef\]](#)
36. Farhoosh, R.; Hoseini-Yazdi, S.Z. Evolution of Oxidative Values during Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in the Rancimat Test. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2014**, *91*, 281–293. [\[CrossRef\]](#)
37. Adhvaryu, A.; Erhan, S.Z.; Liu, Z.S.; Perez, J.M. Oxidation Kinetic Studies of Oils Derived from Unmodified and Genetically Modified Vegetables Using Pressurized Differential Scanning Calorimetry and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Thermochim. Acta* **2000**, *364*, 87–97. [\[CrossRef\]](#)
38. Islam, M.; Bełkowska, L.; Konieczny, P.; Fornal, E.; Tomaszewska-Gras, J. Differential Scanning Calorimetry for Authentication of Edible Fats and Oils—What Can We Learn from the Past to Face the Current Challenges? *J. Food Drug Anal.* **2022**, *30*, 185–201. [\[CrossRef\]](#)
39. Gila, A.; Sánchez-Ortiz, A.; Jiménez, A.; Beltrán, G. The Ultrasound Application Does Not Affect to the Thermal Properties and Chemical Composition of Virgin Olive Oils. *Ultrason. Sonochem.* **2021**, *70*, 105320. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Rezvankhah, A.; Emam-Djomeh, Z.; Safari, M.; Askari, G.; Salami, M. Investigation on the Extraction Yield, Quality, and Thermal Properties of Hempseed Oil during Ultrasound-Assisted Extraction: A Comparative Study. *J. Food Process. Preserv.* **2018**, *42*, e13766. [\[CrossRef\]](#)
41. Micić, D.M.; Ostojić, S.B.; Simonović, M.B.; Pezo, L.L.; Simonović, B.R. Thermal Behavior of Raspberry and Blackberry Seed Flours and Oils. *Thermochim. Acta* **2015**, *617*, 21–27. [\[CrossRef\]](#)
42. Rajagukguk, Y.V.; Islam, M.; Tomaszewska-Gras, J. Influence of Seeds' Age and Clarification of Cold-Pressed Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Oil on the DSC Oxidative Stability and Phase Transition Profiles. *Foods* **2023**, *12*, 358. [\[CrossRef\]](#)
43. Dahimi, O.; Rahim, A.A.; Abdulkarim, S.M.; Hassan, M.S.; Hashari, S.B.T.Z.; Siti Mashitoh, A.; Saadi, S. Multivariate Statistical Analysis Treatment of DSC Thermal Properties for Animal Fat Adulteration. *Food Chem.* **2014**, *158*, 132–138. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Marikkar, J.M.N.; Ghazali, H.M.; Che Man, Y.B.; Lai, O.M. The Use of Cooling and Heating Thermograms for Monitoring of Tallow, Lard and Chicken Fat Adulterations in Canola Oil. *Food Res. Int.* **2002**, *35*, 1007–1014. [\[CrossRef\]](#)

45. Tan, C.X.; Chong, G.H.; Hamzah, H.; Ghazali, H.M. Comparison of Subcritical CO₂ and Ultrasound-Assisted Aqueous Methods with the Conventional Solvent Method in the Extraction of Avocado Oil. *J. Supercrit. Fluids* **2018**, *135*, 45–51. [[CrossRef](#)]
46. Oomah, B.D.; Ladet, S.; Godfrey, D.V.; Liang, J.; Girard, B. Characteristics of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Seed Oil. *Food Chem.* **2000**, *69*, 187–193. [[CrossRef](#)]
47. Mildner-Szkudlarz, S.; Róžańska, M.; Siger, A.; Kowalczewski, P.L.; Rudzińska, M. Changes in Chemical Composition and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils Obtained from by-Product Roasted Berry Seeds. *LWT* **2019**, *111*, 541–547. [[CrossRef](#)]
48. Ispiryan, A.; Bobinaite, R.; Urbonaviciene, D.; Sermuksnyte-Alesiuniene, K.; Viskelis, P.; Miceikiene, A.; Viskelis, J. Physico-Chemical Properties, Fatty Acids Profile, and Economic Properties of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Seed Oil, Extracted in Various Ways. *Plants* **2023**, *12*, 2706. [[CrossRef](#)]
49. Thilakarathna, R.C.N.; Siow, L.F.; Tang, T.K.; Chan, E.S.; Lee, Y.Y. Physicochemical and Antioxidative Properties of Ultrasound-Assisted Extraction of Mahua (*Madhuca longifolia*) Seed Oil in Comparison with Conventional Soxhlet and Mechanical Extractions. *Ultrason. Sonochem.* **2023**, *92*, 106280. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Fabritius, M.; Linderborg, K.M.; Tarvainen, M.; Kalpio, M.; Zhang, Y.; Yang, B. Direct Inlet Negative Ion Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometric Analysis of Triacylglycerol Regioisomers in Human Milk and Infant Formulas. *Food Chem.* **2020**, *328*, 126991. [[CrossRef](#)]
51. Endo, Y.; Hoshizaki, S.; Fujimoto, K. Oxidation of Synthetic Triacylglycerols Containing Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids: Effect of Oxidation System and Triacylglycerol Structure. *JAOCs J. Am. Oil Chem. Soc.* **1997**, *74*, 1041–1045. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds

Iga Piasecka¹ · Ewa Ostrowska-Ligęza¹ · Artur Wiktor² · Agata Górka¹

Received: 29 November 2023 / Accepted: 15 April 2024
© The Author(s) 2024

Abstract

The seeds of berry fruits which are considered as a by-product may be valorized by recovering the oil they content. Nevertheless, the conventional extraction methods are time, energy and organic solvents consuming. In order to make extraction more environmental-friendly, alternative methods, like ultrasound-assisted and pulsed electric field-assisted processes, are being developed. The procedure of extraction may however influence the quality of obtained oil. The following study aims to define the effects of ultrasound and pulsed electric field application in the extraction process on the thermal properties, i.e., oxidative stability, melting and cyclic heating/cooling profiles, thermal decomposition characteristics. Additionally, fatty acid profile assessment was included in the study. Seeds of blackberries, blackcurrants, chokeberries, raspberries and redcurrants were used to extract oil. Based on the results, it can be summarized that extraction method influenced the resistance of oils to oxidation. Ultrasound-assisted process resulted in oils with the highest oxidation induction times. Melting profile was slightly influenced by extraction method, with peak temperatures indicating the presence of low-melting and middle-melting triacylglycerol fractions. Differential scanning calorimetry with heat/cool/heat procedure let determine crystallization peak temperatures around $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, which could be associated with the specific triacylglycerol profile of berry seed oils. The courses of thermogravimetric analysis curves were comparable for all the tested samples. The fatty acid profile study revealed that all the studied thermal properties were affected by the unique fatty acid percentage share, with a great predominance of polyunsaturated fatty acids. Obtained results allowed to conclude that extraction method influenced oxidative stability, thermal properties and fatty acid profile only to some extent. The most promising extraction method among analyzed seems to be ultrasound-assisted extraction as it provided oil with high oxidative stability, typical thermal properties and unchanged fatty acid profile, without being harmful to natural environment due to possible reduction in solvent and time consumption.

Keywords Ultrasound-assisted extraction · Pulsed electric field · Thermal properties · Oils · Waste management

Introduction

Fruit-derived seeds which are considered as a by-product in fruit industry can be reused in order to fulfill circular economy principles. The berry fruit seeds are rich in fat

with unique composition and thermal behavior [1–3]. The possible methods of obtaining oil include conventional practices, such as cold-pressing or classical solid/liquid extraction. Nevertheless, the conditions of aforementioned processes may influence oil properties and natural environment negatively.

Alternative extraction methods are considered as beneficial for the natural environment due to limited energy consumption and decreased organic solvent usage comparing to conventional extraction methods. The extraction methods classified as alternative are those assisted by ultrasound (US), microwave, pulsed electric field (PEF), enzymes and also supercritical fluid or pressurized liquid extraction techniques. Despite the economic and environmental advantages, the extracts obtained in the alternative processes may present

✉ Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

¹ Department of Chemistry, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159C Nowoursynowska Street, 02-776 Warsaw, Poland

² Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, 159C Nowoursynowska Street, 02-776 Warsaw, Poland

unique properties. Oil obtained throughout non-conventional extraction can be characterized by higher content of bioactive compounds, i.e., sterols, fat soluble vitamins [4–6].

To assess the detailed characteristics of oil obtained in different extraction procedures, thermal properties studies appear to be applicable. Thilakarathna et al. [7] described melting and crystallization behavior assessed in differential scanning calorimetry study of mahua seed oil extracted applying US-assisted process, cold-pressing and Soxhlet apparatus. The differences between thermal characteristics of oils were slight however noticeable. Additional studies revealed that eventual changes may occur due to differences in chemical composition of extracted oils, such as waxes presence or triacylglycerol (TAG) structure. Capar et al. [6] studied thermal behavior of cranberry seed oil extracted using different methods (applying US, microwave and Soxhlet apparatus). The differences in obtained results were explained by slightly different saturation level of oils and TAG composition. Based on those studies, it may be concluded that DSC study which recorded the behavior of oil subjected to heating or cooling may be a useful tool to present the extraction effect on the events occurring in oils subjected to temperature changes. Another study—pressure differential scanning calorimetry (PDSC)—is an accelerated oxidative stability test and was also used to evaluate extraction method impact on oil properties. For example, Bryś et al. [8] used PDSC to compare extraction method influence on pomegranate seed oil oxidative stability. It was concluded that extraction method significantly affected oxidation induction time (OIT) of pomegranate seed oil. Thermogravimetric analysis (TG) which demonstrates mass loss in the sample during gradual temperature increase in the controlled atmosphere can be also used to monitor changes in the material depending on extraction method. Santos et al. [9] compared supercritical CO₂ and solid–liquid extraction of sapucaia oil considering TG results. The visible differences were obtained in terms of stability of oil in air atmosphere and gradually increasing temperature.

There is limited data available about novel techniques like PEF or ultrasound influence on the thermal properties of oils obtained from berry seeds. The results obtained in the present study could help explain the consequences of alternative extraction method application on the quality of product. With that knowledge it could be possible to apply more sustainable extraction methods on the larger scale and specify the usage of such oils. The main objective of the following study was to assess the influence of the extraction methods, such as ultrasound-assisted, PEF-assisted and solid–liquid processes on the thermal properties and fatty acid profile of blackberry, blackcurrant, chokeberry, raspberry and redcurrant seed oils. Accordingly, differential scanning calorimetry (DSC) study was carried out to visualize melting characteristics and behavior in the heat–cool–heat cycle.

