

18. *Исаев Ю.А.* Лечение микроэлементами, металлами и минералами. Киев, 1992.
19. *Мирихулава М.Б., Цибадзе А.Д., Барнабишвили Н.О., Цибадзе Д.А., Иванидзе Э.А.* Действие переменного магнитного поля на противовирусную защиту клеток // *Вопр. курортол., физиотерапии и леч. физ-ры.* 1991. № 5. С. 3–5.
20. *Аратанян Э.А.* Влияние адреналина на перекисное окисление липидов у интактных крыс // *Журн. эксперим. и клин. мед.* 1981. Т. 21. № 5. С. 482–487.
21. *Владимиров Ю.А.* Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // *Биофизика.* 1987. Т. 32. Вып. 5. С. 830–844.
22. *Меерсон Ф.З., Пиенникова М.Г.* Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., 1988.
23. *Барабой В. А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // *Успехи совр. биол.* 1991. Т. 111. № 6. С. 923–931.
24. *Зінкович І.І., Якубенко О.Д., Турсунова Ю.Д., Зяблицев С.В.* Вміст циклічних нуклеотидів у плазмі крові кроликів при введенні ізадрина // *Физиол. журн.* 1992. Т. 38. № 1. С. 111–114.

Поступила 14.06.2000

Summary

The paper shows the experimental results of alternating magnetic fields H effects with various amplitude, form and frequency on osmotic resistance of erythrocytes (ORE), phagocytic activity of leucocytes (PAL), malonic dialdehyde accumulation (MDA) and albumine exit to the incubative medium. The comparative research of distribution cells forms periferal blood at newborn rats, taking place in the embrional period of development in conditions of action of a magnetic field and control is carried out. The specificity and intraspecific variability of the ORE and PAL characteristics were shown. Under the H effect the albumine exit was noted to decrease, while the MDA level increas.

М.И. Бажал

О ВЛИЯНИИ ПЕРИОДА ПОВТОРЕНИЯ ИМПУЛЬСОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭЛЕКТРОПЛАЗМОЛИЗА РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

*Украинский государственный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев-33, 01033, Украина
Département de Génie Chimique, DTAI, Université de Technologie de Compiègne,
B.P. 529-60205 Compiègne Cedex, France*

Как известно, основным внешним проявлением электроплазмолиза является увеличение проницаемости биологических тканей в результате нарушения целостности плазматических клеточных мембран во внешних электрических полях [6]. Анализ библиографических данных показывает увеличение во всем мире интереса к использованию электроплазмолиза в пищевых производствах для повышения ряда технологических показателей, стерилизации продуктов [1, 2], интенсификации процессов извлечения полезных компонентов из растительных тканей (сахара, красителей, пектина и т.п.) [3], интенсификации сушки растительного сырья [4, 5], усовершенствования методов снятия шкурки с плодов и овощей [6], повышения эффективности сокового производства [6, 7] и др.

© Бажал М.И., Электронная обработка материалов, 2001, № 1, С. 56–63.

Современный этап развития процесса электроплазмолиза требует усовершенствования методов электрообработки на основе фундаментального изучения механизмов воздействия электрических полей на такие сложные комплексные клеточные системы, как растительные ткани. В этом направлении проведен ряд успешных исследований, показавших, в частности, что вид применяемого электрического поля может быть важным фактором, влияющим на эффективность электроплазмолиза. Доказывается, что именно импульсная электрообработка является самым эффективным и экономичным методом электроплазмолиза [2].

Проницаемость клеточных мембран может возрастать как непосредственно под действием электрического поля (собственно электроплазмолиз), так и в результате проявления долговременных процессов миграции влаги из поврежденных клеток [8] за счет диффузионных и осмотических механизмов переноса [9]. С другой стороны, имеются многочисленные экспериментальные подтверждения явления ресилинга, т.е. залечивания поврежденных мембран и уменьшения проницаемости клеток, возросшей после электрообработки [10,16]. Очевидно, что результат действия этих противоположных механизмов может определяться соотношением характеристических времен миграции влаги и ресилинга. В связи с этим большой интерес представляет изучение влияния проявления вторичных эффектов на эффективность электрообработки растительных тканей.

