

Dr hab. inż. Sławomir BAKIER prof. nadzw. PB
Mgr Ewelina BAJKO
Zamiejscowy Wydział Leśny Politechniki Białostockiej w Hajnówce

EFEKTY EKSTRAKЦИИ PYŁKU KWIATOWEGO NADKRYTYCZNYM DITLENKIEM WĘGLA®

The effects of supercritical carbon dioxide treatment on bee pollen®

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy nr S/ZWL/1/2014 i sfinansowane ze środków na naukę MNiSW

Słowa kluczowe: ekstrakcja w nadkrytycznym CO₂, pyłek kwiatowy, GC-MS, skaningowy mikroskop elektronowy.

W artykule przedstawiono wyniki badań ekstrakcji pyłku kwiatowego w postaci obnóży za pomocą ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Badano wpływ sposobu przygotowania surowca na wydajność ekstrakcji oraz strukturę pojedynczych ziaren pyłku. Proces ekstrakcji realizowano przy ciśnieniu 35 MPa, w temperaturze 40°C przy przepływie CO₂ wynoszącym 80 g/min przez 90 minut. Uzyskane wydajności ekstrakcji wynosiły od 0,86% ± 0,25% do 1,52% ± 0,2% masy obnóży przed ekstrakcją. Skład chemiczny uzyskanych ekstraktów zidentyfikowano za pomocą techniki chromatografii gazowej z detektorem masowym (GC-MS). Analiza GC-MS wykazała, że prawie 82 % ekstraktu stanowią związki o charakterze lipidowym, w tym 14,07 % nienasycone kwasy tłuszczowe. Badania z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego wykazały, że w wyniku działania nadkrytycznego ditlenku węgla nastąpiło zniszczenie zewnętrznych osłon ziaren pyłkowych.

Key word: supercritical CO₂ fluid extraction; bee pollen, GC-MS, scanning electron microscope.

This article presents the results of studies on the extraction of components from bee pollen by supercritical dioxide carbon. The influence of the method of bee pollen preparation and process conditions on the extraction yield and the structure of bee pollen grains was investigated. The extraction was performed at the pressure 35 MPa, temperature 40°C, CO₂ flow rate 80 g/min for 90 min. The obtained extraction yields ranged from 0,86% ± 0,25% to 1,52% ± 0,2% mass of bee pollen. The chemical compounds of the extracts obtained from supercritical carbon dioxide extraction were identified by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). GC-MS analysis of the extract showed that lipids accounted for approximately 82 %, including 14,07 % unsaturated fatty acids. Scanning electron microscopy studies revealed that supercritical dioxide carbon treatment was an effective way to break cell wall of bee pollen.

WSTĘP

Rośliny są źródłem wielu cennych substancji wykorzystywanych do leczenia i w profilaktyce medycznej, jako naturalne środki terapeutyczne oraz dodatki w produkcji suplementów diety i żywności funkcjonalnej [1]. Bardzo dynamicznie rozwija się rynek żywności funkcjonalnej, zawierającej związki bioaktywne, wśród których można wyróżnić: lipidy, w tym nienasycone kwasy tłuszczowe, związki fenolowe, fitosterole, hormony i enzymy, witaminy, a także inne aktywne substancje odżywcze [12]. Metody pozyskiwania tych substancji z materiału roślinnego obejmują zwykle takie procesy, jak obróbkę termiczną, wyłaczanie i ekstrakcję za pomocą różnych rozpuszczalników (woda, chloroform, heksan, toluen, nafta, eter, aceton, etanol itd.) [11]. Konwencjonalne metody ekstrakcji za pomocą ciekłych rozpuszczalników są energochłonne i co ważniejsze, są powodem zanieczyszczenia środowiska bardzo kłopotliwymi substancjami chemicznymi, jakimi są rozpuszczalniki organiczne. Jedną z technik pozwalających uniknąć tych problemów jest proces ekstrakcji nadkrytycznym ditlenkiem węgla [4, 8].