Also, PDSC analysis was conducted in order to determine oxidation induction time, and therefore, the resistance of oils to oxidation in controlled conditions. TG analysis was performed to specify stability of oil and mass losses pattern in progressive heating conditions. Additionally, gas chromatography (GC) study was conducted to combine the results with fatty acid profile of berry seed oils.

Experimental

Material

Fresh fruit of berries: blackcurrant (*Ribes nigrum* var. Ruben) and redcurrant (*Ribes rubrum* var. Jonkheer van Tets) were purchased from PPH Fructodor Sp. z o. o., Bolimow, Poland. Raspberry (*Rubus idaeus* var. Polana) and chokeberry (*Aronia melanocarpa* var. Nero) were kindly given by local farmers from Pulawy, Poland. Blackberry (*Rubus fruticosus* var. Brzezina) was kindly supplied by Institute of Horticulture-National Research Institute in Skierniewice, Poland and fruit came from *Rubus* collection conducted as part of the targeted task of the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development—ex situ conservation of genetic resources of horticultural plants. The fruits were kept frozen and then defrosted in the room temperature right before the juice pressing. Approximately 10 kg of fruits were used to press juice in the hydraulic press (HPL 14, Bucher Unipektin, Niederweningen, Switzerland), applying maximum 3 Bar pressure. Pomace left after juice pressing was then dried in the laboratory convective dryer at the temperature of 45 °C and with the air flow of 1.5 m s⁻¹. Dried material was subjected to water activity measurement at 25 ± 0.3 °C using Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic AG, Bassersdorf, Switzerland) hygrometer. The water activity of all samples was under 0.4. The seeds were separated from the pomace using sieves.

Ultrasound-assisted extraction

Ultrasound-assisted extraction (UAE) process was carried out according to the previously described methodology [10] in the UP400S ultrasound processor (Hielscher Ultrasonics GmbH, Tetlow, Germany) with the output power of 400 W. Seeds (2 g) milled using tube mill (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen im Breisgau, Germany) in 20,000 rpm in 30 s time were placed in the falcon tube and filled with extracting medium-*n*-hexane (99%, Chempur, Piekary Śląskie, Poland) used in solid/liquid ratio at level of 1:15 right before the extraction. To maintain the temperature under 45 °C falcon tube was placed in an ice bath and immersive thermometer was used to control the temperature of the solid-solvent mixture. The two condition options of the extraction were

chosen based on the previous studies [11–13] and they were: 50% US amplitude in 10 min time and 75% amplitude in 5 min time of treatment (Table 1). After that, extracts were filtered, dried with anhydrous magnesium sulfate and the solvent was evaporated under pressure at minimum level of 70 mbar (vacuum rotary evaporator BR-215, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland). Residual *n*-hexane was removed from oil samples under nitrogen atmosphere.

Pulsed electric field-assisted extraction

PEF pretreatment was carried out in PEFpilot™ Dual System (Elea Technology GmbH, Quakenbrück, Germany). Whole seeds (2 g) with tap water were treated with PEF applying 8 or 10 kV electrode voltage, 7 μ s pulse width, 20 Hz frequency and an adequate number of pulses to achieve energy intake of 50 kV kg^{−1} (Table 1). Then, filtered and dried in the desiccator seeds were milled in the tube mill and used in extraction conducted in Soxhlet apparatus, with 150 mL of *n*-hexane during 30 min. Obtained extracts were cooled down, dried with anhydrous magnesium sulfate and subjected to the evaporation and *n*-hexane removal as described for UAE procedure.

Solid–liquid extraction

Control samples (C) were prepared using solid–liquid extraction. The milled seeds were placed in falcon tubes and mixed with *n*-hexane in a solid–liquid ratio 1/15 (m/v) and stirred in a water bath for 2 h at temperature of 40 °C. Then samples were filtered, dried and evaporated following the UAE and PEF procedures.

Pressure differential scanning calorimetry

Oxidative stability of oils was determined in PDSC study conducted using a DSC Q20 TA Instrument (TA Instruments, New Castle, DE, USA). Conditions were as follows:

oxygen atmosphere with an initial pressure of 1400 kPa and with the 100 mL min^{−1} oxygen flow rate, temperature – 120 °C. Oxidation induction time was calculated based on the maximum heat flow rate as the point of maximum deviation from the linear baseline on plots interpreted using TA Universal Analysis 2000 software. For each sample, the output was automatically recalculated and presented as the amount of energy per 1 g [14].

Differential scanning calorimetry

DSC studies were carried out with a Q200 DSC equipment (TA Instruments, New Castle, DE, USA) calibrated with high-purity indium. Melting characteristics was determined by the following procedure: samples of 3–4 mg of oil were heated to 80 °C and held for 10 min, in order to melt all the crystals and to erase any thermal memory. After that the samples were cooled to – 80 °C at 10 °C min^{−1} cooling rate and maintained at – 80 °C for 30 min. Then, the melting profiles were obtained by heating the samples to 80 °C at a heating rate of 15 °C min^{−1}. Additionally, the heat/cool/heat procedure was employed to determine thermal behavior of oils in moderate temperature. Samples (3–4 mg) were heated from ambient temperature to 60 °C, cooled to – 60 °C and heated again to 60 °C. The heating/cooling rate was 10 °C min^{−1}.

Thermogravimetric analysis

The thermogravimetric analysis of oils was performed using Discovery TGA thermogravimetric analyzer (TA Instruments, New Castle, DE, USA) according to the previously published methodology [15] with slight modification. Oil samples (7–8 mg) were placed in the platinum pans. The oxygen atmosphere at a flow rate equal to 10 mL min^{−1} at atmospheric pressure and in a temperature range of 50–1000 °C with a constant rate of heating set as 10 °C min^{−1} were used. TG curves illustrating temperature

Table 1 Conditions of the oil extraction experimental part

Ultrasound treatment conditions		
Sample	Amplitude/%	Sonication time/min
US50/10	50	10
US75/5	75	5
Pulsed electric field treatment conditions		
Sample	Voltage/kV	Energy intake/kV kg ^{−1}
PEFI	10	50
PEFII	8	50

influence on mass loss were used to calculate first derivative (DTG) of a function in the Discovery software (TA Instruments, New Castle, DE, USA). Besides thermal decomposition characteristics, onset temperature (T_{on}) of oxidation in the heating rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ was determined according to the Li et al. [16] method.

Gas chromatography

The fatty acid profile was assessed in a gas chromatography study. The oil samples were derivatized to methyl esters by mixing with hexane and methanolic potassium hydroxide [17]. Then, using the YL6100 GC apparatus (Young Lin Instrument Co., Ltd., Anyang, Republic of Korea) fitted with a flame ionization detector and a 60-m-long BPX 70 capillary column (SGE Analytical Science, Milton Keynes, UK), the obtained fatty acid methyl esters (FAME) were examined. The nitrogen was used as a carrier gas and split injection mode at a ratio equal to 1:50 was applied. The injector's temperature was $225\text{ }^{\circ}\text{C}$, while the detector's temperature was $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperature program of the oven was as follows: $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 0.5 min, then heated up to $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ with a $15\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ rate and increased to $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ with a heating rate of $1.1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ and kept in those conditions for 6 min, after that the sample was heated again to $225\text{ }^{\circ}\text{C}$ with heating rate of $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. The fatty acids were identified based on retention times on the chromatogram compared to the FAME mixture standard (Supelco 37 Component FAME Mix, Sigma-Aldrich, Bellefonte, USA). The results were

calculated as a percentage share of every detected fatty acid in the sample [18].

Statistical analysis

Extractions were carried out in three repetitions; all analyses were conducted in triplicate and the results were expressed as a mean $\pm$ standard deviation. ANOVA analysis of variance was conducted in the Statistica software (v. 13.3, Statsoft, Kraków, Poland) to determine the effect of extraction method on the results of experiments. Post hoc Tukey's multiple range test was carried out in order to indicate significant differences between results at a p -value of 0.05. Additionally, hierarchical cluster analysis was carried out and presented in a graphical form.

Results and discussion

Oxidation induction time

The results of pressure differential scanning calorimetry conducted at $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ are summarized on the diagram in Fig. 1 (detailed data available in Supplementary material), and the curves obtained in the PDSC study are shown in Fig. 2. It can be observed that OIT of oil depends strictly on the origin of oil. The influence of the extraction method was also noted; however, the tendency and significance differed among the studied oils. In the case of blackberry seed oil,

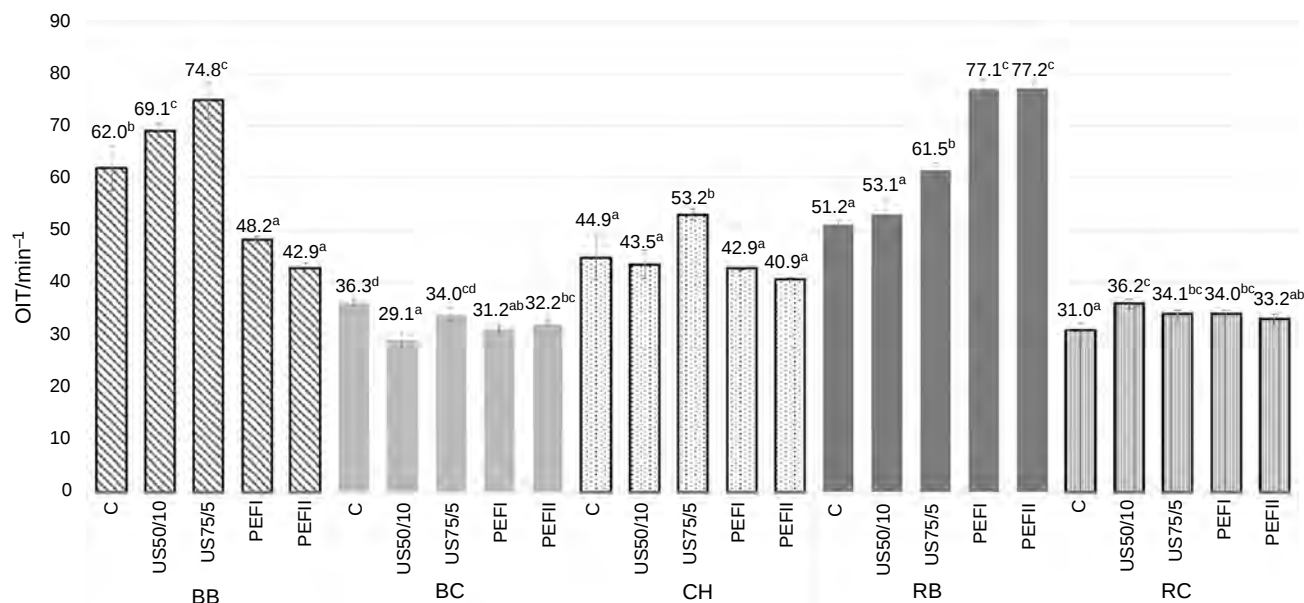


Fig. 1 Oxidation induction times of berry seed oils obtained in different extraction methods (BB blackberry, BC blackcurrant, CH chokeberry, RB raspberry, RC redcurrant). The results are given as means,

results with different letters in the superscript are significantly different ($p < 0.05$) among samples originating from one type of seeds