С помощью уравнения Эйнштейна–Смолуховского ($\tau_d \sim d_c^2 / (6D)$, где τ_d – постоянная времени процесса миграции влаги, d_c – диаметр клеток, D – коэффициент диффузии) можно показать, что молекулы воды диффундируют на расстояние 10–100 мкм (характерный диапазон размеров клеток плодовоовощного сырья: яблок, свеклы и т.п. [11]) за время порядка 0,02–2 с при $D \sim 10^{-9} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$ ([12]). По некоторым экспериментальным данным [13], постоянная времени процесса ресилинга τ_r для клеток растительных тканей может быть порядка 1 с.

Отметим, что приведенные величины τ_d и τ_r имеют ориентировочные значения, так как постоянные времени вторичных процессов характеризуются сложной функциональной зависимостью от напряженности электрического поля и длины импульсов [9].

По данным работ [3, 14], продолжительность электрообработки определяется напряженностью электрического поля E и может быть от миллисекунд ($E > 10 \text{ кВ/см}$) до нескольких секунд ($E < 300 \text{ В/см}$).

Импульсная обработка характеризуется чередованием электрических воздействий (на протяжении каждого импульса) на фоне возможного действия вторичных факторов, степень проявления которых зависит от продолжительности и интенсивности электрообработки. Тогда выявить действие вторичных факторов можно, проводя электрообработку различной продолжительности, но одинаковым количеством импульсов одной длины. Таким образом, методический интерес представляет изучение влияния периодичности повторения импульсов на процесс электроплазмолиза.

В этой работе исследовалось изменение электропроводности яблочной ткани в течение электрообработки образцов прямоугольными монополярными импульсами электрического поля напряженностью 500 и 200 В/см для двух вариантов: от 1 до 15 импульсов длиной $t_i = 1 \text{ мс}$, период повторения импульсов $\Delta t = 60 \text{ с}$ (I вариант) или $\Delta t = 10 \text{ мс}$ (II вариант). Опыты проводились на яблоках сорта Golden Delicious, из срединной части которых вырезались пластинки ткани толщиной 5 мм и диаметром 55 мм. Для электрообработки образцы размещали между двумя плоскими электродами из нержавеющей стали.

Для создания плазмолизирующего поля использовался генератор прямоугольных монополярных импульсов с возможностью регулирования напряжения $u = 0\text{--}1500 \text{ В}$ ($\pm 1 \text{ В}$), длины импульсов $t_i = 10\text{--}1000 \text{ мкс}$ ($\pm 2 \text{ мкс}$), периода повторения импульсов $\Delta t = 1\text{--}100 \text{ мс}$ ($\pm 0,1 \text{ мс}$), количества импульсов $n = 1\text{--}10000$. Максимально допустимое значение тока 15 А. Сопротивление образцов определялось специальной схемой генератора, которая использует измерительные прямоугольные знакопеременные импульсы длиной 10 мс, устраняющие поляризационные эффекты, характерные для биологических объектов. Все показатели процесса электрообработки (параметры импульсного поля, ток каждого импульса i_n , сопротивление образцов) автоматически регистрировались в ASCII-файлах с помощью специально разработанного программного обеспечения (работа в операционной системе Windows 95). Лабораторная электроплазмолизационная установка и программное обеспечение созданы службой Service Electronique Компьенского технологического университета (Франция).

Изменение электропроводности образца определялось соотношением значений текущей электропроводности σ_t к ее начальному значению до электрообработки σ_i . Общий эффект электроплазмолиза оценивался из соотношения

$$e = (\sigma_f - \sigma_i) / (\sigma_{max} - \sigma_i), \quad (1)$$

где σ_{max} – максимально возможное значение электропроводности образцов, достигаемое электрообработкой; σ_f – конечная электропроводность образца.

