

Barbara TAL-FIGIEL, Wiesław FIGIEL

e-mail: btfigiel@pk.edu.pl

## Porównanie efektywności ekstrakcji surowców roślinnych za pomocą niekonwencjonalnych technik ekstrakcyjnych

### Wstęp

Produkty pochodzenia naturalnego i ich pochodne stanowią ponad 50% leków współczesnej terapii. Jeszcze większe znaczenie przypisują im tradycyjne medycyny Wschodu. Aktualnie trwają poszukiwania nowych środków leczniczych pochodzenia naturalnego, jak i szczegółowe badania tradycyjnych, pod kątem identyfikacji zawartych w nich czynnych składników leczniczych. Rosnące zapotrzebowanie na produkty naturalne, ze strony przemysłów: farmaceutycznego, kosmetycznego i spożywczego, spowodowały gwałtowny rozwój niekonwencjonalnych metod rozdziału, ukierunkowanych na pozyskiwanie substancji o śladowej zawartości w surowcu. Typowe olejki eteryczne stanowią mieszaniny złożone niejednokrotnie z kilkuset związków chemicznych. Podstawowym sposobem wydzielenia tych substancji z surowców roślinnych jest ekstrakcja (ługowanie) w różnych wariantach [1]. O ile w tradycyjnym ziołarstwie wykorzystywano głównie formy ekstrakcji wodnej (odwar, napar, macerat) bądź alkoholowej (nalewka), obecnie coraz częściej stosuje się niekonwencjonalne metody ekstrakcji, takie jak: ekstrakcja nadkrytyczna, ekstrakcja z wykorzystaniem mikrofal [2], czy też ekstrakcja z zastosowaniem pola ultradźwiękowego [3]. Z uwagi na niewielkie stężenie w surowcu, koszt aparatury ekstrakcyjnej jak i samej ekstrakcji jako procesu jest bardzo wysoki. Stąd liczne badania nad optymalizacją tego procesu w zastosowaniu do konkretnych surowców. W Polsce istnieją długoletnie tradycje produkcji ziołarskiej, jednak w skali przemysłowej stosuje się głównie ekstrakcję rozpuszczalnikową i destylację z parą wodną. Wady tych metod, takie jak: niskie uzyski i obecność resztek toksycznych rozpuszczalników w ekstrakcie, czy też powstawanie niepożądanych związków pod wpływem długotrwałej ekspozycji na wysokie temperatury, spowodowały poszukiwanie alternatywnych sposobów ekstrakcji. Jednym z najprostszyszych sposobów intensyfikacji ekstrakcji, było wykorzystanie zamiast wody rozpuszczalników organicznych i ich mieszanin. Niestety są to w większości substancje toksyczne, których ilość w produkcie finalnym podlega coraz bardziej zaostrzającym się rygorom, stąd rosnące zainteresowanie alternatywnymi metodami intensyfikacji ekstrakcji, takimi jak: ekstrakcja z wykorzystaniem ultradźwięków, ekstrakcja z wykorzystaniem mikrofal, czy też ekstrakcja w obniżonych temperaturach [4]. Techniki ultradźwiękowa i mikrofalowa ugruntowały już swoją pozycję w wielu dziedzinach przemysłu. Ich wykorzystanie do pozyskiwania substancji lotnych z surowców roślinnych jest przedmiotem licznych publikacji, w których podkreśla się przede wszystkim znaczne skrócenie czasu procesu oraz poprawę jakości ekstraktu, który nie zawiera wielu nieprzydatnych lub szkodliwych składników i w związku z tym wymaga niższych nakładów na jego oczyszczenie [5]. Koszt aparatury ekstrakcyjnej jak i samej ekstrakcji jako procesu jest bardzo wysoki, z uwagi na niewielkie stężenia pozyskiwanych surowców. Jednocześnie, z uwagi na wielką liczbę ekstrahowanych substancji, nie da się procesu tego w pełni zoptymalizować, zwykle kontroluje się stężenia kilku kluczowych związków. Stąd liczne badania nad optymalizacją ekstrakcji w zastosowaniu do konkretnych surowców.

