BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI KAR
GYÓGY- ÉS AROMANÖVÉNYEK TANSZÉK

A *LAMIACEAE* CSALÁDRA JELLEMZŐ ILLÓ ÉS NEM ILLÓ TERPÉN, ILLETVE FENOLOS KOMPONENSEK KIVONÁSA SZUPERKRITIKUS FLUID EXTRAKCIÓVAL

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

KUTTA GABRIELLA

TÉMAVEZETŐ:

PLUHÁR ZSUZSANNA PhD
MEZŐGAZDASÁGI TUDOMÁNYOK DOKTORA

BUDAPEST

2010

Az **Élettudományi Területi Doktori Tanács 2009. év december 8-i ülésén** a Bíráló Bizottság jelölése ügyében benyújtott kérelmét ***pozitívan elbírálta*** és a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:
Balázs Sándor, MHAS, BCE

Tagjai:
Máthé Imre, DSc, SZTE
Kéry Ágnes, PhD, SE

Opponensei:
Ledniczkyné Lemberkovics Éva, CSc, SE
Simándi Béla, DSc, BMGE

Titkár:
Honfi Péter, PhD, BCE

A doktori iskola

megnevezése:	Kertészettudományi Doktori Iskola
tudományága:	Növénytermesztési és kertészeti tudományok
vezetője:	Dr. Tóth Magdolna egyetemi tanár, DSc Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcstermő 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

1. TARTALOMJEGYZÉK

1. TARTALOMJEGYZÉK 4

2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK 7

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 8

3.1. A vizsgált fajok botanikai jellemzése, ökológiai igényei és származása 8
3.1.1. *Melissa officinalis* L. – Citromfű 8
3.1.2. *Ocimum basilicum* L. – Bazsalikom 9
3.1.3. *Satureja hortensis* L. - Kerti borsfű 9
3.1.4. *Satureja montana* L. – Évelő borsfű 10
3.1.5. *Thymus pannonicus* All.- Magyar kakukkfű 11
3.1.6. *Thymus vulgaris* L.- Kerti kakukkfű 12

3.2. A vizsgált fajok drogjai, hatóanyagai és felhasználásuk 13
3.2.1. A *Melissa officinalis* L. drogjai, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása 13
3.2.2. Az *Ocimum basilicum* L. drogja, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása 17
3.2.3. A *Satureja* fajok drogjai, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása 20
3.2.4. A *Thymus* fajok drogjai, hatóanyagai és felhasználásuk 21

3.3. A szuperkritikus fluid extrakció 26
3.3.1. A szuperkritikus fluid extrakció jelentősége világszerte és hazánkban, alkalmazása a gyógynövények területén, különös tekintettel a *Lamiaceae* család illékony komponenseire 29
3.3.1.1. A *Melissa officinalis*-sal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei 31
3.3.1.2. Az *Ocimum basilicum*-mal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei 33
3.3.1.3. A *Satureja* fajokkal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei 34
3.3.1.4. A *Thymus* fajokkal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei 35
3.3.2. A kísérletben szereplő fajok nem illó komponenseinek vizsgálata során eddig elért eredmények 36
3.3.3. A vizsgálatba vont fajok segédoldószer hozzáadásával végzett szuperkritikus fluid extrakciója során kapott eddigi eredmények 40

4. ANYAG ÉS MÓDSZER 41
4.1. A vizsgálat anyaga 41
4.2. Kísérleti módszerek 42
4.2.1. A szuperkritikus fluid extrakció módszere 42
4.2.2. A vízgőzdesztilláció módszere 42
4.2.3. A Soxhlet extrakció módszere 43
4.2.4. A gázkromatográfiás analízis módszere 43
4.2.5. A HPLC analízis módszere 44
4.3. Statisztikai értékelés 44

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK 45

5.1. A ***Melissa officinalis*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 45
5.1.1. Az illó komponensek kivonására irányuló kísérletek eredményei 45
5.1.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 45
5.1.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 47
5.1.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 48
5.1.2. Nem illó komponensek kivonására irányuló kísérletek 49
5.1.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 49
5.1.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 51
5.1.3. Összegzés 53

5.2. Az ***Ocimum basilicum*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 55
5.2.1. Az illó komponensek kivonására irányuló kísérletek eredményei 55
5.2.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 55
5.2.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 58
5.2.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 59
5.2.2. Nem illó komponensek kivonása 61
5.2.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 61
5.2.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 63
5.2.3. Összegzés 65

5.3. A ***Satureja hortensis*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 66
5.3.1. Illó komponensek kivonása 66
5.3.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 66
5.3.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 69
5.3.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 70
5.3.2. Nem illó komponensek kivonása 72
5.3.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 72
5.3.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 73
5.3.3. Összegzés 75

5.4. A ***Satureja montana*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 76
5.4.1. Illó komponensek kivonása 76
5.4.1.1. Az extrakciós nyomásoptimalizációja 76
5.4.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 78
5.4.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 80
5.4.2. Nem illó komponensek kivonása 81
5.4.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 81
5.4.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 82
5.4.3. Összegzés 84

5.5. A ***Thymus pannonicus*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 85
5.5.1. Illó komponensek kivonása 85
5.5.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 85
5.5.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 88
5.5.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 89
5.5.2. Nem illó komponensek kivonása 91
5.5.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 91
5.5.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 92
5.5.3. Összegzés 94

5.6. A ***Thymus vulgaris*** szuperkritikus kivonatainak értékelése 95
5.6.1. Illó komponensek kivonása 95
5.6.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 95
5.6.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja 96
5.6.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja 98
5.6.2. Nem illó komponensek kivonása 99
5.6.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja 99
5.6.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával 100
5.6.3. Összegzés 102

5.7. Új tudományos eredmények 103

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK 107

7. ÖSSZEFOGLALÁS 110

SUMMARY 115

M1: IRODALOMJEGYZÉK 120

M2: MELLÉKLETEK 135

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 159

2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

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 kivonatokat és illóolajokat a gyógyszeripar különböző gyógyszerek, valamint gyógyhatású készítmények előállításához, az élelmiszeripar fűszerkivonatok, természetes antioxidánsok, vagy természetes színezékek formájában, a kozmetikai-, illatszer- és házatatásvegyipar pedig gyógykozmetikumok és illatszerek gyártásakor hasznosítja. Jelenleg szigorú törvényi előírások szabályozzák, 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 oldószerek oldóképessége és szelektivitása a nyomás és/vagy hőmérséklet megfelelő kiválasztásával, illetve segédoldószerek 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 extraktumok kvantitatív és kvalitatív jellemzőit a hagyományos extrakciós módszerekkel kinyert kivonatokéval vetettem össze. A szakirodalom áttekintése során több témakör esetében nem találtam releváns forrást, ebből adódóan elsőként vizsgáltam néhány fajnál e kivonási eljárásban rejlő lehetőségeket.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A vizsgált fajok botanikai jellemzése, ökológiai igényei és származása

A vizsgálatba vont fajok rendszertani szempontból a *Dicotyledonopsida* osztályba, a *Lamiidae* alosztályba, a *Lamiales* rendbe, a *Lamiaceae* családba tartoznak (Simon, 2000). Életformájuk szerint a mezei és a kerti kakukkfű, valamint az évelő borsfű fásodó félcserjék (Ch), a bazsalikom és a kerti borsfű egyévesek (Th), és a citromfű pedig évelő lágyszárú (H) faj.

A vizsgálatba vont fajokat nemzetségneveik alfabetikus sorrendjében tárgyalom.

3.1.1. *Melissa officinalis* L. - Citromfű

A citromfű (***Melissa officinalis*** L.) lágy szárú, évelő (H) növény. Elfásodó gyöktörzséből tarackoló sarjak fejlődnek. Szára 50-100 cm magas, felálló, bokrosan elágazó. Tojásdad vagy hosszúkás leveleinek széle durván csipkés-fűrészes. A levéllemez gyéren szőrözött, kissé hólyagos, sötétzöld, fonáka majdnem kopasz. A keresztben átellenes állású levelek hónaljában, 3-6 virágú álörvökben helyezkednek el a virágok. A csésze hengeres, harangszerű, a párta nyílott állapotban fehér. Július elejétől augusztus közepéig virágzik, jó mézelő. Termései makkocskák, 1,5-2 mm hosszúak, tojásdadok, simák, fénylő fekete színűek (**1a. és 1b. ábrák**). Ezermagtömege 0,6-0,7 g. A szakszerűen termesztett és tárolt mag 80-85 % csírázóképességű, amelyet 3-4 éven át meg is tart (Lenchés, 2000a; Szőke és Kéry, 2003). A citromfű hazája a Földközi-tenger medencéje, máshol termesztik, gyakran elvadul. Nálunk a Dunántúl délkeleti részén erdős, sziklás, cserjés, szárazabb helyeken szórványosan fordul elő. Meleg- és fénykedvelő növény, a hűvös, nedves időjárás az illóolaj-tartalom szempontjából is kedvezőtlen hatású. Az idősebb állományok fokozottan fagyérzékenyek. Jól tűri a száraz körülményeket, de a hosszan tartó aszályos időszakokban fejlődése leáll és könnyen elpusztul. A szélsőségesen gyenge talajok kivételével mindenütt eredményesen termeszthető (Lenchés, 2000a).

1a. és 1b. ábra: A *Melissa officinalis* L. morfológiai tulajdonságai (Blaich, 2009; Stübers, 2001)

3.1.2. *Ocimum basilicum* L. - Bazsalikom

A bazsalikom (***Ocimum basilicum*** L.) egyéves (Th), lágyszárú növény. Gyökere 10-16 cm hosszú, karószerű, elágazó. Szára felálló, egyenes, 40-60 cm magas, a szár tövétől elágazó. A bazsalikom erős karógyökeret fejleszthet, kedvező klimatikus adottságok mellett pedig félcserjévé is fejlődhet, akár évelő rizómával. Leveleik nyelesek vagy ülők, gyakran fogasak (Lenchés, 2000b). Levelei keresztben átellenes elhelyezkedésűek, zöldek, fényes felületűek és tojásdadok (**2a. és 2b. ábra**). A virágzat végálló, 17-18 álörvből összetett, laza álfüzér (Paton *et al.*, 1999). A virágok kicsik, 4-6-osával alkotják az álörvöket. A virágok színe fehér, vagy világos rózsaszín, a virágzatban alulról felfelé nyílnak. A virágzat közepén és végén nyíló virágok mellett az alsó örvökben már érett magvak találhatók. Termése tojásdad alakú, világosbarna vagy sötétbarna makkocska. Ezermagtömege 1,4-1,8 g. Mediterrán flóraelem, júniustól szeptemberig virágzik (Lenchés, 2000b; Simon, 2000). Az *Ocimum* nemzetség fajai főként trópusi növények, a trópusi Amerikában, Afrikában és Ázsiában lelhetők fel. Az *O. basilicum* is melegigényes és fagyérzékeny (Paton *et al.*, 1999). Vízigényes, hosszúnappalos növény, 15-21 óra megvilágítást igenyel naponta. Viszonylag magas hőmérsékleten - 24-27 °C (nappal) /19-22 °C (éjjel) - csírázik, azonban 4 nap alatt 80 % feletti csírázási arány érhető el (Putievsky, 1983). Április második felében érdemes elvetni. Közép-Európában, szabadföldön 7-14 nap alatt kel ki. A bazsalikom szereti a mérsékelten trágyázott vagy humuszban gazdag, jó vízelvezetésű, agyagos vagy homokos vályogtalajt. A vegetáció során folyamatos vízellátást igényel.

