

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM  
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR  
GYÓGY- ÉS AROMANÖVÉNYEK TANSZÉK

**A *LAMIACEAE* CSALÁDRA JELLEMZŐ  
TERPÉNEK, ILLETVE FENOLOS KOMPONENSEK KIVONÁSA  
SZUPERKRITIKUS FLUID EXTRAKCIÓVAL**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**KUTTA GABRIELLA**

TÉMAVEZETŐ:

PLUHÁR ZSUZSANNA PhD  
MEZŐGAZDASÁGI TUDOMÁNYOK DOKTORA

BUDAPEST

2010

A doktori iskola

megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola

tudományága: Növénytermesztési és kertészeti tudományok

vezetője: Dr. Tóth Magdolna  
egyetemi tanár, DSc  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Témavezető: Dr. Pluhár Zsuzsanna  
egyetemi docens, PhD  
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar,  
Gyógy- és Aromanövények Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

## A munka előzményei, a kitűzött célok

Az utóbbi években egyre inkább előtérbe került a természetes eredetű és egyúttal az oldószermaradványoktól mentes kivonatok iránti igény, melyet elsősorban az élelmiszer-, a gyógyszer- illetve a kozmetikai ipar támasztott. A hagyományos extrakciós eljárásokkal előállított növényi kivonatok és illóolajokat a gyógyszeripar különböző gyógyszerek, valamint gyógyhatású készítmények előállításához, az élelmiszeripar fűszerkivonatok, természetes antioxidánsok, vagy természetes színezékek formájában, a kozmetikai-, illatszer- és háztartásvegyipar pedig például gyógykozmetikumok és illatszerek gyártásakor hasznosítja. A jelenlegi szigorú törvényi előírások szabályozzák azt, hogy az élelmiszerekben, a gyógyszerekben és a kozmetikumokban felhasználni kívánt növényi kivonatok nem tartalmazhatnak szerves oldószer maradékot.

A szuperkritikus extrakciót az élelmiszeripar számos területén alkalmazzák, például a kávéból történő koffein kivonására, illetve komlókivonat készítésére. Ezt – többek között – a nagyon jól szabályozható extrakciós hőmérséklet, valamint - ugyancsak a szelektivitást elősegítő – extrakciós nyomás paraméter változtatása teszi lehetővé.

A hagyományos kivonási módszerek mellett a szuperkritikus extrakció sajátos lehetőséget kínál a különböző növényi hatóanyagok kinyerésére is. A szuperkritikus állapotú oldószer oldóképessége és szelektivitása a nyomás és/vagy hőmérséklet megfelelő kiválasztásával, illetve segédoldószer alkalmazásával módosítható. A kiválasztott növényi anyagból a jól megválasztott extrakciós paraméterek mellett csak a kívánt komponensek oldódnak ki. A kivonat még nyomokban sem tartalmaz oldószermaradékot, illetve más szennyezőanyagot. Ennek köszönhetően a termék minőségét tekintve egy magasabb szintet, ezáltal magasabb piaci értéket is képvisel.

A szuperkritikus fluidumokkal történő extrakció mind szélesebb elterjedését igazolja, hogy míg az 1990-ig a *Science Direct* adatbázis szerint 5443 publikáció, addig 1990-től napjainkig több, mint 33 000 publikáció látott napvilágot. Az iparban történő felhasználással kapcsolatban is hasonló fejlődésről számolhatunk be.

Doktori munkám során célul tűztem ki, hogy a kiválasztott - *Melissa*, *Ocimum*, *Thymus* és *Satureja* nemzetségekbe tartozó - *Lamiaceae* fajok illó és nem illó komponenseinek szuperkritikus fluid extrakciós kivonása során meghatározzam azokat az optimális extrakciós paramétereket (extrakciós nyomás, hőmérséklet, időtartam, segédoldószer arány), melyek mellett a kivonatok mennyisége és összetétele megfelelő. A szuperkritikus extraktok kvantitatív és kvalitatív jellemzőit a hagyományos extrakciós eljárásokkal kinyert kivonatokéval vettem össze. A szakirodalom áttekintése során több témakör esetében nem találtam releváns forrást, ebből adódóan elsőként vizsgáltam néhány fajnál az e kivonási eljárásban rejlő lehetőségeket.

## Anyag és módszer

Kísérletünk során (2006-2008) - a citromfű kivételével - a Soroksári Kísérleti Üzem Gyógynövény Kísérleti Telepén termesztett növényanyagot használtunk fel. A betakarítás minden fajnál teljes virágzásban történt, majd a növényanyagot természetes úton szárítottuk. A szárított drogra vonatkozó információk az **1. táblázatban** találhatóak. A száraz drogok porítása közvetlenül az SFE extrakció előtt történt, a desztilláció és a Soxhlet extrakció során pedig azonos eredetű drogot alkalmaztunk.

