



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA

**BIOAKTÍV ÉLELMISZER-HATÓANYAGOK KINYERÉSE FŰSZER-
ÉS GYÓGNÖVÉNYEKBŐL SZUPERKRITIKUS FLUID EXTRAKCIÓ
ÉS MIKROHULLÁMÚ VÍZGŐZ-DESZTILLÁCIÓ ALKALMAZÁSÁVAL**

TÉZISFÜZET

Készítette:
András Csaba Dezső
okl. vegyészmérnök

Témavezetők:

Dr. Simándi Béla
egyetemi tanár

Dr. Székely Edit
egyetemi docens

Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék
2017

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az utóbbi évtizedben megnőtt a kereslet a természetes adalékanyagok iránt, ezért az élelmiszeripar nagy mennyiségben használ fűszer- és aromanövényeket (aroma, színezék, antioxidáns, táplálék-kiegészítők, stb.), sokszor a természetesnél nagyobb koncentrációban, ezért kivonatkora van (extraktum, desztillátum vagy préssel kinyert lé alakban) szükség. Az élelmiszerek minőségi előírásai szigorúak, különösen fontos szempont a termékek szerves-oldószer mentessége. Ezt gyakorlatilag csak két (nem mechanikai) elválasztási módszerrel lehet elérni: szuperkritikus fluid extrakció (majdnem kizárólag szén-dioxid oldószerrel), illetve vízgőz-desztilláció alkalmazásával. A szuperkritikus fluid oldószerek legfontosabb előnyei az oldóképesség „hangolhatósága” a műveleti paraméterekkel (nyomás és hőmérséklet), valamint a magas behatoló képesség, ami a nagy diffúziós együttható, az alacsony viszkozitás és a megközelítően nulla felületi feszültség következménye.

A szén-dioxidot alacsony kritikus hőmérséklete (31,1 °C) különösen alkalmassá teszi szuperkritikus fluid oldószerként (SCCO₂) hőérzékeny komponensek kíméletes kivonására, moderált kritikus nyomása (7,38 MPa) pedig biztosítja a szuperkritikus fluid állapot viszonylag egyszerű technológiai megvalósíthatóságát. Másik nagy előnye, nem gyúlékony és teljesen eltávolítható az extraktumból, mivel légköri nyomáson elpárolog, és még abban az esetben is teljesen ártalmatlan, ha nyomokban (kémiai vagy fizikai kötésekkel) benne is maradna a kivonatban. Hátránya között tartják számon, hogy üvegházhatású gáz, de ez technológiai szempontból nem releváns, mivel az üzemi rendszerekben zárt ciklusban működnek, ezért az esetleges baleseti kibocsátás elhanyagolható (erőműi kibocsátásokhoz viszonyítva) és csak lokálisan jelenthet pillanatnyi veszélyt. Gazdasági szempontból a második legolcsóbb oldószer (a víz után), és nagy mennyiségben, élelmiszeripari tisztaságban (fermentációs ipari melléktermék) rendelkezésre áll. Összefoglalva, majdnem kielégíti az oldószerekkel szemben támasztott összes követelményt. Egyetlen hátránya, hogy csak apoláros vagy gyengén poláros komponenseket old, ez egyfelől

tekinthető akár előnynek is (szelektivitás), másfelől segédoldószerek alkalmazásával ez részben kiküszöbölhető.

A dolgozat alapját képező kutatómunka három fő témakörbe csoportosul. A legelső időszakban a szuperkritikus fluid extrakció megismerése és gyakorlati alkalmazásai a növényi extraktumok előállításának vizsgálatához kötődik. Ezt követően a mikrohullámú vízgőz-desztillációs berendezés fejlesztése és vizsgálata volt fókuszpontban. Az utolsó részben a szuperkritikus fluid szén-dioxidos extrakcióhoz szorosan kötődő két fontos kérdést tárgyalása került vizsgálatra, az elméleti modellezés eszközeivel.

A doktori munkám első célja elsősorban a szuperkritikus fluid extrakció műveleti paramétereinek (nyomás és hőmérséklet) hatását vizsgálni egy adott növényi minta apoláros komponenseinek kivonására. A kivonás hatékonyságát jellemző mennyiség a kihozatal volt, itt a kísérlettervezés módszerét kívántam alkalmazni a paraméterek optimális értékének becslésére. A módszer hatékonyságának bizonyítására a SCCO₂ oldószerezrel kivont minta kihozatalát és összetételét kívántam összehasonlítani a hagyományos, laboratóriumi Soxhlet-extraktorról (*n*-hexán oldószerezrel) kinyert extraktumok mennyiségével és minőségével. Olyan esetekben, amikor a növény illó- és zsíros olajokat is tartalmaz, egy újabb cél volt a komponenscsoportok minél hatékonyabb elválasztása volt egy két-szeparátoros félüzemi extraktorban, változtatva a nyomást és a hőmérsékletet a szeparátorokban.

A később megjelenő új célkitűzés egy saját fejlesztésű mikrohullámos vízgőz-desztillációs berendezés megépítése és tesztelése lett, mivel a hagyományos vízgőz-desztillációs kísérletek során kiderültek a módszer korlátai és szükségesnek látszott a művelet gyorsítása. A berendezés teszteléséhez az édesköményre esett a választás, mivel magas illóolaj-tartalmú növény, melynek komponensei jól ismertek és ezért kiválóan alkalmas műveleteket összehasonlító vizsgálatok elvégzéséhez. Mivel a kivonási művelet technológiai szempontból fontos jellemzője a kivonás időbeli lefolyása, ezért a berendezést alkalmassá kívántam tenni a kinetikai mérések elvégzésére is.

solvent mixtures, 50th Anniversary Hansen Solubility Parameters Hansen Solubility Parameters Conference, 5-7 April 2017, York, UK.

15. **András, Cs.D.**, Albert, Cs., Albert, B., Miklóssy, I.: A szuperkritikus szén-dioxid baktericid és spóraölő hatásának feltételezett molekuláris mechanizmusa, 11th International Conference of Chemistry, Kolozsvár, 11-13 november, 2005, p. 292-295, (ISBN: 973-7840-07-0).