Допускается, что электропроводность увеличивается линейно после действия каждого импульса, тогда удельный расход энергии можно определить как

$$w = \frac{\sum_{n=1}^{15} \frac{\sigma_n' + \sigma_n''}{2} u^2 t_i}{m}, \quad (2)$$

где σ_n' и σ_n'' – электропроводность образца в начале и в конце n -го импульса соответственно, u – напряжение между электродами, m – масса образца. Тогда эффективность электрообработки определяется соотношением

$$e^* = e/w. \quad (3)$$

Экспериментальные кривые изменения электропроводности образцов на протяжении действия 15 импульсов длиной 1 мс с периодичностью 60 с представлены на рис. 1. В интервале между импульсами могут наблюдаться как увеличение проводимости образцов, так и ее уменьшение (ресилинг) в течение порядка 10 с после прекращения действия импульса. Причем ресилинг в большей степени проявляется при высшей напряженности электрического поля и на стадии развитого электроплазмолиза (после прохождения 4–5 импульсов).

В некоторых работах [3] отмечается, что подобный ресилингу характер изменения электропроводности ткани также может обуславливаться остаточной поляризацией мембран. Оценим время релаксации заряда мембран $\tau_m = rc$, где r и c – сопротивление и емкость мембраны соответственно. Принимая их значения для целой ткани $C_m = 3,5 \cdot 10^{-3}$ Ф/м², $R_m = 10^5$ Ом·м, толщину мембраны $d_m = 10^{-8}$ м и размер клетки $d_c = 10^{-4}$ м (по данным [15]), получим $\tau_m \sim R_m d_m / d_c^2 C_m d_c^2 \approx 10^{-6}$ с (для плазмолизованной ткани это время будет еще меньше в связи с уменьшением R_m), что значительно меньше постоянной времени процесса ресилинга. Таким образом, наблюдаемое изменение электропроводности ткани не может объясняться явлениями остаточной поляризации мембран.

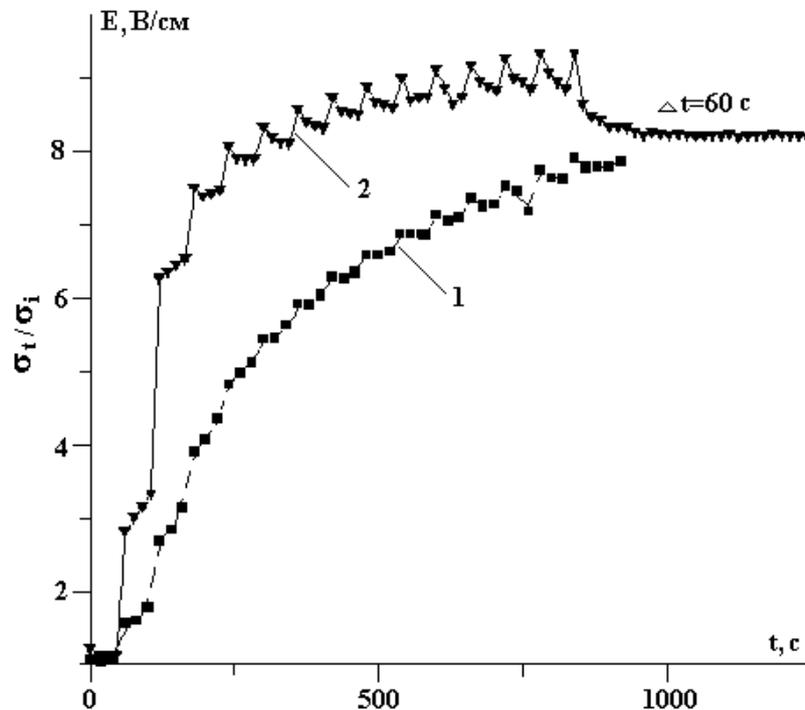


Рис. 1. Кинетика изменения относительной электропроводности образцов при $E = 200$ (1) и 500 (2) В/см для $t_i = 1$ мс, $n = 15$, $\Delta t = 60$ с (I вариант).