2a. és 2b. ábra: Az *Ocimum basilicum* L. morfológiai jellemzői (Kutta, 2006; Vintageprintable, 2009)

3.1.3. *Satureja hortensis* L. - Kerti borsfű

A ***Satureja hortensis*** L. (csombord, kerti borsfű) egyéves életformájú faj (Th), mely gyakran kivadul a termesztés nyomán ill. a kiskertekben is. A csombord gyökere és hajtásrendszere dúsan elágazó. Szára 30-60 cm magas, négyszögletű, csöves, tövétől ágas. Hajtásai sötétzöldek,

virágzáskor lilásak, illetve barnászöldek. Tövüknél fásodók, rövid, tagolt szőrökkel és nagy mirigyszőrrel fedettek. Levelei keresztben átellenesek, rövid nyelűek, 1-3 mm hosszúak, 2-4 mm szélesek, szálas-lándzsásak, ép szélűek, sötétzöld színűek. A levéllemez mindkét oldalát illóolajtartó mirigyek borítják. Virágzata a levelek hónaljában fejlődik, 1-5 virágú álörvökből áll **(3a. és 3b. ábra)**. A csészelevél fogazott, kehely alakú, a párta 5-7 mm hosszú, finoman molyhos, lilás rózsaszín vagy fehér. Virágai hímnősek. Termése négy makkocska résztermésből áll, 1-1,5 mm hosszú, tojásdad alakú, sima felületű, sötétbarna színű. Ezermagtömege 0,5-0,6 g. A mag 1-2 évig csírázóképes (Halászné, 2000; Simon, 2000). A *Satureja hortensis* L. a Földközi-tenger vidékén honos, Magyarországon termesztett növény. Június-júliusban virágzik (Simon, 2000; Tóth, 2005). Meleg- és fénykedvelő, jól tűri a szárazságot, öntözés nélkül is termeszthető. Az egész ország területén termeszthető a szélsőséges talajok kivételével. Igazán jó hozamot azonban középkötött, jó vízgazdálkodású és tápanyag-ellátottságú talajon érhetünk el (Kerekes, 1969). Magjait elhullajtja, így gyomosítja a területet (Halászné, 2000).

3a. és 3b. ábra: *Satureja hortensis*
(www.fungoceva.it; www. erfportroyal.free.fr)

3.1.4. *Satureja montana* L. – Évelő borsfű

A ***Satureja montana*** L. évelő növény (H) **(4a. ábra),** téli borsfűnek is nevezik. Dúsan elágazó, 10-40 cm magasra megnövő félcserje (Ch). Erős karógyökeret és félgömb alakú bokrot fejleszt. Négyélű szára világosbarna, mely erősen fásodik, hámlik. Az internódiumok akkorák, mint a lomblevelek hossza. A szár alakja kezdetben lekerekített élű négyszög, majd pedig kialakul a 4 élű *Lamiaceae* szár **(4b. és 4c. ábra)**. A levelek lándzsásak, 1-3 cm hosszúak és 2-4 mm szélesek, gyakran az ép levélszél kicsit begöngyölődik, a levélcsúcs pedig kihegyezett. A virágok 7-11 mm hosszúak, nyelesek, lándzsás előlevéllel. 3-7 virág foglal helyet egy-egy füzérkében. A csészelevél csöves, tölcsér alakú, 3-4 cm hosszú. A párta fehér, rózsaszín vagy lila, kiálló csészével. Júliustól októberig virágzik. Száraz, erősen felmelegedő mészkősziklákon gyakori Európa mediterrán vidékein. Főleg fűszernövényként termesztik (Tutin *et al*.,1972).

A) B) C)

4. ábra: A) A *Satureja montana* L. virágzó hajtása B) Habitusa (a) és szárkeresztmetszete (b: var. *communis*, c: var. *subspicata*, d: a kereszteződésükből származó utód). C) *Satureja montana* L. var. *comminus*: (a-b) virágzó hajtás, (c-d) virág, (e-f) csésze, (g) levélszél, (h) makkocska termés, (i) lomblevél, (k) csíranövény (Teyber, 1913 nyomán).

3.1.5. *Thymus pannonicus* All.- Magyar kakukkfű

A *Thymus* nemzetségből 5 ún. gyűjtőfaj (agg.) található Magyarországon a természetes vegetáció részeként: a hegyi kakukkfű (*T. pulegioides* L.), a magyar v. magas kakukkfű (***T. pannonicus*** All.), a közönséges kakukkfű (*T. odoratissimus* L. syn. *T. glabrescens* Willd.) és alfajai, a korai kakukkfű (*T. praecox* Opiz), valamint a keskenylevelű kakukkfű (*T. serpyllum* L.) (Simon, 2000). Az Európai Gyógyszerkönyv alapján Magyarországon is egybe gyűjthetők a vadon előforduló kakukkfű fajok virágzó hajtásai, melyek szárított állapotban a *Serpylli herba* néven szerepelnek az előiratokban (Ph. Hg.VIII., 2004; Magyar Szabvány, 1984). A fent ismertetett vadontermő kakukkfüveket az előiratokban *Thymus serpyllum* L. gyűjtőnévvel jelölik. Virágaik májustól szeptemberig nyílnak.

A *T. pannonicus* Magyarországon elég gyakori, főleg száraz sztyepplejtőkön illetve homok- és löszpusztákon fordul elő tömegesen. Ugyancsak évelő, fásodó szárú félcserje (Ch), virágzó hajtása rendszerint hosszabb 10 cm-nél **(5a., 5b. és 5c. ábrák)**. A szár felálló vagy felemelkedő (legfeljebb 25 cm magasságig), gyakran ágas, körben rövid szőr borítja. A levél 10-15 mm hosszú, 3-5 mm széles, majdnem ülő, szálas vagy szálas-lándzsás-hegyes, gyenge erezetű, sűrűn mirigyes-pontozott. A virágzat ritkán ágas, a murvalevél a szárlevélhez hasonló. A csésze 2,5-3,5 mm hosszú, harang alakú, felső ajkának fogai háromszögletűek vagy lándzsásak, 1 mm hosszúak, pillásak. A párta halvány rózsaszínű vagy piros. Májustól októberig virágzik (Simon, 2000).

5a., 5b. és 5c. ábra: A *Thymus pannonicus* All. morfológiai tulajdonságai
(Pluhár, 2007; Kutta, 2006)

3.1.6. *Thymus vulgaris* L.- Kerti kakukkfű

A kerti kakukkfű (***Thymus vulgaris*** L.) hazánkban nem őshonos, nyugat-mediterrán eredetű faj. Hazai fajtája jelenleg nincs: populációit, vagy külföldi fajtáit termesztik. Évelő, fásodó szárú félcserje (Ch). Gyökere fás, töve többfejű. Szára többnyire felálló, 20-50 cm magas, alul fásodó, idősebb korban parás. Hajtásai 10-25 cm hosszúak. Levelei szőrösek, keresztben átellenesen állnak, lándzsásak illetve változó formájúak, igen változatos alakúak. A levélszél ép, két szélén a fonák felé begöngyölődik **(6a. és 6b. ábra)**. A levél mindkét oldala illóolajmirigyekkel pontozott. Virágzata álörvökből összetett álfüzér, kisebb termős és nagyobb kétivarú virágokkal. A virág színe a fehértől a rózsaszínen kereszül a liláig változhat. Májustól júliusig virágzik. Termése maradó csészében 4 sötétbarna makkocska. Ezermagtömege 0,25-0,28 g, 2-3 évig tartja meg csírázóképességét (Bencze, 2000b).

6a. és 6b. ábra: A *Thymus vulgaris* L. morfológiai jellemzői
(www.bh-froe.com; www.metafro.be)

3.2. A vizsgált fajok drogjai, hatóanyagai és felhasználásuk

3.2.1. A *Melissa officinalis* L. drogjai, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása

A citromfű drogjai

Hazánkban a következő citromfű drogok kerülnek forgalomba: *Melissae herba, Melissae folium* és *Melissae aetheroleum.* A VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben csak a levéldrog (*Melissae folium*) szerepel (Ph. Hg. VIII., 2004). A citromfű-drogok a legtöbb európai ország gyógyszerkönyvében (Ph. Helv. VII., DAB 9, ÖAB) és az ESCOP monográfiák között is megtalálhatóak (ESCOP, 2003a), szabvány nincs érvényben. A friss növényből vagy a herbából kivont illóolaj (*Melissae aetheroleum*) a kereskedelemben keresett termék, a legértékesebb illóolajok egyike. A *Melissa*-drogok citrom illatúak, aromás ízűek (Lenchés, 2000a).

A citromfű hatóanyagai

A citromfű drogok fő hatóanyaga az illóolaj, melynek legfontosabb komponensei és illathordozói a citronellál és a geraniál, de emellett további mono- és szeszkviterpének is előfordulnak benne (**1. táblázat**). Kimutathatók drogjában ezen kívül: rozmaringsav (4 % felett) és más fenolkarbonsavak (glikozidosan kötött kávésav és klorogénsav), triterpének (urzol- és oleanolsav), valamint flavonoidok (kvercitrin, ramnocitrin, apigenin-7-glikozid, kempferol, kvercetin és luteolin) is. A drog tartalmaz továbbá keserűanyagot (tipikus *Labiatae*-diterpént: karnozolt), nyálkát, gyantát: összesen 190 leírt komponenst. (ESCOP Monographs, 2003a; WHO Monographs, 2002).

A desztillált *Melissa*-olajok fő komponensei a citrál-izomerek (geraniál és nerál). Az illóolaj- kompozíciót különböző szerzők különbözőképpen határozták meg. 1981-ben Lawrence írta le a citromfű illóolaj kémiai összetételét. Azt is megfigyelte, hogy bár a nerál (citrál a) és a geraniál (citrál b) természetes előfordulásának aránya 20:30 lenne, azonban a nerál sokkal reaktívabb komponens, mint a geraniál. Így az olajban az oxidatív és fény-indukálta folyamatok eredményeként 7:30 arányban számíthatunk a jelenlétükre.

Masakova *et al.* 1979-ben két orosz változatot fedeztek fel, melyekben összesen 80 %-ban fordultak elő a citrál izomerek. Tittel *et al.* 1982-ben eltérő eredetű citromfű-minták illóolajában 70 összetevőt azonosítottak. Pellecuer *et al.* (1981) megállapították, hogy a friss francia növényanyagból származó vízgőzdesztillátum mennyiségileg eltérő kompozíciót mutatott a korábban leírtakhoz képest. A különböző szerzők által leírt illóolaj-összetételeket a **2. táblázat** foglalja össze.

1. táblázat: A vizsgálatba vont fajok főbb illóolaj komponenseinek fizikai, kémiai és biológiai jellemzői (forrás: www.milleniumchem.com, www.chemicalland21.com, kivéve: timol - Cushman, 2003 nyomán), n.a.=nincs adat