Előadások hazai konferenciákon

16. **András C.D.**, Simándi B., Deák A., Lambrou, Ch., Missopolinou-Tatala, D., Panayiotou, C., Domokos J.: Hibiszkusz mag (*Abelmoschus esculentus* L.) szuperkritikus extrakciója, Műszaki Kémiai Napok 2000., Veszprém 2000. április 25-27, p. 257-258.
17. **András, C.D.**, Bartha, Z., Kapás, Á., Székely, G., György, É., Salamon, Sz., Salamon, R., Csajági, Cs.: Édeskömény (*Foeniculum vulgare* Mill.) illóolaj kinyerése mikrohullámú vízgőzdesztillációval és szuperkritikus állapotú szén-dioxiddal. *Szuperkritikus Oldószerek Műveleti és Analitikai Alkalmazásai*, Budapest, 2008. május 22, p. 17, (ISBN 978-963-420-950-8).
18. **András, Cs.D.**, Székely, M., Salamon, Sz.: A boróka (*Juniperus communis* L.) illóolajának kinyerése mikrohullámú vízgőzdesztillációval. *Vegyészkonferencia Szerves és gyógyszerkémia*. Hajdúszoboszló, június 19-21., 2008, p. 48, (ISBN 978-963-9319-76-9).
19. **András Cs.D.**, Kibédi Szabó Cs.Z., Salamon R.V.: Szuperkritikus állapotú fluidumok (CO₂, N₂O) antimikrobiális hatásának mechanizmusai *Szuperkritikus Oldószerek Műveleti és Analitikai Alkalmazásai*, Budapest, 2012 május 24., p. 17, (ISBN 978-963-313-057-5).
20. **András C. D.**, Mátyás L., Salamon R.V., Szép Al. S.: Hansen oldékonysági paraméterek szuperkritikus fluid állapotú CO₂-poláris modifikátor keverékekben, *Szuperkritikus Oldószerek Műveleti és Analitikai Alkalmazásai*, Budapest, 2015. május 21, p. 29, (ISBN 978-963-313-179-4).

Könyv, könyvfejezet

21. Dormán, G., Flachner, B., Hajdú, I., **András C.D.**: Target identification and polypharmacology of nutraceuticals, p. 263-286., *In: Ramesh C. Gupta (ed.): Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*. Amsterdam, Elsevier Academic Press, 2016 (ISBN: 9780128021477).
22. Szép A., Molnos É., **András C.D.**: Transzportfolyamatok és Művelettan. II. Művelettan, Editura Cermei, Iași, 2017 (ISBN 978-973-667-457-0).

A tézisekhez tartozó cikkek száma, össz-impakt faktora és idézettsége: 4-3,501-45
Teljes h-index: 5

carvone/limonene ratio, *Environmental Engineering and Management Journal*, 14 (2), 2015, p. 341-347. (IF 1,008; Idézés: 2).

Cikkek magyar nyelvű folyóiratokban

6. **András, Cs.D.**, Kapás, Á., Bartha, Z., Salamon, R., Csajági, Cs., Székely, G., Salamon, Sz., György, É.: Édeskömény (*Foeniculum vulgare* Mill.) illóolaj kinyerése mikrohullámú vízgőzdesztillációval és szuperkritikus állapotú szén-dioxiddal, *Olaj Szappan Kozmetika*, 58, 2009, p. 66-72, (ISSN 0472 8602).
7. **András, Cs.D.**, Simándi, B., Farsang, R., Hamucska, K., Héthelyi B.É., Domokos, J., Deák, A.: Fűszerkömény (*Carum carvi* L.) extrakciója szuperkritikus szén-dioxiddal, (Extraction of caraway (*Carum carvi* L.) seeds with supercritical carbon dioxide). *Olaj Szappan Kozmetika*, 51, 2002, p. 64-68, (ISSN 0472 8602).

Előadások nemzetközi konferenciákon

8. **András, C.D.**, Simándi, B., Deák, A., Örsi, F., Lambrou, Ch., Missopolinou-Tatala D., Panayiotou, C., Domokos, J.: Hibiszkusz mag (*Hibiscus esculentus* L.) szuperkritikus extrakciója, *7th International Conference of Chemistry*, Félixfürdő, 16-18 nov., 2001, p. 21. (ISBN 973-7840-07-0)
9. **András, Cs.D.**, Soó, A., Salamon, Sz., Pál, P., Bartha, Z., Székely, G.: Cickafark (*Achillea millefolium* L.) mikrohullámú vízgőzdesztillációja, *13th International Conference of Chemistry*, Kolozsvár, 8-10. november, 2007, p. 25, (ISSN: 1843-6293).
10. **András, Cs.D.**, György, É., Bartha, Z., Salamon, Sz., Székely G.: Mikrohullámú vízgőzdesztillációval előállított édeskömény illóolaj (*Foeniculum vulgare* Mill.) vizsgálata, *13th International Conference of Chemistry*, Kolozsvár, 8-10 november, 2007, p. 116, (ISSN: 1843-6293).ü
11. **András, C.D.**, Kapás, Á., Salamon, R.V., Salamon, Sz., Bartha, Z., Székely, M., Pál, P., Csajági, Cs.: Metode moderne de obținere a substanțelor bioactive din plante, *Zilele Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului Ed. a V-a*. Iași, 19-21 noiembrie 2008, p. 358-363.
12. **András C. D.**, Mátyás L., Salamon R.V., Szép Al. S., Csapó J.: Szuperkritikus fluid állapotú oldószerkeverékek Hansen oldékonysági paraméterei és gyakorlati jelentősége, *21th International Conference on Chemistry*, Csíksomlyó, 2015 szeptember 23-27. p. 25, (ISSN 1843-6293).
13. **András, C.D.**, Mátyás, L., Komlósi, E., Salamon, R.V., Szép A.S.: New aspects and technological importance of Hansen solubility parameters in supercritical extraction processes, *12th International Conference of Food Physicists*, Debrecen, 6-8 July 2016.
14. **András, C.D.**, Mátyás, L., Ráduly, B., Salamon, R.V.: A novel representation method of Hansen solubility parameters for supercritical fluid

Az új berendezés beüzemelése után kézenfekvő volt annak alkalmazása egy hagyományos gyógy és fűszernövény (fűszerkömény) illó komponenseinek kinyerésére. A kutatással egyben célt volt feltérképezni a szárítási módozat, az őrlési idő, a termőhely, a kinyerési módszer befolyását (mikrohullámú előkezelés termikus fűtésű és mikrohullámú vízgőz-desztilláció, és SCCO₂ extrakció) a kihozatalra és a kinyert illóolaj két fő összetevőjének arányára is.

A szuperkritikus fluid extrakció megismerése során két újabb fontos probléma merült fel, mely két további alapvető célkitűzéshez vezetett.

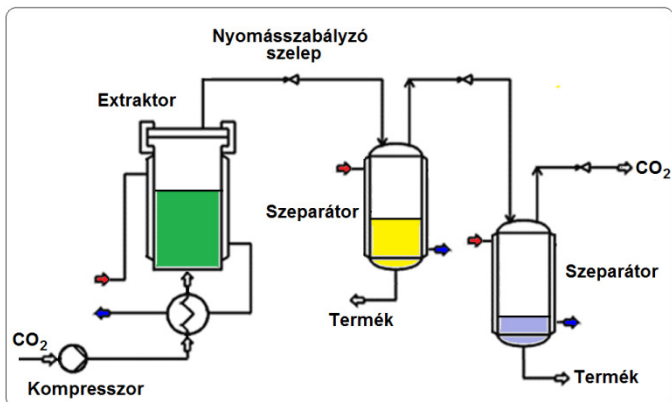
A SCCO₂ alig oldja a polárosabb komponenseket, ezért a segédoldószeres extrakció területén felmerült a keverék oldószeres oldóképességének előrejelezhetősége. Újabb céllá vált egy új („shortcut”) mérnöki megközelítésű számítási módszer kidolgozása, amivel jól és gyorsan becsülhetők a szuperkritikus oldószerkeverégek oldóképessége. A lehetőséget a Hansen paraméterek nyomás- és hőmérséklet-függése egyszerűsített számítási módjának kidolgozásában láttam.