Степень влияния какого-либо n -го импульса (эффект импульсного воздействия) на изменение электропроводности образца может определяться выражением

$$e_n = (\sigma_n'' - \sigma_n') / (\sigma_{\max} - \sigma_i), \quad (4)$$

Тогда суммарный эффект импульсного воздействия определится как

$$e_i = \sum e_n. \quad (5)$$

Из анализа данных, представленных на рис. 1, следует, что вторичные процессы могут изменять некоторым образом электропроводность ткани в период паузы между импульсами. Тогда общий эффект электрообработки (уравнение (1)) будет отличаться от суммарного эффекта импульсного воздействия (уравнение (5)), то есть $e_n \neq e_i$. Для характеристики степени проявления вторичных процессов введем понятие индекса электроплазмолиза i_e :

$$i_e = e_i / e_n. \quad (6)$$

Индекс электроплазмолиза свидетельствует о преимущественности проявления того или иного механизма изменения электропроводности растительной ткани в результате ее электроплазмолиза (рис.2): $i_e = 1$ – вторичные процессы полностью отсутствуют или их воздействие взаимно компенсируется; $i_e < 1$ – преобладает механизм миграции влаги; $i_e > 1$ – преобладает механизм ресилинга.

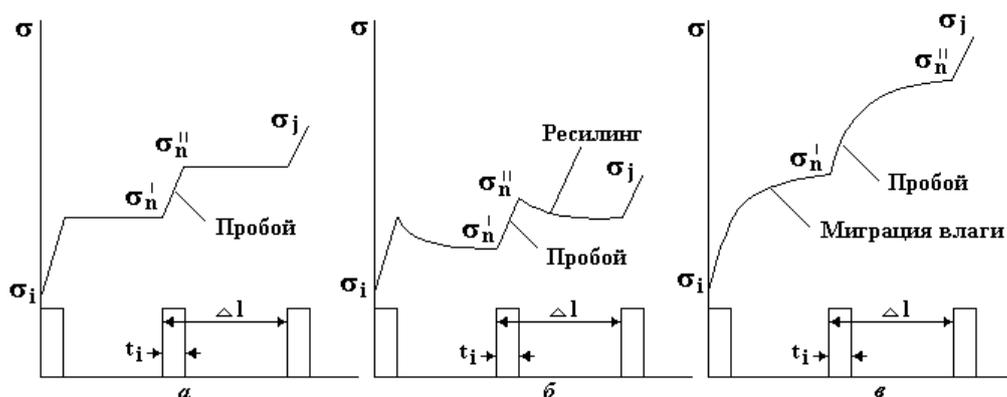


Рис. 2. Влияние электроплазмолиза и вторичных процессов на изменение электропроводности ткани.

Зависимость индекса электроплазмолиза от напряженности электрического поля (II вариант) представлена на рис. 3. Такой характер поведения экспериментальной кривой можно объяснить следующим образом. Напряженность электрического поля $E < 150$ В/см соответствует “мягким” условиям электрообработки, когда степень повреждения клеток незначительна и увеличение электропроводности обусловлено главным образом диффузионной миграцией влаги из клеток поверхности, механически разрушенных ножом в процессе подготовки образцов. Электрическое поле $E \approx 150$ В/см вызывает такой плазмолиз клеток ткани, при котором могут преобладать механизмы как ресилинга, так и миграции влаги, о чем свидетельствует разброс величин i_e в широком диапазоне значений меньше и больше единицы. Дальнейшее увеличение напряженности плазмолизирующего поля соответствует условиям такой интенсивной электрообработки, которая усиливает процессы миграции влаги и, вероятно, уменьшает возможность ресилинга.