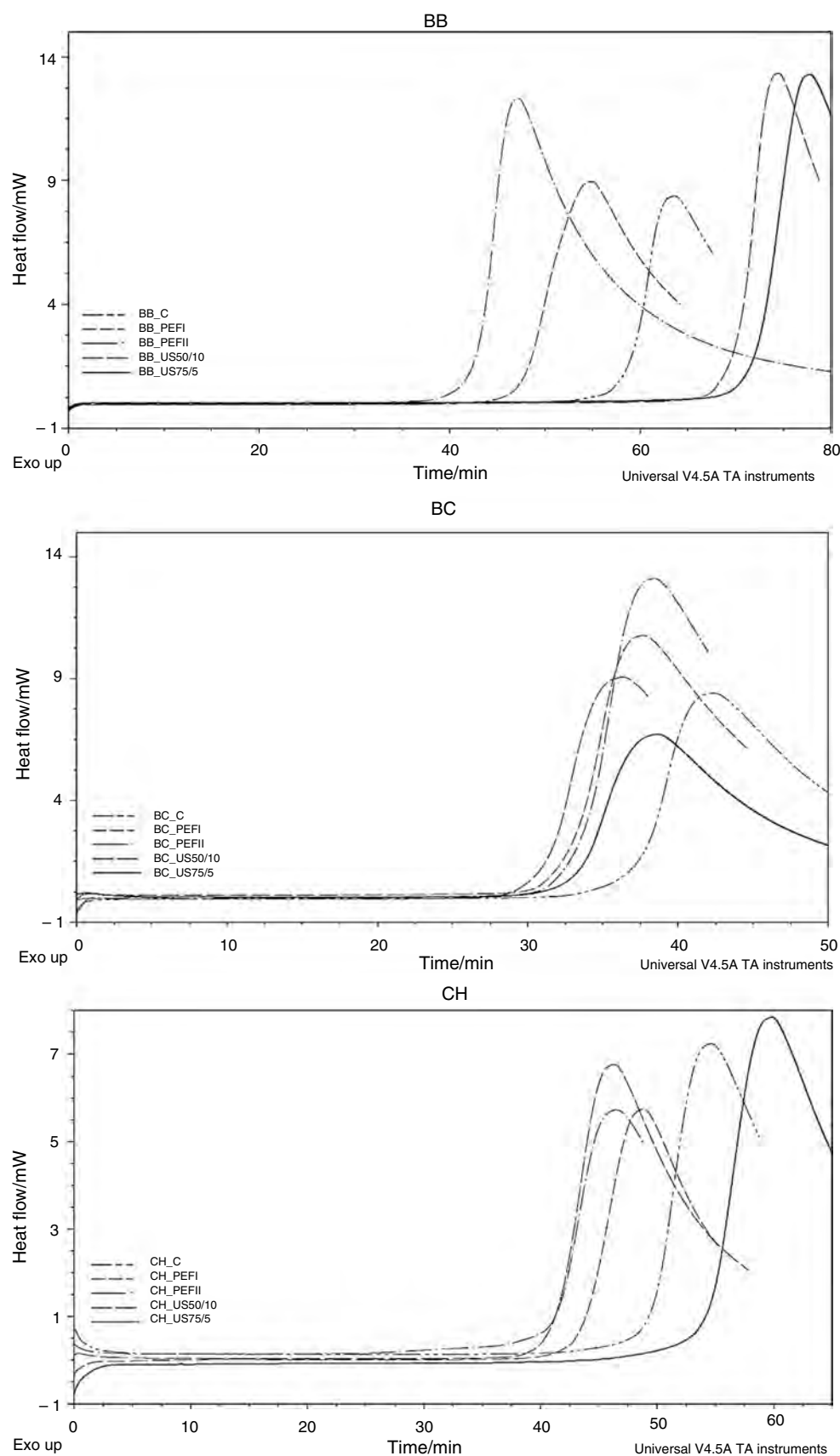


Fig. 2 PDSC curves for blackberry (BB), blackcurrant (BC), chokeberry (CH), raspberry (RB) and redcurrant (RC) seed oils, extracted using different techniques

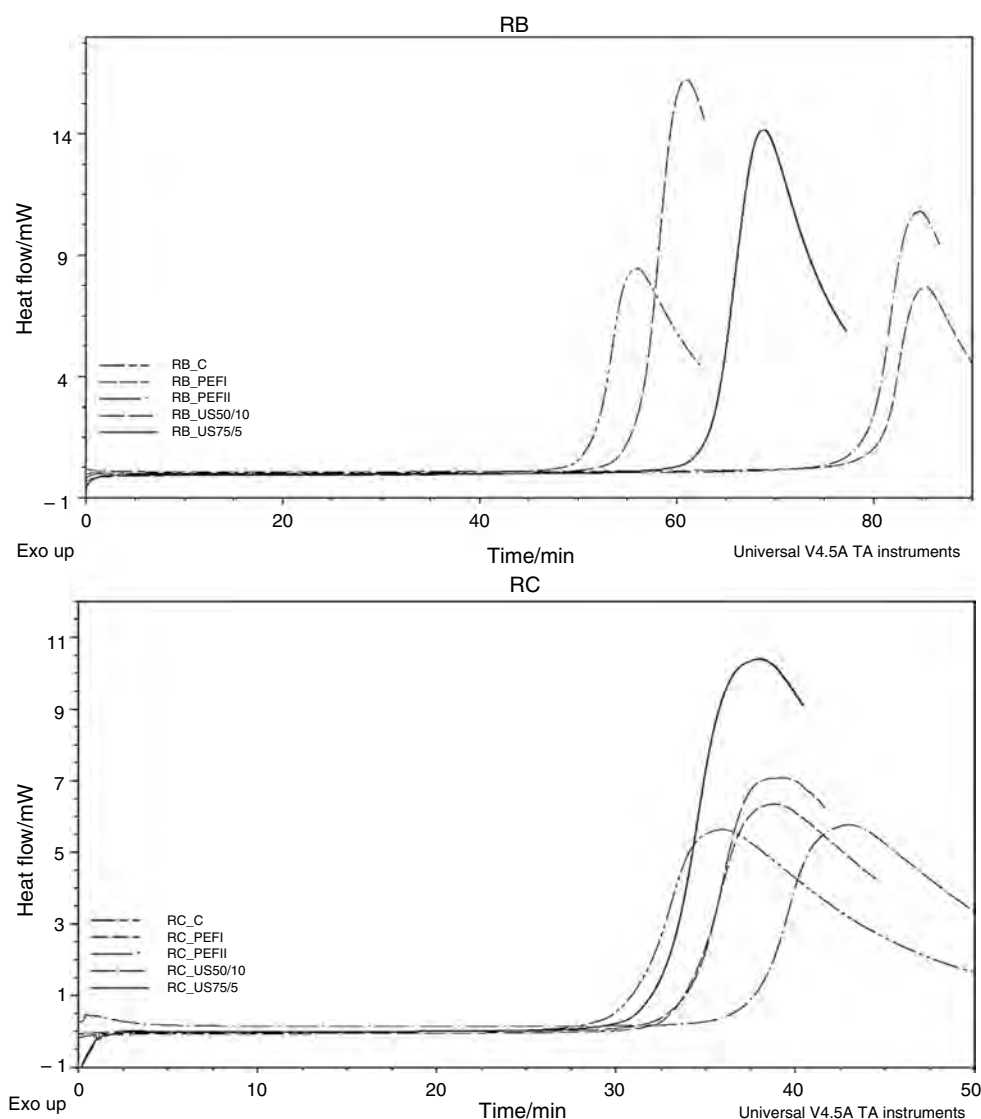


Fig. 2 (continued)

US was more effective extraction method considering OIT of oil than PEF or control. Particularly, US with amplitude 75% applied in 5 min time resulted in blackberry seed oil with the longest OIT. Blackcurrant seed oil extracted in the control conditions was characterized by higher OIT than US or PEF-extracted oils. Chokeberry seed oil extracted by applying US with 75% amplitude during 5 min presented significantly higher OIT comparing to other methods. PEF-assisted extraction resulted in raspberry seed oil with more than 1.5-fold higher OIT than control sample and also higher than US-extracted samples. Considering redcurrant seed oil, 50% amplitude of US applied in 10 min time was the most beneficial in terms of OIT. Taking into account the differences between OIT results for oils extracted in different conditions, the increased OIT may be attributed with accelerated antioxidant compounds extraction subsequently with

US or PEF-assisted extraction of oil [19, 20]. The presence of natural antioxidants, like tocopherols, polyphenols, sterols and carotenoids, may prevent oil from oxidation and thus, prolong its stability or shelf life. However, the compounds with antioxidative capacity were described as thermolabile [21] and unstable in the extreme conditions of extensive sonication [22]. Moreover, ultrasound treatment may cause formation of hydroperoxides and degradation of oil [23]. It may be the reason why in some cases, oil extracted using alternative methods was characterized by lower values of OIT. Also, particular conditions of alternative extraction should be determined in the optimization study for each material, as it was noted that, generally, applying US with higher amplitude during shorter time in sonication process and, higher voltage of electrode in PEF-assisted extraction resulted in oil with higher OIT.

Comparing oxidative stability of obtained oils to the other plant-derived oils using PDSC method at 120 °C, all of the studied berry seed oils presented longer OIT than hexane-extracted hempseed oil (13.6–28.9 min) [24], cold-pressed or hexane-extracted strawberry seed oil (9.0–12.8 min) [25, 26]. The OIT of camelina cold-pressed seed oil ranged from 61.4 to 76.2 min [27], of olive oil—from 134.2 to 180.1 min and of rapeseed oil—from 82.4 to 98.5 min [28].

Melting profile of obtained oils

The peak melting temperatures (T_m) coupled with enthalpy changes (ΔH_m) values of the transitions observed on the DSC melting curves of oils are shown in Table 2, and the visual presentation of curves is shown in Fig. 3. In the case of all tested samples of blackberry and raspberry seed oils, two events on the curve were observed, first—around –40 °C and second—around –20 °C in both cases. The first transition was described by greater enthalpy change; however, higher enthalpy change in the second event was observed in control samples of blackberry and raspberry

oils. Chokeberry seed oils were characterized by similar, single events with peak temperature around –35 °C visible in all tested samples. In the case of blackcurrant seed oil, as well as redcurrant seed oil, single or double transitions were observed, depending on the sample. As regards the PEF-treated samples, one event was noted around –40 °C, for blackcurrant seed oil, the same course of curve was also recorded for the control sample. The second event, with lower enthalpy change, was observed around –30 °C for US-extracted blackberry oils and at around –25 °C for US-extracted and control redcurrant oils. Based on the statistical analysis, it can be observed that considering one source of oil, there were some slight differences among samples extracted in different procedures. However, the differences among samples extracted in the same procedure but applying various conditions of the process were not detected. The melting characteristics of oils is predominantly affected by composition, content and structure of TAG. The detected events on the melting profiles of studied oils correspond mainly with the presence of low-melting TAG (around –40 °C) and middle-melting TAG (around –20 °C) [29].