1. táblázat: A vizsgált fajok drogjainak eredete, a betakarításuk éve és a drog előállítása

Faj	Eredet	Betakarítás éve	Drog (Ph.Hg.VIII, 2004 alapján)
<i>Melissa officinalis</i>	Herbária Zrt. Köztermesztésű kereskedelmi minta	2007	<i>Melissae folium</i> Ph.Hg. VIII. Szárított, szártalanított, morzsolt
<i>Ocimum basilicum</i>	Soroksári Kísérleti Üzem 'A1'	2006	<i>Basilici herba</i> Szárított, szártalanított, morzsolt (MSZ 20687:1985)
<i>Satureja hortensis</i>	Soroksári Kísérleti Üzem Köztermesztésű faj	2006	<i>Saturejae herba</i> Szárított (MSZ 20047:1984)
<i>Satureja montana</i>	Soroksári Kísérleti Üzem 'Bokroska'	2007	<i>Saturejae montanae herba</i> Szárított, szártalanított, morzsolt
<i>Thymus pannonicus</i>	Soroksári Kísérleti Üzem Ceglédberceli eredetű populáció	2008	<i>Thymi pannonici herba</i> Szárított
<i>Thymus vulgaris</i>	Soroksári Kísérleti Üzem Kalocsai köztermesztésű populáció	2006	<i>Thymi herba</i> Ph.Hg. VIII. Szárított, morzsolt

## Kísérleti módszerek

### A vízgőzdesztilláció (VGD) módszere

A vízgőzdesztilláció Clevenger-típusú laboratóriumi készülékkel, a VII. Magyar Gyógyszerkönyv (1986) előiratai alapján zajlott. A bemért drog mennyisége 20 g volt, melyet 500 ml vízzel 3 órán át desztilláltunk. Az illóolaj mennyiségét ml/100 g-ban fejeztük ki a drog vízmentes szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva, majd – az SFE-extraktumok kihozatali értékeivel (g/100g= m/m %) való összevethetőség érdekében, az illóolajok sűrűsége (g/cm<sup>3</sup>) figyelembe vételével - a kapott vegyes % értékeket m/m %-ba számítottuk át.

### A szuperkritikus fluid extrakció (SFE)

Kísérleteinket az **Isco SFX 2-10™** típusú (ISCO, Lincoln, Nevada, USA) laboratóriumi extraktor segítségével végeztük. Az extraktorhoz egy 266 ml űrtartalmú **Isco Model 260 D** pumpa kapcsolódik, a segédoldószer adagolásakor azonban 2 pumpás üzemmódot alkalmaztunk,

melynek során egy további 260D pumpát kapcsoltunk az extraktorhoz. Az extrakciót 99,995 % tisztaságú szén-dioxiddal (Linde, Répcelak), konstans nyomás és változó, de átlagosan 1,2 ml/min áramlási sebesség mellett végeztük. A száraz, porított drogokból átlagosan 3,5-5,0 grammot mértünk be. A segédoldószer keverési aránya programozható, ilyenkor a két fluid oldószer egy keverőszelepen keresztül jut az extrakciós térbe.

Három paraméter (extrakciós idő, nyomás illetve hőmérséklet) egyenkénti változtatásával dolgoztunk, miközben a másik két tényezőt állandó értéken tartottuk. Nyomás-optimalizációs kísérletet végeztünk az illó komponensek vizsgálatára állandó **40 °C és 30 min** extrakciós idő mellett: 8-30 MPa (1 MPa-ként) nyomásértékek mellett. A megfelelő extrakciós idő kiválasztása érdekében állandó **10 MPa és 40 °C** mellett a következő időtartamokkal végeztünk kivonást: 10, 20, 30, 40, 50 illetve 60 perc. Az optimális és egyben kíméletes kezelést jelentő extrakciós hőmérséklet megállapítására irányuló kísérletsorozatunkban állandó **10 MPa és 30 min** beállításával 30, 35, 40, 45 és 50 °C mellett dolgoztunk. A nem illó komponensek mennyiségét egyrészt **30-50 MPa** között csak szén-dioxid oldószerrel, majd pedig HPLC tisztaságú metanol (Merck, Németország) felhasználásával (keverési arány: **5-50 %**) **30, 40 és 50 MPa** nyomás értékek mellett teszteltük. Egy beállított extrakciós körülmény (t, p, T) mellett négy párhuzamos mintát teszteltünk, a kapott értékeket átlagoltuk és tényezönként az átlagértékeket hasonlítottuk össze.