Jellemzők	Illóolaj komponensek								
	timol	**karvakrol**	**γ-terpinén**	**linalool**	**nerál**	**geraniál**	**citronellál**	**limonén**	**eugenol**
Megjelenés	fehér, kristályos szilárd vagy por átható illattal	tiszta, sárga folyadék	tiszta, majdnem színtelen folyadék	tiszta, majdnem színtelen folyadék	áttetsző vagy halványsárga olajos folyadék erős citrom illattal	áttetsző vagy halványsárga olajos folyadék erős rózsa illattal	áttetsző vagy világossárga, viszkózus folyadék	színtelen folyadék	víztiszta, esetleg világossárga olajos folyadék
Olvadáspont	49 °C	2 °C	n.a.	n.a.	- 10°C alatt	15 C	n.a.	-74,35°C	-9°C
Forráspont	233 °C	238 °C	239 °C	198-200 ° C	220-240°C	229 - 230 °C	206-207°C	175,5-176°C	254 °C
Molekulatömeg	134 g/mol	134 g/mol	136,26 g/mol	154.2 g/ mol	152,24 g/ mol	154.25 g/mol	154,25 g/ mol	136,23 g/ mol	164,20 g/mol
Gőznyomás	5,33 Pa 20 °C-on	n.a.	93,33 Pa 20°C-on	21 Pa 25°C-on	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Lobbanáspont	107 °C	104 °C	56 °C	75°C	98-101°C	n.a.	78°C	43°C	104 °C
Oldhatóság	alkoholban, vízben: csekély mértékben	alkoholban, vízben 3 m% (becsült érték)	alkoholban	alkoholban, vízben csekély mértékben	n.a.	vízben oldhatalan	alkoholban és olajban oldódik	n.a.	alkoholban, éterben, kloroformban oldódik, ecetsavban és lúgokban nehezebben oldódik
Stabilitása	stabil, erős oxidálószerekkel, szerves anyagokkal, erős bázisokkal összeférhetetlen	szakszerű használat feltételei között inert és stabil	szakszerű használat feltételei között inert és stabil	szakszerű használat feltételei között inert és stabil, de erős oxidálószerekkel reagál	szakszerű használat feltételei között stabil	szakszerű használat feltételei között stabil	szakszerű használat feltételei között stabil	szakszerű használat feltételei között stabil	szakszerű használat feltételei között stabil, de fényérzékeny
Toxicitás	lenyelve, belélegezve vagy bőrön át felszívódva ártalmas; szem, bőr és légzőszervi irritációt okoz; szembe kerülve komoly mérgezést okoz	lenyelve vagy belélegezve ártalmas lehet, esetenként bőrre kerülve irritációt okozhat	higítatlanul a szembe kerülve irritációt okozhat, emberen nem okozott bőrirritációt szájon és légzőszerven át való bejutásának hatásairól nincs adat	belégzés esetén nem lehet előrejelezni, hogy az anyag párolgása következtében milyen sebességgel alakulhat ki veszélyes levegő koncentráció 20°C-on (az anyag irritálja/izgatja a szemet és a bőrt, hosszantartó expozícó esetén hatással lehet a májra)	orálisan LD_{50}: 4960 mg/kg	orálisan LD_{50}: 3600 mg/kg	n.a.	orálisan: LD_{50}: 4400 mg/kg	orálisan: LD_{50}: 2680 mg/kg

2. táblázat: A *Melissa officinalis* illóolajának főbb komponensei (%) (Sorensen, 2000 nyomán)

Komponens	Lawrence, 1978	Tittel, 1982	Pellecuer, 1981
linalool	0,5	0,5-2,7	0,2
citronellál	0,7	1,0-8,4	2
nerál	24	19,6-36,1	11
geraniál	37	25,3-47,5	17
geranil-acetát	-	1,2-6,2	0,3
β-kariofillén	9,5	1,9-9,7	29
kariofillén-oxid	2,5	0,5-9,0	-
germakrén D	4	-	-
kopaén	4	-	1,9
metil-heptonén	-	2,2-8,6	nyomokban

Enjalbert *et al*. 1983-ban francia és német desztillált illóolajokat hasonlítottak össze négyféle, citromfű-olajként kereskedelmi forgalomban lévő mintával (**3. táblázat**). A laboratóriumban előállított illóolaj fő komponensei a geraniál, a nerál, a kariofillén, a citronellál, a kariofillén-oxid, a geranil-acetát és a linalool voltak. A kereskedelmi minták összetétele minden esetben különbözött a valódi olajtól. Kompozíciójukra igen magas citronellál- és alacsony kariofillén-tartalom, valamint feltűnően magas citronellol és geraniol arány volt jellemző. A kereskedelemből származó olajokat - kutatásuk eredményei alapján - szintetikus kémiai komponensekkel, illetve más illóolajok keverékével hamisították (Sorensen, 2000).

3. táblázat: Citromfű illóolaj-minták összehasonlítása Enjalbert (1983) nyomán (Sorensen, 2000)

komponens (%)	francia minta	német minta	kereskedelmi minta
linalool	1,2-1,8	3,4	0,8-1,9
citronellol	-	-	6,2-17,9
citronellál	2,2-2,4	24	12,1-38,3
nerál	28,0-31,0	15,3	0,6-11,5
geraniál	32,0-38,0	25	1,2-18,6
geraniol	2,5-3,1	1,3	7,8-22,6
geranil-acetát	2,5-3,5	6,1	6,2-17,9
β-kariofillén	2,7-3,7	11,7	0,8-1,8
kariofillén-oxid	3,6-7,0	2,1	0,04-0,08

Pappas 1999-ben beszámolt arról, hogy egy, az illóolajok vizsgálatára specializálódott laboratórium meghatározott a citromfűben néhány, kis mennyiségben jelenlévő komponenst, mint például a metil-citronellát, a metil-geranát és a β-ciklocitrál, amelyek kiegészítő szerepet játszhatnak a drog eredetiségvizsgálata során. Megállapításra került az is, hogy a mediterrán régióból származó illóolajok gazdagabbak citrál-izomerekben, mint a mérsékelt övből származók (Hollá *et al.*, 1997).

Carnat *et al.* (1998) citromfű illóolaját vizsgálta vízdesztillációs, GC és HPLC eljárással. A levél *illóolajában* 39,47 % citronellált, 27,84 % geraniált és 20,40% nerált, *forró vizes forrázatában* 43,53 % geraniált, 30,15% nerált és 16,81% citronellált, míg a *forrázás után* visszamaradó *levelekben* 42,67 % citronellált, 20,70 % geraniált és 15,80% nerált azonosítottak az illékony frakcióban. Az összes hidroxi-fahéjsav származék mennyisége a levél forróvizes kivonatában 11,29 % (szárazanyagra vonatkoztatva) mennyiséget, míg a vizes kivonatban 10,49 %, a forrázás utáni visszamaradt levélben 1,86 % volt. A rozmaringsav mennyiségét tekintve is a levél forróvizes kivonatában mérték a legnagyobb értéket (4,05 %, szárazanyagra vonatkoztatva), utána következett a forrázat (3,99 %), majd pedig a forrázás után visszamaradt levél eredménye (0,33 %).

A citromfű terápiás hatásai és felhasználása

A citromfű nyugtató, görcsoldó hatású, a levéldrogot teaként (önállóan) és más drogokkal együtt étvágy- és ízjavító, illetve altató teakeverékekben használják. A citromfű illóolaja és preparátumai (pl. tinktúra) idegfájdalmak, ideges gyomor-, bél- és szívbántalmak esetén alkalmazhatók. Idegfájdalmak és reumás megbetegedések enyhítését célzó nyugtató fürdők és bedörzsölőszerek alkotórésze. A levél vizes kivonatát tartalmazó kenőcsök vírusszaporodást gátló hatásuk révén külsőleg a *Herpes simplex* helyi kezelésére használatosak (Czygan, 1997c). Igazolt, hogy a rozmaringsav gyorsan reagál a köpenyfehérjékkel, inaktiválva a *Herpes* vírust (Ribeiro *et al.*, 2001). Allahverdiyev *et al.* (2004) 5 különböző illóolaj koncentrációt (25, 50, 100, 150 és 200 μg/ml) vizsgálva azt tapasztalták, hogy a 100 μg/ml-nél töményebb illóolajok gátolják a *Herpes simplex virus-2* replikációját. Egy, a levelek vizes kivonatából izolált tannin képes meggátolni a *Newcastle disease virus*, illetve a *Mumps* vírus és *Parainfluenza 1,2,3* vírusok által okozott fehérjekárosodást (WHO Monographs, 2002).

A népi gyógyászatban nagyra értékelt „*Melissengeist*" (citromfűlikőr) mintegy 80 % alkohollal készített citromfűlevél-kivonat, mely egyéb aromás drogok, így a narancshéj, a gyömbérgyökér, a fahéj és szegfűszeg kivonatát, valamint több illóolaj oldatát is tartalmazza. Dioscorides és Plinius feljegyzései alapján, borba áztatva orálisan és helyileg már az ókori görög és római gyógyászatban is használták a citromfüvet sebkötözőként és mérges csípések, marások kezelésére. Régi európai gyógyfüves könyvek említik memóriajavító tulajdonságát, melyet azóta

megerősítettek az extraktum kolinergikus aktivitásának igazolásával. Az Ayurveda Pharmacopoeia (1975) együtt jegyzi az indiai rokon fajjal, a *Melissa parviflora*-val, mely alkalmas a szorongás vagy depresszió által kiváltott diszpepszia kezelésére, szárított drog illetve fluidextrakt formában. Ezen kívül karminatív, spazmolitikus, diaforetikus és szedatív hatást tulajdonítanak drogjának.

Az Egyesült Államokban altató és szájüreg-gyulladást kezelő étrendkiegészítő termékekben, főleg forrázat, fluid extraktum és tinktúra formájában alkalmazzák. Egykor hivatalosan szerepelt a United States Pharmacopoeia-ban. A British Herbal Pharmacopoeia (1996) leírása szerint belsőleg szedatív, külsőleg antivirális. Vizes-alkoholos kivonata állatoknál idegrendszer-nyugtató, hatásában az illóolaj összetétele nem játszik szerepet (Blumenthal *et al.*, 2000).

Antioxidáns hatása kétféle mechanizmuson alapul: semlegesíti a szabadgyököket, mint pl. a peroxid- és alkil-gyökök, ezzel megtörve a láncreakciót; másrészt lebontja a hidroperoxidokat. A *Lamiaceae* család fajainak fontos komponense a rozmaringsav, mely a molekulában jelenlévő négy hidroxilcsoportnak köszönhetően rendkívüli szabadgyökfogó képességgel rendelkezik (Sorensen, 2000). A *Melissae folium* forrázata a benne található fenolos összetevők révén a szabadgyököket is nagy hatékonysággal köti meg, amit DPPH és ABTS módszerekkel igazoltak (Katalinic *et al.*, 2006).

Kurkin (2003) szerint az illóolaj szedatív hatása a citronellálnak, spazmolitikus hatása pedig a geraniolnak és a citronellolnak köszönhető. A rozmaringsavnak, a kávésavnak, a klorogénsavnak és más hidroxifahéjsav-származékoknak tulajdonítja a citromfű drogok immunmoduláns, antivirális, rákellenes és antimikrobiális aktivitását. Összességében a *Melissa officinalis* széles hatásspektruma a benne előforduló nagyszámú és különböző, biológiailag aktív komponens eredménye.

3.2.2. Az *Ocimum basilicum* L. drogja, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása

A bazsalikom drogjai

A *Basilici herba* a bazsalikom virágzáskor levágott, megszárított, 3-4 mm lyukbőségű rostán átmorzsolt és tisztított leveleiből, valamint virágaiból állhat. A bazsalikom *herba* drogja nem található meg a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben, csak Magyar Szabvány vonatkozik a kereskedelmi drogra (MSZ 20687-1985). Az *Basilici aetheroleum* minőségi követelményeit csak szabvány írta elő, mely már nincs érvényben (Lenchés, 2000b).

A bazsalikom hatóanyagai

A *Basilici herba* 0,5-1,5 % illóolajat, valamint körülbelül 5 % tannint és β-szitoszterolt tartalmaz (List és Hörhammer, 1977; Viorica, 1987). A herbában az illóolajon kívül találunk még flavonoid glikozidokat (0,5-1,5 %) és flavonoid aglikonokat is (0,6-1,1 %) (Viorica, 1987).

Általában a herbából állítanak elő illóolajat gőz- vagy vízgőzdesztillációval. Ennek során a bazsalikom illóolajtartalma 0,2-1,0 % között változhat, de akár 1,7 % is lehet, ami természetesen függ a növényanyag eredetétől és a növény fenológiai állapotától (Hiltunen és Holm, 1999). A mai napig 140 komponenst sikerült azonosítani a bazsalikom illóolajában, melyben 30-nál több monoterpén, majdnem 30 szeszkviterpén, 20 karboxilsav származék, 11 alifás aldehid, 6 alifás alkohol és közel 20 aromás komponens található.