Table 2 DSC melting profiles of oils at heating rate 15 °C min^{–1}

Source of oil	Sample	$T_{m1}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{m1}/\text{J g}^{-1}$	$T_{m2}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{m2}/\text{J g}^{-1}$
Blackberry	BB_C	-45.62 ± 2.28^a	23.15 ± 1.90^a	-21.62 ± 0.64^b	37.23 ± 3.00^d
	BB_US50/10	-42.23 ± 0.09^b	34.57 ± 0.25^b	-21.56 ± 0.07^{ab}	0.33 ± 0.04^a
	BB_US75/5	-42.18 ± 0.06^b	33.11 ± 1.09^b	-21.51 ± 0.13^{ab}	1.09 ± 0.16^a
	BB_PEFI	-44.04 ± 1.61^{ab}	36.46 ± 1.62^b	-22.09 ± 0.16^a	5.89 ± 0.59^b
	BB_PEFII	-42.37 ± 0.30^{ab}	40.42 ± 1.64^c	-21.69 ± 0.21^{ab}	11.48 ± 0.65^c
Blackcurrant	BC_C	-42.48 ± 1.99^b	0.58 ± 0.11^a	–	–
	BC_US50/10	-41.44 ± 2.47^b	14.63 ± 2.52^b	-28.74 ± 1.15^b	0.07 ± 0.02^a
	BC_US75/5	-47.68 ± 0.13^a	9.88 ± 1.16^b	-33.18 ± 0.02^a	0.25 ± 0.01^b
	BC_PEFI	-43.80 ± 0.86^{ab}	10.83 ± 2.31^b	–	–
	BC_PEFII	-41.81 ± 2.46^b	13.79 ± 2.15^b	–	–
Chokeberry	CH_C	-35.24 ± 1.39^a	23.90 ± 1.03^b	–	–
	CH_US50/10	-34.41 ± 0.07^{ab}	28.37 ± 0.57^d	–	–
	CH_US75/5	-32.92 ± 0.90^b	25.35 ± 0.88^{bc}	–	–
	CH_PEFI	-34.45 ± 0.63^{ab}	27.15 ± 0.91^{cd}	–	–
	CH_PEFII	-34.72 ± 0.26^{ab}	13.39 ± 1.04^a	–	–
Raspberry	RB_C	-47.00 ± 0.25^a	16.91 ± 1.20^a	-25.85 ± 0.10^b	44.39 ± 0.43^c
	RB_US50/10	-42.39 ± 0.07^b	36.04 ± 0.42^b	-23.95 ± 0.01^b	0.07 ± 0.02^a
	RB_US75/5	-43.12 ± 0.48^b	32.13 ± 0.92^b	-24.54 ± 0.32^b	1.09 ± 0.12^a
	RB_PEFI	-40.24 ± 2.28^b	21.25 ± 2.45^a	-25.40 ± 0.70^b	0.02 ± 0.00^a
	RB_PEFII	-47.28 ± 1.74^a	20.23 ± 5.03^a	-28.00 ± 1.61^a	8.38 ± 2.24^b
Redcurrant	RC_C	-41.55 ± 0.06^{bc}	24.31 ± 1.91^c	-25.82 ± 0.30^b	0.86 ± 0.06^a
	RC_US50/10	-43.39 ± 0.89^{ab}	34.98 ± 0.40^e	-26.77 ± 0.10^a	0.94 ± 0.03^{ab}
	RC_US75/5	-42.18 ± 0.04^{abc}	31.08 ± 0.56^d	-26.48 ± 0.04^a	0.98 ± 0.05^b
	RC_PEFI	-40.48 ± 0.28^c	5.62 ± 1.38^b	–	–
	RC_PEFII	-43.93 ± 1.69^a	0.85 ± 0.07^a	–	–

T_m , peak temperature on the melting curve; ΔH_m , enthalpy change on the melting curve. Means with different letters in the superscript are significantly different ($p < 0.05$) among samples originating from one type of seeds.

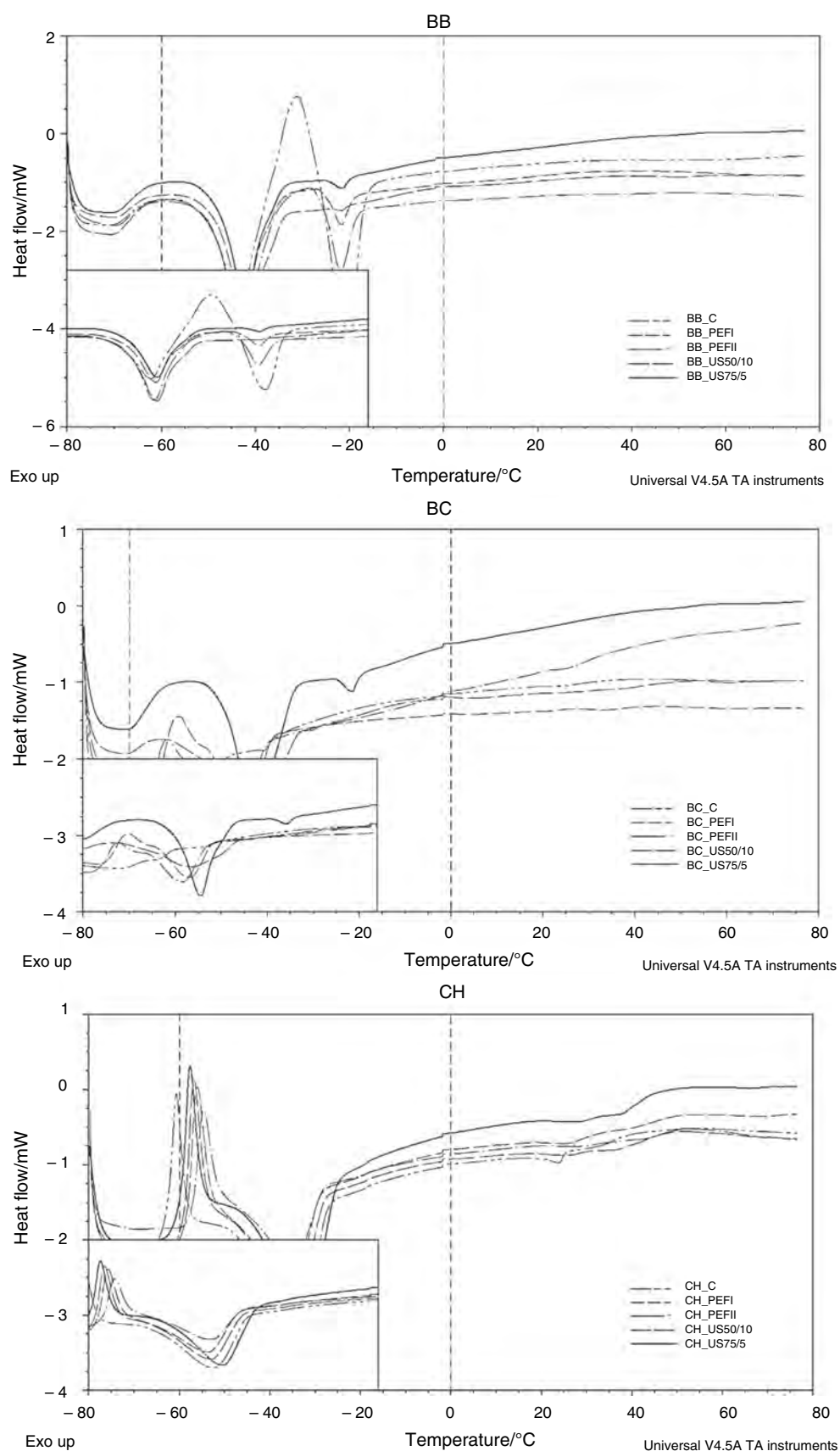


Fig. 3 Melting curves of blackberry (BB), blackcurrant (BC), chokeberry (CH), raspberry (RB) and redcurrant (RC) seed oils