A másik elméleti célkitűzés a SCCO₂ antimikrobiális hatásának egy, a jelenlegi mechanizmusoknál átfogóbb, általánosabb, molekuláris biológiai alapokon nyugvó magyarázata, mivel a szakirodalom tanulmányozása során nyilvánvalóvá vált, hogy ez a probléma nem teljesen tisztázott. Egy működő biológiai mechanizmus ismeretében hatékonyabbá válhatnak a szuperkritikus fluidumokkal történő pasztörözési technológiák, jobban megismerhetjük ezek lehetőségeit és határait, valamint biztonságosságát.

2. ALKALMAZOTT KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

2.1 Növényi bioaktív anyagok kivonási módszerei

Kísérleti munkám során a hatóanyagokat elsődlegesen SCCO₂-dal vontam ki. az 1. ábrán látható félüzemi méretű extraktor berendezés segítségével.



1. ábra. A félüzemi szuperkritikus extrakciós berendezés folyamatábrája.

Az oldószerként élelmiszeripari tisztaságú szén-dioxidot alkalmaztam. A fémpalackban tárolt folyékony szén-dioxidot nagynyomású membránszivattyú komprimálja a kívánt nyomásra ($p_{\max}=60$ MPa), az előmelegítőben a kritikus hőmérséklete fölé ($T_{\text{krit}}=31,1$ °C), majd a beállított hőmérsékletre melegedik. Az extraktorban a növényi töltetágy rétegen átáramolva az oldható komponenseket kioldja, ezek a lépcsőzetes nyomáscsökkentést követően a szeparátorokban válnak le (frakcionált extrakció). A berendezés egy szeparátorral is működtethető, ha nem kívánunk frakciókat gyűjteni. Továbbá, egy nagynyomású dugattyús szivattyú segítségével a SCCO₂-hoz poláris modifikátor adagolható

Az illó komponensek kinyerésére saját fejlesztésű és építésű mikrohullám-fűtésű vízgőz-desztillációs berendezést használtam (2. ábra). A bemért növényi örlemény szuszpenzióját a lombikba töltve összeszereljük a készüléket, majd a hűtővizet áramoltatva és a forgást elindítva beindítható a mikrohullámú készülék is.

extrakció, kromatográfia és részecskeformázás egyszerűbb tervezhetőséghez. A módszer jelentősége a paraméterek változási trendjének korrelálása a kísérlettervezéssel kapott eredményekkel, ami a szuperkritikus fluid közegben végbemenő folyamatok költséghatékonyságának növeléséhez vezethet. A Hansen-tér terner diagrammá történő transzformálásával több információ vihető fel egy ábrára és így vizuálisan is követhető egy szuperkritikus fluid oldószerkeverék oldóképességének változása az összetétel és a műveleti paraméterek függvényében.

A SCCO₂ antibakteriális hatásmechanizmusának megértésében a modell egy nagy lépést jelenthet, elősegítheti a szuperkritikus sterilizálás ipari bevezetését, mivel éppen a pusztulási mechanizmusok teljes megértésének hiánya növeli a biztonsági kockázatokat, és ez a jelentős akadály a innovatív, nem termikus feldolgozási módszer elfogadásának. A modell közvetett hatással lehet új antibiotikumok fejlesztésére, a riboszomális gépezet szelektív célpontjainak hatékonyabb támadásával.

7. PUBLIKÁCIÓK (a PhD témához kötődő publikációk)

Cikkek nemzetközi folyóiratokban

1. **András, C.D.**, Simándi, B., Örsi, F., Lambrou, Ch., Missopolinou, D., Domokos, J., Doleschall, F., Panayiotou, C.: Supercritical carbon dioxide extraction of okra (*Hibiscus esculentus* L.) seeds, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (8), 2005, p. 1415-1419. (IF 0,996; Idézés: 25)
2. Nagy, B., Simándi, B., **András, C.D.**: Characterization of packed beds of plant materials processed by supercritical fluid extraction, *Journal of Food Engineering*, 88 (1), 2008, p. 104-113. (IF 2,081; Idézés: 16)
3. **András, C.D.**, Csajági, C., Orbán, K.C., Albert, Cs., Ábrahám, B., Miklóssy, I.: A possible explanation of the germicide effect of carbon dioxide in supercritical state based on molecular-biological evidences, *Medical Hypotheses*, 76 (2), 2010, p. 325-329. (IF 1,389; Idézés: 11)
4. Kapás, A., **András, C.D.**, Dobro, T.Gh., Vass, E., Székely, G., Stroescu, M., Lányi, S., Ábrahám, B.: The kinetic of essential oil separation from fennel by microwave assisted hydrodistillation (MWHd). *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science* 73 (4), 2011, p. 113-120, ISSN 1454-2331, ((IF 0,327; Idézés: 8).
5. **András, C.D.**, Salamon, R.V., Barabás, I., Volf, I., Szép A.: Influence of extraction methods on caraway (*Carum carvi* L.) essential oil yield and

extrakciós tartományba és poláris modifikátor koncentráció esetén a CO₂-etanol elegyekre ábrázoltam a Hansen-diagramot [12-14,20].

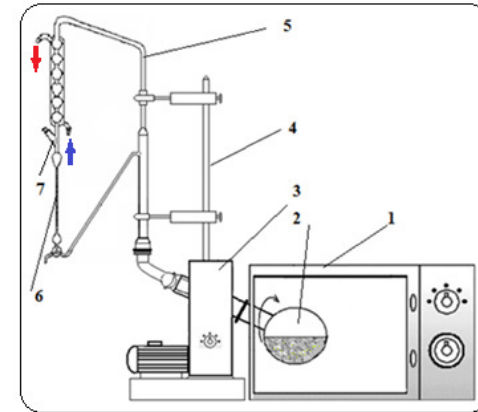
5. A SCCO₂ baktericid hatására egy teljesen új, molekuláris biológiai mechanizmus modelljét alkottam meg, ami a bakteriális fehérjeszintézis iniciációs lépésének gátlásán alapul. Megalapozottan feltételeztem a SCCO₂ addícióját a metionin amino-csoportjára, karbamoil-metionin képződésével. Szerkezeti analógiát figyeltem meg egy nagyon aktív iniciációs faktor 2-höz kötődő molekula (N-formil-L-tiroxin) és a cMet-tRNS^{fMet} között. [3,15]. A *P. aeruginosa* IF2 C-2 doménre dokkoltam a fMet-tRNS^{fMet}, a cMet-tRNS^{fMet}, valamint az N-formil-L-tiroxin molekulákat, és azt találtam, hogy a cMet-tRNS^{fMet} kötődési energiája az fMet-tRNS^{fMet} több, mint kétszerese az iniciátor-molekula kötődési energiájának [19]. Részletesen kidolgoztam a gátlás forgatókönyvét, leírtam annak lehetséges következményeit, továbbá javaslatot tettem a hipotézis bizonyítására alkalmas kísérleti módszerre. A modell nem mond ellen a legfrissebb irodalmi adatok sem.

6. ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEK

A szuperkritikus szén-dioxid oldószerként történő alkalmazása növényi hatóanyagok kinyerésére mára már fontos ipari gyakorlattá vált. Doktori munkámban bemutattam olyan, működő kísérleti és elemzési módszert, amivel megvalósítható a félüzemi méretű, kétszeparátoros extrakciós berendezés műveleti paramétereinek optimalása egy adott növényi mátrix esetén, több vegyülettípusba tartozó komponens elválasztására.

A kifejlesztett mikrohullámos vízgőz-desztillációs berendezés alkalmas laboratóriumi illóolaj kinyerésre, a desztilláció gyorsabb, mint a hagyományos készülékkel és kivonás kinetikájának mérésére is alkalmas.

A Hansen-paraméterek számítására kidolgozott új módszer lehetőséget ad tervezett („designer”) szuperkritikus fluid oldószerkegyek könnyebb létrehozására, és hozzájárulhat az



2. ábra. A mikrohullám fűtésű vízgőz-desztillációs berendezés vázlata: 1- mikrohullámú készülék, 2- lombik, 3- rotációs bepárló, 4- tartóállvány, 5- Clevenger feltét, 6-mérőcső, 7- biztonsági szelep/csiszolatos dugó.

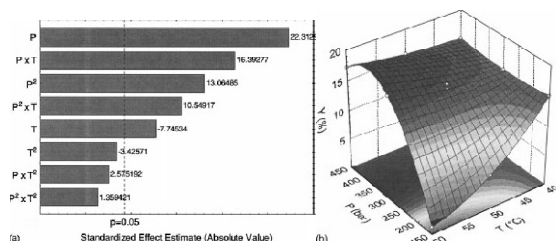
3. EREDMÉNYEK

3.1. Okra-mag kivonásának vizsgálati eredményei

Az okra-magból a zsíros olajok és a fontosabb zsírdékony komponensek (β -szitoszterol, α - és γ - tokoferol) kivonásának kihozatalát vizsgáltam.

A nyomás és a hőmérséklet hatását a szuperkritikus extrakció kihozatalára 3² teljes faktoriális kísérlet-tervvel határoztam meg, a kísérletterv középpontjában három ismétléssel. A felső nyomásérték 45 MPa (ez a berendezésben megengedett nyomáshatára), az alsó nyomásértéknek 15 MPa nyomást választottunk. A hőmérséklet felső szintjét (60 °C) úgy határoztam meg, hogy elkerüljük az érzékenyebb komponensek hőbomlását, míg az alacsonyabb szintnek (40 °C), kissé a szén-dioxid kritikus hőmérséklete fölötti értéket választottam. A kihozatalt a hatékonyság mértékének tekintettem. A Pareto diagramból (3a ábra) az figyelhető meg, hogy a hatások közül a nyomás lineáris és négyzetes tagjának, valamint a nyomás és hőmérséklet kölcsönhatásának van a legjelentősebb befolyása a kihozatalra, ez utóbbi tag tulajdonképpen a sűrűség hatását tükrözi. Más tagok is statisztikailag szignifikáns hatásúak, de ezek a hatások kicsik. A 3b ábrán a válaszfelületet látható, amelyről megállapítható

az optimális műveleti tartomány, illetve a szenzitivitás is, ami a felület meredekségéből állapítható meg.



3. ábra. A kivonás során alkalmazott műveleti paraméterek(nyomás (P) és hőmérséklet (T) hatásai az olajhozamra (Y):
(a) Pareto-diagram, (b) Az olajkihozatal válaszfelülete

Hasonlóan határoztam meg a műveleti paraméterek hatását az olajminták össz-szterol tartalmára. Itt a főhatások a nyomás, valamint a nyomásnak és a hőmérsékletnek együttes hatása, ami a szterol-kihozatala a legnagyobb mértékben befolyásolja.

A vizsgált tartományban a legnagyobb kihozatalt $p=45$ MPa nyomás- és $T=60$ °C hőmérséklet értékekkel sikerült elérni.

Az olajkihozatal és a szterol-kihozatal válaszfelületei nagymértékű hasonlóságot mutatnak, ez egyben azt is jelenti, hogy az olaj és a szterolok kivonás nem független. A teljes szterol-mennyiségből hozzávetőlegesen 100 g kg^{-1} szabad β -szitoszterol. Az extraktumok összetételét az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat. Különböző módszerrel kivont komponensek kihozatalai

	SFE (450 bar, 50 °C)	Soxhlet (<i>n</i> -hexán)	Soxhlet (etanol)
Olaj kihozatal (g kg^{-1} sz.a.)^a	159,6 (4,8)	163,1 (5,6)	207,4 (9,4)
β-szitoszterol konc. (g kg^{-1})^b	15,0	12,3	12,9
β-szitoszterol (g kg^{-1} sz.a.)^b	2,39	2,01	2,68
α-tokoferol konc. (mg kg^{-1})^b	930	780	620
α-tokoferol (mg kg^{-1} sz.a.)^b	148	127	129
γ-tokoferol koncentráció (g kg^{-1})^b	2,55	2,33	2,38
γ-tokoferol (mg kg^{-1} sz.a.)^b	407	380	494

^a Háromszoros ismétlésben; zárójelben a standard deviancia értéke

^b Két mérés átlaga

pedig lényegesen nagyobb karvon/limonén arányt mértem a vízgőz-desztilláció termékéhez viszonyítva. Bizonyítottam, hogy egyaránt magas zsíros és illóolaj-tartalmú növényi őrlemény esetén szuperkritikus extrakció, a folyamat optimalásával alkalmas a frakcionált extrakció megvalósítására [7]. Megállapítottam, hogy szuperkritikus extrakció esetén a nyomás növelésének hatására az illékonyabb komponens aránya növekvő tendenciát mutat. A nyomástól függetlenül, a szakaszosan végzett kísérletek mintáiból lecsapolt illóolaj limonén-tartalma csökken a csapolási idő növekedésével. Ez azt tükrözi, hogy a kivont illékonyabb komponens hamarabb leválik a növényi töltetről, mint a nagyobb molekulatömegű karvon [5].