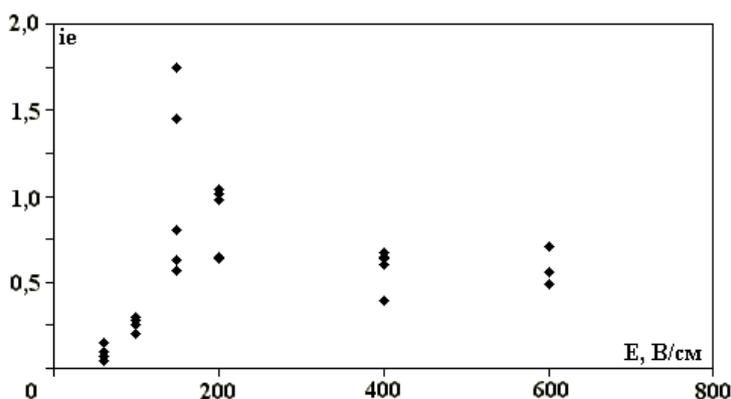


Рис. 3. Зависимость индекса электроплазмолиза от величины напряженности электрического поля.

Экспериментальные кривые изменения электропроводности образцов через 10 с после окончания электрообработки для двух протоколов импульсного поля представлены на рис. 4. Очевидно, что периодичность повторения импульсов Δt существенно влияет на кинетику и степень изменения электропроводности образцов. Это объясняется увеличением влияния вторичных процессов на величину электропроводности с возрастанием Δt (и соответственно продолжительности обработки).

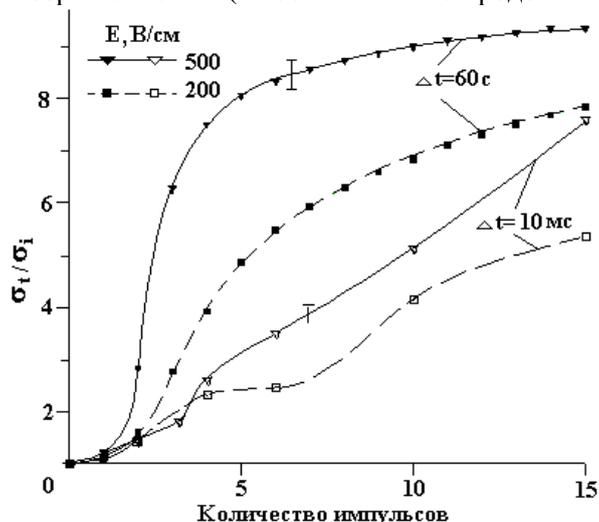


Рис. 4. Относительная электропроводность образцов в зависимости от количества импульсов при $E = 200$ и 500 В/см и двух вариантах обработки: $t_i = 1$ мс, $n = 1-15$, $\Delta t = 60$ с (I вариант), $\Delta t = 10$ мс (II вариант). Величина σ_t/σ_i определялась через 10 с после окончания электрообработки.

Способность яблок к быстрому окислению и потемнению поврежденных участков ткани делает возможным визуализацию результатов электрообработки и позволяет судить о конфигурации и характере электроплазмолиза образца. На рис. 5 представлены изображения приэлектродной поверхности пластинок яблока, обработанных по двум вариантам импульсного поля. Фотографии сделаны через 10 мин после электрообработки. Хорошо видно, что большая периодичность повторения импульсов (60 с) вызывает образование нескольких сильно затемненных сквозных участков пробоя (рис. 5,а), что и обуславливает значительное изменение электропроводности. Участки ткани между темными пятнами остаются практически нетронутыми, о чем свидетельствует сохранение ими первоначального светлого тона. В этом случае можно говорить о незначительной степени плазмолиза ткани, поскольку площадь светлых участков (целых) поверхности существенно больше темных (поврежденных). Наоборот, при использовании импульсов малой периодичности (10 мс) наблюдается относительно меньшее увеличение электропроводности ткани при однородном затемнении всей поверхности образца (рис. 5,б), хотя и меньшей интенсивности, чем отдельные пятна сквозного разрушения в первом случае (рис. 5,а).