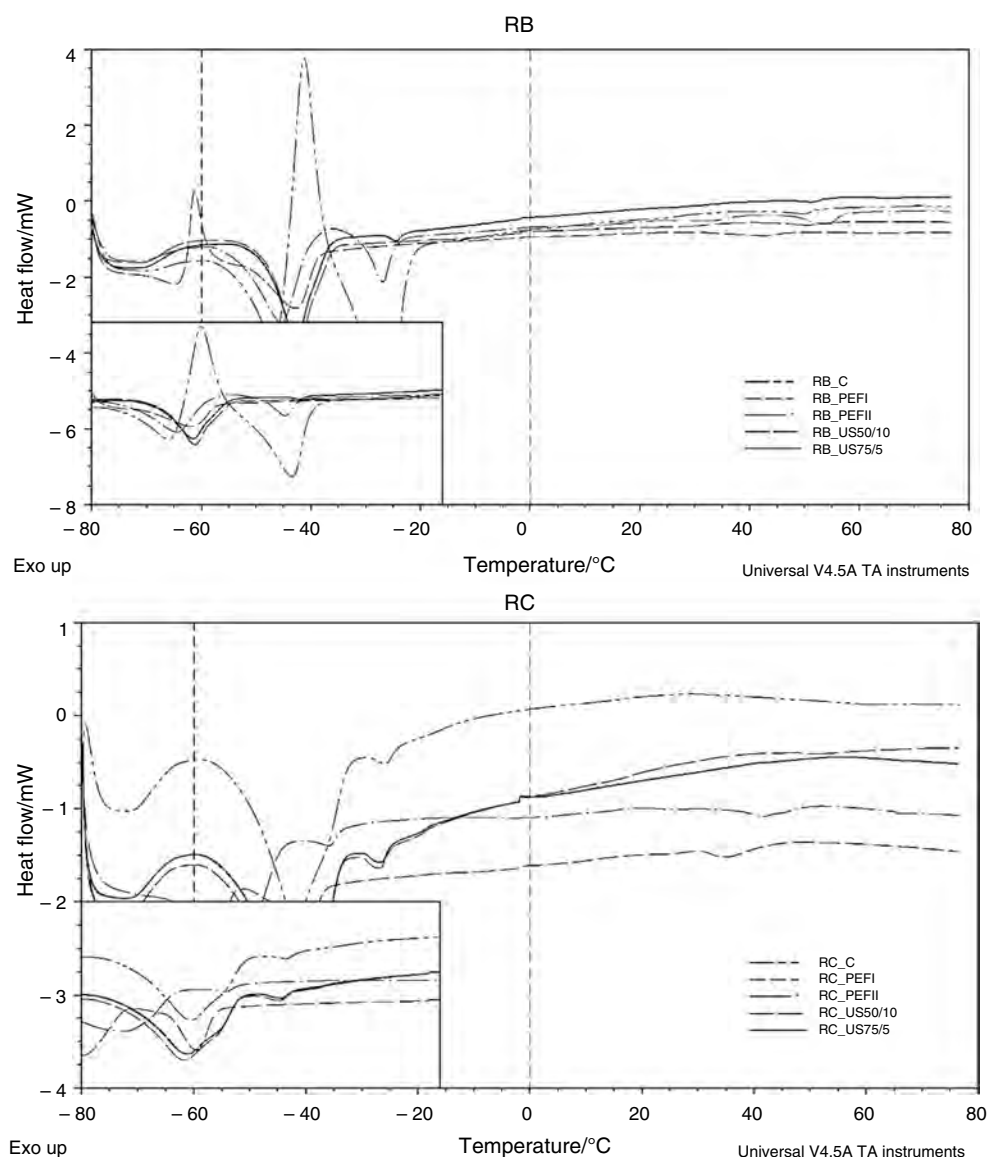


Fig. 3 (continued)

All the TAG present in tested oils were melted completely at temperatures below 0 °C which is typical for TAG with high unsaturation level [30]. That is accordant with the GC study results, which showed high percentage share of polyunsaturated fatty acids in all studied oils. While analyzing DSC melting curves, exothermic peaks before the melting onset might be observed in the case of chokeberry and control samples of raspberry and blackberry seed oils. Their presence was probably connected to the polymorphism phenomenon, particularly solid-to-solid transformation [31].

Although the DSC study may be used as a tool to identify oils or detect their adulteration [32], applying different conditions in the extraction process may influence the content of TAG or their structure [33, 34] and thus, impact the melting behavior recorded in DSC study. However, obtained in

the following study DSC curves presented similar courses to the previously published results of berry seed oils with comparable fatty acid profile: raspberry seed oil [35–37], blackcurrant, cranberry and strawberry seed oils [26]. In all of the studies, melting curves of oils were characterized by the presence of the main, largest peak with the maximum temperature at around –40 °C, sometimes accompanied with additional peaks at higher temperature.

Thermal behavior in heat/cool/heat DSC procedure

The specific temperatures of crystallization (T_c) and melting (T'_m) events coupled with enthalpy changes (ΔH_c , $\Delta H'_m$) obtained in the heat/cool/heat procedure are summarized in Supplementary Table 2. The heat/cool/heat procedure was

applied to reveal thermal behavior in the cycle of cooling and heating the oil samples, without the initial heating applied in order to erase the crystal memory of oils in the classic DSC melting characteristics assay. Also, different heating/cooling rate was employed. Similarly, as for the aforementioned results of melting curve, the extraction method impact on the heat/cool/heat curve course was recognizable, although slight. Zhang et al. [38] described changes in thermal behavior of papaya seed oil extracted in UAE process comparing to the Soxhlet extraction. Soxhlet extraction yielded in oil with higher T_m and lower T_c than oil obtained in UAE. The temperatures of crystallization recorded in the following procedure were around $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ for all tested oil samples, which is typical for the highly unsaturated TAG presence in the berry seed oils. Also, the enthalpy change is quite low, which is due to low saturation level of berry seed oils. Similar results were previously observed for mango seed oils [39]. Not all the oils presented in the following study were previously assessed for the thermal behavior; however, comparable crystallization temperatures were observed for cold-pressed raspberry seed oils by Rajagukguk et al. [36].

Also, T_m of raspberry seed oil was similar to one of the three detected melting points by Rajagukguk et al. [36]. However, in the aforementioned study, the rate of heating/cooling equal to $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ was applied and that might have influenced the results significantly.

The chokeberry seed oil revealed different course of curve, with the exothermic peak around $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ regardless of the extraction method. The peak temperature in that area indicates crystallization of highly saturated TAG; however, in that case, it may be contributed to the crystallization of one of polymorphic form phenomenon [31] as the chokeberry seed oil was not characterized by high saturated fatty acids percentage share in the GC study. Indeed, crystallization occurrence in the $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperature was visible.

Thermogravimetric analysis

The courses of TG/DTG curves were similar for all tested oils and were not influenced by the extraction method. The behavior of oils was typical for the plant-derived fats. The results of TG study showed that oils decomposition in

Table 3 Percentage of mass losses recorded in the oils samples during TG study

Source of oil	Sample	Mass loss/%		
		Range 180–370 $^{\circ}\text{C}$	Range 370–420 $^{\circ}\text{C}$	Range 420–550 $^{\circ}\text{C}$
Blackberry	BB_C	40.1 ± 0.1^a	39.9 ± 0.1^a	19.1 ± 0.0^{ab}
	BB_US50/10	36.6 ± 5.1^a	35.6 ± 4.1^a	16.9 ± 2.0^a
	BB_US75/5	41.8 ± 0.5^a	39.1 ± 0.0^a	19.3 ± 0.4^{ab}
	BB_PEFI	42.0 ± 0.3^a	38.4 ± 1.1^a	19.0 ± 0.6^{ab}
	BB_PEFII	42.4 ± 0.2^a	37.1 ± 0.2^a	19.6 ± 0.1^b
Blackcurrant	B_CC	48.9 ± 4.8^a	30.1 ± 5.1^a	19.7 ± 0.5^{bc}
	BC_US50/10	48.2 ± 5.9^a	32.9 ± 5.7^a	18.3 ± 0.0^a
	BC_US75/5	47.6 ± 1.8^a	33.3 ± 2.1^a	18.6 ± 0.4^a
	BC_PEFI	56.1 ± 2.6^a	24.3 ± 2.3^a	18.9 ± 0.4^{ab}
	BC_PEFII	48.9 ± 5.7^a	30.2 ± 5.4^a	19.9 ± 0.0^c
Chokeberry	CH_C	51.7 ± 0.7^{ab}	30.3 ± 0.1^{ab}	17.2 ± 0.8^a
	CH_US50/10	51.9 ± 1.0^{ab}	30.1 ± 0.1^{ab}	17.5 ± 1.0^a
	CH_US75/5	51.7 ± 1.5^{ab}	30.3 ± 0.5^{ab}	17.5 ± 1.0^a
	CH_PEFI	54.2 ± 3.0^b	28.2 ± 1.0^a	16.7 ± 2.0^a
	CH_PEFII	48.5 ± 2.0^a	32.2 ± 1.5^b	19.2 ± 0.5^a
Raspberry	RB_C	40.7 ± 0.2^a	39.6 ± 1.6^c	19.0 ± 0.8^{ab}
	RB_US50/10	41.2 ± 0.7^{ab}	40.0 ± 0.8^c	18.0 ± 0.1^a
	RB_US75/5	43.7 ± 1.0^{bc}	38.0 ± 0.5^{bc}	17.7 ± 0.5^a
	RB_PEFI	44.6 ± 1.6^c	36.2 ± 1.4^b	18.2 ± 0.1^a
	RB_PEFII	51.7 ± 1.2^d	25.9 ± 0.2^a	20.7 ± 1.0^{ab}
Redcurrant	RC_C	47.6 ± 2.6^b	31.0 ± 3.2^b	20.5 ± 0.6^c
	RC_US50/10	46.8 ± 1.5^b	32.0 ± 1.5^b	19.8 ± 0.0^{bc}
	RC_US75/5	51.3 ± 1.6^{bc}	29.5 ± 1.0^b	18.1 ± 0.4^a
	RC_PEFI	56.5 ± 2.0^c	22.6 ± 2.0^a	19.7 ± 0.1^{bc}
	RC_PEFII	39.9 ± 2.3^a	40.9 ± 1.4^c	19.0 ± 0.9^{ab}

Different letters in the superscript are significantly different ($p < 0.05$) among samples originating from one type of seeds

oxygen atmosphere proceeded in three main stages occurring in the temperature range of 180–550 °C (Table 3) with only a trace amount of residue left at 1000 °C. The decomposition progressed with increasing temperature and was associated with the presence of polyunsaturated fatty acids (PUFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and saturated fatty acids (SFA), respectively. The first degradation stage indicated thermal stability of edible oils. All the studied berry seed oils were stable during heating up to around 180 °C, where the decomposition started. In the initial step, decomposition involved liberation of volatile compounds which were formed during TAGs degradation as well as oxygen uptake and peroxides forming which was observed as a small mass increase in the TG curve right before the start of the decomposition. Second decomposition step at temperature range 370–420 °C corresponded with MUFA decomposition and third, in the range of 420–550 °C was associated with SFA degradation [40, 41] (Figs. 4, 5).

Fatty acid profile

The results of fatty acid percentage share of obtained oils is shown in Supplementary Table 3. All of the samples were characterized by high (over 70%) percentage share of polyunsaturated fatty acids, what is a distinctive feature of berry seed derived oils. The most abundant fatty acid was linoleic acid (LA) in case of every tested oil. The proportion of LA varied from 40% in the case of redcurrant seed oil to 70% as regards the chokeberry seed oil. Taking into consideration the extraction influence on the fatty acid profile, there were noted some significant differences in the percentage values; however, noted changes were not sufficient to impact the overall chemical characteristics of oils. The noticeable