- Kifejlesztettem és megépítettem egy mikrohullámos vízgőz-desztilláló berendezést, ami eltér a forgalomban lévő készülékektől. A Clevenger-feltét módosításával lehetővé vált a kinyerési kinetika meghatározása. Elsőként határoztam meg és hasonlítottam össze az édeskömény illóolaj-kinyerési kinetikáját a termikus (VD) és mikrohullám-fűtésű vízgőz-desztillációra (MVD). Bizonyítottam, hogy a VD és az MVD azonos kinetikai modellel írható le. A kivonás gyorsítás MVD esetén a részben a kezdeti felfűtési idő lerövidülésének tulajdonítható, ami a forgás következtében kialakuló konvekció hőátadás-növelő hatásának tulajdonítható. A készülék alkalmas a laboratóriumi vízgőz-desztilláció gyorsabb megvalósítására, mivel adott növényi mátrixból közel azonos mennyiségű és összetételű illóolaj kinyerésére alkalmas, mint a VD-készülék, sokkal rövidebb idő alatt [4,6,9-11,17,18].
- Kidolgoztam egy felületillesztésen alapuló („shortcut”) számítási módszert a szuperkritikus fluid keverékoldószerke Hansen-paramétereinek gyors becslésére. A módszer újdonsága a komponensek számítási módja. Megállapítottam, hogy a szuperkritikus oldószer a Hansen-térben nem egy pontot foglal el, hanem egy felületet (a hőmérséklet és a nyomás függvényében). A szuperkritikus oldószerkeverékek esetén ez egy térrészé („felhővé”) degenerálódik. A szokványos

4. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

1. Elsőként vontam ki okra-magból szuperkritikus CO₂ oldószerrel, félüzemi extraktorral zsíros olajokat és zsírdékony bioaktív komponenseket (β -szitoszterol, α - és γ -tokoferol) és optimalizáltam a folyamatot úgy zsíros olajokra, mint az értékes lipofil bioaktív hatóanyagokra. Összehasonlító vizsgálattal bizonyítottam, hogy az okra-mag esetén a SCCO₂ megfelelő oldószer az értékes komponensek kinyerésére, mivel az *n*-hexános kivonathoz hasonló összetételű és mennyiségű extraktum nyerhető, de a megmaradó őrlemény nem tartalmaz oldószermaradékot, így további kezelést nem igényel. A vizsgálati módszer alkalmas a szuperkritikus félüzemi extrakció paramétereinek optimalizálására. A nyomás és a hőmérséklet hatását a szuperkritikus extrakció össz- valamint a bioaktív komponensek kihozatalára 3² teljes faktoriális kísérlet-tervvel határoztam meg. Igazoltam, hogy szignifikáns hatások a nyomás lineáris és négyzetes tagjai, valamint a hőmérséklet- és nyomás kölcsönhatása, vagyis az oldószer sűrűségéhez köthető tagok. A β -szitoszterol, illetve a tokoferolok kihozatala hasonló profilt mutat a zsíros olajokat kihozatali profiljával, így megállapítható, hogy ezek nem függetlenek egymástól, így koextrakcióról beszélhetünk. Kimutattam, hogy a válaszfelület módszerrel meghatározhatóak az optimális műveleti paraméterek és a válaszfelület meredekségéből a szenzitivitás is [3,8,16].
2. Elsőként valósítottam meg a fűszerkömény mag zsíros- és illóolajának frakcionált szeparációval kapcsolt szuperkritikus extrakcióját félüzemi, két-szeparátoros berendezéssel. A kísérlettervezés, a válaszfelület és a variancia-analízis módszerével megállapítottam a legjobb szétválasztást biztosító szeparátor-paramétereket. Az elválasztásra szignifikáns tényezőknek az első szeparátor nyomása és hőmérséklete bizonyultak. A fűszerkömény illóolajának két fő összetevője a karvon és a limonén, amelyek aránya a desztillált illóolajban, az *n*-hexános kivonatban és a 2. szeparátor termékében hasonló volt. Az 1. szeparátor olajában kisebb, az alkoholos kivonatban

Vizsgáltam továbbá a különböző oldószerekkel kivont zsíros olaj zsírsav-összetételét is, az eredményeket a 2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat. Az okra magolaj zsírsavösszetétele

Zsírsav összetétel	Extrakciós módszer		
	SFE	<i>n</i> -hexán	etanol
Palmitinsav (C ₁₆)	31,6	32,6	29,9
Sztearinsav (C ₁₈)	3,4	2,8	3,2
Olajsav (C _{18:1})	17,2	16,1	17,4
Linolsav (C _{18:2})	46,0	47,4	47,5
Linolénsav (C _{18:3})	1,3	1,2	1,3
Arachidonsav (C ₂₀)	0,5	-	0,2
Behénsav (C ₂₂)	-	-	0,2
Erukasav (C _{22:1})	-	-	0,3
Telítetlen/telített arány	1,82	1,83	1,98

3.2. A fűszerkömény extrakció eredményei

3.2.1. A fűszerkömény kivonat frakcionált SC-extrakciója

Ebben a kutatási részben a magas kihozatal mellett a zsíros- és illó komponensei elválasztásának lehetőségét vizsgáltam fűszerköményből, SCCO₂ oldószeres extrakcióval, ezt a módszert szuperkritikus frakcionált extrakciónak nevezzük. A kivonást az előkísérletek során megállapított műveleti paramétereken (p_E=450 bar, T_E=50 °C) végeztem, az optimális szeparátor-paramétereket a kísérlettervezés módszerével határoztam meg. Az 1. ábrán feltüntetett két szeparátor nyomását és hőmérsékletét változtatva vizsgáltam a szeparátorokban levált extraktumok összetételét. A kísérletterv eredményeiből megállapítható, hogy a 2. szeparátorban nagyobb hányadban van jelen illóolaj, míg az 1. szeparátorban inkább nem illó frakció halmozódik fel, a legnagyobb tisztaságú zsírosolaj (0,7-0,8% illóolaj-tartalom) T_{SZ1}=21-31 °C és p_{SZ1}=8-9 MPa tartományban érhető el. Az elválasztásra szignifikáns tényezőknek a szeparátor nyomása és hőmérséklete bizonyultak.

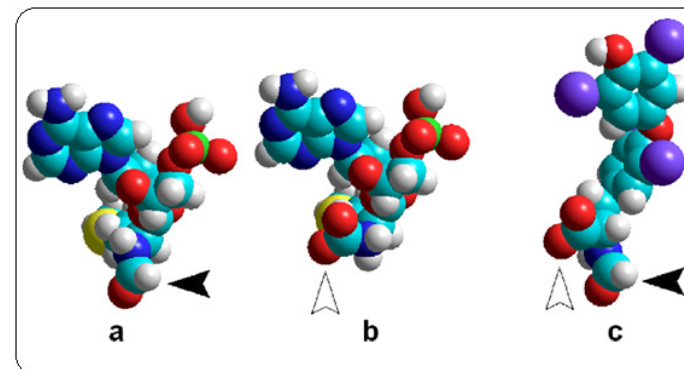
A különböző extrakciós módszerekkel kapott kivonatok illóolaj összetételét a 3. táblázat tartalmazza. A szuperkritikus extraktumok közül a 11. (szeparátor-paraméterek: $p_{sz1}=40$ bar, $T_{sz1}=7-8$ °C) és a 18. (szeparátor-paraméterek: $p_{sz1}=80$ bar, $T_{sz1}=30$ °C) kísérletek extraktumait vizsgáltam.