A kivont hatóanyagokat SFE-CO<sub>2</sub> extrakció esetén 4 ml n-hexánban (HPLC-tisztaság, Merck, Németország) nyelettük el. Az oldószert szobahőmérsékleten elpárologtattuk, majd a kivonatokat - visszahígítás után - gázkromatográfiás analízisnek vetettük alá. A GC-analízis előtt a várakozó mintákat 4 °C-on, hűtőszekrényben tároltuk. Az extraktum mennyiségét tömegszázalékban adtuk meg, amit a bemért drog szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva számítottunk ki.

### **A Soxhlet extrakció módszere**

Az kivonatokat 1 g homogenizált növényanyagból készítettük 25 ml etanol hozzáadásával, 3 ismétlésben. A keveréket 6 órán át forraltuk, majd pedig az oldószert elpárologtattuk és a kivonat mennyiségét visszamértük, illetve HPLC analízisnek vetettük alá. Ezt a kivonatot tüntettük fel kontrollként a nem illó komponensek elemzése során. Az extraktum mennyiségét tömegszázalékban adtuk meg, amit a bemért drog szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva számítottunk ki.

### **A gázkromatográfiás analízis módszere**

Az illóolajban dús extraktumok és a desztillált illóolajok összetételét kapillár gázkromatográfiás (GC-FID) módszerrel határoztuk meg. A desztilláció által nyert illóolajat

közvetlenül injektáltuk be a berendezésbe, míg a bepárolt SFE-kivonatokat 0,1 ml n-hexánnal (HPLC tisztaságú, Merck, Németország) hígítva alkalmaztuk.

GC 6890 N (Agilent Technologies, Egyesült Államok) gázkromatográf készülékkel vizsgáltuk a mintákat.

Gázkromatográfiás körülmények: injektor hőmérséklete: 250 °C, split arány: 30:1, injektálás: automata injektor 7683B (Agilent Technologies, Egyesült Államok), injektált mennyiség: 0,2 µl (10 %-os hexános oldat), vivőgáz: hélium (Linde, Répcelak), áramlási sebesség: 1 ml/min (konstans), kromatográfiás oszlop: HP-5 (5 % phenyl-methyl-siloxane) (hossz: 30 m, d= 250 µm, filmvastagság: 0,25 µm), hőmérsékleti program: 60-240 °C-ig: 3 °C/perc, 240 °C/ 5 perc, detektálás: 250 °C-on, lángionizációs detektorral (FID). Az SFE-kivonatok és a desztillált illóolajok komponenseinek azonosítása standardok, retenciós idők és retenciós indexek alapján történt.

### **A HPLC analízis módszere**

Az SFE kivonatok nem illó (fenoloid és triterpén szerkezetű) komponenseit nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás (HPLC- High Performance Liquid Chromatography) módszerrel analizáltuk. A szuperkritikus fluid extrakcióval előállított mintákból (4 párhuzamos minta) – hígítás (összesen 300 µl metanol), tisztítás és szűrés után - 20 µl-t injektáltunk a készülékbe. Analízis előtt MILEX SLCR 013NL típusú (Millipore, Egyesült Államok) szűrőt alkalmaztunk, melynek részecske mérete 0,45 µm volt.

A HPLC (Waters, Egyesült Államok) üzemi jellemzői: Waters 717 plus típusú automata rotoros mintaadagoló berendezés (injektor), Waters 1252 típusú pumpa, Waters 2487 típusú abszorbancia detektor (350 nm hullámhosszon mérték az abszorbanciát), áramlási sebesség: 1 ml/min. Kromatográfiás körülmények: álló fázis (oszlop): SYMMETRY RP C18 (5 µm 4,6 x 150) (Waters, Egyesült Államok), mobil fázis: 2,5 % ecetsav (350 ml mikroszűrt vízben feloldva); MeOH (50 ml); acetonitril (100 ml) (Merck, Németország), elúció: gradiens. Az azonosítás: standardok és retenciós idők segítségével történt.

### **Statisztikai értékelés**

A 4 ismétlésben rendelkezésre álló mérési adatokat először a Microsoft Office Excel 2003 programmal elemeztük. Az eredmények statisztikai értékeléséhez a Statistica 8.0 programcsomagot használtuk.

Az extrakciós paraméterek (nyomás, hőmérséklet, időtartam, segédoldószer keverési aránya) kihatásra és a főbb összetevők arányaira gyakorolt hatását egytényezős varianciaanalízissel értékeltük.

## ***Új tudományos eredmények***

Kutatómunkánk során az alábbiakban összefoglalható új tudományos eredményeket értük el:

Hat kiválasztott *Lamiaceae* faj (*Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Satureja hortensis*, *Satureja montana*, *Thymus pannonicus*, *Thymus vulgaris*) esetében elsőként végeztünk a szuperkritikus fluid extrakció csaknem minden paraméterére (extrakciós nyomás, hőmérséklet, időtartam, valamint segédoldószer-arány) kiterjedő optimalizációs kísérletet.