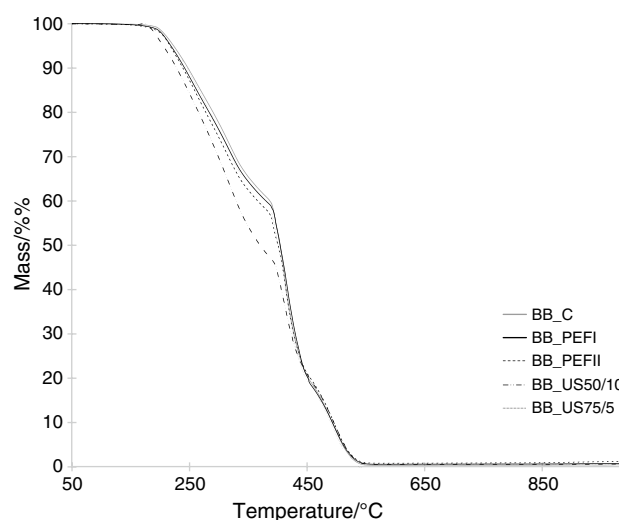
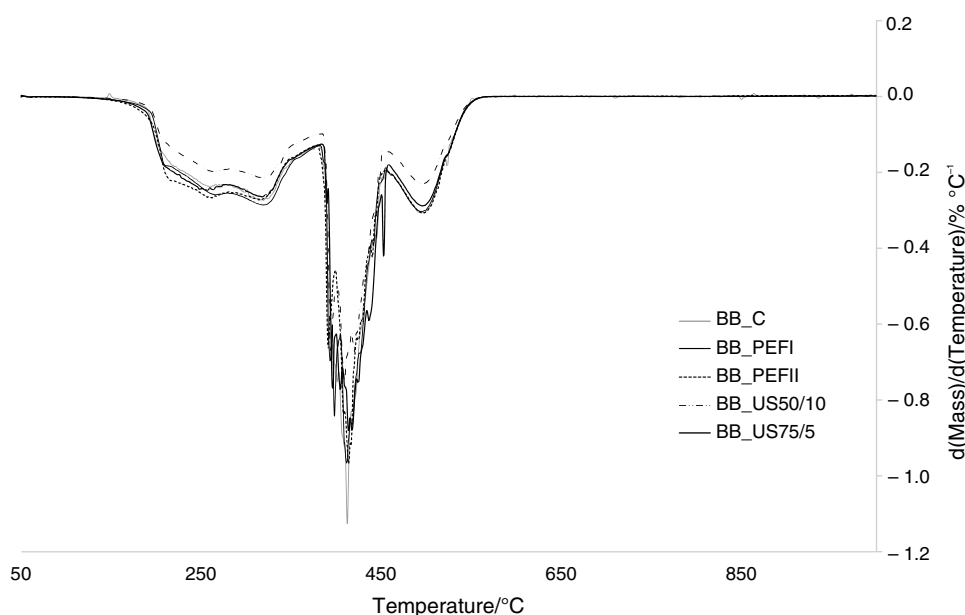


Fig. 5 Example of TG curves obtained for blackberry seed oils

observation was that the sum of SFA percentage share in the oils extracted using higher temperature (PEF-assisted) was slightly higher comparing to other extraction methods—US-assisted and solid–liquid extraction carried out at 40 °C temperature. That is in agreement with the previous findings for microalgae oil extracted in US-assisted process at different temperatures [42]. Also, Teng et al. [43] proved US-assisted extraction to provide raspberry seed oil with lower SFA than Soxhlet extraction. Wei et al. [44] suggested that higher saturation level in oils extracted using Soxhlet method may be caused by unsaturated lipids oxidation initiated by evaluated temperature and time of extraction. On the other hand, extraction method did not affect fatty acid profile of apple seed oil obtained using US, supercritical

Fig. 4 Example of DTG curves obtained for tested blackberry seed oils



fluid or conventional extraction as reported by Gasparini et al. [45]. Applying US-enzyme assisted extraction did not influence the fatty acid composition of lipophilic fraction of raspberry, strawberry and blackberry pomace as well [46]. Taking PEF pretreatment into consideration, previous findings focused mostly on PEF influence on the fatty acid profile of cold-pressed oils. In the case of olive oil [47], rapeseed oil [48] and Niger seed oil [32], content of fatty acids was not affected by PEF pretreatment. In the study in which sunflower seeds underwent PEF pretreatment before hexane solid–liquid extraction, fatty acid profile also remained unaffected comparing to the ultrasound or conventional solid–liquid extraction [49].

Fatty acid profile assessment seems to be useful combined together with the thermal analysis as the fatty acid composition of TAG in oils is inseparably associated with the thermal behavior of oils. The high unsaturation level of TAG corresponds with the low temperature of melting. The

characteristic temperature of melting in the case of TAG with only unsaturated fatty acids occurring in their structure is around $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, so-called moderate unsaturated TAG with unsaturated fatty acids melt at temperature around $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, saturated TAG melt at temperatures above 0. Similarly, crystallization peaks of highly unsaturated TAG occur in very low temperatures ($-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) [29]. Also, decomposition monitored in the TGA study depends on the fatty acid profile of fat, as it is closely related to the oxidative stability, assessed in the PDSC study as well [16, 50]. The further analysis of TAG content and structure appears to be necessary to obtain full image of the fatty acid profile influence on the thermal behavior of studied oils.

Statistical approach

Results from PDSC (OIT), DSC (T_{m1} , ΔH_{m1} , T_{c1} , ΔH_{c1}), TG (3 mass losses) and GC (sum of SFA, MUFA and PUFA)

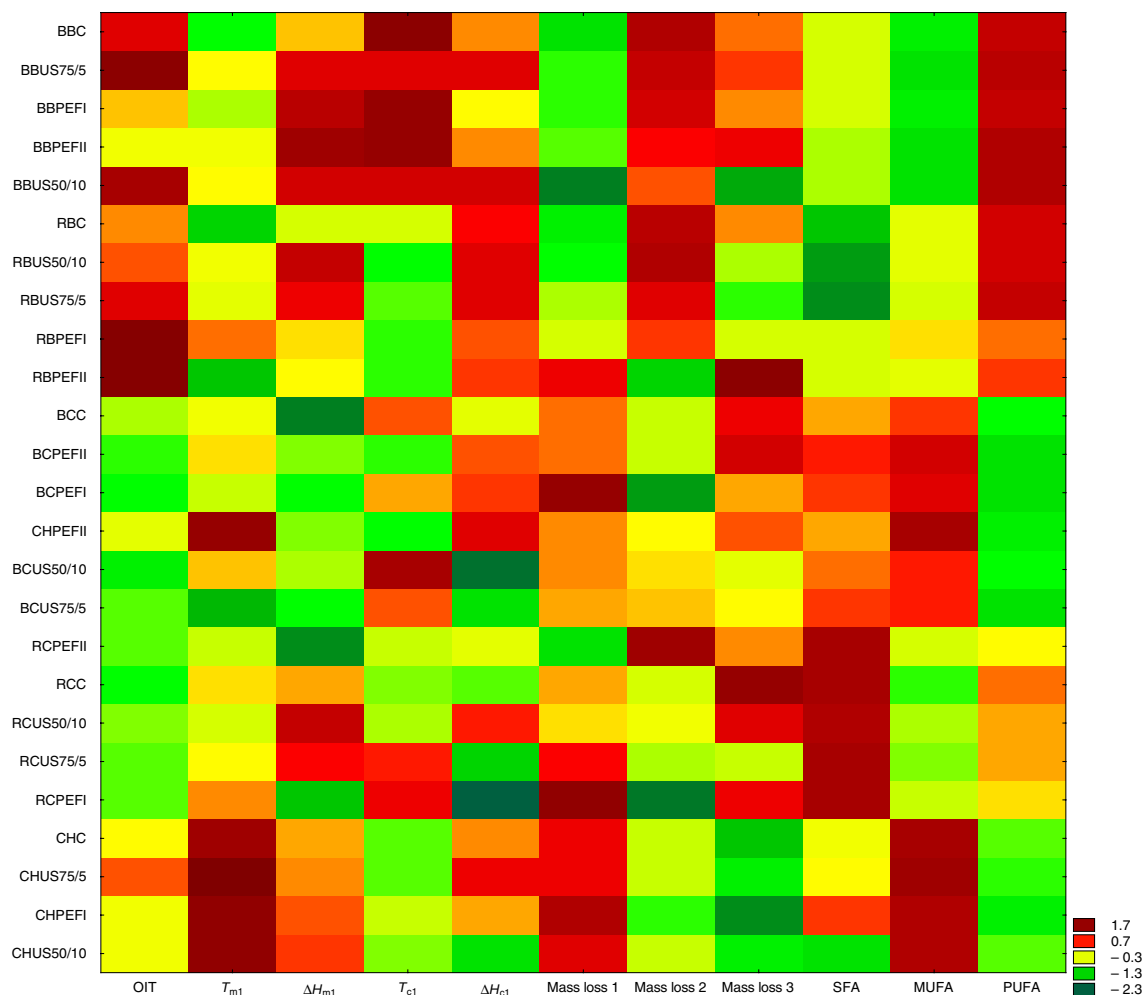
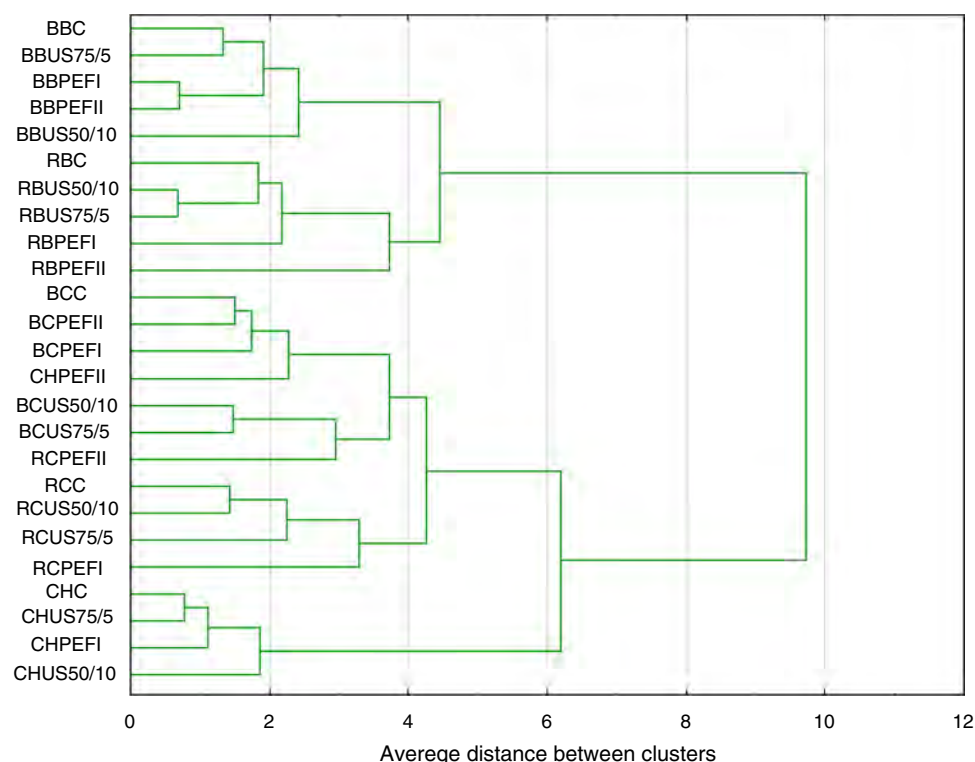


Fig. 6 Heatmap of chosen results (OIT, T_{m1} , ΔH_{m1} , T_{c1} , ΔH_{c1} , 3 mass losses from TG, sum of SFA, MUFA and PUFA) for all studied berry seed oils

Fig. 7 Dendrogram obtained by analyzing chosen results (OIT , T_{m1} , ΔH_{m1} , T_{c1} , ΔH_{c1} , 3 mass losses from TG, sum of SFA, MUFA and PUFA) for all studied berry seed oils



were used to carry out cluster analysis. The heatmap and dendrogram were the result of statistical analysis and showed similarities among all studied oils. What can be noted is that, generally, among oils obtained from the same source, there were observed only slight differences. Method of extraction usually did not influence studied thermal properties and fatty acid composition. However, differences between oils derived from different seeds were visible. Thus, it can be concluded that thermal properties and fatty acid composition of extracted oils mostly depended on the used material (Figs. 6, 7).