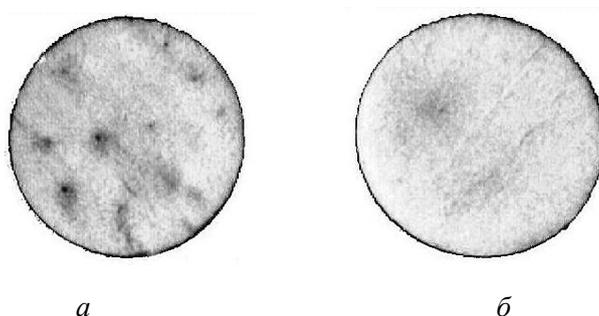


Рис. 5. Визуализация структурных изменений в образцах после импульсной электрообработки при $E = 500$ В/см, $t_i = 1$ мс, $n = 10$ и $\Delta t = 60$ с (а, I вариант), $\Delta t = 10$ мс (б, II вариант).

Такие экспериментальные результаты хорошо подтверждаются данными математического моделирования, проведенного в [9]. Анализ полученных данных позволяет предложить следующий механизм проявления вторичных процессов в ходе электрической обработки растительных тканей (рис. 6). Как известно, механическую прочность клеткам растительной ткани обеспечивает пектат-

целлюлозный каркас клеточных оболочек [11]. Обособленность клеткам придают мембраны, обтягивающие каркас и регулирующие направление, количество и тип проходящих веществ. Пектат-целлюлозный каркас образует пространство между клетками, характеризующееся значительно меньшей электропроводностью, чем внутриклеточная жидкость (сок). Таким образом, проводящие свойства ткани определяются суммарной электропроводностью клеточных оболочек (каркаса и мембран) и сока. Нарушение целостности мембран в ходе электрообработки увеличивает проводимость ткани и создает условия для диффузии влаги в межклеточник. Одновременно с этим может запускаться механизм ресилинга (рис. 6,а). Рассмотрим случай, когда миграция влаги является преобладающей, то есть $\tau_d < \tau_r$. Тогда распространяющийся сок заполняет пространство каркаса и увеличивает проводимость межклеточного пространства (рис. 6,б). Вмешательство механизма ресилинга восстанавливает мембраны и значительно снижает проводимость клеток (рис. 6,в). Таким образом, электропроводность рассмотренной системы определяется интенсивностью проявления вторичных процессов, которая в свою очередь зависит от степени плазмолиза отдельных клеток, то есть степени разрушения их плазматических мембран.

Таким образом, процесс электроплазмолиза может характеризоваться такими параметрами, как степень плазмолиза всей ткани и степень плазмолиза (степень повреждения) отдельных клеток. Под степенью плазмолиза ткани понимается отношение количества затронутых электрообработкой (поврежденных) клеток к общему количеству клеток образца. Степень повреждения отдельных клеток – это отношение площади поверхности пор в мембране к общей площади мембраны клетки.

Анализируя модель, представленную на рис. 6, можно сделать вывод, что электропроводность ткани может неоднозначно зависеть от степени плазмолиза образца. Вышеописанная модель объясняет особенности кинетики электроплазмолиза, представленные на рис. 4. На первом этапе электрообработки происходит разрушение отдельных клеток, из которых начинает мигрировать влага. Если выполняется условие $\tau_d < \Delta t$, то миграционные процессы увеличивают проводимость соседних клеток в течение паузы между импульсами и пробой ткани развивается только на этих участках даже при наличии ресилинга. Это значительно увеличивает проводимость образцов даже при низких затратах энергии, что и определяет высокую эффективность обработки в этих условиях (рис. 7). Однако это обуславливается сильной степенью повреждения клеток только отдельных участков ткани (ее сквозным пробоем), в то время как степень плазмолиза всего образца остается низкой. Таким образом, проявление механизма миграции влаги является негативным фактором. Если же $\tau_d > \Delta t$, то плазмолиз ткани имеет более однородный характер и охватывает большую часть клеток (достигается высокая степень плазмолиза ткани – более 80% [9]). Но электропроводность увеличивается преимущественно только за счет нарушения целостности мембран. Кроме того, в этом случае, видимо, влияние ресилинга усиливается, так как степень повреждения каждой клетки может быть меньше, чем после обработки по первому варианту, когда $\tau_d < \Delta t$. Вследствие этого обстоятельства эффективность обработки по второму несколько слабее при низких энергозатратах, чем по первому, однако с увеличением энергозатрат степень повреждения клеток увеличивается, влияние ресилинга ослабевает и эффективность электрообработки уравнивается для обоих вариантов (рис. 7).