Az *Ocimum basilicum* esetében számos kemotaxon létezik, melyeket 4 fő típusba soroltak az illóolajuk fő összetevői alapján. Az első az európai típus, melynek fő komponense a metil-kavikol (más néven esztragol) és a linalool; a második a Réunion típus, melyben metil-kavikol mellett kámfort találunk; a harmadik a metil-cinnamát típus, melyben metil-kavikol és linalool mellett metil-cinnamátot azonosítottak; a negyedik pedig az eugenol típus, melyben az eugenol a fő komponens (Günther, 1949). Ezek az alaptípusok, azonban számos átmeneti és új kemotípus is létezik, illetve alakul ki folyamatosan. Többek között befolyásolja az illóolaj összetételét az extrakciós módszer, a növény fenológiai állapota, a vizsgált növényi szerv, valamint a vegetációs periódus alatti környezeti feltételek (Grayer *et al.*, 1996a). Lemberkovics *et al.* (1993) megállapították, hogy míg a monoterpének a virágzás alatt érik el mennyiségi maximumukat, addig a szeszkviterpének a virágzás kései szakaszában, illetve terméséréskor azonosíthatóak a legnagyobb mennyiségben. Általában a fiatal levelek nagyobb mennyiségű illóolajat tartalmaztak, mint az idősebb levelek, és míg a fiatal levelekben túlnyomóan linaloolt azonosítottak, az idősebb levelekben nagy mennyiségű metil-kavikolt sikerült kimutatni.

A bazsalikom fő komponense, a linalool tulajdonságait az **1. táblázat** szemlélteti.

Lee *et al.* (2005) 1,24±0,14 % illóolajhozamot regisztrált gőzdesztilláció útján. A desztillátumban 129 aromakomponenst azonosítottak. A fő komponensek a linalool (3,34 mg/g) és az esztragol (2,03 mg/g) voltak, illetve még 1,8-cineolt (0,29 mg/g), metil-cinnamátot (0,022 mg/g) és eugenolt (0,90 mg/g) is kimutattak.

A levél 0,17 % oleanolsavat és kis mennyiségben urzolsavat tartalmaz (List és Hörhammer, 1977). Görögországban 3 flavont - eriodiktiolt, eriodiktiol-7-glikozidot és vicenin-2-t - izoláltak *O. basilicum* levélből (Skaltsa és Philianos, 1990). Az egyedfejlődés során Lemberkovics *et al*. (1996b és c) tanulmányozták a Magyarországon termesztett bazsalikomban a polifenolok és a flavonoidok mennyiségi alakulását. A flavonoid-glikozidok esetében kimutatták, hogy felhalmozódásuk a bimbós állapot kezdetén indul el, és a teljes virágzásig növekedik. A flavon aglikonok valamint a tanninok és polifenolok képződése már vetés után elkezdődik és folyamatosan növekszik a vegetációs periódus alatt. Az összflavonoid-tartalom 0,28 és 0,61 % között változik. A glikozidok közül rutint és izokvercitrint sikerült azonosítaniuk. Nguyen *et al.* (1993 a,b) szekunder anyagcseretermékeket figyelt meg a vegetációs idő alatt. Többek között kávé- és rozmaringsavat

azonosítottak fő komponensekként, amit minden fenológiai fázisban sikerült kimutatniuk. A vegetáció során a tanninok mennyisége 1-5 % volt, míg a polifenolok mennyisége a növény minden részére vonatokozóan 2-10 % között változott. A polifenolok (5,0-8,5 %) és a tanninok (2,6-4,1 %) mennyisége nem változott számottevően a virágzás korai, illetve kései szakasza között (Lemberkovics *et al.*, 1996b).

Az érett magvakban találtak nyálkát, poliszacharidokat és zsírosolajat. Ez utóbbiak fő alkotói a linol-, a linolén- és az olajsav, valamint a telített zsírsavak (Hiltunen és Holm, 1999).

Az összes bazsalikom fajból előállított illólaj évente 93-95 t-ra tehető a világon, melyből 43 t *Ocimum basilicum*-ból eredeztethető. Hazánkban 0,3 t bazsalikom illóolajat termelnek évente (Lawrence, 1993).

A bazsalikom terápiás hatásai és felhasználása

Hagyományosan a bazsalikomot megfázás, szemölcsök, férgesség esetén, valamint étvágykeltőként, szélhajtószerként, illetve vízhajtóként alkalmazták. Szájvizekben is előfordult, ahol összehúzó hatását különböző szájüregi és torokgyulladások kezelésére használták. Alkoholos kivonatát krémekbe téve, nehezen gyógyuló sebeket gyógyítottak (Czygan, 1997b). Gyulladásgátló, immunmoduláns, adaptogén, antikarcinogén, hiperglikémia- és lipidszint csökkentő, sugárzástól védő, fekélyek gyógyulását elősegítő, valamint simaizomra gyakorolt hatását már számos szerző leírta (Holm, 1999). Antioxidáns hatása az utóbbi néhány évben került előtérbe (Maulik *et al.*, 1997).

A Távol-Keleten, főleg Kínában és Indiában előszeretettel használják gyógynövényként. Már 1060-ban leírták használatát - többek között - hasi görcsoldóként, illetve vesebetegségek esetén. Ezen kívül alkalmas még kígyómarás, valamint rovarcsípés kezelésére is (Leung és Foster, 1996). Antimikrobiális hatását többen is vizsgálták. Számos szerző igazolta a bazsalikom hatását különböző baktériumfajok ellen, mint például a *Bacillus* spp., az *Escherichia coli*, a *Salmonella* spp. és a *Staphylococcus* spp. (Prasad *et al.*, 1986; Janssen *et al.*, 1986; Caceres *et al.*, 1990; Abdel-Sattar *et al.*, 1995; Ndounga és Ouamba, 1997). Antifungális aktivitás szempontjából is hatékonynak bizonyult többek között *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Sclerotinia* spp. ellen (Dube *et al*., 1989). Repellens hatást mutatott a bazsalikom illóolaja a *Tribolium castaneum* esetében (Mohiuddin *et al.*, 1987).

A bazsalikom a legismertebb gyógynövények egyike. Az *Ocimum sanctum* fajt Indiában évszázadok óta termesztik és nagyra becsülik: a növényt a hindu vallásban Vishnu-nak szentelték. Mind a mai napig megtalálható a hindu templomok kertjében, és amikor egy hindu meghal, néhány bazsalikom levelet is eltemetnek mellé (Rosengarten, 1969).

3.2.3. A *Satureja* fajok drogjai, hatóanyagai, terápiás hatásai és felhasználása

A borsfüvek drogjai

A *S. hortensis* drogjai a *Saturejae herba* és a *Saturejae aetheroleum*, míg a kevésbé ismert és elterjedt *S. montana*-é a *Saturejae montanae herba* és a *Saturejae montanae aetheroleum* (Halászné, 2000). A borsfű egyik fajából származó drog sem szerepel a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben, szabvány pedig csak a kerti borsfűre van érvényben (MSZ 20047:1984).

A borsfüvek hatóanyagai és illóolajuk összetétele

A kerti borsfű virágzó, föld feletti része 0,3-2,0 % illóolajat, 4-8 % cseranyagot, nyálkát, gyantát valamint cukrot tartalmaz (Halmai és Novák, 1963). Illóolajának fő komponensei a karvakrol, a γ-terpinén és a p-cimol, kis mennyiségben pedig a β-kariofillén, a mircén, a α-pinén, a α-terpinén, a kámfén, a β-fellandrén, a szabinén, a timol és a mirtenol. A drog továbbá tartalmaz klorogénsavat, kávésavat, rozmaringsavat és más fahéjsav-származékokat, a triterpének közül urzolsavat, valamint oleánolsavat (Tóth, 2005). A borsikafüvek főbb illó komponensei, a karvakrol és a γ-terpinén tulajdonságait az **1. táblázat** szemlélteti. A hagyományosan, árnyékban szárított kerti borsfű vízdesztillált kivonatában a fő komponensek a γ-terpinén (37,7 %) és a karvakrol (46,0 %) voltak (Sefidkon *et al*., 2006).

A Horvátországból származó évelő borsfű illóolajában a következő komponenseket mutatták ki: timol, p-cimol, γ-terpinén és karvakrol. A timokinon, az eugenol és a cisz-3-hexén-1-ol voltak a főbb terpén aglikonok (Mastelić és Jerković, 2003). Slavkovska *et al*. (2001) különböző eredetű *Satureja montana* alfajok gőzdesztillátumainak variabilitását elemezte. A főbb komponensek (alfajtól függően): p-cimol, borneol, linalool, limonén, p-cimol-8-ol és transz-szabinén-hidrát voltak.

Cavar *et al*. (2008) bosznia-hercegovinai eredetű évelő borsfüvet is vizsgált GC-MS eljárással, melynek fő illóolaj-komponensei a karvakrol (10,6-23,3 %) és a timol (3,8-31,7 %) voltak. Prieto *et al.* (2007) olasz eredetű évelő borsfüvet elemzett GC-MS eljárással. Ennek során megállapították, hogy a fő komponensek a p-cimol (41,4 %) és a karvakrol (37,0 %). Ezen kívül még számos minor komponenst is azonosítottak.

A borsfüvek terápiás hatásai és felhasználási módjai

A kerti borsfű már az ókori Rómában is ismert konyhakerti fűszernövény volt, a lakomákon ecettel keverve ízesítőként használták. Feljegyzések szerint a borsos ízű borsikafüvet a rómaiak már azelőtt ismerték, mielőtt az első szállítmány valódi bors Indiából megérkezett volna. A latin név arra utal, hogy a nemzetség állítólag a szatírok kiválasztott növénye volt, ez megmagyarázhatja,

valaha miért tartották afrodiziákumnak. A borsikafű gyógyászati értéke a frissítő és étvágygerjesztő hatása volt, de ajánlották méh- és darázscsípésre is. Vergilius az i.e. I. században méhlegelőnek termesztette és az egyik legfontosabb fűszernövényként említette az „istenek eledeléül nőtt borsfüvet” (Rosengarten, 1969; Svábné, 1990).

A *Satureja hortensis* herbája antivirális, antibakteriális hatású, emésztést elősegítő, szélhajtó, bélhurutban, hasmenés ellen, megfázásos megbetegedésekben köptetőként, külsőleg torok- és szájnyálkahártya gyulladás esetén használatos (Tóth, 2005). Ezenkívül antiszeptikus és adsztringens hatású. Teája gyomor- és bélhurutnál, illetve ideges gyomorpanaszok ellen javasolt. Mellékhatásként allergia (esetleges bőrkiütés) léphet fel, érzékenyebbeknél már terápiás dózisban is bőrkiütéseket okozhat (Kéry, 2000).

Deans és Svoboda (1989) a borsikafű és különböző illóolaj-komponensek antibakteriális hatását vizsgálták egészségügyi szempontból jelentős baktériumtörzsek (*Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella pullorum, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecialis, Yersinia enterocolitica*) esetében. A vizsgált teljes illóolajok és az egyes komponensek is különböző mértékű antibiotikus hatást mutattak az egyes baktériumok esetében. Mindegyik kórokozó ellen jelentős hatással voltak a teljes illóolajok, a karvakrol, az 1,8-cineol, a p-cimol, az eugenol, a β-humulén, a limonén, a linalool, a mirtenol, a α-pinén, a β-pinén, a γ-terpinén, a α-terpineol és a timol (legerősebb hatása a timolnak, a karvakrolnak és az eugenolnak volt). Radonic és Milos (2008) az orvosi zsálya, a rozmaring és a kerti borsfű antioxidáns hatását vizsgálták. A borsfű timolos kemotípusú volt, emiatt a fenti fajok közül a borsfű rendelkezett a legnagyobb antioxidáns hatással, hiszen a timol és a karvakrol önmagukban is igen erős hatású antioxidáns vegyületek.

Ćavar *et al*. (2008) *Satureja montana* L. kivonatok antioxidáns és antimikrobiális aktivitását is elemezték. Az évelő borsfű esetében a szabadgyökfogó aktivitás terén csak az egyik minta bizonyult hatásosabbnak a kontrollnál. Az antimikrobiális hatás esetében azonban - az esetek 60 %-ában - mindkét minta eredményesebben gátolta a vizsgált gomba- és baktérium-törzsek fejlődését, mint a kontrollként alkalmazott timol.