Conclusions

The results of the study allow the following conclusions to be drawn. Extraction method influenced significantly oxidation induction time with ultrasound-assisted extraction to be the most favorable in the case of blackberry, chokeberry (amplitude 75%, 5 min time) and redcurrant (amplitude 50%, 10 min time) seed oils. PEF treatment was the most efficient in the case of raspberry seed oil and no positive impact of alternative extraction methods application was observed in the case of blackcurrant seed oil. Melting and crystallization characteristics courses were not influenced by extraction method; however, some significant differences were observed mostly in the enthalpy change results. Thermogravimetric analysis showed that extraction method

may cause minor deviations in the mass losses noted in the same temperature ranges. Also, fatty acid composition was only slightly affected by the extraction method. The studied alternative extraction methods should be considered as accurate substitute for conventional extractions in the case of berry seed oils, as the ultrasound and PEF applications improve oxidative stability still do not deteriorate other thermal properties or fatty acid profile of oils. However, to choose the most efficient conditions detailed optimization should be carried out for each seed oil separately, as the characteristics of oil is mostly affected by its source. Choosing proper conditions may contribute to obtain oil with high resistance to oxidation and may be applied in preparation of oil-based formulas in food industry or cosmetics production. Also, reusing berry fruit seeds considered as a by-product in alternative extraction procedure may bring financial profits as it does not require much energy to maintain yet results in valuable product.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s10973-024-13230-4>.

Acknowledgements Authors would like to acknowledge MSc Justyna Wójcik-Seliga from Cultivar Testing, Nursery and Gene Bank Resources Department, Institute of Horticulture-National Research Institute in Skierniewice, Poland for providing Rubus var. Brzezina fruits cultivated from the gene bank collection in Dabrowice, Poland.

Author contributions Iga Piasecka involved in conceptualization, methodology, data curation, formal analysis, investigation, visualization,

software, validation, and writing—original draft. Ewa Ostrowska-Liżęza involved in methodology, formal analysis, and visualization. Artur Wiktor involved in methodology, formal analysis, and supervision. Agata Górńska involved in conceptualization, writing—review and editing, supervision, administration of study, and funding acquisition.

Funding Some research equipment was purchased as part of the “Food and Nutrition Centre—modernisation of the WULS campus to create a Food and Nutrition Research and Development Centre (CŻiŻ)” co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund under the Regional Operational Programme of the Mazowieckie Voivodeship for 2014–2020 (Project No. RPMA.01.01.00-14-8276/17).

Data availability Data presented in the following study are available on the reasonable request from the corresponding author.

Declarations

Conflict of interest Authors declare no conflicts of interests.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- da Silva AC, Jorge N. Bioactive compounds of oils extracted from fruits seeds obtained from agroindustrial waste. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2017. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600024>.
- Piasecka I, Wiktor A, Górńska A. Alternative methods of bioactive compounds and oils extraction from berry fruit by-products—a review. *Appl Sci*. 2022. <https://doi.org/10.3390/app12031734>.
- Zorzi M, Gai F, Medana C, Aigotti R, Morello S, Peiretti PG. Bioactive compounds and antioxidant capacity of small berries. 2020. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods9050623>.
- Krumreich FD, Borges CD, Mendonça CRB, Jansen-Alves C, Zambiasi RC. Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. *Food Chem*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.048>.
- Pereira P, Cebola MJ, Oliveira MC, Bernardo-Gil MG. Supercritical fluid extraction vs conventional extraction of myrtle leaves and berries: comparison of antioxidant activity and identification of bioactive compounds. *J Supercrit Fluids*. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.006>.
- Capar T, Dedebeas T, Yalcin H, Ekici L. Extraction method affects seed oil yield, composition, and antioxidant properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus*). *Ind Crops Prod*. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113632>.
- Thilakarathna RCN, Siow LF, Tang TK, Chan ES, Lee YY. Physicochemical and antioxidative properties of ultrasound-assisted extraction of mahua (*Madhuca longifolia*) seed oil in comparison with conventional Soxhlet and mechanical extractions. *Ultrason Sonochem*. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasonch.2022.106280>.
- Bryś J, Obranović M, Repajić M, Kraljić K, Škevin D, Bryś A, Górńska A, Ostrowska-Liżęza E, Wirkowska-Wojdyła M. Comparison of different methods of extraction for pomegranate seeds. *Proceedings*. 2020. https://doi.org/10.3390/foods_2020-07657.
- dos Santos OV, Carvalho RN, da Costa CEF, da Lannes S SC. Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric-differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. *Ind Crops Prod*. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.043>.
- Piasecka I, Brzezińska R, Ostrowska-Liżęza E, Wiktor A, Górńska A. Ultrasound-assisted extraction of cranberry seed oil: food waste valorization approach. *Eur Food Res Technol*. 2023. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04326-6>.
- Hernández-Santos B, Rodríguez-Miranda J, Herman-Lara E, Torruco-Uco JG, Carmona-García R, Juárez-Barrientos JM, et al. Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrason Sonochem*. 2016;31:429–36. <https://doi.org/10.1016/j.ULTSONCH.2016.01.029>.
- Rojo-Gutiérrez E, Carrasco-Molinari O, Tirado-Gallegos JM, Levario-Gómez A, Chávez-González ML, Baeza-Jiménez R, Chávez-Zamudio R, Martínez-Sánchez CE. Evaluation of green extraction processes, lipid composition and antioxidant activity of pomegranate seed oil. *J Food Meas Charact*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00804-7>.
- Senrayan J, Venkatachalam S. A short extraction time of vegetable oil from *Carica papaya* L. seeds using continuous ultrasound acoustic cavitation: analysis of fatty acid profile and thermal behavior. *J Food Process Eng*. 2019. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12950>.
- Wirkowska-Wojdyła M, Bryś J, Górńska A, Ostrowska-Liżęza E. Effect of enzymatic interesterification on physicochemical and thermal properties of fat used in cookies. *LWT*. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.040>.
- Dolatowska-Żebrowska K, Ostrowska-Liżęza E, Wirkowska-Wojdyła M, Bryś J, Górńska A. Characterization of thermal properties of goat milk fat and goat milk chocolate by using DSC, PDSC and TGA methods. *J Therm Anal Calorim*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08181-0>.
- Li J, Liu J, Sun X, Liu Y. The mathematical prediction model for the oxidative stability of vegetable oils by the main fatty acids composition and thermogravimetric analysis. *LWT*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.003>.
- Polish Norm: PN-EN ISO: 5509:2001. Oil and vegetable and animal fats. Preparation of methyl ester of fatty acids. Warsaw Poland: Polish Committee for Standardization; 2001.
- Bryś J, Flores Ins FV, Grska A, Wirkowska-Wojdyła M, Ostrowska-Liżęza E, Bry A. Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *J Therm Anal Calorim*. 2017. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6452-8>.
- Bimkr M, Rahman RA, Taip FS, Adzahan NM, Islam Sarker MZ, Ganjloo A. Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. *Molecules*. 2012. <https://doi.org/10.3390/molecules171011748>.
- Guderjan M, Elez-Martínez P, Knorr D. Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.07.001>.
- Kaseke T, Opara UL, Fawole OA. Fatty acid composition, bioactive phytochemicals, antioxidant properties and oxidative stability