Celem niniejszej pracy było porównanie sprawności ekstrakcji substancji eterycznych z popularnych surowców roślinnych, takich, jak: liście mięty i szalwii oraz korzeń mniszka, z wykorzystaniem kilku technik ekstrakcyjnych – typowej ekstrakcji *Soxhleta* (traktowanej jako poziom odniesienia), ekstrakcji z wykorzystaniem fal ultradźwiękowych o częstotliwości 20 i 22,4 kHz, oraz mikrofal o częstotliwości 2,45 GHz, przy wykorzystaniu kilku rozpuszczalników. Sprawność ekstrakcji oceniano w sposób ilościowy poprzez spektrometrię UV-Vis

wybranych składników oraz w sposób jakościowy, przez porównanie widm UV-Vis, zdjętych w szerokim zakresie długości fali [6].

### Część doświadczalna

Badania ekstrakcji substancji aromatycznych z surowców ziołarskich prowadzono za pomocą ekstrakcji mikrofalowej oraz ekstrakcji w polu ultradźwiękowym. Jako punkt odniesienia przyjęto ekstrakcję w aparacie *Soxhleta*.

#### Surowce do badań

W badaniach wykorzystywano następujące zioła, produkowane przez *Herbapol*:

- liść mięty pieprzowej (*Menthae piperitae folium*),
- liść szalwii (*Salviae folium*),
- korzeń mniszka (*Taraxaci radix*).

Wszystkie opakowania pochodziły z tych samych serii i zostały wykorzystane w okresie ważności. Były przechowywane w hermetycznych pojemnikach. Składniki nie były dodatkowo rozdrabniane.

W charakterze rozpuszczalników stosowano wodę podwójnie destylowaną oraz etanol 99,8 i n-heksan klasy cz.d.a., produkcji *POCh Gliwice*.

#### Aparatura

Ekstrakcję wzorcową prowadzono w aparatach *Soxhleta* o pojemności 100 i 250 ml.

Ekstrakcję mikrofalową prowadzono za pomocą zaadaptowanej kuchenki *Philips AVN704* o mocy maksymalnej 1,1 kW. Jako ekstraktor służyła kolba kulista, zaopatrzona w chłodnicę zwrotną.

Ekstrakcję w polu ultradźwiękowym realizowano za pomocą dwóch generatorów: *VCX 750* firmy *Sonics&Materials Inc.* o mocy maksymalnej 750 W i częstotliwości roboczej 20 kHz wyposażony w koncentrator o średnicy 25 mm oraz *UD-11* o mocy maksymalnej 100 W i częstotliwości roboczej 22,5 kHz. Prócz koncentratora o średnicy 20 mm, aparat ten był dodatkowo wyposażony w wannę z dnem emitującym (myjkę). Przy ekstrakcji z zastosowaniem koncentratora proces prowadzono w kolbach stożkowych umieszczonych w kąpeli termostatującej. Ekstrakcję z wykorzystaniem myjki ultradźwiękowej prowadzono bezpośrednio w tym urządzeniu.

Podstawowym przyrządem analitycznym stosowanym w badaniach, był spektrofotometr *Jenway 6715* z wiązką podzieloną, pracujący w zakresie długości fali 190–1000 nm z rozdzielczością 0,1 nm.

#### Metodyka badań

Podstawową ilością fazy stałej były 2 gramy suszu ziołarskiego, natomiast ilość rozpuszczalnika wynosiła 100 ml.

W przypadku ekstrakcji w polu ultradźwiękowym z wykorzystaniem koncentratora, zawartość naczynia była dodatkowo mieszana za pomocą mieszadła magnetycznego tak, aby wszystkie cząstki ciała stałego okresowo docierały w okolice sonotrody, w obszar najintensywniejszego nadźwiękawiania. Z uwagi na duże stosowane moce ultradźwięków proces realizowany był w trybie pulsacyjnym (1 minuta nadźwiękawiania – 1 minuta przerwy), dodatkowo temperatura w ekstraktorze była monitorowana i po przekroczeniu zadanej temperatury o 2 deg, proces był automatycznie wstrzymany. Jako czas ekstrakcji przyjmowano sumę czasów nadźwiękawiania.

Ekstrakcję z zastosowaniem mikrofal prowadzono przy różnych poziomach mocy (400, 600, 800 i 1000 W) i przy różnych czasach działania mikrofal. W przypadku wykorzystania wody jako rozpuszczalnika proces przerywano, aby nie dopuścić do wrzenia.