### A *Melissa officinalis* esetében elért új tudományos eredmények

Az illó frakciót tekintve igazoltuk az extrakciós nyomás szignifikáns hatását a kihozatalra. Elsőként mutattuk ki, hogy a vizsgált komponensek közül a  $\beta$ -kariofillén mennyisége is a 13 MPa nyomáson előállított kivonatban a legmagasabb, míg a citronellál, a kariofillén-oxid és a geraniál mennyisége 17 MPa, vagy afeletti nyomásértékek esetében volt kiemelkedő.

A nem illó frakció nyomásoptimalizációja során a kihozatal szempontjából a 31 MPa érték tekintendő optimálisnak. Elsőként állapítottuk meg, hogy 40 MPa nyomásérték eredményezi a legnagyobb mennyiségű rozmaringsavat, illetve ugyancsak első alkalommal detektáltunk 45 és 50 MPa esetében kiemelkedő mennyiségű urzolsavat. A segédoldószer alkalmazása során 40 MPa extrakciós nyomás és 20 % segédoldószer részarány mellett kiemelkedő mennyiségű rozmaringsavat nyertünk ki. A szakirodalomból ismertekhez képest első alkalommal nyertünk ki eriodiktiolt és luteolint SFE-vel, segédoldószer alkalmazása mellett, melynek aránya 50 MPa extrakciós nyomás és 40 % metanol alkalmazása esetén volt a legmagasabb.

### Az *Ocimum basilicum* esetében elért új tudományos eredmények

A bazsalikom nyomásoptimalizációja során bizonyítottuk, hogy 15 MPa extrakciós nyomásnál optimális az illó komponensekben dús extrakt kihozatala. Az időtartam tesztelése során igazoltuk, hogy a 40 perces extrakciós időtartam 50 %-kal nagyobb kihozatali arányt eredményez a szakirodalomban ajánlott 30 perces extrakciós időtartamhoz képest.

Első alkalommal vizsgáltuk a bazsalikom flavonoid komponenseinek kinyerési lehetőségét szuperkritikus fluid extrakcióval, az optimális paramétereket tekintve korábbi adatok nem ismeretesek. A nem illó frakció nyomásoptimalizációja során a 40 MPa extrakciós nyomásértéket tekintjük optimálisnak. Elsőként azonosítottunk a szuperkritikus kivonatokban rutint 35 és 45 MPa, klorogénsavat 45 MPa, apigenint 50 MPa, apigenin-7-glikozidot 35 MPa, eriodiktiolt 45 MPa extrakciós nyomásérték mellett. Ezekon kívül luteolint is elsőként mutattunk ki, legmagasabb arányban 45 MPa nyomás értéknél. A segédoldószeres kísérletek során elsőként igazoltuk az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes hatását a kihozatalra. Ez esetben is igazoltuk továbbá a szuperkritikus kivonatokban az apigenin, az apigenin-7-glikozid, az

eriodiktiol, továbbá az urzolsav jelenlétét. Luteolint a legnagyobb arányban 40 MPa nyomáson és 40 % segédoldószer arány mellett nyertünk ki.

#### A *Satureja hortensis* esetében elért új tudományos eredmények

Elsőként igazoltuk, hogy az 50 °C-os extrakciós hőmérséklet eredményezi a legnagyobb extrakt-kihozatalt, illetve, hogy a  $\gamma$ -terpinén is ezen érték mellett fordult elő a legnagyobb arányban. 40 °C mellett a karvakrol, míg 35 és 55 °C mellett a p-cimol mennyisége volt a legmagasabb a tesztelt hőmérsékleti értékek közül. Ugyancsak új eredménynek számít, hogy a 15 perces extrakciós időtartam már optimális extrakt-kihozatalt eredményez. Az időparaméter hatása a kihozatalra szignifikánsnak bizonyult.

A nem illó frakció SFE-CO<sub>2</sub> kivonószerezrel történő nyomásoptimalizációja során elsőként azonosítottunk kerti borsfű kivonatában eriodiktiolt és urzolsavat. A segédoldószer alkalmazása a tisztán fluid szén-dioxiddal végzett kivonáshoz képest - az előzetes várakozásoknak megfelelően - magasabb kihozatali értékeket eredményezett 40 és 50 MPa nyomásértékek mellett, míg 30 MPa nyomásnál csekély visszaesés volt megfigyelhető. Elemeztük e fajnál a segédoldószer alkalmazásával előállított szuperkritikus minták összetételét, mely kivonatok mindegyikében első alkalommal azonosítottunk urzolsavat. A borsfű nem illó frakciója kihozatalának optimalizációja szempontjából megállapításra került, hogy alacsonyabb (40 MPa) nyomástartományban nagyobb arányú segédoldószer arányt, míg magasabb (50 MPa) nyomás alkalmazásakor kisebb segédoldószer arányt érdemes alkalmazni.