- of edible fruit seed oil: effect of preharvest and processing factors. *Heliyon*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04962>.
22. Pingret D, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. Degradation during application of ultrasound in food processing: a review. *Food Control*. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.039>.
23. Chemat F, Grondin I, Sing ASC, Smadja J. Deterioration of edible oils during food processing by ultrasound. *Ultrason Sonochem*. 2004. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00127-5](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00127-5).
24. Bryś A, Bryś J, Mellado ÁF, Głowacki S, Tulej W, Ostrowska-Ligęza E, Koczoń P. Characterization of oil from roasted hemp seeds using the PDSC and FTIR techniques. *J Therm Anal Calorim*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08640-8>.
25. Raczek M, Bryś J, Brzezińska R, Ostrowska-Ligęza E, Wirkowska-Wojdyła M, Górka A. Raspberry and blackberry seed oils intended for cosmetic purposes. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2021. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0884>.
26. Górka A, Piasecka I, Wirkowska-Wojdyła M, Bryś J, Kienc K, Brzezińska R, et al. Berry seeds—a by-product of the fruit industry as a source of oils with beneficial nutritional characteristics. *Appl Sci*. 2023. <https://doi.org/10.3390/app13085114>.
27. Islam M, Muzolf-Panek M, Fornal E, Tomaszewska-Gras J. DSC isothermal and non-isothermal assessment of thermo-oxidative stability of different cultivars of *Camelina sativa* L. seed oils. *J Therm Anal Calorim*. 2022. <https://doi.org/10.1007/s10973-022-11367-8>.
28. Ciemnińska-Zytkeiwicz H, Ratusz K, Bryś J, Reder M, Koczoń P. Determination of the oxidative stability of hazelnut oils by PDSC and Rancimat methods. *J Therm Anal Calorim*. 2014. <https://doi.org/10.1007/s10973-014-3861-9>.
29. Embaby HE, Miyakawa T, Hachimura S, Muramatsu T, Nara M, Tanokura M. Crystallization and melting properties studied by DSC and FTIR spectroscopy of goldenberry (*Physalis peruviana*) oil. *Food Chem*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130645>.
30. Gutiérrez LF, Ratti C, Belkacemi K. Effects of drying method on the extraction yields and quality of oils from quebec sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seeds and pulp. *Food Chem*. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.058>.
31. Jafari M, Kadivar M, Keramat J. Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. *J Am Oil Chem Soc*. 2009. <https://doi.org/10.1007/S11746-008-1333-8>.
32. Mohseni NM, Mirzaei H, Moghimi M. Optimized extraction and quality evaluation of Niger seed oil via microwave-pulsed electric field pretreatments. *Food Sci Nutr*. 2020. <https://doi.org/10.1002/FSN3.1396>.
33. Samaram S, Mirhosseini H, Tan CP, Ghazali HM. Ultrasound-assisted extraction (UAE) and solvent extraction of papaya seed oil: yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile. *Molecules*. 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules18102474>.
34. Rezvankhah A, Emam-Djomeh Z, Safari M, Askari G, Salami M. Microwave-assisted extraction of hempseed oil: studying and comparing of fatty acid composition, antioxidant activity, physicochemical and thermal properties with Soxhlet extraction. *J Food Sci Technol*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03890-8>.
35. Oomah BD, Ladet S, Godfrey DV, Liang J, Girard B. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food Chem*. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00260-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00260-5).
36. Rajagukguk YV, Islam M, Tomaszewska-Gras J. Influence of seeds' age and clarification of cold-pressed raspberry (*Rubus idaeus* L.) oil on the DSC oxidative stability and phase transition profiles. 2023. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods12020358>.
37. Rajagukguk YV, Islam M, Grygier A, Tomaszewska-Gras J. Thermal and spectroscopic profiles variation of cold-pressed raspberry seed oil studied by DSC, UV/VIS, and FTIR techniques. *J Food Compos Anal*. 2023. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2023.105723>.
38. Zhang W, Pan YG, Huang W, Chen H, Yang H. Optimized ultrasonic-assisted extraction of papaya seed oil from Hainan/Eksotika variety. *Food Sci Nutr*. 2019. <https://doi.org/10.1002/FSN3.1125>.
39. Lieb VM, Schuster LK, Kronmüller A, Schmarr HG, Carle R, Steingass CB. Fatty acids, triacylglycerols, and thermal behaviour of various mango (*Mangifera indica* L.) kernel fats. *Food Res Int*. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.070>.
40. Gouveia de Souza A, Oliveira Santos JC, Conceição MM, Dantas Silva MC, Prasad S. A thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil. *Braz J Chem Eng*. 2004;21:265–73.
41. Dodoo D, Adjei F, Tulashie SK, Adukpoh KE, Agbolebe RK, Gawou K, Manu GK. Quality evaluation of different repeatedly heated vegetable oils for deep-frying of yam fries. *Meas Food*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.measfoo.2022.100035>.
42. Zarrinmehr MJ, Daneshvar E, Nigam S, Gopinath KP, Biswas JK, Kwon EE, Wang H, Farhadian O, Bhatnagar A. The effect of solvents polarity and extraction conditions on the microalgal lipids yield, fatty acids profile, and biodiesel properties. *Bioresour Technol*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126303>.
43. Teng H, Chen L, Huang Q, Wang J, Lin Q, Liu M, Lee WY, Song H. Ultrasonic-assisted extraction of raspberry seed oil and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. *PLoS ONE*. 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153457>.
44. Wei C, Xiao K, Li H, Qi Y, Zou Z, Liu Z. Optimization of ultrasound assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Cinnamomum camphora* seeds. *LWT*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113689>.
45. Gasparini A, Ferrentino G, Angeli L, Morozova K, Zatelli D, Scampicchio M. Ultrasound assisted extraction of oils from apple seeds: a comparative study with supercritical fluid and conventional solvent extraction. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103370>.
46. Davidson M, Louvet F, Meudec E, Landolt C, Grenier K, Périno S, Ouk TS, Saad N. Optimized single-step recovery of lipophilic and hydrophilic compounds from raspberry, strawberry and blackberry pomaces using a simultaneous Ultrasound-Enzyme-Assisted Extraction (UEAE). *Antioxidants*. 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12101793>.
47. Leone A, Tamborrino A, Esposto S, Berardi A, Servili M. Investigation on the effects of a pulsed electric field (PEF) continuous system implemented in an industrial olive oil plant. 2022. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods11182758>.
48. Mazroei Seydani L, Gharachorloo M, Asadi G. Use of pulsed electric field to extract rapeseed oil and investigation of the qualitative properties of oils. *J Food Process Eng*. 2022. <https://doi.org/10.1111/JFPE.14149>.
49. Moradi N, Rahimi M. Effect of simultaneous ultrasound/pulsed electric field pretreatments on the oil extraction from sunflower seeds. *Sep Sci Technol*. 2018. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1443131>.
50. Kerrihard AL, Nagy K, Craft BD, Beggio M, Pegg RB. Oxidative stability of commodity fats and oils: modeling based on fatty acid composition. *J Am Oil Chem Soc*. 2015. <https://doi.org/10.1007/S11746-015-2686-4>.

Warszawa, 01.09.2024 r.

mgr Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Wiktor Artur, Górka Agata: Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review, Applied Sciences, vol. 12, nr 3, 2022, Numer artykułu: 1734, s. 1-35 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu przeglądu literatury, napisaniu publikacji, wizualizacji danych, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis

Iga Piasecka
.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW
artur_wiktor@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Wiktor Artur, Górka Agata: Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review, Applied Sciences, vol. 12, nr 3, 2022, Numer artykułu: 1734, s. 1-35 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodyki, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami, wizualizacji danych.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. Agata Górską, prof. SGGW
agata_gorska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Wiktor Artur, Górską Agata: Alternative Methods of Bioactive Compounds and Oils Extraction from Berry Fruit By-Products—A Review, Applied Sciences, vol. 12, nr 3, 2022, Numer artykułu: 1734, s. 1-35 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, opracowaniu metodyki, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

mgr Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, vol. 57, 2024, Numer artykułu: 103511, s. 1-11 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu części doświadczalnej przygotowaniu danych do dalszych analiz, analizie danych, wizualizacji danych, analizie formalnej, napisaniu publikacji, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis

Iga Piasecka
.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr inż. Rita Brzezińska
rita_brzezinska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, vol. 57, 2024, Numer artykułu: 103511, s. 1-11 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na wizualizacji danych oraz udziale w opracowaniu statystycznym.

Podpis

Rita Brzezińska...

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Stanisław Kalisz, prof. SGGW
stanislaw_kalisz@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, vol. 57, 2024, Numer artykułu: 103511, s. 1-11 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na przeprowadzeniu części analizy formalnej.

Podpis

.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW
artur_wiktor@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, vol. 57, 2024, Numer artykułu: 103511, s. 1-11 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań

Podpis

.....
A. Wiktor

Warszawa, 01.09.2024 r.

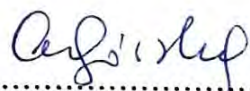
dr hab. Agata Górka, prof. SGGW
agata_gorska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Recovery of antioxidants and oils from blackcurrant and redcurrant wastes by ultrasound-assisted extraction, Food Bioscience, vol. 57, 2024, Numer artykułu: 103511, s. 1-11 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji, sprawdzeniu merytorycznym publikacji, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

mgr Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces, Plants, vol. 13, nr 8, 2024, Numer artykułu: 1120, s. 1-14– mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu części doświadczalnej przygotowaniu danych do dalszych analiz, analizie danych, wizualizacji danych, analizie formalnej, napisaniu publikacji, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis

.....*Iga Piasecka*.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr inż. Rita Brzezińska
rita_brzezinska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces, Plants, vol. 13, nr 8, 2024, Numer artykułu: 1120, s. 1-14— mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na wizualizacji danych oraz udziale w opracowaniu statystycznym.

Podpis

Rita Brzezińska...

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Stanisław Kalisz, prof. SGGW
stanislaw_kalisz@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces, Plants, vol. 13, nr 8, 2024, Numer artykułu: 1120, s. 1-14— mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na przeprowadzeniu analizy formalnej.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW
artur_wiktor@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces, Plants, vol. 13, nr 8, 2024, Numer artykułu: 1120, s. 1-14– mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. Agata Górka, prof. SGGW
agata_gorska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Kalisz Stanisław, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-Assisted Antioxidants Extraction from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Pomaces, Plants, vol. 13, nr 8, 2024, Numer artykułu: 1120, s. 1-14– mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, sprawdzeniu merytorycznym publikacji, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami.

Podpis



.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

mgr Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Waste Products, Applied Sciences, vol. 14, nr 16, 2024, Numer artykułu: 7214, s. 1-17 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu części doświadczalnej przygotowaniu danych do dalszych analiz, analizie danych, wizualizacji danych, analizie formalnej, napisaniu publikacji, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis

Iga Piasecka

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr inż. Rita Brzezińska
rita_brzezinska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Waste Products, Applied Sciences, vol. 14, nr 16, 2024, Numer artykułu: 7214, s. 1-17 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na wizualizacji danych oraz udziale w opracowaniu statystycznym.

Podpis



Warszawa, 01.09.2024 r.

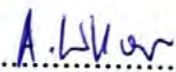
dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW
artur_wiktor@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Waste Products, Applied Sciences, vol. 14, nr 16, 2024, Numer artykułu: 7214, s. 1-17– mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

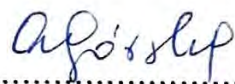
dr hab. Agata Górka, prof. SGGW
agata_gorska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Brzezińska Rita, Wiktor Artur, Górka Agata: Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Oil Extraction Optimization from Blackberry, Chokeberry and Raspberry Waste Products, Applied Sciences, vol. 14, nr 16, 2024, Numer artykułu: 7214, s. 1-17 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, sprawdzeniu merytorycznym publikacji, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

mgr Iga Piasecka
iga_piasecka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2024, s. 1-15 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu części doświadczalnej przygotowaniu danych do dalszych analiz, analizie danych, wizualizacji danych, analizie formalnej, napisaniu publikacji, pracy związanej z odpowiedziami w procesie recenzji.

Podpis

Iga Piasecka
.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Ewa Ostrowska-Ligeza, prof. SGGW
ewa_ostrowska-ligeza@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Ostrowska-Ligeza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2024, s. 1-15 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu metodyki, wizualizacji danych, analizie formalnej.

Podpis

Ewa Ostrowska-Ligeza

Warszawa, 01.09.2024 r.

dr hab. inż. Artur Wiktor, prof. SGGW
artur_wiktor@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górka Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2024, s. 1-15 – mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu metodyki, analizie formalnej i nadzorze nad prowadzonymi badaniami.

Podpis


.....

Warszawa, 01.09.2024 r.

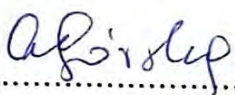
dr hab. Agata Górską, prof. SGGW
agata_gorska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia
Żywności i Żywnienia
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie**

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy: Piasecka Iga, Ostrowska-Ligęza Ewa, Wiktor Artur, Górską Agata: Ultrasound and pulsed electric field treatment effect on the thermal properties, oxidative stability and fatty acid profile of oils extracted from berry seeds, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2024, s. 1-15– mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na opracowaniu koncepcji badań, sprawdzeniu merytorycznym publikacji, przygotowaniu edytorskim publikacji, nadzorze nad prowadzonymi badaniami.

Podpis


.....