3. táblázat. Fűszerkömény-extraktumok illóolaj-összetétele

t_R (min)	Vízgőz- deszt. (%)	Soxhlet (hexán) (%)	Soxhlet (etanol) (%)	SFE (%)		Illóolaj komponens
				11. kísérlet	18. kísérlet	
				SZ-1	SZ-1	
4,22	15,21	13,48	7,82	14,87	10,64	limonén
6,25	0,82					ismeretlen
6,69	0,55					ismeretlen
7,22	83,42	80,28	80,81	65,17	52,45	karvon
	5,50	6,00	10,30	4,40	4,90	K/L arány

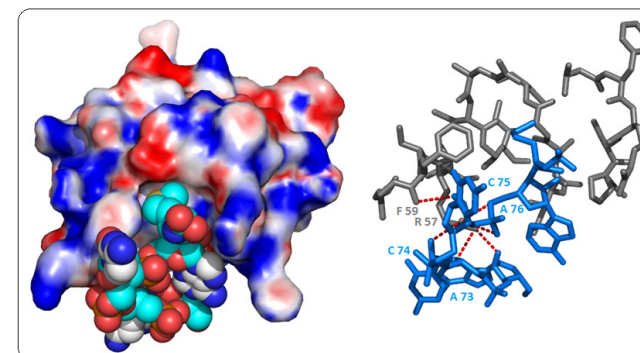
Az eredmények igazolták, hogy a fűszerkömény illóolajának két fő összetevője a karvon és a limonén. A két terpén a vizsgált kivonási módszerek mindegyikével eltérő koncentrációval nyerhető ki. A karvon/limonén arány a desztillált illóolajban, a hexános kivonatban és a 2. szeparátor termékében hasonló volt. Az 1. szeparátor olajában valamivel kisebb, az alkoholos kivonatban pedig lényegesen nagyobb karvon/limonén arányt mértem az illóolajhoz viszonyítva.

Az 1. szeparátorban levált olaj jellemző zsírsav-összetételét a 4. táblázat tartalmazza. Megállapítható, hogy a főkomponensek az olajsav és petrozelininsav együttesen. Ezen kívül nagyobb mennyiségben a linolsav és a palmitinsav van jelen. Az analízis során a petrozelininsav és olajsav elválasztását nem sikerült megoldani.



10. ábra. Strukturális hasonlóságok az (a) fMet-AMP, (b) cMet-AMP és (c) N-formil-L-tiroxin között (A fekete nyilak a formil-, a fehérek a karboxil-csoportokat jelölik).

Számítógépes molekuláris modellezéssel a *P. aeruginosa* IF2 C-2 doménre dokkoltam a fMet-tRNS^{fMet}, a cMet-tRNS^{fMet} (11. ábra), valamint az N-formil-L-tiroxin molekulákat.



8. ábra. Az cMet-tRNS^{fMet} és a *P. aeruginosa* IF2 C-2 domén dokkolási modellje.

A legerősebb kötés a bizonyítottan iniciáció-gátló N-formil-L-tiroxinral alakul ki ($\Delta E=-18,71$ kJ/mol), a leggyengébb a természetes iniciátor, a fMet-tRNS^{fMet}-nal ($\Delta E=-6,99$ kJ/mol). A hipotetikus, esetlegesen szuperkritikus CO₂ közegben kialakuló cMet-tRNS^{fMet}-nal kialakuló kötés erőssége köztes értékű ($\Delta E=-14,94$ kJ/mol), de több mint kétszer erősebb az iniciátorral alkotott kötésnél.

3.5. A SCCO₂ antimikrobiális mechanizmusának molekuláris biológiai modellje

A szuperkritikus állapotban lévő szén-dioxidnak (SCCO₂) germicid (baktérium és spóraölő) hatása van. Annak ellenére, hogy ezt a hatást az ipari pasztörözési folyamatokban már alkalmazzák, az antibakteriális mechanizmus molekuláris szinten még tisztázatlan volt. A kidolgozott molekuláris biológia alapú hipotézis magyarázatot szolgáltat a jelenségre.

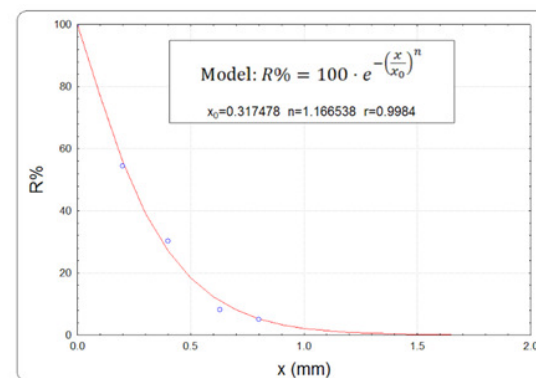
A modell kiindulási alapja, hogy a szuperkritikus állapotú CO₂ kompetitíven reagál a Met-tRNS^{fMet}-sel, így az fMet-tRNS^{fMet} képződési sebessége és mennyisége csökkenni fog az irreverzibilis szubsztrátum-fogyás során. Az fMet-tRNS^{fMet}-nek kulcsszerepe van a prokarióta fehérje szintézisben, mivel szinte kizárólag az egyedüli aminoacil-tRNS iniciátor. A keletkezett karbamoil-metionil-tRNS (cMet-tRNS^{fMet}), ami valószínűleg csak nyomás alatt és magas CO₂ koncentráció mellett stabil, úgy stabilizálódhat, hogy egy molekuláris komplexet alakít ki a translációs iniciátor faktor 2 GTP alakjával (GTP-IF2). A C-2 fehérje-domén és a módosult aminoacil-tRNS iniciátor közötti erős poláris kapcsolódás miatt az utóbbi képtelen a 70S riboszomális komplexről leválni. Továbbá az így létrejött inaktív 70S riboszomális preiniciációs komplex nem bomlik szét a GTP hidrolízist követően, emiatt a fehérjeszintézis leáll. A mikrobiális sejt pusztulását a fehérjeszintézis gátlása és az jelentős energiacsökkenés együttes hatása okozhatja.

Közvetett bizonyíték lehet, hogy egy nagy hatékonyságú vizsgálat során 5000 vegyület IF2-inhibitor aktivitását vizsgálva a leghatékonyabb vegyületnek az N-formil-L-tiroxin bizonyult. Hyperchem 6.01 molekulamodellező programot alkalmazva összehasonlítottam az fMet-AMP, cMet-AMP és az N-formil-L-tiroxin molekuláris szerkezetét (10. ábra). Az összehasonlítás létjogosultsága indokolt, mivel bizonyított, hogy a fMet-AMP minimál ligaduma az IF2 C-2 domén felismerésnek.

4. táblázat. Fűszerkömény SC extraktum zsírosolaj-összetétele

Főbb komponensek	t _r (min)	SFE (SZ-1) (%)	Zsírsavkomponens
C ₁₄	13,2	1,8	mirisztinsav
C ₁₆	17,2	14	palmitinsav
C _{16:1}	17,6	1,1	palmitolajsav
C ₁₈	20,9	13,7	sztearinsav
C _{18:1}	21,3	47	olajsav+petrozelinsav
C _{18:2}	22,1	21,8	linolsav

A szemcseméret eloszlást a Rosin-Rammler-Sperling-Bennett (RRSB) eloszlásfüggvénnyel írtam le. A szitamaradék mért értékeire függvényt illesztettem, A 4. ábrán láthatjuk a mérési pontokra jól illeszkedő maradékgörbét. Fontos megemlíteni, hogy a szitaanalízist a raffinátummal, az extrakciót követően végeztem el, mivel a magas olajtartalom miatt a friss örlemény szemcséi összetapadnak.