Pozyskiwanie naturalnych substancji z materiału roślinnego na drodze ekstrakcji w płynach w stanie nadkrytycznym (supercritical fluid extraction, SFE) jest stosunkowo nowym procesem [8]. Technika ta cieszy się coraz większym zainteresowaniem ze względu na specyficzne właściwości płynów w stanie nadkrytycznym i możliwości technologiczne, które stwarza. W tabeli 1 zamieszczono charakterystyczne wartości parametrów fizycznych i transportowych płynów nadkrytycznych [7]. Należy podkreślić, że mieszczą się one w przedziale pomiędzy parametrami gazów i cieczy. Istotną cechą płynów nadkrytycznych jest ich wysoka mobilność. Rozpuszczalność w płynie nadkrytycznym jest zbliżona do rozpuszczalności w fazie ciekłej, natomiast zdolność do penetracji stałej matrycy jest zbliżona do własności transportowych gazu. W związku z tym proces ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych jest znacznie szybszy w porównaniu z procesami klasycznej ekstrakcji cieczowej [9]. Zdolność rozpuszczania płynu w stanie nadkrytycznym jest zmienna i zależy od gęstości płynu, którą można znacznie zmieniać poprzez zmiany ciśnienia oraz temperatury [4]. Sterowanie

Adres do korespondencji – Corresponding author: Sławomir Bakier, Dziekan Zamiejscowego Wydziału Leśnego Politechniki Białostockiej w Hajnówce, ul. Piłsudskiego 1A, 17-200 Hajnówka, e-mail: s.bakier@pb.edu.pl

tymi parametrami umożliwia selektywne prowadzenie procesu rozpuszczania określonych substancji, a tym samym i całego procesu ekstrakcji. Kolejną szczególną właściwością ekstrakcji w nadkrytycznym ditlenku węgla jest możliwość całkowitego wydzielenia substancji ekstrahowanej poprzez dekompresję do ciśnienia poniżej wartości ciśnienia krytycznego płynu, bez możliwości zanieczyszczenia środowiska.

Tabela 1. Gęstość, lepkość i dyfuzyjność cieczy, gazów i płynów nadkrytycznych [7]

Table 1. Density, viscosity and diffusivity of liquids, gases and supercritical fluids [7]

	Gęstość [kg/m ³]	Lepkość [μPa·s]	Dyfuzyjność [mm ² /s]
Gaz	1	10	1-10
Płyn nadkrytyczny	100-1000	50-100	0,01-0,1
Ciecz	1000	500-1000	0,001

Praktyczne zastosowanie ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym (scCO₂) do ekstrakcji materiału roślinnego zostało po raz pierwszy zweryfikowane eksperymentalnie w 1960 roku, kiedy to bardziej czułe metody analityczne wskazały śladowe ilości pozostałości rozpuszczalników organicznych w próbkach żywności, co wywołało obawy o ich wpływ na zdrowie człowieka [10]. Świadomość faktu, że CO₂ w stanie nadkrytycznym lub ciekłym jest nietoksycznym rozpuszczalnikiem, a tym samym nawet jego śladowe ilości pozostawione w ekstraktach nie są szkodliwe, sprawiła, że znalazł on powszechne zastosowanie w przetwórstwie żywności. CO₂ w stanie nadkrytycznym to prawdopodobnie najbardziej bezpieczny dla środowiska i człowieka rozpuszczalnik do ekstrakcji oraz izolacji różnych substancji. Ditlenek węgla posiada jeszcze wiele innych zalet. Jego punkt krytyczny ($t_{kr} = 30,95^{\circ}\text{C}$, $p_{kr} = 7,38 \text{ MPa}$) jest łatwy do osiągnięcia, co pozwala na zastosowanie stosunkowo niskich temperatur pracy. W ten sposób istnieje możliwość ochrony nietrwałych termicznie substancji. Kolejną ogromną zaletą stosowania ekstrakcji w CO₂ jest brak dostępu do surowca powietrza, co umożliwia całkowite wyeliminowanie wszystkich procesów oksydacyjnych. CO₂ jest szczególnie efektywnym rozpuszczalnikiem związków niepolarnych [2].