#### A *Satureja montana* esetében elért új tudományos eredmények

Az illó frakció kivonásakor, a nyomás és az idő paraméter tesztelése során igazoltuk, hogy azok szignifikáns hatást gyakorolnak a kihozatalra. Kísérleteinkben 45 °C-os extrakciós hőmérsékletnél értünk el optimális kihozatalt, azonban a karvakrol (40 °C) és a p-cimol (60 °C) optimális aránya ettől eltérő hőmérsékleten volt detektálható. Elsőként állapítottuk meg, hogy a 35 perces extrakciós időtartamnál nyerhető ki optimális mennyiségű extrakt, azonban a geraniol és a karvakrol komponensek esetében a 15 perces, míg a p-ciménnél a 45 perces extrakció tekinthető megfelelőnek.

A nem illó frakció fluid szén-dioxiddal végzett extrakciós kísérlete során igazoltuk, hogy a 36 MPa nyomásérték eredményez optimális kihozatalt, illetve, hogy a nyomás szignifikáns hatást gyakorol a kihozatalra. Elsőként azonosítottunk évelő borsfű szuperkritikus kivonataiban rutint, luteolint, valamint rozmaringsavat. A segédoldószer alkalmazása során egyrészt igazoltuk a metanol % és a nyomás együttes szignifikáns hatását a kihozatalra, másrészt pedig 40 MPa nyomás és 50 % metanol arány mellett nyertünk energetikailag is optimális kihozatalt. Elsőként azonosítottunk évelő borsfű SFE-CO<sub>2</sub>+metanol segédoldószeres kivonataiban rutint, kvercitrint, apigenint, luteolint és kvercetint, melyek aránya esetenként a Soxhlet-kivonatban mért



mennyiséget is meghaladta. Bizonyítottuk továbbá a nyomásváltoztatás hatását az urzolsav arányára.

#### A *Thymus pannonicus* esetében elért új tudományos eredmények

E hazánkban gyakori vadkakukkfű faj SFE extrakciójával korábban még nem foglalkoztak, így az általunk kapott eredmények újak tekinthetők.

Az illó frakció nyomásoptimalizációja során bizonyítottuk, hogy az extrakciós nyomás hatást gyakorol a kihozatalra. Elsőként állapítottuk meg, hogy optimális a 13 MPa extrakciós nyomás alkalmazása, ugyanakkor a timolnál 19 MPa-nál, a timol-metiléternél 12 MPa-nál, a  $\beta$ -bizabolén esetében pedig 28 MPa nyomásnál értük el a legmagasabb arányt az illó frakción belül. Bizonyítottuk, hogy a hőmérséklet paraméter tesztelésekor kihozatal szempontjából a legjobb eredményt az 50 °C-os extrakció hozta, azonban a timol aránya 45 °C-on, míg a  $\beta$ -bizaboléné 60 °C-on volt optimális. A hőmérséklet vizsgálata során csak a geraniol és a spatulenol komponensek esetében tudtuk igazolni a paraméter hatását a komponensek arányára. Az extrakciós időtartam vizsgálata során az 50 perces kivonás eredményezte az optimális kihozatalt, míg a timol aránya a 35 perces, a  $\beta$ -bizaboléné pedig a 10 perces extrakciós időtartam eredményeként volt a legmegfelelőbb. Igazoltuk, hogy az időtartam változtatása jelentős hatást gyakorol a kihozatalra, illetve a kivonatok timol arányára.

A nem illó frakció elemzése során 36 MPa nyomásérték eredményezett optimális kihozatalt. Első alkalommal azonosítottunk a magas kakukkfűnél luteolint, melynek aránya 50 MPa extrakciós nyomásnál volt kiemelkedő. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a kihozatal tekintetében a nyomás változtatás hatása egyértelműen érvényesül. Mintáinkban először azonosítottunk luteolint, mely komponens a Soxhlet-kivonatban sem volt kimutatható. Bizonyítottuk, hogy a segédoldószeres extrakció már 40 MPa extrakciós nyomás és 20-40 % metanol részarány mellett optimális kihozatali értéket eredményez. Az SFE-CO<sub>2</sub> eredményekhez hasonlóan, segédoldószerrel ugyancsak jelentős mennyiségű luteolint mértünk.