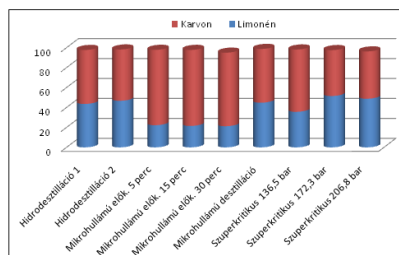


4. ábra A szemcseparaméterek illesztett értékei.

A számított szemcseparaméterek megfelelőnek bizonyulnak az extrakcióhoz. Kisebb szemcsék esetén túlzott csomósodás lép fel, a kialakult granulumok belseje extrahálatlan maradhat, míg nagyobb szemcseméret esetén - a magok morfológiai inhomogenitása miatt (maghéj, magbél) - egyes komponensek extrakciója gátolt.

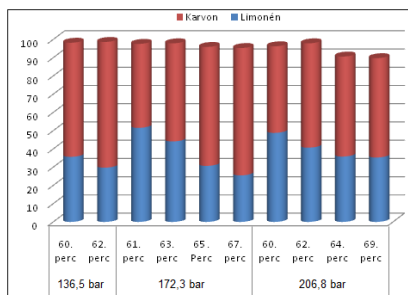
3.2.2. A fűszerkömény illó komponenseinek kivonása SC extrakcióval és vízgőz-desztillációs módszerekkel

A kinyerési módok befolyása a vadkömény illóolaj összetételére az 5. ábrán látható. A hidrodesztillációs (HD) és mikrohullám-fűtésű vízgőz-desztilláció (MHD) módszer közel azonos karvon/limonén arányt eredményez. Az előkezelés megnöveli a kevésbé illékony komponens arányát, de egyben nagyon lecsökken az illóolaj kihozatala is, ez valószínűleg az elégtelen hűtés következménye.



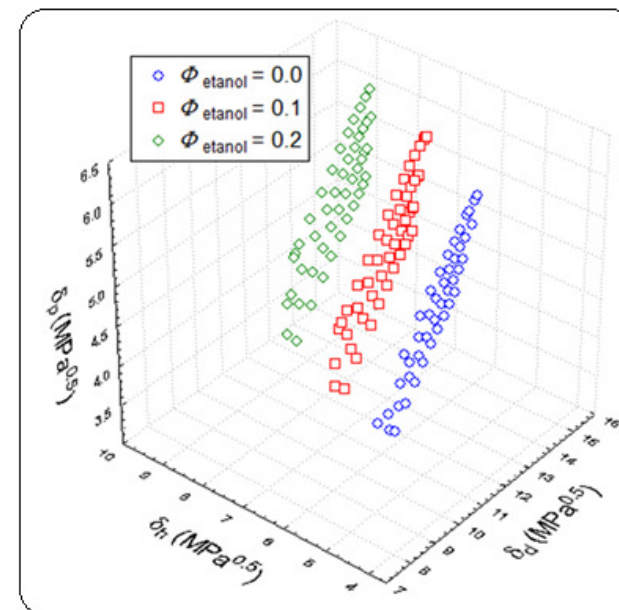
5. ábra. A kinyerési módszer hatása a karvon/limonén arányára.

A szuperkritikus extrakció esetén a nyomás növelésének hatására az illékonyabb komponens (limonén) aránya növekvő tendenciát mutat. Az alkalmazott nyomástól függetlenül, a szakaszosan végzett kísérletek mintáiból lecsapolt illóolaj limonén-tartalma csökken a csapolási idő növekedésével. Ez azt tükrözi, hogy a kivont illékonyabb komponens hamarabb lekerül a növényi töltetről, mint a nagyobb molekulatömegű karvon (6. ábra).



6. ábra. A szuperkritikus fluid extrakcióban alkalmazott nyomás és csapolási idő befolyása a karvon/limonén arányra.

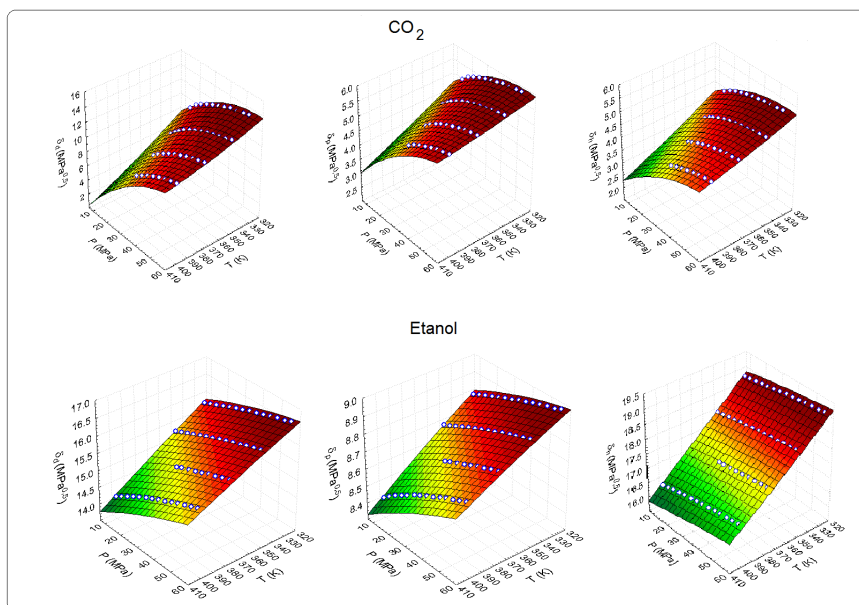
Szuperkritikus oldószer a Hansen-térben nem egy pontot foglal el, hanem egy területet (a hőmérséklet és a nyomás függvényében). Szuperkritikus oldószerkeverékek esetén ez egy térrésszé („felhővé”) degenerálódik. A szokványos extrakciós tartományban ($P=8-60$ MPa, $T=275-350$ K) és segéd-oldószer koncentrációnál ($\Phi=0-0,2$) CO_2 -etanol elegyekre a Hansen-diagram az 9. ábrán látható.



9. ábra. A szén-dioxid-etanol elegy Hansen-diagramja a technológiailag releváns tartományban.

A CO_2 -etanol elegyekre kiszámoltam a teljes (Hildebrand) oldhatósági paraméter is a definíciós egyenlet alapján (8):

$$\delta^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2 \quad (8)$$



8. ábra A Hansen oldódási paraméterek tiszta komponensekre (CO₂ és etanol).

Az illetett paraméterek ismeretében kiszámíthatóak a különböző koncentrációjú CO₂-etanol elegyek Hansen paraméterei, (7):

$$\delta_{j,elegy} = \sum_{i=1}^n \Phi_i \delta_{i,j} \quad (7)$$

ahol: Φ_i - az i-edik komponens térfogattörtje; $\delta_{i,j}$ - az i-edik komponens j-edik Hansen paramétere (j=d, p, h); $\delta_{j,elegy}$ - az elegy j-edik Hansen paramétere

Általánosan elmondható, hogy egy komponens akkor oldható az oldószerben, ha a Hansen térben ($\delta_p = f(\delta_d, \delta_h)$) az oldószer a komponens ú.n. Hansen ellipszoidjában, található, durva közelítésben azt jelenti, hogy az oldószer és a komponens Hansen távolsága kisebb, mint $d=4 \text{ MPa}^{0,5}$.