Pyłek kwiatowy to męskie komórki płciowe roślin, które zawierają cenne substancje chemiczne, m.in.: aminokwasy, lipidy, witaminy, makro- i mikroelementy oraz biologicznie aktywne substancje, takie jak związki fenolowe (flawony, flawonole, antocyjany, kwasy fenolowe, fitosterole) [15]. Pojedyncze ziarno pyłku otoczone jest egzyną i intyną, które stanowią trwałe chemicznie, odporne na kwasy i ługi substancje [3]. Są również odporne na oddziaływanie mechaniczne i wytrzymują znaczne naprężenia. Ziarna pyłku są na tyle trwałe, że potrafią przetrwać w osadach miliony lat. Na bazie tej cechy powstała nauka, zajmująca się odtwarzaniem prehistorycznej szaty roślinnej na podstawie znalezionych ziaren pyłków, zwana palinologią [3]. Wydobycie substancji znajdujących się wewnątrz ziaren pyłku wymaga zastosowania specjalnych technologii związanych ze sforsowaniem zewnętrznej skorupy w celu wydobycia składników wewnętrznych. Pyłek kwiatowy jest wytwarzany przez rośliny w znacznych ilościach, znacznie większych niż jest to niezbędne do zapylenia roślin. W związku z powyższym jest powszechnie wykorzystywany przez owady jako pokarm. Dla pszczoł jest podstawowym pokarmem białkowym, który

decyduje o rozwoju rodziny pszczołej [5]. Pyłek pszczoły to pyłek zebrany przez pszczoły z pylników kwiatowych i uformowany w małe kulki zwane obnóżami pyłkowymi. Obnóża są pyłkiem kwiatowym zmieszany z nektarem, miodem i śliną pszczoł. Dzięki temu może być on formowany przez pszczoły w grudki i przenoszony do ula na tylnych odnóżach. To właśnie w postaci obnóż pyłek kwiatowy pozyskiwany jest przez człowieka [5]. Właściwości prozdrowotne i odżywcze pyłku znane są od lat, co sprawia, że coraz częściej wykorzystywany jest on do celów medycznych, farmaceutycznych oraz spożywczych [6]. W ostatnich latach rośnie zainteresowanie składem chemicznym oraz możliwością pozyskiwania substancji biologicznie czynnych z pyłku kwiatowego.

Ekstrakcja w nadkrytycznym CO₂ jest obiecującą technologią pozyskiwania cennych związków chemicznych również z pyłku kwiatowego. CO₂ w warunkach nadkrytycznych stosowano do niszczenia struktury ściany pyłku rzepaku w celu ekstrakcji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [14]. Ekstrakcja była prowadzona przy ciśnieniu: 13,2–46,8 MPa, temperaturze: 33,2–66,8°C oraz przepływie CO₂: 6,6–23,4 l/h. Obserwacje wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego wskazały, że w wyniku procesu nastąpiło przerwanie zewnętrznej ściany komórkowej, co pozwoliło na efektywną ekstrakcję zawartych we wnętrzu komórki kwasów tłuszczowych. Najwyższą wydajność, 5,98 g ekstraktu/100 g pyłku, uzyskano przy 39,2 MPa, 54,7°C i przepływie 17,1 l/h w czasie 2-godzinnej ekstrakcji po uprzednio zadanym przez 10 min ciśnieniu 46 MPa [14]. Porównano ekstrakty otrzymane z pyłku rzepaku za pomocą ekstrakcji eterem naftowym oraz nadkrytycznym CO₂ pod względem zawartości wolnych kwasów tłuszczowych [13]. W ekstraktach otrzymanych przy użyciu eteru naftowego (w temperaturze 70°C i czasie ekstrakcji 12 godzin) uzyskano 7,42% (wagowo) lipidów, natomiast dzięki zoptymalizowanej procedurze ekstrakcji CO₂ w warunkach nadkrytycznych (ciśnienie: 35 MPa, temperatura: 45°C, czas: 90 min) można było pozyskać 6,09% lipidów. Takie wyniki nie stanowiły istotnych statystycznie różnic. Analiza HPLC wykazała, że wśród frakcji lipidów występowały licznie nienasycone kwasy tłuszczowe, w tym kwas linolenowy, oleinowy, linolowy. W porównaniu z ekstrakcją eterem, ilość nienasyconych kwasów tłuszczowych była wyższa w ekstraktach uzyskanych metodą SFE, zachowując ich jakość [13]. Ekstrakcję za pomocą CO₂ w warunkach nadkrytycznych stosowano także do uzyskania substancji biologicznie czynnych i odżywczych z pyłku lotosu [15]. Największe ilości ekstraktu, w których zostały zidentyfikowane karotenoidy, skwalen, sterole oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe, otrzymano podczas procesu przeprowadzonego przy ciśnieniu 38,2 MPa i temperaturze 49,7°C [15].