3.2.4. A *Thymus* fajok drogjai, hatóanyagai és felhasználásuk

A kakukkfüvek drogjai

A hazánkban forgalomba kerülő, előiratokban is szereplő kakukkfű-drogok a következők:

Thymus serpyllum	♣ *Serpylli herba* (illóolajtartalom: legalább 3 ml/kg)
Thymus vulgaris	♣ *Thymi herba* (illóolajtartalom: legalább 12 ml/kg)
	♣ *Thymi aetheroleum* (a *Thymus vulgaris* és a *T. zygis* illóolaja)

A herba drogot mindkét esetben a virágos hajtás még el nem fásodott része adja, azonban a *Thymi herba* esetében a morzsolt (szártalanított) drogra vonatkoznak az előiratok, míg a *Serpylli herba* esetében az egész (szárat is tartalmazó) szárított hajtásra (Bencze, 2000a és b). A fenti drogok szerepelnek a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben (Ph. Hg. VIII., 2004), illetve a kerti kakukkfű drogra érvényes szabvány is (MSZ 20067:1984) vonatkozik.

A kakukkfüvek hatóanyagai

A kakukkfű fajok illóolajában túlnyomórészt monoterpének találhatók, de emellett általában szeszkviterpének is jelen vannak. A fenolos monoterpének közül a timol és a karvakrol a legjelentősebbek, jellegzetességük, hogy aromás gyűrűjükhöz fenolos hidroxil-csoport kapcsolódik.

Stahl-Biskup (2002) - mintegy 270 vonatkozó irodalom áttekintése után - összeállította az Európában fellelhető kakukkfüvekben található illóolaj komponensek listáját. A tárgyalt 162 taxonnál összesen 360 illó komponenst regisztráltak, melyek nagy része a terpenoid csoportba volt sorolható. Az illóolajon belül a monoterpének domináltak: általában több, mint 90 %-át tették ki. A vizsgált kemotípusok közül 89 (55 %) a fenolos csoportba, 73 (45 %) a nem-fenolos csoportba tartozott. Megállapította, hogy a növényvilágban a *Thymus* nemzetség a fenolos monoterpének (timol, karvakrol) egyik legfontosabb forrása. Összefoglaló munkájában egyetlen, magyarországi taxonra (*T. serpyllum)* vonatkozó irodalmi adatot talált, melynek illóolaja fenolos típusú volt: a karvakrol volt a fő összetevő (39,5-45,9 %), továbbá timol, p-cimol, linalool és nerol volt kimutatható a vizsgált kereskedelmi mintából (Oszagyán *et al*., 1996a). A két fő komponens, a timol és a karvakrol fizikai és kémiai tulajdonságait az **1. táblázat** szemlélteti.

Nem terpenoid szerkezetű, alifás vegyületek csak kis mennyiségben fordulnak elő a kakukkfű illóolajokban. A 8 szénatomosak a leggyakoribbak, de megtalálhatók a hexán- és nonán-származékok is. Összességében 62 nem-terpenoid alifás vegyületet különböztettek meg, melyek a kakukkfű fajok illóolaj-összetevőinek 17,2 %-át teszik ki (Stahl-Biskup, 2002). Aromás vegyületek és fenil-propán származékok adják az illóolaj komponenseinek 7,8 %-át, melyek közül a legfontosabbak az izo-eugenol és a cinnamol. Az egyéb aromás vegyületek és fenil-propán származékok többnyire csak kis mennyiségben találhatók meg és időnként azonosításuk is nehézkes (Stahl-Biskup, 2002).

A *Thymus* polikemizmusának jelentőségét először Tétényi (1970) jelezte, majd Granger és Passet (1971, 1973) igazolták is a *T. vulgaris*nál. Hat különböző kemotípust írtak le, illóolajuk fő komponense alapján: timol, karvakrol, transz-szabinén-hidrát/tujanol, α-terpineol, linalool és geraniol kemotípusokat. Kimutatták az éghajlat és az elterjedés közötti kapcsolatot: eszerint a fenolos típusok a meleg és száraz élőhelyeket, míg a linaloolos és α-terpineolos típusok a nedvesebb klímát, a geraniolos típusok pedig a nedves és hűvös régiókat részesítették előnyben.

A *Thymus vulgaris* 6 kemotípusa „kémiai versengésben” áll egymással (Hegnauer, 1978): populációik földrajzilag elkülönültek és öröklött kémiai tulajdonságokat mutatnak. Ezzel szemben igazolták, hogy néhány *Thymus* faj és alfaj polimorfizmusa nagyobb mértékű (pl. *T. camphoratus*, *T. praecox* subsp. *polytrichus*, *T. zygis*), és emiatt sokkal több kemotípust számlál. Ilyen inhomogén taxonokat csak akkor lehet megbízható módon vizsgálni, ha nagy mennyiségű minta áll rendelkezésre (Stahl-Biskup, 2002).

A *T. vulgaris* friss levelének savas és enzimatikus kezelése során fő hidrolízis termékekként a timol és karvakrol jelent meg, de kis mennyiségben linalool és geraniol is kimutatható volt (Skopp és Hörster, 1976). A *T. pulegioides*-ben a geraniol volt a fő glikozidosan kötött monoterpén, kisebb arányban pedig eugenolt, linaloolt és 1-oktén-3-olt mutattak ki (Mastelic *et al.*, 1992).

Holthuijzen (1994) összegezte az addigi kísérletek eredményeit: a glikozidosan kötött illékony komponensek mennyisége általában kisebb, mint a szabad formában, a desztillált illóolajban mérhető mennyiségük (1:60-100). A glikozidos frakció enzimatikus hidrolízise után számos komponens mutatható ki, ám annak spektruma általában megegyezik a nem kötött formában jelenlevő illóolaj összetételével, új komponenst nem vonultat fel.

Oszagyán *et al.* (1996b) azt állapították meg, hogy a kivonási módszertől függően más és más lesz az illóolajban a fő komponens. Az arányváltozás okát arra vezették vissza, hogy a timol feltehetően - glükozidosan vagy polifenolosan - kötött formában van jelen a növényben és a szuperkritikus fluid extrakció (SFE) kíméletes körülményei miatt ezek a kötések nem bomlanak fel, míg a vízgőz-desztillációval előállított illóolaj lényegesen több timolt tartalmaz (Oszagyán *et al.*, 1999).

Az illóolaj összetételére - csakúgy, mint a fajok megjelenésére - az igen nagy változatosság jellemző. Úgy tartják, hogy míg a kerti kakukkfűben a timol a domináns komponens, addig a mezei kakukkfű illóolajában a karvakrol az uralkodó. Ezeken kívül találunk terpenoid alkotókat, monoterpén fenolos glikozidokat, eugenolt, alifás alkoholokat. A fentieken kívül a *Thymi herba* még flavonoidokat (pl.: apigenin, luteolin, timonin, cirzilineol, 8-metoxi-cirzilineol, stb), kávé- és rozmaringsavat, valamint szaponinokat (ESCOP, 2003b) tartalmaz.

Egyéb jelentős komponensek, melyeket kimutattak a *Thymus* illóolajában (a *T. vulgaris* és a *T. serpyllum* komponensei együttesen): geraniol, linalool, terpinén-4-ol, p-cimol, nerol, γ-terpinén, α-terpineol, geranil-acetát, β-kariofillén, β-bizabolén, bornil-acetát, 3-heptanon, 3-oktanon, 3-oktanol, metil-timol. Többek között a kakukkfűben található főbb illó komponensek, a timol és a karvakrol fizikai és kémiai jellemzőit foglalja össze az **1. táblázat**.

Domokos *et al.* (1995) a *Thymus pulegioides* illóolajának változását elemezte a különböző fenofázisokban. Az illóolaj fő komponensei a geraniol, a citral A és B, illetve a citronellál voltak, melyek együttesen az illóolaj 70-78 %-át adták. Az optimális betakarítás idején (a virágzás korai

fenofázisában, június végén, július elején) a geraniol-tartalom alacsonyabb (49,2-57,3 %), jóllehet a citrál tartalom magasabb (12,5-16,2 %), mint a korábbi fenofázisokban.

Lee *et al.* (2005) kakukkfű illóolajat vizsgált GC és GC-MS módszerrel, mely a következő komponenseket tartalmazta: timol (8,55 mg/g), karvakrol (0,68 mg/g), linalool (0,47 mg/g), α-terpineol (0,29 mg/g) és 1,8-cineol (0,25 mg/g). A fenti komponenseket is vizsgálták antioxidáns aktivitás szempontjából, melynek során a karvakrol és a timol erős antioxidáns hatását igazolták.

A kakukkfüvek terápiás hatásai és felhasználása

A kerti kakukkfű köptető, görcsoldó és antibakteriális hatása miatt köhögéscsillapító gyógyszerek alapanyaga. Diuretikus és féreghajtó hatást is tulajdonítanak neki. Gyomorfekély és szájszag ellen is bizonyított terápiás hatással rendelkezik (Czygan, 1997d). Galenus-i készítmények alapanyaga, alkoholos oldata bőrgomba elleni ecsetelőszer. Felhasználják még főzetét, alkoholos kivonatát hígítva - többek között - toroköblítésre. Illóolaját bélféregűző szerként is alkalmazzák, de bőrpirosító kenőcsökbe, szájvizekbe is kerülhet. Az illatszer- és likőriparban szintén keresett, természetes adalékanyag. A francia séfek a *bouquet garni*-ban, friss fűszercsokorban használják, de a *Benedictine* keserű likőrben is megtaláljuk. Káros mellékhatása nem ismert, de terhes, illetve szoptató nők és pajzsmirigy-elégtelenségben szenvedők esetében ellenjavallt. Igen erős antiszeptikus, antibakteriális, antivirális, antifungális és repellens hatással is rendelkezik, amelyet elsősorban a timolnak tulajdonítanak (Bencze, 2000b).

Alkoholos kivonata jelentős antioxidáns hatással bír (Kéry *et al*., 1996). Az SFE kakukkfű kivonatok gyökfogó aktivitását vizsgáló egyik, ún. Oven-tesztben a 20. napra tolták ki a vizsgált olajok 100 peroxidértékű avasodását. Legjobb hatású közülük az 1 %-os kivonat-koncentráció volt. Az alkoholos (Soxhlet) kakukkfű-kivonat (1 %-os koncentráció) még jobbnak bizonyult: a 27. napig hosszabbította meg a minta avasodását. Más tesztrendszerekben (Rancimat módszer, kemolumineszcenciás vizsgálat stb.) is hasonló eredményekre jutottak. Megállapították, hogy a kakukkfű SFE- és Soxhlet-extraktuma is jelentős gyökfogó-képességgel rendelkezik. A rozmaring kivonatnál hasonló eredményeket kaptak (Vásárhelyiné *et al.*, 2000).

A timol és a karvakrol antioxidáns hatását elemezte Aeschbach *et al.* (1994). Arra a megállapításra jutottak, hogy ezek a komponensek csökkentik a foszfolipid liposzómák peroxidációját Fe(III) és aszkorbát jelenlétében, azonban nem képesek csökkenteni a DNA károsodást a bleomicin-Fe(III) rendszerben. Ruberto és Baratta (2000) számos illóolaj komponens antioxidáns hatását elemezte 100 ppm koncentrációban. A kakukkfűben és a borsfüvekben található karvakrol (59,1 %), valamint a bazsalikomban található eugenol (64,7 %) igen jó antioxidánsnak

bizonyultak. A timol (25,5 %) és a nerol (19,4 %), illetve a citromfűben fellelhető geraniol (22,3 %) kisebb aktivitást mutattak.