A vízgőz-desztilláció esetén, -annak ellenére, hogy a limonén forráspontja alacsonyabb, mint a karvon forráspontja- a karvon nagyobb polaritása következtében az utóbbi vízdékonysága nagyobb. A forrásban lévő víz behatol a növényi mátrixba, felold egyes összetevőket, beleértve az illóolaj-komponenseket is, azután visszadiffundál a folyadék főtömegébe, magával ragadva a feloldott komponenseket is, ezt a jelenséget hidrodiffúciónak nevezzük.

3.3. Az édeskömény kivonásának eredményei

Az édeskömény két változatának illóolaját vontam ki és hasonlítottam össze.

A var. *vulgare* illóolajtartalma közel hatszorosa a var *dulce* illóolajtartalmának.

A var. *vulgare* esetén MVD módszerrel 1,86%-kal ugyan kevesebb a kinyert illóolaj, mint VD segítségével, de a műveleti idő tizenkettedére és a fajlagos vízfelhasználás huszadára csökkent (5. táblázat). A VD-módszer nem optimalizált, hanem a gyógyszerkönyvi módszernek felel meg, ezért nem kizárt, hogy a nagy kimutatott különbség túlzó lehet.

5. táblázat. A kivonatok mennyiségi meghatározása (var. *vulgare*)

Növényi minta	Kivonási eljárás	Bemért minta (g)	Víz mennyiség (ml)	Idő (perc)	Illóolaj térfogat (ml)	Illóolaj-tartalom (ml/100 g)*
var.	MVD	20	20	15	0,98	5,28
<i>vulgare</i> *	VD	10	200	180	0,50	5,38

* a minta szárazanyag-tartalma 92,8%

A var. *dulce* három eljárással kapott kihazatalait összehasonlítva (6. táblázat) azt találtam, hogy a hagyományos vízgőz-desztillációval (VD) kinyert illóolaj mennyiség mintegy 5,55%-kal nagyobb a mikrohullámú eljárással (MVD) kinyertnél, azonban az MVD műveleti ideje 25%-a a VD műveleti idejének. A szuperkritikus extrakcióval (SCF) kinyert folyadék egy sárgás színű, az illóolajnál

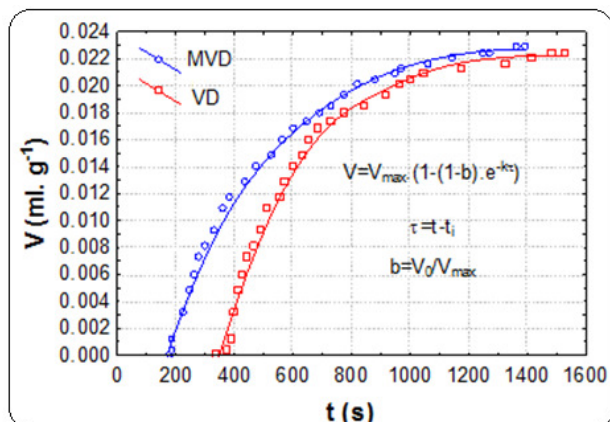
viszkózusabb anyag, amely az illóolaj-komponenseken kívül egyéb komponenseket is tartalmaz, az extraktum mennyisége sokkal nagyobb (10,4 g/100 g szárazanyag), az illóolaj-mennyiséget nem tudtam meghatározni.

6. táblázat. A kivonatok mennyiségi meghatározása (var. *dulce*)

Minta	Eljárás	Minta (g)	Víz-mennyiség (ml)	Idő (perc)	Kinyert mennyiség	Illóolaj-tartalom (ml/100 g)**
var. <i>dulce</i>	MVD	20	100	15	0,17 ml	0,861
	VD	20	100	60	0,18 ml	0,911
	SFE [#]	0,460	-	25	173 mg	n

**a minta szárazanyagtartalma 98,7%, [#] p = 10 MPa, T = 50 °C

SC-extrakciónál a nyomás és a hőmérséklet csökkenésével nő az extraktum *transz*-anetol tartalma, még kritikushoz közeli állapotú oldószer esetén is, de természetesen, az össz-kihozatal ugyancsak csökken. A két vízgőz-desztillációs módszerrel (MVD és VD) kinyert illóolajok *transz*-anetol és metil-kavicol aránya csak kis mértékben különbözik. A módosított Clevenger-feltétellel lehetővé vált az illóolaj kinyerés sebességének meghatározása (7. ábra).



7. ábra. A VD és MVD illóolaj-kinyerés kinetikájának összehasonlítása.

A illesztett függvények a következők (1,2):

$$V_{VD} = 0,0212 \cdot (1 - 0,9165 e^{-0,0034\tau}) \text{ (ml/g)} \quad (1)$$

$$V_{MVD} = 0,0228 \cdot (1 - 0,8993 e^{-0,0034\tau}) \text{ (ml/g)} \quad (2)$$

Az (1) és a (2) kinetikai egyenletekben a τ az az időpont amikor az első csepp olaj megjelenik a szeparátorban. A mikrohullám-fűtésű vízgőz-desztillálás (MVD) gyorsított laboratóriumi illóolaj kinyerési módszer, amellyel a hagyományos, termikus-fűtésű vízgőzdesztillálás (VD) helyettesíthető. A kivonás gyorsítás MVD esetén a részben a kezdeti felfűtési idő lerövidülésének tulajdonítható.

3.4. SCCO₂-poláris modifikátor keverékek Hansen oldhatósági paramétereinek meghatározása

A szuperkritikus állapotú tiszta komponensekre a Hansen paraméterek a 3-5 képletekkel számítható.

$$\delta_d = \delta_{d,ref} \cdot \left(\frac{V_{ref}}{V}\right)^{1,25} \quad (3)$$

$$\delta_p = \delta_{p,ref} \cdot \left(\frac{V_{ref}}{V}\right)^{0,5} \quad (4)$$

$$\delta_h = \delta_{h,ref} \cdot \exp \left[0,00132 \cdot (T_{ref} - T) + \ln \left(\frac{V_{ref}}{V}\right)^{0,5} \right] \quad (5)$$

A tiszta CO₂ és etanol esetén kiszámoltam a nyomás és hőmérséklet függvényében a tiszta komponensek Hansen-paramétereit a referenciaértékek alapján. Az így számított értékekre másodrendű felületeket illesztve (8. ábra) a tiszta komponensek Hansen paramétereinek hőmérséklet- és nyomásfüggése adódott. Az illesztett felület matematikai alakja:

$$\delta = a + bT + cP + dT^2 + ePT + fP^2 \quad (6)$$

ahol T-hőmérséklet (K), P-nyomás (MPa), a...f- illesztési együtthatók