Celem artykułu jest przedstawienie wyników badań dotyczących wpływu sposobu przygotowania surowca i warunków realizacji procesu ekstrakcji pyłku kwiatowego nadkrytycznym ditlenkiem węgla na efektywność procesu i skład chemiczny uzyskiwanego ekstraktu.

MATERIAŁY I METODY

Badania realizowano w Centrum Naukowo-Badawczym Zamiejscowego Wydziału Leśnego w Hajnówce w Pracowni Ubocznych Produktów Leśnych, z wykorzystaniem ekstraktora do ekstrakcji nadkrytycznej (Supercritical Fluid



Rys. 1. Fotografia przedstawiająca system do ekstrakcji nadkrytycznej Waters: a) butla z CO₂, b) recyrkulator, c) agregat chłodniczy, d) automatyczny regulator ciśnienia, e) dwa naczynia odbiorcze, f) naczynie ekstrakcyjne, g) komputer, h) podgrzewacz, i) przepływomierz, j) pompa CO₂.

Fig. 1. Waters supercritical fluid extraction system: a) CO₂ tank, b) CO₂ recycler, c) chiller, d) automatic back pressure regulator, e) two collection vessels, f) extraction vessel, g) chiller, h) preheater, i) flow meter, j) CO₂ pump.

Źródło: Fotografia i opracowanie własne

Source: The picture and own study

Extraction – SFE) firmy Waters System (wyprodukowany w USA). Na rysunku 1. zamieszczono fotografię wraz z dokładnym opisem poszczególnych zespołów. Szczególną cechą wykorzystywanego systemu ekstrakcji SFE jest obecność recyrkulatora, który umożliwia wykorzystanie czynnika roboczego w systemie zamkniętym. Dytlenek węgla po przepłynięciu przez ekstraktor i rozprężeniu do ciśnienia o wartości niższej niż krytyczne jest ochładzany i skraplany, a następnie ponownie tłoczony do ekstraktora.

Proces ekstrakcji nadkrytycznej prowadzono przy ciśnieniu w naczyniu ekstrakcyjnym wynoszącym 35 MPa i temperaturze 40°C. Dekompresję realizowano dwuetapowo: w pierwszym odbieralniku zredukowano ciśnienie do wartości 140 MPa, a w drugim do 70 MPa, przy utrzymywaniu temperatury w naczyniach odbiorczych na poziomie 40°C. Przepływ CO₂ we wszystkich doświadczeniach wynosił 80 g/min, przy gęstości czynnika roboczego w ekstraktorze około 0,91 g/cm³.

Materiał badawczy stanowiły obnóża pyłkowe z roślin jesiennych, głównie nawłoci późnej (*Solidago gigantea* Aiton) i macierzanki zwyczajnej (*Thymus pulegioides* L.). Obnóża były wysuszone konwekcyjnie i charakteryzowały się wilgotnością wynoszącą 7,07%. Przeprowadzono cykl trzech niezależnych doświadczeń (A, B, C), w których zastosowano różne metody przygotowania surowca – obnóża pyłkowych do ekstrakcji. W doświadczeniu A ekstrakcji poddano pyłek w postaci wysuszonej o wilgotności 7,07%. Proces ekstrakcji trwał 90 minut, przy czym po 45 minutach przyplływ CO₂ był przerywany, a następnie przez 10 minut odbywała się penetracja złoża poprzez utrzymanie ciśnienia 35 MPa. Po czym przepływ był wznowiany i trwał ponownie 45 min.