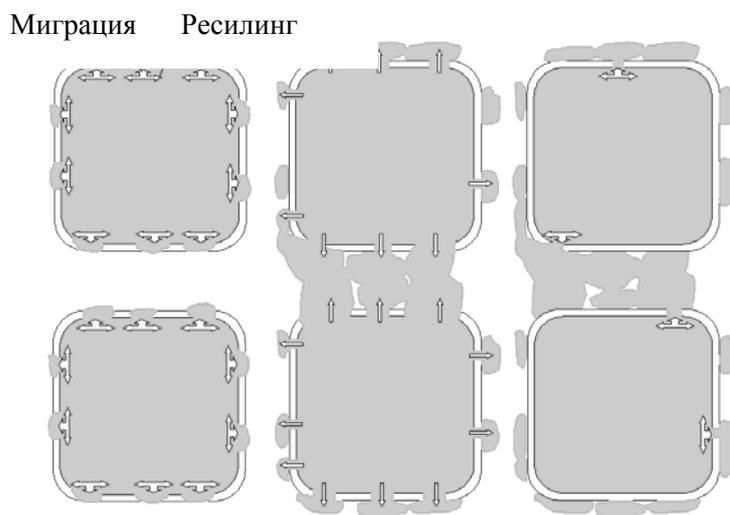


Рис. 6. Воздействие вторичных процессов на структуру ткани.

Как следует из вышеприведенного анализа данных, изменение электропроводности не всегда адекватно отражает степень плазмолиза ткани. Следовательно, может быть поставлена под сомнение корректность применения простого метода электрометрии для оценки степени и эффективности электроплазмолиза растительных тканей.

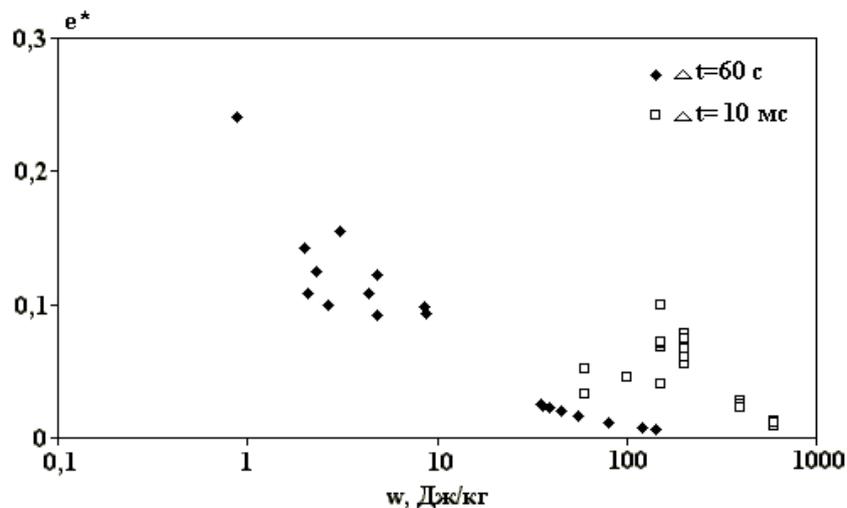


Рис. 7. Зависимость эффективности электрообработки от удельных энергозатрат при $t_i = 1$ мс, $n = 15$, $\Delta t = 60$ с (I вариант), $\Delta t = 10$ мс (II вариант).