Belsőleg köptetőként és a légcső görcseinek oldására alkalmazható, például akut és krónikus bronchitis, szamárköhögés és általában a felső légúti hurutok esetén. Hatámechanizmusa azon alapul, hogy a szekréciót, illetve a légcsőben található csillók szállítóképességét segíti elő, ezzel mintegy közvetlen hatást gyakorol a légcső nyálkahártyájára. Az illóolaj részben a tüdőben válik ki, és ott fejti ki hatását. Az antiszeptikus és az antibakteriális aktivitásáért elsősorban a timol a felelős. Ezen kívül a kakukkfű serkenti a vérkeringést, antibakteriális hatású, ugyanakkor garatgyulladások elleni szerekben is megtaláljuk. Bőrre dörzsölve izgató hatású, fürdőadalékok és gyógynövény-párnák alapanyagaként is használható. A népi gyógyászatban még emésztést segítő és szélhajtó, valamint vizelet- és féreghajtó hatása miatt, továbbá húgyuti fertőzések esetén alkalmazható. Csak nagyon ritkán okoz allergiát, túladagolás esetén gyomorfájdalom, illetve keringési zavar jelentkezhet (Czygan, 1997d; DAB 10, 1991).

Vági *et al.* (2002) nagy nyomású (400 és 450 bar) (50 °C-on) szuperkritikus CO_2-dal extrahált – többek között – kerti kakukkfű kivonat mikrobiológiai aktivitását térképezték fel. A mikrobiológiai teszteket 3 penész- és 3 baktérium törzsön hajtották végre. A kivonatok közül az egyik legjobb penésznövekedést gátló hatással a kakukkfű rendelkezett, már igen csekély koncentráció esetén is. Ezen kívül a legerősebb antifungális aktivitást, illetve egy raktári penész (*Trichoderma vididae*) esetében a legerősebb gátlást is a kakukkfűnél tapasztalták. A legkifejezettebb baktériumszaporodást gátló hatás is e faj SFE kivonatának volt tulajdonítható.

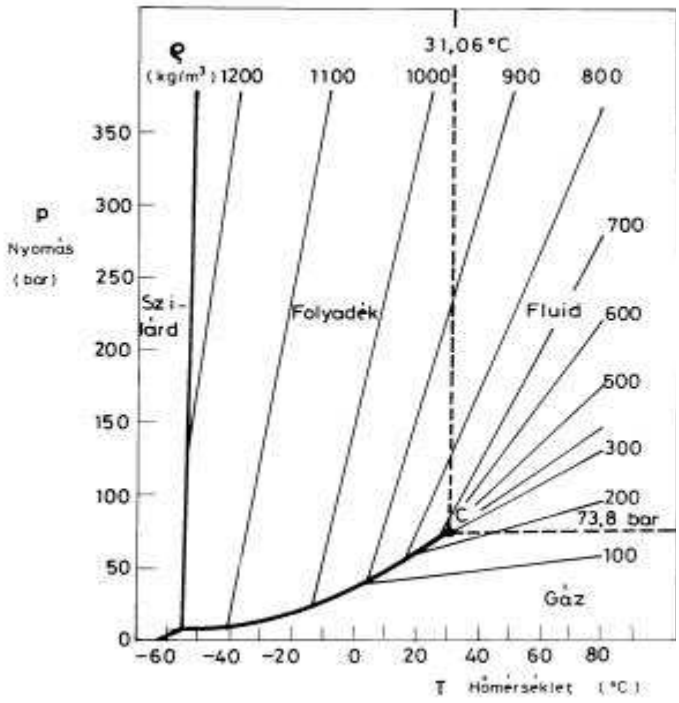
A mezei kakukkfű köhögéscsillapító, köptető, légúti fertőtlenítő, valamint enyhe görcsoldó. Igen kedvelt fűszer, illóolaját a kozmetikai ipar is hasznosítja. Légúti hurutos betegségek kezelésére összeállított teakeverékek alkotórésze. Köhögés elleni készítményekben alkalmazzák még asztma, dohányosok idült hörghurutja, időskori tüdőtágulás, hörgőtágulás kezelésében is. A népi gyógyászatban vérszegénység, álmatlanság, légzőszervi megbetegedések elleni receptekben szerepel. Forrázatát reumafürdőkben alkalmazzák (Bencze, 2000a).

Fertőtlenítő hatásán túl illóolaja serkenti az immunrendszer működését, hatására fokozódik a fehérvérsejtek termelődése, ezért az illóolaj fürdő és inhalálás formájában is hatékony. Teájának gyomornyugtató és frissítő - egyesek szerint hangulatjavító - hatása is van. Fűszerként étvágyjavító, puffadást gátló, görcsoldó és hasmenés elleni szer, jó bélfertőtlenítő, valamint bélféregűző hatása ismert. Jellegzetes íze miatt húsok fűszerezésére használják (Bencze, 2000a). Hatását tekintve hasonló a kerti kakukkfűnél leírtakhoz, de azoktól kissé elmarad (Czygan, 1997a; DAB 10).

3.3. A szuperkritikus fluid extrakció

A szuperkritikus fluid extrakció viszonylag újszerű eljárásnak tekinthető, hiszen az első publikáció 1962-ben látott napvilágot e témában (Klesper *et al*., 1962).

A szuperkritikus fluid extrakció (továbbiakban SFE) során a hatóanyag kivonást szuperkritikus állapotú oldószerrel, az esetek 98 %-ában fluid állapotú szén-dioxiddal végzik (Luque de Castro és Jiménez-Carmona, 2000). A fluid állapotban az oldószer hőmérséklete és nyomása egyaránt eléri a rá jellemző kritikus pontot, illetve túllépi azt (Myer *et al*., 1991) (**7. ábra**).



7. ábra: A szuperkritikus fluid állapot p-T diagramja (Simándi *et al.*, 1996a nyomán)

A fluid állapotú oldószer sűrűségét tekintve a folyadékokhoz áll közel, viszkozitása és diffúzióképessége szempontjából pedig a folyadék és a gáz között helyezkedik el. A fenti tulajdonságok optimális feltételeket biztosítanak ahhoz, hogy a kivonatot magas kinyerési százalékkal, viszonylag rövid idő alatt állítsák elő (Petró *et al.*, 1991). A szuperkritikus oldószerek kivonó képessége a nyomás, a hőmérséklet, vagy e két tulajdonság együttes változtatásával módosítható. Ez teszi lehetővé az adott minta meghatározott komponenseire nézve a szelektív extrakciót.

Az SFE igen széles körben alkalmazott extrakciós eljárás. Előnyei az alábbiakban foglalhatók össze (Myer *et al*., 1991):

- Az extrakció gyorsan lezajlik a fluid állapotú oldószer alacsony viszkozitásának és kiváló diffúziós képességének köszönhetően. Átlagos időtartama 30-120 perc, de egyes esetekben már a 10-15 perces extrakció is megfelelő eredményt ad

- Maga a technológia egyszerű, az alapanyag előzetes kezelése nem szükséges
- Az extrakcióval csaknem 100 %-os kinyerési arány érhető el
- Az extrakció egy adott komponensre nézve szelektívvé tehető
- Hőérzékeny anyagok kinyerése is megvalósítható. Az oldóképesség a nyomás változtatásával a kritikus hőmérsékleten (szén-dioxid: 31,1 °C) is emelhető
- Az analitikai vizsgálatoknál a szerves oldószer koncentrálásának lépése elmarad, ugyanis a kivonatot 1-2 ml oldószerben fogjuk fel, így az akár azonnali GC, HPLC, UV, LC és MS analízisnek vethető alá. Az extraktum szén-dioxidtól mentes lesz
- Az extraktum on-line analízisre (SFE-GC, SFE-HPLC, SFE-SFC, SFE-IR) is alkalmas
- A környezeti kockázat csekély, mivel kicsi a felhasznált oldószer mennyisége és a kivonatok mentesek a káros oldószermaradékoktól
- Egyszerű az oldott anyag oldószertől történő elválasztása, az oldószer tisztítás nélkül recirkuláltatható, az oldószerveszteség minimális
- A technológia maga költségkímélőbb a hagyományos kivonási módszerekhez képest az oldószertakarékosság és a szén-dioxid felhasználása miatt. Az elektromos energia felhasználás is csekély: a vízgőzdesztillációhoz képest kb. 1/3-a a technológia energiaigénye (rövid extrakciós idő, alacsony hőmérséklet, stb. miatt)
- Az extraktum megőrzi az eredeti minta tulajdonságait: a komponensek nem szenvednek hő- vagy oxigén okozta károsodásokat (hidrolízis, oxidáció, stb.), amelyek a hagyományos eljárásoknál általában fellelhetőek. Az SFE-extraktumok érzékszervi minősége illetve összetétele általában jobb a hagyományos eljárások termékeihez képest
- A melléktermékek további hasznosítása: mivel a fluidumok a nyersanyagok szerkezetét illetve tulajdonságait alig befolyásolják, akár humáncélú felhasználásra is alkalmasak maradnak.

Előnyös tulajdonságai miatt a szuperkritikus fluid extrakcióhoz leggyakrabban *szén-dioxid* oldószert használnak (Petró *et al.*, 1991; Simándi *et al.*, 1996; Simándi és Sawinsky, 2000), mert:

- Kritikus pontja (alacsony kritikus hőmérséklet: 31,1 °C és alacsony kritikus nyomás: 7,38 MPa) igen kíméletes extrakciós körülményeket tesz lehetővé. Emiatt alkalmas hőérzékeny, illetve kémiailag instabil vegyületek izolálására
- Fluid állapotban viszonylag nagy sűrűséggel rendelkezik, ezért az extrahált anyag mennyisége általában nagy
- Kiváló diffúzióképessége gyors extrakciót és gyakran nagyobb kihozatalt tesz lehetővé a hagyományosabb eljárásokhoz képest

- Szelektív extrakcióra is alkalmas, mely a hőmérséklet és/vagy a nyomás változtatásával érhető el
- Inert, azaz nem lép reakcióba az extrahálandó minta komponenseivel
- Oldószermentes extraktum előállítását biztosítja
- A hozzá adagolható segédoldószerek palettája igen széles
- Az egészségre nem káros, így az élelmiszeriparban, a gyógyszeriparban és az élvezeti cikkek előállításában is fontos szerepe van
- Cseppfolyós állapotban könnyen szállítható és a beszerzési költsége alacsony
- Az élelmiszeriparban már több évtizede használják: többek között védőgázként illetve csíramentesítésre
- Nem tűzveszélyes, nem korrodáló hatású
- Nem szennyezi a környezetet, nincs szükség a használt oldószer ártalmatlanítására, reciklizálható, emiatt is költségkímélő oldószer

Az apoláris komponensek kinyerése alacsonyabb extrakciós nyomást igényel, míg a poláris komponenseké magasabb nyomást (Luque de Castro és Tena, 1996).

Az analitikai tisztaságú fluid szén-dioxid elsősorban apoláris - hexánban, benzolban, metilén-kloridban, stb. oldódó - vegyületek extrakciójára alkalmas. Az oldóképesség javítása a hőmérséklet és a nyomás növelésével, segédoldószer hozzáadásával, vagy keverékoldószer használatával lehetséges. A segédoldószerek általában szobahőmérsékleten folyékony szerves oldószerek (etanol, metanol, izopropanol, hexán, stb.), melyek már néhány %-os koncentrációban is jelentősen növelik a poláris komponensek oldékonyságát (Simándi és Sawinsky, 1996). Amikor az oldószer kapacitása kicsi, vagy a segédoldószer toxikussága miatt az adott oldószer nem alkalmazható, a megfelelő kihozatal érdekében oldószerkeveréket használnak. Erre a célra többnyire a szén-dioxid/propán elegyet, illetve a propánt javasolják.