W doświadczeniu B ekstrakcji poddano pyłek w takiej samej postaci, jak w doświadczeniu A, ale ekstrakcję realizowano w sposób ciągły przez 90 min. Natomiast w doświadczeniu C ekstrakcji poddano pyłek nawilżony do 19,4% i zamrożony w temperaturze minus 24,5°C przez 72 h, a następnie wysuszony w temperaturze 37°C do wilgotności 6,92%. Nawilżanie i mrożenie miało na celu doprowadzenie do otwarcia ziaren pyłkowych poprzez powstający лёd. Ekstrakcję w tym doświadczeniu prowadzono w sposób ciągły przez 90 min.

Analizę jakościowo-ilościową otrzymanych ekstraktów wykonano za pomocą metody GC-MS przy użyciu chromatografu gazowego Agilent 7890A wyposażonego w detektor masowy Agilent 5975C. Próbkę sililowano odczynnikiem BSTFA (*N-O*-bis-(trimetylosilio-trifluoroacetamid). Wstrzykiwano 1µl próbki stosując automatyczny podajnik Agilent 7693A. Rozdział prowadzono na kolumnie HP-5MS (30m × 0,25mm × 0,25µm) przy przepływie helu 1ml/min. Temperatura dozownika wynosiła 300°C. Początkowa temperatura kolumny wynosiła 50°C, wzrastając do 320°C z szybkością 3°C/min.; temperaturę końcową utrzymywano przez 10min. Temperatura źródła jonów oraz kwadrupola wynosiły odpowiednio 230°C i 150°C, natomiast energia jonizacji 70eV. Detekcję prowadzono w trybie pełnego skanowania od 41 do

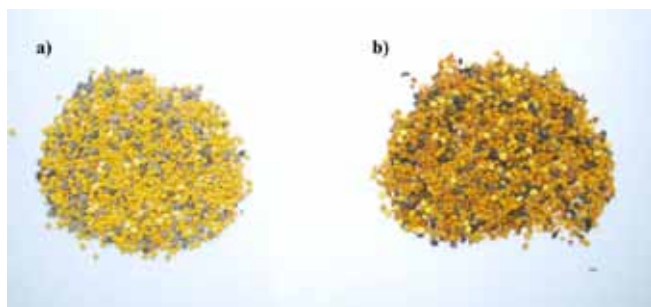
600 amu. Identyfikacji związków dokonywano na podstawie widm masowych poszczególnych substancji, które porównano z widmami masowymi z biblioteki NIST Mass Spectral Database. Przy identyfikacji wykorzystano również wyliczone wartości indeksów retencji (RI). Prowadzono półilościową analizę opartą na pomiarze pola powierzchni pików, odpowiadających poszczególnym związkom chemicznym, przyjmując jako 100% sumę pól powierzchni wszystkich pików na chromatogramie.

Efekty destrukcji osłonek pyłkowych określono na podstawie obserwacji przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego przy powiększeniach 2000–5000X.

WYNIKI BADAŃ

Na rysunku 2 przedstawiono fotografię obnóży, które w większości miały barwę żółtą o różnych odcieniach (pyłek z nawłoci późnej), nieliczne obnóża charakteryzowały się kolorem ciemnym (głównie pyłek z macierzanki).

W tabeli 2 podano parametry oraz wydajność ekstrakcji w poszczególnych doświadczeniach. Ilość ekstraktu otrzymanego w doświadczeniu A wynosiła 1,52% ±0,2% masy obnóży przed ekstrakcją, w doświadczeniu B: 1,12 % ±0,19%, natomiast w doświadczeniu C: 0,86% ±0,25%. Z podanych wartości wynika, że przerwa przepływu CO₂ w trakcie ekstrakcji (przy utrzymaniu ciśnienia) wpływa korzystnie na wydajność procesu. Przygotowanie obnóży pyłkowych polegające na ich nawilżeniu, zamrożeniu, a następnie wysuszeniu, nie poprawiło wydajności ekstrakcji, a co ciekawe, nawet ją zmniejszyło.