#### A *Thymus vulgaris* esetében elért új tudományos eredmények

Kísérleteink alapján igazoltuk, hogy az extrakciós nyomás és az időtartam hatást gyakorol az illó frakció kihozatalára. Elsőként állapítottuk meg, hogy az 55 °C-os extrakciós hőmérséklet eredményezi a legmagasabb extrakt-kihozatalt, a timol és a karvakrol aránya azonban 40 °C-on, a p-cimolé pedig 55 °C-on volt a legnagyobb. Újronnan igazoltuk, hogy a 60 perces extrakciós időtartam eredményez optimális kihozatali arányt, illetve, hogy a timol és a karvakrol is ezen időtartam mellett mutatható ki a legmagasabb arányban.

Elsőként állapítottuk meg, hogy a kerti kakukkfű nem illó frakciójának kinyerésére a 34-38 MPa tekinthető optimális nyomástartománynak, illetve azonosítottunk kvercetin a kerti kakukkfű SFE kivonataiban. Újronnan igazoltuk, hogy a segédoldószerrel végzett extrakció során

a legmagasabb kihozatali értékeket 50 MPa nyomáson és 25-35 % metanol részarány mellett lehet elérni. Elsőként mutattunk ki kvercetint fluid széndioxidos mintákból segédoldószer alkalmazása mellett is.

### **Következtetések és javaslatok**

Kísérletünkben a 6 *Lamiaceae* családban tartozó taxon szuperkritikus fluid extrakcióval végzett extrakciója során lényeges eltéréseket tapasztaltunk a kontrollként választott laboratóriumi kivonási módszerekhez (Clevenger vízgőzdesztilláció, Soxhlet-extrakció) képest. Az eltérések elsődleges oka a vízgőzdesztillációnál a magas, 100 °C körüli hőmérsékletben rejlik, ugyanis ekkor többnyire nő a műtermékek keletkezésének valószínűsége, valamint a termolabilis komponensek is sérülhetnek, illetve átalakulhatnak nemkívánatos komponensekké. A nem illó, poláros, nagyobb molekulatömegű hatóanyagok kivonására hagyományosan alkalmazott Soxhlet-extrakció során ugyancsak a hőmérséklet, valamint az eltérő polaritású és kivonóképeségű oldószer okoz eltéréseket a fluid extrakcióval előállítható kivonatokhoz képest. A szakirodalomból ismert és ez alapján mi is azt vártuk, hogy a szuperkritikus fluid extrakció során nyert kivonat összetétele és egyben minősége sokkal inkább hasonlít az alapanyagként szolgáló növény, ill. drog eredeti hatóanyag összetételéhez, mint egyéb extrakciós módszerek esetén. Ez különösen az illóolajban dús kivonatok kinyerésekor várható, melyek előállításához elegendő az alacsony kritikus hőmérsékletű szén-dioxid kivonószer.

Az egyes vizsgált fajoknál kapott eredményeinkből levont következtetéseinket az alábbiakban foglaljuk össze:

- A *Melissa officinalis* illó összetevőkben dús extraktumának két fő komponense közül a citronellál 13-14 MPa, míg a geraniál 17 MPa nyomás, 40 °C hőmérséklet és 30 perces időtartam mellett nyerhető ki optimális mennyiségben. A nem illó komponensek közül az urzolsav SFE-CO<sub>2</sub>-vel extrahálható, azonban a kávésav sikeres kivonására inkább a Soxhlet-extrakció javasolható. A rozmaringsav, a luteolin és az eriodiktiol kivonására a segédoldószeres SFE extrakció a megfelelő módszer.
- Az *Ocimum basilicum* illó frakciójának SFE-CO<sub>2</sub>-vel történő kivonásakor a linalool komponenst 18 MPa nyomáson, 50 °C hőmérsékleten 15 perc alatt, míg az esztragolt 11 MPa nyomás, 40-45 °C hőmérséklet és 60 perc alatt célszerű extrahálni. Rutin és rozmaringsav kinyerésére a Soxhlet-extrakció alkalmazható eredményesen, míg a luteolin, az urzolsav és az apigenin kivonására az SFE-CO<sub>2</sub> extrahálószer javasolható. Az apigenin-7-glikozid és az eriodiktiol komponensek kimutatására a segédoldószeres SFE-extrakció a követendő.
- A *Satureja hortensis* illó frakciójának SFE-CO<sub>2</sub>-vel történő extrakciója során karvakrolban dús kivonatot 13-14 MPa nyomás, 40 °C hőmérséklet, valamint 30 perces extrakciós időtartam

mellett nyerhetünk ki. A rutin, a luteolin és a rozmaringsav fluid széndioxiddal megfelelő arányban kinyerhető, azonban az apigenin, a kvercetin és a kvercitrin csak segédoldószer segítségével extrahálható kielégítő arányban. A kávéssav és a klorogénsav esetében a Soxhlet-extrakció hozott optimális eredményt.