Az SFE szélesebb körű ipari elterjedését az alábbiak gátolják (Petró *et al*., 1991):

- Az oldhatósági és fázisegyensúlyi ismeretek hiányosságai az élelmiszerek és a növényi nyersanyagok esetében.
- Az optimális kísérleti körülményekhez nélkülözhetetlen tudományos alapismeretek hiánya
- Az SFE során felhasznált fluidumok rossz oldószerei a víznek, az egyéb hidroxi- illetve karboxilcsoportot tartalmazó vegyületeknek. Gyakorlatilag oldhatatlanok benne a cukrok, a keményítők, a gyümölcssavak, az aminosavak, a fehérjék és az ásványi sók
- Igen nagy gondosságot és figyelmet igényel e nagynyomású készülék üzemeltetése
- Az extraktumok tömegegységre vonatkoztatott előállítási költsége az alacsony árfekvésű termékek esetében még tetemes

- Az eddig napvilágot látott szabadalmak - nagy számuk és általános megfogalmazásuk miatt - áttekinthetetlenek, ami gyakran jogi viták forrása (Simándi és Sawinsky, 1996)
- Nagyobb az üzemi méretű beruházási költség a hagyományos kivonási módokhoz képest

Segédoldószerek

A legáltalánosabban alkalmazott segédoldószer az etanol és a metanol. Ennek magyarázata a szén-dioxid polaritásának növelésében rejlik, melyből adódóan hatékonyabbá tehető az extrakció. Azonban a segédoldószer túlzott hozzáadásával (20 % feletti részarány) bizonyos kötések bomlását okozhatjuk. A segédoldószer alkalmazása következtében akár csökkenhet a szelektivitás, azaz például klorofill és viasz is kerülhet az extraktumba (Lang és Wai, 2001).

A metanolon kívül alkalmazható még hexán, toluol vagy dietilamin (Luque de Castro és Tena, 1996), mely segédoldószerek természetesen befolyásolják a kinyerés hatékonyságát.

3.3.1. A szuperkritikus fluid extrakció jelentősége világszerte és hazánkban, alkalmazása a gyógynövények területén, különös tekintettel a *Lamiaceae* család illékony komponenseire

Az utóbbi húsz évben nagy előrelépések figyelhetőek meg a szuperkritikus állapotú komprimált gázokkal végzett extrakciós kutatások és fejlesztések terén. A növényi hatóanyagok kinyerése a nyolcvanas évek eleje óta folyik világszerte ipari méretekben, Európában például a német Flavex és az osztrák Natex cégek fűszer- és hatóanyag-kivonatok előállításával foglalkoznak. Az ipari felhasználók számos céllal telepítenek ilyen extraktorokat. Céljuk lehet az energiatakarékos eljárások kifejlesztése, az energiahordozók gazdaságosabb felhasználása, a szennyvizek kezelése (pl. az Amerikai Egyesült Államokban), a tea extrakciója (pl. Svájcban), illóolajos növények kivonatainak előállítása (pl. Franciaországban), komló és egyéb növényi aromák előállítása (pl. az Egyesült Királyságban), a szén cseppfolyósítható részének kivonása és növényi hatóanyagok kinyerése (pl. Németországban) (Simándy és Sawinsky, 1996).

Magyarországon több helyen találhatók kísérleti célú és léptékű szuperkritikus fluid extraktorok, többek között az egyetemeken is (például: Budapesti Műszaki Egyetem, ELTE, Budapesti Corvinus Egyetem, Gyógy- és Aromanövények Tanszék).

Az SFE eljárással előállított termékek minősége és előállítási költsége versenyképes a hagyományos úton nyert termékekkel és a piaci kereslet is stabil. Illóolajok esetében a legtöbb esetben az értékes komponensek koncentrálására, a nemkívánatos összetevők eltávolítására és a minor komponensek kivonására nyílik lehetőség (Petró *et al*., 1991).

Az illóolajok elhelyezkedését (exogén ill. endogén kiválasztás) az extrakciónál figyelembe kell venni (Reverchon *et al*., 1993). Az illóolajok szelektív kinyerése érdekében érdemes

számításba venni, hogy a tőlük gyakran nehezen elválasztható, együtt extrahálódó viaszok alacsony hőmérsékleten (-5 és +5 °C között) gyakorlatilag oldhatatlanok szén-dioxidban, miközben az illóolajok igen jól megőrzik oldhatóságukat. Ezt a tényt a frakcionálás során lehet hasznosítani. Ilyenkor például az extrakciót 9 MPa és 40 °C mellett, a szeparációt pedig 2 lépésben végzik. Az első szeparátorban 0 °C és 9 MPa, míg a másodikban 15 °C és 2 MPa körülményeket állítottak be. Ily módon az első szeparátorban a viaszokat távolítjuk el a mintából, míg a második szeparátorban a tiszta illóolaj nyerhető ki (Reverchon és De Marco, 2006).

Simándi (2006) megállapította, hogy egynemű anyagok kinyerésénél az idő növelésével a hozam növekszik, azonban az egységnyi idő alatt kinyert extrakt mennyisége fokozatosan csökken. A terpén szénhidrogének koncentrációja csökken az extrakció előrehaladtával, ugyanakkor a polárisabb oxigéntartalmú komponensek aránya szignifikánsan nagyobb az extrakció későbbi szakaszában kinyert termékben. Kísérleteivel igazolta, hogy az oldószer áramlási sebességének nincs hatása az extraktum koncentrációjára. Az extrakciós nyomás és hőmérséklet együttes hatásának feltérképezésére 3 szintes kísérleti tervet valósítottak meg. Ennek eredményeképpen megállapították, hogy az összetett hatóanyagoknál a nyomás és a hőmérséklet hatása egyaránt szignifikáns az extraktciós hozam tekintetében. Általában a nyomás hatása erősebbnek bizonyult, ugyanis a nyomás növelésével jelentősen nő a szén-dioxid sűrűsége és oldóképessége. Közvetlenül a szén-dioxid kritikus pontja felett csak az illóolajok oldódnak (7,5-10 MPa és 35-40 °C). A nyomás növelésével már kioldódnak a könnyű és nehéz viaszkomponensek. További nyomásnöveléssel elkezdődik a szinezékek és más komponensek kinyerése is. A hozam felső határát a készülékben alkalmazható maximális nyomás és hőmérséklet szabja meg. Megállapította, hogy a hőmérséklet hatása a nyomás értékétől függően különböző lehet. Alacsony nyomáson (10 MPa) a hőmérséklet emelése csökkenti a kihozatalt, nagy nyomáson (40 MPa) viszont növeli. A szuperkritikus extrakció alatt a mérsékelt hőmérséklet és az inert környezet (CO_2) miatt kémiai átalakulás nem valószínűsíthető.

A minta szemcsemérete nincs hatással az illóolaj-kihozatalra, nagyban befolyásolja azonban az extrakció időtartamát. A túlzott aprítás a növény túlmelegedéséhez, így illóolaj veszteséghez vezethet (Oszagyán, 1999). Tipsrisukond *et al.* (1998) megállapította, hogy a szuperkritikus extraktumok erősebb antioxidáns hatással rendelkeznek, mint a hagyományos kivonatok.

A *Lamiaceae* család néhány fajával kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós eredmények

A majoranna (*Majorana hortensis* Mönch) esetében 120-140 bar nyomás, 40 °C hőmérséklet és 30 perces extrakciós idő volt az optimális az egész növény kémiai jellegzetességeinek meghatározása szempontjából. A szuperkritikus extrakció segítségével e fajnál

jelentős minőségjavulás volt megfigyelhető az illóolaj-komponensek összetétele tekintetében. Míg a desztillált olaj terpinén-4-olt tartalmazott (műtermékként), addig az SFE-kivonatban az eredeti drogra jellemző aromakomponens, a cisz-szabinén-hidrát jelent meg a kíméletes technika eredményeképpen (Németh *et al*., 1995). A további fajokkal folytatott vizsgálatok eredményeit a **4. táblázat** foglalja össze.

4. táblázat: Néhány *Lamiaceae* faj szuperkritikus fluid extrakciós eredményei

Vizsgált faj vagy drog neve	SFE extrakciós körülmények és eredmények	Irodalmi források
Menthae piperitae folium	10-30 MPa, 313 K: a nyomás növelésével a kutikuláris viasztartalom növekedett, az illóolaj mennyisége nem változott a nyomás emlésével	Roy *et al.* (1996)
Nepeta tuberosa	8 MPa és 40 °C: a viaszok kivételével a nemkívánt komponensek nem kerültek kivonásra, az illóolaj összetételében nagy változást képes okozni az extrakciós időtartam növelése	Reverchon és Porta (1997)
Lavandula spp.	SFE*: gazdagabb észter komponensekben, mint VGD**, az extrakciós időtartam növelésével a monoterpén szénhidrogének százalékos aránya csökkent, az oxidált mono- és szeszkviterpéneké növekedett	Lemberkovics *et al.* (2001a)
Origanum vulgare, Pimpinella anisum	az SFE-vel kinyert illóolajokat főleg oxidált szénhidrogének alkotják és mentesek a monoterpén szénhidrogénektől	Ondarza és Sanchez (1990)
Salvia sclarea	az SFE extraktban nagy mennyiségű szklareolt sikerült kimutatniuk, miközben a VGD illóolajban nem volt jelen ez a komponens	Rónyai *et al.* (1999)
Salvia officinalis	két szeparátorban a hatóanyagokat oldékonyságuk alapján külön választották egymástól	Rónyai *et al.* (1996) és Reverchon *et al.* (1995)
	a rövidebb időtartam alatt előállított SFE frakciók monoterpénekben gazdagabbak, mint a később gyűjtöttek, melyekben a szeszkviterpén komponensek dúsultak fel	Lemberkovics *et al.* (1996a)
	az alacsony tujon-szint szempontjából a 40 °C-os extrakciós hőmérséklet, a 30 perces extrakciós idő, illetve - a minta illóolaj-tartalmától függően - a 10-17 MPa-os nyomástartomány optimálisnak volt tekinthető	Bodács (2002)
***Rosmarinus officinalis* 'Harmat'**	az extrakciós időtartam növelésének hatására az α-pinén mennyisége kis mértékben csökkent, az izo-borneolé pedig növekedett, az oktén-3-on és a verbenon aránya közel azonos maradt az extrakciós idő illetve a nyomás növelése során, mely utóbbiak nagyobb mennyiségben voltak jelen az extraktumokban, mint a desztillátumokban,	Pluhár *et al.* (1996b)
	frakcionálás; SFE: 11 MPa nyomás és 40 perc extrakciós időtartam alatt a VGD-től nagyban különböző összetétel, az SFE kivonat illata jobban hasonlít a kiindulási anyag illatára	Reverchon és Senatore (1992)
Hyssopus officinalis	50 MPa és 50 °C: legjobb kihozatali érték, összetételben csak kisebb eltérések voltak kimutathatók: a limonén (18 MPa-nál), majd a β-pinén aránya (40 MPa -nál) csökkent minimálisra, szeszkviterpén komponensek aránya ezzel párhuzamosan növekedett; a pinokámfon és az izo-pinokámfon aránya nem változott jelentősen; 10 MPa, 40 °C, 30 min desztillált illóolajhoz hasonló összetétel	Pluhár *et al.* (1996a)

*SFE= szuperkritikus fluid extrakcióval nyert kivonat; **VGD=vízgőzdesztillációval nyert kivonat

3.3.1.1. A *Melissa officinalis*-szal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei

Az Egyesült Államokban citromfűvel végzett kísérletek során (Rozzi *et al.*, 2002) kimutatták, hogy az SFE a vízgőzdesztillációhoz (VGD) képest sokkal eredményesebb és gyorsabb

eljárás. Míg a vízgőzdesztillációhoz 40 percre volt szükség, az SFE csupán 20 percet vett igénybe, ezen kívül a kivonatok összetételére is hatással volt az extrakciós technika. A desztillált illóolaj főként nerált és geraniált tartalmazott. Az extraktumokban megnövekedett mennyiségben találtak geraniált, miközben csökkent izomerje, a nerál mennyisége. A β-kariofillén mennyisége is jelentősebb volt az SFE extraktumokban, miközben csökkent a citronellál és a kariofillén-oxid aránya. Összességében tehát a szuperkritikus fluid extraktumok a desztillátumhoz képest a hatóanyagok szélesebb spektrumát tartalmazták. A szén-dioxid extrakciót **Isco SFX 2-10™** típusú laboratóriumi extraktorral és a hozzá kapcsolódó **Isco Model 260 D** pumpával végezték. Eredményeiket az **5. táblázat** szemlélteti.