Rys. 2. Obnóża pyłkowe z roślin jesiennych, głównie nawłoci późnej (*Solidago gigantea* Aiton) i macierzanki zwyczajnej (*Thymus pulegioides* L.) po ekstrakcji nadkrytycznym CO₂ (a) i przed ekstrakcją nadkrytycznym CO₂ (b).

Fig. 2. Bee pollen (*Solidago gigantea* Aiton) giant goldenrod and (*Thymus pulegioides* L.) lemon thyme after supercritical CO₂ treatment (a) and before supercritical CO₂ treatment (b).

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

Tabela 2. Parametry i wydajność ekstrakcji nadkrytycznym CO₂

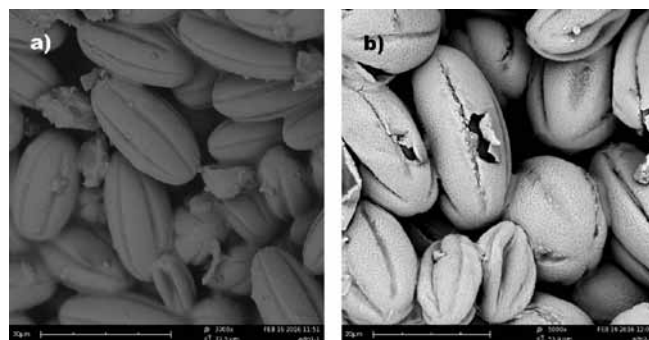
Table 2. Supercritical CO₂ extraction parameters and yield

Parametr	Doświadczenie A	Doświadczenie B	Doświadczenie C
Surowiec	Obnóża pyłkowe wysuszone o wilgotności 7,07%	Obnóża pyłkowe wysuszone o wilgotności 7,07%	Pyłek nawilżony (19,4%), zamrożony (-24,5°C, 72 godz.), wysuszony (6,92%)
Ciśnienie [MPa]	35	35	35
Temperatura [°C]	40	40	40
Przepływ CO ₂ [g/min]	80	80	80
Czas ekstrakcji [min]	90 + 10 (penetracja złoża)	90	90
Wydajność ekstrakcji [%]	1,52 ± 0,2	1,12 ± 0,19	0,86 ± 0,25

Źródło: Badania własne

Source: The own study

Na rysunku 3a) przedstawiono fotografie ziaren pyłku przed, a na rysunku 3b) ziarna pyłkowe po procesie ekstrakcji. Widać wyraźnie, że zastosowane ciśnienie 35 MPa powoduje zniszczenie egzyny, czyli zewnętrznej ściany, większości ziaren pyłkowych. Jak wynika z literatury zastosowanie ciśnienia 45 MPa powoduje zniszczenie egzyny praktycznie wszystkich ziaren pyłku [14]. Można więc stwierdzić, że aby uzyskać większą wydajność ekstrakcji należy zastosować wyższe ciśnienie, wnoszące ok 45 MPa na początku procesu w celu zniszczenia zewnętrznej struktury ziaren pyłku, a następnie sama ekstrakcja może przebiegać w niższym ciśnieniu, rzędu 35-40 MPa.



Rys. 3. Mikrofotografia z elektronowego mikroskopu skaningowego komórek pyłku przed (a) i po (b) ekstrakcji nadkrytycznym CO₂.

Fig. 3. SEM microphotography of bee pollen cell before (a) and after (b) supercritical CO₂ treatment.