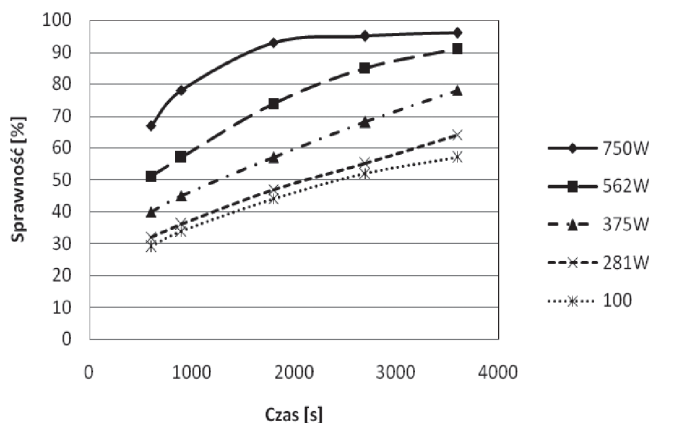
### Określenie sprawności ekstrakcji

Z uwagi na trudności z uzyskaniem substancji wzorcowych do kalibracji spektrofotometru, na wstępie przeprowadzono 24-godzinny (12 h + 12 h), ekstrakcję w aparacie *Soxhleta*, przy czym po zakończeniu pierwszego cyklu zbierano ekstrakt i w jego miejsce wprowadzano nowy rozpuszczalnik. Po zakończeniu procesu obydwie ekstrakty mieszano. Taka procedura zapewniała prawie całkowite wyekstrahowanie substancji eterycznych, a tym samym pozwalała na ustalenie poziomu odniesienia, z którym można było porównywać kolejne uzyskane wyniki. Do analizy spektrometrycznej ekstrakt rozcieńczano, tak, aby absorbancja nie przekraczała wartości 1,0 w całym obszarze widma. Przyjęto, że w tym zakresie badane substancje spełniają prawo *Lamberta-Beera*, co umożliwi bezpośrednie porównywanie wyników badań, uzyskanych za pomocą różnych metod ekstrakcji. Operację tę wykonano dla wszystkich stosowanych rozpuszczalników.

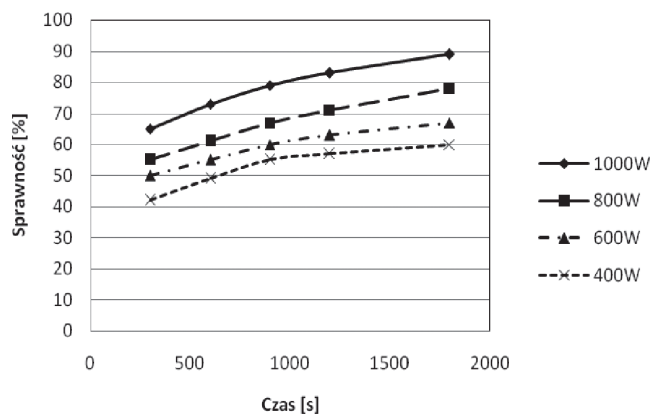
## Wyniki badań

Wybrane wyniki, uzyskane w toku badań, przedstawiono graficznie na rys. 1–3.

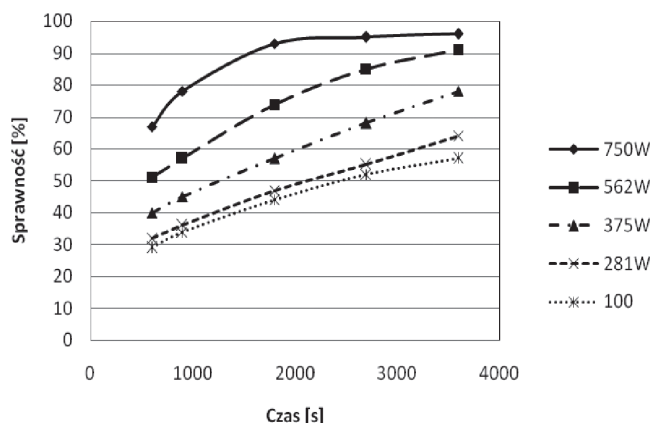
Rys. 1 przedstawia zależność stopnia wyekstrahowania, od mocy i czasu nadźwiękawiania; jak widać przy maksymalnym natężeniu pola ultradźwiękowego czas dojścia do 90% sprawności ekstrakcji, jest rzędu pół godziny, przy niższych mocach wydłuża się, co świadczy o konieczności dostarczenia odpowiedniej ilości energii. Nawet przy najwyższej zastosowanej mocy, przy założonym czasie nadźwiękawiania nie udało się uzyskać sprawności, równej sprawności ekstrakcji w aparacie *Soxhleta*.