- A *Thymus pannonicus* drogjából szuperkritikus fluid extrakcióval a timol 19 MPa nyomás, 45 °C hőmérséklet és 35 perces extrakciós időtartam mellett, míg a  $\beta$ -bizabolén 28 MPa nyomás, 60 °C hőmérséklet és 10 perces extrakciós időtartam mellett nyerhető ki optimális arányban. A luteolin, a kávéssav és az apigenin komponensek kivonására a Soxhlet-extrakció volt a legeredményesebb módszer. A segédoldószeres fluid extrakció a luteolin, a kávéssav és az apigenin komponensek kivonására ajánlható.

- A *Thymus vulgaris* illó frakciójának SFE-CO<sub>2</sub> extrakciójakor a timol 18 MPa nyomáson, 40 °C hőmérsékleten és 60 perces időtartam alatt vonható ki eredményesen, ugyanakkor a másik fő komponens, a p-cimén 14 MPa nyomás, 55 °C hőmérséklet és 20 perces extrakciós időtartam alatt extrahálható optimális arányban. A luteolin, a rozmaringsav és a kvercetin komponenseknél a metanol segédoldószerrel végzett fluid extrakció javasolható, míg a rutin, a kávéssav és a klorogénsav esetében a hagyományos Soxhlet-extrakció eredményezett megfelelő kihozatali arányt.

Jelentős eredményként tartjuk számon, hogy kísérleteinkben, SFE eljárás segítségével - metanol segédoldószerrel, illetve anélkül is - sikerült olyan, jelentős terápiás hatással rendelkező komponensek kinyerése is, mint pl.

- a fenolsavak közül a rozmaringsav,
- a flavonoidok közül az apigenin és glikozidja, a kvercetin és a luteolin,
- a triterpénsavak közül az urzolsav.

Megállapítottuk továbbá, hogy nem mindig esnek egybe a kihozatal, ill. az egyes komponensek szempontjából optimálisnak tekinthető paraméterek, de kiválaszthatók olyan extrakciós körülmények, melyek bizonyos komponensek arányának növekedését eredményezik. Ez a lehetőség a vizsgált fajok közül különösen a fenolos monoterpéneket (timolt és karvakrolt) tartalmazó illóolajok esetében jelentkezik, bár más, szintén fontos aroma-komponensek (pl. a bazslikomnál a linalool) irányába történő eltolódást is lehetővé tesz az illóolaj-spektrum vonatkozásában.

Kísérleteink során - azonos extrakciós körülmények között - 4 párhuzamos mintát állítottunk elő. Véleményünk szerint érdemes lenne a jövőben a mintaszámot növelni, illetve meghatározni azt a legkisebb ismétlésszámot, melynél már elfogadható szinten van a szórás, és emiatt a statisztikai értékelés egyéb módszerei is alkalmazhatóak.

Számos esetben a kis mennyiségű bemérhető minta is hibaforrás lehet, tehát érdemes lenne a lépték növeléssel folytatni a kísérletezést az adott taxonok illékony és nem-illékony komponenseire vonatkozólag.

A szakirodalmi adatok nem egybehangzóak a szemcseméret nagyságát illetően, ennek optimalizása is kutatási cél lehet a jövőben akár kihozatalról, akár konkrét komponensről legyen szó.

Az analitikai léptékű SFE extraktorral elért eredményeink sok esetben csak jelzik bizonyos illó és nem illó hatóanyag-komponensek jelenlétét a kivonatokban, ill. azok GC/HPLC area% szerinti arányát. A hatóanyagokként kinyerhető mennyiségek pontosabb értékelésére egy léptéknövelést követően kerülhetne sor, mely alapján - a vizsgált fajok közül - kiemelhetők lennének az ipari (élelmiszeripar, kozmetikai-és háztartásvegyipar, stb.) és gyógyászati felhasználás szempontjából is jelentős források.

Érdemes hangsúlyozni továbbá, hogy az SFE módszer lehetőséget nyújt arra, hogy egyre több iparágban és a háztartásokban is felhasználásra kerülhessenek a tiszta alapanyagokból környezetkímélő eljárással előállított, oldószermentes növényi extraktumok, melyek alkalmazása biztonságos és egészségkárosító hatásoktól mentes.

## Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

### Nem IF-es folyóiratcikk:

1. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Héthelyi É. (2005) A szuperkritikus fluid extrakció alkalmazási lehetőségei különböző eredetű kakukkfű minták esetében. *Olaj, Szappan, Kozmetika*, 2005, (54) 4:180-186
2. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz. (2007): Yield and composition of supercritical fluid extracts of different *Lamiaceae* herbs. *International Journal of Horticultural Science*, 13 (2): 79-82.
3. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi, Sz., Fülöp, A.L., Sándor, G. (2008) Yield and composition of supercritical fluid extracts of different *Lamiaceae* herbs: *Satureja hortensis* L., *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *International Journal of Horticultural Science*.14(4): 75-79.
4. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi, Sz., Végvári, Gy., Sándor, G. (2009) Szuperkritikus szén-dioxiddal és segédoldószerrel előállított bazsalikom (*Ocimum basilicum* L.) és egyéves borsfű (*Satureja hortensis* L.) kivonatok illó és nem illó komponenseinek értékelése. *Olaj, Szappan, Kozmetika. Szuperkritikus oldószerek Analitikai és Műveleti Alkalmazása*. 2008. május 22. 58. évfolyam. Különszám. p. 32-42.
5. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz., Fülöp A.L., Sándor G. (2009) A citromfű (*Melissa officinalis* L.) szuperkritikus extrakciója. *Kertgazdaság*, 41(1): 44-52.

### Konferencia kiadványok (magyar nyelvű, összefoglaló):

1. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Héthelyi É. (2005) Különböző eredetű kakukkfű (*Thymus spp.*) fajok desztillált és szuperkritikus szén-dioxid extrakcióval kinyert kivonatainak összehasonlító értékelése. Szuperkritikus oldószerek analitikai és műveleti alkalmazása- Konferencia. Budapest, 2005. május 19. *Összefoglalók*, p. 14-15.
2. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz. (2007) Szuperkritikus fluid szén-dioxidos kakukkfű kivonatok kihozatala és összetétele. Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak. Budapest, 2007. november 7-8. *Összefoglalók*, p. 114-115.
3. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi, Sz. (2008) Szuperkritikus fluid szén-dioxidos kakukkfű kivonatok kihozatala és összetétele. XIV. Növénynevelési Tudományos Napok. Budapest, 2008. március 12. *Összefoglalók*, p. 74.
4. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz., Végvári Gy., Sándor G. (2008) Szuperkritikus szén-dioxiddal és segédoldószerrel előállított bazsalikom (*Ocimum basilicum* L.) és egyéves borsfű (*Satureja hortensis* L.) kivonatok illó és nem illó komponenseinek értékelése. Szuperkritikus oldószerek analitikai és műveleti alkalmazása. Budapest, 2008. május 22. *Összefoglalók*, p. 13.
5. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz., Gosztola B., Sándor G. (2008) A citromfű (*Melissa officinalis* L.) szuperkritikus extrakciója. *Gyógynövény Szimpózium*. 2008. október 16-18. Pécs. Gyógyszerészet, Supplementum, p. 18.

#### Nemzetközi konferencia kiadványok (full paper):

1. Pluhár Zs., **Kutta G.**, Héthelyi É., Kamondy L. (2004) Comparison of supercritical fluid extracts and essential oils of different thyme (*Thymus*) taxa. 23<sup>rd</sup> Journées Internationales Huiles Essentielles et Extraits, Digne les Bains, 9-10 Septembre, 2004. *Proceedings (Actes, CD-ROM)*, p. 135-141.
2. **Kutta G.**, Pluhár Zs., Sárosi Sz. (2007) Evaluation of yield and composition of supercritical fluid extraction of different *Lamiaceae* species. University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic, April 17<sup>th</sup> 2007. *Proceedings of the International Ph.D. Students' Conference*. (ISBN: 978-80-7040-972-5, p. 1-6.)
3. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi Sz., Sándor G. (2008) Yield and composition of supercritical fluid extracts of different *Lamiaceae* herbs: basil (*Ocimum basilicum* L.) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.). 5<sup>th</sup> Conference on the Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (5<sup>th</sup> CMAPSEEC). Brno, Czech Republic, 2-5. September, 2008, *Proceedings*, (ISBN: 978-80-7375-209-5.) p.1-5.

#### Nemzetközi konferencia kiadványok (abstract):

1. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi, Sz., Gosztola, B.(2007) Anwendung der superkritischen Fluid-Extraktion bei der Untersuchung flüchtiger Komponenten von *Thymus*-Arten. 18. Bernburger Winterseminar und 5. Fachtagung Arznei- und Gewürzpflanzen. Bernburg, 18-21. Februar 2008. *Kurzfassung der Referate und Poster*, p. 98.
2. **Kutta, G.**, Pluhár, Zs., Sárosi, Sz., Sándor, G., Végvári, Gy. (2009) Effect of different methods on the volatile phenol compounds of *Thymus pannonicus* All. and *Satureja montana* L. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel). 44. Vortragstagung. 16-17. März 2009, Freising. *Book of Abstracts*. p. 115.