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

Tabela 3. Skład chemiczny ekstraktu otrzymanego za pomocą nadkrytycznego CO₂

Table 3. Chemical composition of bee pollen extract obtained by supercritical CO₂

Związki chemiczne	Procentowa zawartość w ekstrakcie [%]
Kwasy tłuszczowe nasycone	67,89
w tym kwas palmitynowy	33,38
kwas stearynowy	32,39
kwas mirystynowy	0,97
kwas pentadekanowy	0,41
kwas lignocerynowy	0,21
kwas arachidowy	0,19
kwas margarynowy	0,12
kwas laurynowy	0,11
kwas kaprynowy	0,06
kwas cerotynowy	0,05
Kwasy tłuszczowe nienasycone	14,07
w tym kwas oleinowy	7,25
kwas linolowy	2,88
kwas kalendulowy	2,59
kwas palmitoleinowy	0,93
kwas heptadecenowy	0,13
kwas mirystoleinowy	0,05
Alkany	8,34
Triterpeny	5,62
Alkeny	1,63
Alkohole	0,37
Woski	0,36
Sterole	0,34
Inne związki	1,38

Źródło: Badania własne

Source: The own study

Skład chemiczny uzyskanych ekstraktów zanalizowano za pomocą metody GC-MS i przedstawiono w tabeli 3. Prawie 82% ekstraktu stanowią związki o charakterze lipidowym, w tym 67,89% to nasycone kwasy tłuszczowe (NKT) oraz 14,07% nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT). Wśród NKT, znaczącą większość (prawie 97%) stanowiły kwasy: palmitynowy i stearynowy. Z grupy NNKT ponad połowę stanowił kwas oleinowy, ponad 20% kwas linolowy oraz ponad 18% kwas kalendulowy. W ekstrakcie pyłku lotosu,

uzyskanym przy użyciu nadkrytycznego CO₂, również dominowały kwasy palmitynowy, stearynowy, oleinowy i linolowy, a dodatkowo także linolenowy [15], którego w ogóle nie zidentyfikowano w ekstrakcie z pyłku nawłoci i macierzanki.

Uzyskane ekstrakty charakteryzowały się silnym kwiatowym aromatem, maziścią – tłustą konsystencją i żółto-pomarańczową barwą. Charakterystyczne jest też to, że po procesie ekstrakcji nastąpiło rozjaśnienie barwy obnóży pyłkowych (rys. 2). Roślinne związki lipidowe w sposób tradycyjny są izolowane za pomocą hydrodestylacji lub też ekstrakcji rozpuszczalnikiem. Metody te charakteryzują się wieloma wadami: utrata lotnych substancji, długi czas ekstrakcji, pozostałość toksycznego rozpuszczalnika oraz niepożądany rozkład związków nienasyconych spowodowany wysoką temperaturą. Te wszystkie wady nie występują podczas procesu ekstrakcji z wykorzystaniem nadkrytycznego CO₂. Niska temperatura, brak toksycznych rozpuszczalników oraz wysoka selektywność ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych powoduje otrzymanie substancji najwyższej jakości.

Interesującym efektem uzyskanych badań jest doświadczalne potwierdzenie faktu, że w wyniku zastosowania ekstrakcji w nadkrytycznym ditlenku węgla już przy ciśnieniu 35 MPa następuje zniszczenie ścian komórkowych praktycznie wszystkich ziaren pyłku. Wyniki obserwacji wizualnych (rys. 3) zostały potwierdzone uzyskaną wydajnością w doświadczeniu C. Jest to bardzo cenne, albowiem wewnątrz ziaren znajdują się przede wszystkim substancje białkowe, które stają się w ten sposób łatwiej przyswajalne. Należy uznać, że obnóza pyłkowe po procesie ekstrakcji będą znacznie efektywniej wykorzystywane, np. w trakcie trawienia w organizmie człowieka.

PODSUMOWANIE

W wyniku realizacji pracy zaprezentowanej w artykule można sformułować następujące wnioski:

1. Produktem ekstrakcji obnóży pyłkowych w nadkrytycznym ditlenku węgla jest zarówno ekstrakt, jak i pozostałość poekstrakcyjna. Ekstrakty charakteryzują się przyjemnym i silnym aromatem a głównymi substancjami chemicznymi o znaczeniu bioaktywnym są nienasycone kwasy tłuszczowe (14,07%), triterpeny (5,62%) i sterole (0,34%).
2. Ekstrakcja nadkrytyczna jest efektywnym sposobem niszczenia ścian komórkowych ziaren pyłkowych już przy zastosowaniu ciśnienia o wartości 35 MPa. Pozostałość poekstrakcyjna obnóży pyłkowych jest cennym pokarmem białkowych, który staje się łatwo dostępny.
3. Uzyskane stosunkowo małe wydajności ekstrakcji i specyficzny skład chemiczny wskazują, że jest on zależny od pochodzenia botanicznego zastosowanego materiału – obnóży pyłkowych.
4. Zastosowana technologia wydobycia substancji o charakterze lipidowym wydaje się interesującą alternatywą zagospodarowania pyłku kwiatowego.

LITERATURA

- [1] **AJIKUMAR P.K., K. TYO, S. CARLSEN, O. MUCHA, T.H. PHON, G. STEPHANOPOULOS. 2008.** "Terpenoids: opportunities for biosynthesis of natural product drugs using engineered microorganisms". *Molecular Pharmacology* 5: 167–190.
- [2] **DIONISI F., B. HUG, J.M. AESCHLIMANN, A. HOULEMAR. 1999.** "Supercritical CO₂ extraction for total analysis of food products". *Journal of Food Science and Technology* 64: 612–615.
- [3] **DYBOVA-JACHOWICZ S., A. SADOWSKA (red.) 2003.** *Palinologia*. Kraków: Wydawnictwa Instytutu Botaniki PAN: 411.
- [4] **JANISZEWSKA E., D. WITROWA-RAJCHERT. 2005.** „Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym.” *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2005, 4 (45): 5 – 16.
- [5] **LIPIŃSKI Z. 2014.** *Żywnienie pszczoł miodnych*. Copyright by Zbigniew Lipiński, Wielbork.
- [6] **MÂRGHITAŞ L.A., O.G. STANCIU, D. S. DEZMIREAN, O. BOBIŞ, O. POPESCU, S. BOGDANOV, M.G. CAMPOS. 2009.** „In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania”. *Food Chemistry* 115(3): 878-883.
- [7] **REID R.C., J.M. PRAUSNITZ, B.E. POLING. 1987.** "The Properties of Gases and Liquids" McGraw-Hill: USA, New York.
- [8] **RÓJ E. (red.) 2014.** *Supercritical CO₂ extraction and its applications*. Polish Foundations of the Opportunities Industrialization Centers "OIC Poland", Lublin: 198.
- [9] **SAPKALE G.N., S.M. PATIL, U.S. SURWASE, P.K. BHATBHAGE. 2010.** "Supercritical fluid extraction. Review". *International Journal of Chemical Sciences* 8(2): 729–743.
- [10] **SOVOVÁ H., R.P. STATEVA. 2011.** "Supercritical fluid extraction from vegetable materials". *Reviews in Chemical Engineering* 27: 79–156.
- [11] **UDDIN M.S, H.M. AHN, H. KISHIMURA, B.S. CHUN. 2009.** „Comparative study of digestive enzymes of squid (*Todarodes pacificus*) viscera after supercritical carbon dioxide and organic solvent extraction". *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 14: 338–344.
- [12] **UDDIN M.S., Z. I. SARKER, S. FERDOSH, J.H. AKANDA, S. EASMIN, S.H. SHAMSUDINA, K.B. YUNUS. 2015.** "Phytosterols and their extraction from various plant matrices using supercritical carbon dioxide: a review". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95: 1385–1394.
- [13] **WANG X., H. WANG, Y. LIU, J. YOU, Y. SUO. 2009.** "Extraction of pollen lipids by SFE-CO₂ and determination of free fatty acids by HPLC". *European Journal of Lipid Science and Technology* 111: 155–163.
- [14] **XU X., L. SUN, J. DONG, H. ZHANG. 2009.** "Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with supercritical carbon dioxide". *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 42–46.
- [15] **XU X., J. DONG, X. MU, L. SUN. 2011.** "Supercritical CO₂ extraction of oil, carotenoids, squalene and sterols from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) bee pollen. *Food and Bioprocess Processing* 89: 47-52.