Выводы

Доказано, что эффективность процесса электроплазмолиза существенным образом зависит от величины периода повторения импульсов, длящегося свыше 1 с причиной этого может быть проявление действия вторичных процессов, таких как миграция влаги из разрушенных клеток и ресилинг, то есть восстановление поврежденных клеточных мембран. Поскольку каждый из этих процессов характеризуется своей постоянной времени, то степень проявления того или иного механизма в различных условиях электрообработки определяется соотношением характеристических времен вторичных процессов и величиной периода повторения импульсов. Влияние как ресилинга, так и миграции влаги является негативным фактором. Периодичность повторения импульсов должна быть меньше постоянных времени вторичных процессов. Электропроводность ткани в значительной степени определяется конфигурацией пробоя клеточной системы и поэтому не может корректно характеризовать степень плазмолиза образца, которая зависит только от количества поврежденных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barbosa-Canovas G.V., Pothakamury U.R. Palou E., Swanson B.G. Nonthermal preservation of foods. New York: Marcek Dekker, 1998. P. 53–72.
2. Knorr D., Geulen M., Grahl T., Sitzmann W. Food application of high electric field pulses // Trends in Food Science & Technology. 1994. № 5. P. 71–75.
3. Гулый И.С., Лебовка Н.И., Манк В.В., Купчик М.П., Бажал М.И., Матвиенко А.Б., Папченко А.Я. Научные и практические принципы электрической обработки пищевых продуктов и материалов. Киев, 1994.
4. Бордиян В.В. Интенсификация сушки растительного сырья электроплазмолизом: Автореф. дис....канд. техн. наук. М., 1991.
5. Knorr D., Angersbach A. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization // Trends in Food Science & Technology. 1998. № 9. P. 185–191.
6. Лазаренко Б.Р., Фурсов С.П., Щеглов Ю.А., Бордиян В.В., Чебану В.Г. Электроплазмолиз. Кишинев, 1977.
7. Bazhal M.I., Vorobiev E.I. Electric treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing // J. Sci. Food Agric. 2000. V. 80. P. 1–7.
8. Бажал М.И., Гулый И.С., Купчик М.П., Лебовка Н.И., Манк В.В. Моделирование процессов разрушения биологической ткани при наличии процессов диффузионной миграции влаги // Электронная обработка материалов. 1992. № 2.

9. *Lebovka N.I., Bazhal M.I., Vorobiev E.I.* Correlated percolation patterns in PEF damaged cellular material // Condensed Matter, abstract 0005252 (16/05/2000) URL: <http://arXiv.org/abs/cond-mat/0005252>
10. *Kinosita K., Tsong T.Y.* Formation and resealing of pores of controlled sizes in human erythrocyte membrane // Nature, 1977. V. 268. P. 438–441.
11. *Aguilera J.M., Stanley D.W.* Microstructural principles of food processing and engineering. Aspen Publishers : Gaithersburg, 1999.
12. *Gekkas V.* Transport phenomena of foods and biological materials. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992.
13. *Knorr D., Heinz V., Angersbach A., Lee D.-U.* Membrane permeabilization and inactivation mechanisms of biological systems by emerging technologies // Proceedings of Eighth International Congress on Engineering and Food, Puebla, Mexico, 9-13 April, 2000, P. 15.
14. *Чебану В.Г.* Повышение эффективности электроплазмолиза растительного сырья: Автореф. дис....канд. техн. наук. Киев., 1987.
15. *Lebovka N.I., Bazhal M.I., Vorobiev E.I.* Simulation and experimental investigation of food material breakage using pulsed electric field treatment // Journal of Food Engineering, 2000. V. 44. № 4. P. 213–223.
16. *Bamett A., Weaver J.C.* Electroporation: a unified, quantitative theory of reversible electrical breakdown and rupture // Bioelectrochem. Bioenerg. 1991. V. 25. P. 163–182.

Поступила 25.09.2000

Summary

The paper shows original experimental data on the pulsed electric field treatment of vegetable tissue. A 5 mm × 55 mm cylindrical slab of apple is taken as a sample the influence of pulse repetition time on the effectiveness of vegetable tissues electroplasmolysis was approved. It was hypothetical opinion that evolution of the vegetable tissue electrodistraction is governed by three key processes: plasmolysis and two secondary processes such as moisture transfer inside the cellular structure and resealing of ruptured cells. As the result, electroplasmolysis index was proposed as an indicator of the effect degree of this secondary processes. In addition, influence of the moisture transfer and resealing on the energy consumption was analyzed.