Rys. 1. Zależność sprawności ekstrakcji mięty pieprzowej od mocy ultradźwięków i czasu procesu. Rozpuszczalnik etanol, temperatura 20°C



Rys. 2. Zależność sprawności ekstrakcji szalwii pieprzowej od mocy mikrofal i czasu procesu. Rozpuszczalnik n-heksan, temperatura 20°C



Rys. 3. Zależność sprawności ekstrakcji korzenia mniszka od mocy ultradźwięków i czasu procesu. Rozpuszczalnik woda, temperatura 40°C

*leta*, co może mieć związek z niską temperaturą ekstrakcji w której był prowadzony proces.

Na kolejnym rysunku (Rys. 2) przedstawiono wyniki badań sprawności ekstrakcji szalwii przy zastosowaniu mikrofal z wykorzystaniem n-heksanu, jako rozpuszczalnika. I w tym przypadku można zaobserwować ścisły związek, zarówno z mocą emitera, jak i czasem procesu, choć osiągane sprawności są niższe niż poprzednio.

Jak widać, ze zwiększeniem czasu procesu stopień wyekstrahowania wzrasta, jednak nie osiąga on 100% w porównaniu z ekstrakcją *Soxhleta*.

Na rys. 3 przedstawiono wyniki sprawności ekstrakcji korzenia mniszka, za pomocą wody o temperaturze 40°C, z wykorzystaniem ultradźwięków. Przy najwyższej mocy sprawność ekstrakcji jest wyższa od uzyskanej podczas ekstrakcji w aparacie *Soxhleta*, co może świadczyć o tym, że dopiero silna kawitacja ultradźwiękowa występująca w tych warunkach zniszczyła zdrewniałe komórki korzenia, przez co uwolnione zostały znajdujące się w nich olejki eteryczne, których nie była w stanie wymyć wielokrotna cyrkulacja gorącego rozpuszczalnika.

Wyniki badań pozwalają stwierdzić, że zastosowanie niekonwencjonalnych metod ekstrakcji, pozwala osiągnięcie wysokich sprawności procesu nawet w stosunku do ekstrakcji *Soxhleta*, w zależności od surowca, rodzaju rozpuszczalnika oraz czasu działania fal. Jednocześnie zmiany profilu skanu w szerokim zakresie długości fal świadczą o pozytywnym wpływie zarówno ultradźwięków, jak i mikrofal, na ekstrakcję innych składników, których jeszcze nie zidentyfikowano.

## Wnioski

Na podstawie dotychczasowych wyników badań, można sformułować następujące wnioski:

- zarówno wykorzystanie fal ultradźwiękowych, jak i mikrofal skutkuje poprawą efektywności ekstrakcji, w porównaniu z wzorcową ekstrakcją z wykorzystaniem aparatu *Soxhleta*.
- tak w przypadku mikrofal, jak i pola ultradźwiękowego, sumaryczne zużycie energii jest niższe niż w przypadku ekstrakcji „na gorąco”.
- niezależnie od zwiększenia uzysku składnika kluczowego, spektrum UV-Vis świadczy, że przy wykorzystaniu tych metod zwiększa się stężenie innych, niezidentyfikowanych jeszcze substancji w ekstrakcie, co świadczy o ich przydatności.

## LITERATURA

- [1] K. Keller, Th. Friedmann, A. Boxman: Trends in Biotechnology, **19**, nr 11, 438 (2001).
- [2] X. Pan, G. Niu, H. Liu: Biochem. Eng. J., **12**, 71 (2002).
- [3] R. Vadivambal, D.S. Jayas: Biosystems Eng. **98**, 1 (2007).
- [4] S. Chemat i in: Chem. Eng. Process. **44**, 1320 (2005).
- [5] M. D. Luque de Castro i in.: Trends Anal. Chem. **18**, 708 (1999).
- [6] K. Hirayama: Handbook of Ultraviolet and Visible Absorption Spectra of Organic Compounds, Springer, Plenum Press New York, 1967.