5. táblázat: A citromfű extraktum komponenseinek relatív eloszlása vízgőzdesztilláció és SFE alkalmazásakor (Rozzi *et al.*, 2002 nyomán)

KEZELÉSEK	A KIVONATOK FŐBB KOMPONENSEINEK ARÁNYA, %					
	citronellál	nerál	geraniál	neril-acetát	kariofillén	kariofillén-oxid
vízgőzdesztilláció	5,00±0,95	33,63±0,74	47,06±0,58	nyomokban	1,23±0,58	3,56±0,42
SFE CO_2-13,79 MPa, 40°C	3,43±1,25	22,57±1,34	63,23±1,78	0,20±0,17	7,63±1,31	1,43±0,35
SFE CO_2-27,58 MPa, 40°C	3,53±1,17	22,17±0,40	62,23±2,97	1,40±1,11	7,27±0,70	0,90±0,70
SFE CO_2-41,37 MPa, 40°C	3,10±0,61	23,03±1,02	61,40±1,00	1,57±0,55	7,37±0,53	1,77±0,15
SFE CO_2-13,79 MPa, 60°C	3,30±0,75	22,20±1,15	60,30±2,08	0,00±0,00	8,47±1,29	2,63±1,55
SFE CO_2-27,58 MPa, 60°C	3,50±0,75	21,77±1,75	61,97±1,66	0,12±0,13	7,37±0,64	1,60±0,26
SFE CO_2-41,37 MPa, 60°C	2,87±0,67	23,30±0,35	62,17±0,60	1,57±1,24	6,63±0,42	1,50±0,10

A legmagasabb kihozatali értéket (5,42 %) 60 °C-on és 13,79 MPa nyomáson érték el. Statisztikai elemzésük alapján a szén-dioxid sűrűsége befolyásolja a citromillatot okozó komponensek mennyiségét a kivonatban (Rozzi et al., 2002). További, jelentősebb kísérletek eredményeit a **6. táblázat** foglalja össze.

6. táblázat: A *Melissa officinalis* szuperkritikus fluid extrakciós kísérletei

Vizsgált faj vagy drog neve	SFE extrakciós körülmények és eredmények	Irodalmi források
Melissa officinalis	10-18 MPa közötti nyomás, 40 °C hőmérséklet; legerősebb antioxidáns hatás: 10 MPa, 40 °C, 4 órás extrahálás után; fenolos komponensek kinyerésére optimális a 10 MPa nyomás, 55 °C és 30 perces extrakciós időtartam; 30 min extrakció során az illó komponensek, míg hosszabb kivonási idő alatt a flavonok, flavonoidok, triterpének és szerves savak váltak kinyerhetővé.	Ribeiro *et al.* (2001)
	Legmagasabb kihozatali arányt (2,6 %): 20 MPa nyomáson és 40 °C hőmérsékleten érték el; 60 °C-on a nyomás növelésével (10 MPa-ról 30 MPa-ra) a hozam növekedett, a nyomás növelése (20 MPa-ról 30 MPa-ra) 60 °C-on nem befolyásolta a kihozatalt.	Skerget *et al.* (2002)
	30 MPa és 50 °C mellett érték el a legnagyobb kihozatalt, a kivonatok kis *rozmaringsav*-tartalommal (0,001-0,004 mg/ml) rendelkeztek, melynek hányadát a segédoldószer használata növelte.	Marongiu *et al.* (2004)
	Különböző paraméter kombinációkat teszteltek; csaknem minden vizsgált komponens esetében 20 MPa nyomás, 60 °C és 250 µl metanol segédoldószer alkalmazásakor nyerték a legnagyobb hatóanyag-mennyiségeket: 1,5 µg/g galluszsav, 1,6 µg/g protokatechusav, 1,7 µg/g p-hidroxibenzoesav, 1,4 µg/g vaníliasav és 9,5 µg/g sziringasav; kiemelkedő összetételt eredményezett az alacsony extrakciós hőmérséklet, illetve minden tesztelt nyomásérték 1-1 vizsgált komponens esetében.	Karasová *et al.* (2006)

Karasová *et al.* (2006) benzoesav származékok kinyerését elemezték különböző extrakciós eljárásokkal citromfűben. A vizsgált benzoesav származékok kinyerési rátája egyenlő, vagy magasabb volt az MSPD (mátrix szilárd fázisú extrakció) extrakciós módszerrel, mint az egyéb tesztelt kivonási eljárások (beleértve a szuperkritikus fluid extrakciót is).

3.3.1.2. Az *Ocimum basilicum*-mal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei

Pluhár *et al.* (1996d) európai típusú (linalool-esztragol kemotípusba tartozó) 'Keskenylevelű' bazsalikom SFE szén-dioxidos kivonatait elemezték. A kontroll vízgőzdesztillációhoz hasonlóan, kb. 55 % linalool és kb. 30 % esztragol volt jelen az SFE-extraktumokban. A szuperkritikus kivonatokban a fő komponsensek aránya 9 MPa felett nem változott. A desztillátumhoz képest 4-6-szor több β-kariofillén és kétszeres mennyiségű β-kubebén (szeszkviterpének) fordult elő a szuperkitikus kivonatokban. A 9 MPa extrakciós nyomáson extrahált minta mutatott a desztillátumhoz leginkább hasonlatos összetételt.

A további kísérletek eredményeit a **7. táblázat**foglalja össze.

7. táblázat: Az *Ocimum basilicum* szuperkritikus fluid extrakciós kísérletei

Vizsgált faj vagy drog neve	SFE extrakciós körülmények és eredmények	Irodalmi források
Ocimum basilicum: **5 termesztett fajta**	Az SFE módszer eredményezte a legmagasabb kihozatali arányt, az illó komponensek aránya nagyon hasonló volt az egyes extrakciós módszereknél; a desztillált illóolaj nagyobb mennyiségben tartalmazott alacsonyabb forráspontú szénhidrogéneket, illetve oxigéntartalmú terpéneket, mint a szén-dioxidos kivonatok.	Lachowitz *et al.* (1997)
Ocimum basilicum	SFE extraktum: fő komponensek: esztragol (21,8 %) és linaloolt (30,73 %), továbbá jelentős mennyiségű eugenolt (8,22 %), transz-metil-cinnamátot (8,71%), ill. kisebb mennyiségben 1,8-cineolt (5,85 %) és transz-kadinolt (3,59 %) mutattak ki. A diklór-metán oldószerrel, 2 órán keresztül szimultán desztillált extraktumhoz képest nem volt nagy különbség az egyes komponensek arányaiban, de az 1,8-cineol kisebb százalékban volt kimutatható az SFE extraktumban. Ezzel szemben a szeszkviterpének többsége jóval nagyobb arányban volt jelen az SFE kivonatokban.	Diaz-Maroto *et al.* (2002)
	Különböző paraméter kombinációkat vizsgáltak. A két nyomásértéken a bazsalikom összhozama csak kissé tért el (3,8±0,4 mg/g és 4,4±0,4 mg/g). Fő komponens a linalool volt, továbbá metil-eugenolt, α-bergamotént és 1,8-cineolt mutattak ki.	Menaker *et al.* (2004)
	Átfogó képet nyújtottak a természetes anyagok szuperkritikus fluid extrakciójáról, illetve frakcionálásáról. Ennek során kiemelték a linaloolt, mely teljes mértékben oldható szuperkritikus szén-dioxiddal 8,5 MPa felett 40 °C hőmérsékleten.	Reverchon és De Marco (2006), Raeissi és Peters (2001)
Ocimum gratissimum	Az SFE kétszer annyi timolt (72,4 %) és négyszer annyi karvakrolt (8,2 %) eredményezett, mint a gőzdesztilláció (32,6 % timol és 2,1% karvakrol), míg a hexános Soxhlet kivonatban 89,0 % timolt és 2,9 % karvakrolt azonosítottak.	Pino *et al.* (1998)

3.3.1.3. A *Satureja* fajokkal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei

A *Satureja* fajokkal folytatott néhány SFE kísérlet eredményét a **8. táblázat** szemlélteti.

8. táblázat: Az *Satureja* fajok szuperkritikus fluid extrakciós kísérletei

Vizsgált faj vagy drog neve	SFE extrakciós körülmények és eredmények	Irodalmi források
Satureja hortensis	Optimális mennyiségű SFE extraktot nyertek 12 MPa, és 40 °C mellett, 1 órás extrakcióval 120 kg CO_2/h kg oldószer áram mellett; 12 MPa felett a szén-dioxid sűrűségének növelése nem növelte az extrakciós hozamot, ami megközelítőleg konstans maradt a nyomásnövekedés ellenére.	Esquível *et al.* (1999)
	Míg a desztillált kivonatban 48,1 % karvakrolt és 38,4 % γ-terpinént, addig a szuperkritikus extraktumban 57,1-63,4 % karvakrolt és 27,0-32,8 % γ-terpinént mutattak ki, tehát a szuperktitikus extrakció a karvakrol részarányát növelte, míg a γ-terpinénét csökkentette.	Abbasi *et al.* (2005)
	A szuperkritikus kivonatokban a karvakrol (57,9-60,6 %), illetve a γ-terpinén (27,5-29,2 %) voltak a fő komponensek, kisebb mennyiségben p-cimol is jelen volt. Az etanolos SFE eredményeképpen 80,5 % karvakrolt sikerült kimutatni, illetve csekély mennyiségű γ-terpinént (9,9 %) és timokinont (3,6 %). A párhuzamosan vizsgált vízgőzdesztillátumban kevesebb (48,1 %) karvakrolt, több (36,7 %) γ-terpinént illetve 3,5 % α-terpinént azonosítottak.	Pavela *et al*. (2008)
Satureja montana	Kizárólag a szuperkritikus kivonatokban jelent meg a p-cimol-2,5-dion, illetve csak a desztillátumból tudott azonosítani elemolt. A különböző módon előállított kivonatokban hasonló részarányt képviselt a β-bizabolén és a kariofillén-oxid. A szén-dioxidos kivonatokban kissé emelkedett a kariofillén aránya. A VGD* kivonat tartalmazott magasabb részarányban linaloolt.	Bátor (2006)
	A karvakrol mennyisége 40 °C hőmérsékleten és 10 MPa nyomáson volt a legnagyobb, míg a p-cimol, a γ-terpinén illetve a β-bizabolén részaránya 50 °C hőmérsékleten illetve 10 MPa nyomáson volt kiemelkedő. A szemcseméret vizsgálata során kiderült, hogy csak kis eltéréseket okozhat annak csökkentése. 0,4 mm szemcseméret esetén 1,6 %, 0,6 mm-nél 1,38 %, míg 0,8 mm mellett 1,16 % (w/w) kihozatalt mértek. A kisebb áramlási sebesség nagyobb hozamot eredményezett.	Grosso *et al.* (2009)
	Különböző paraméter kombinációk mellett keresték az optimális SFE körülményeket. A szuperkritikus kivonatokban nagyobb mennyiségű karvakrol, timol, p-cimol, γ-terpinén, β-bizabolén és timokinon volt kimutatható.	Grosso *et al.* (2007)
Satureja spicata* subsp. *montana	Egyértelmű összefüggést nem tudott igazolni a részecskeméret és a kinyert kivonat mennyisége között, azonban megállapította, hogy az aprítás fokával párhuzamosan az illóolajban dús extraktum mennyisége növekszik.	Damjanović-Vratnica (2008)
Satureja fruticosa	A nyomás, a szemcseméret valamint az áramlási sebesség hatását vizsgálták. A legjobb eredményt 9 MPa extrakciós nyomás, 1,32 kg/h CO_2 áramlási sebesség és 0,5 mm-es szemcseméret esetén nyerték. Oxigén tartalmú monoterpéneket azonosítottak fő komponensekként a szuperkritikus és a vízgőzdesztillált kivonatokban is (pulegon, izomenton, piperitenon és piperitenon-oxid).	Coelho *et al. (*2007)

*VGD=vízgőzdesztillációval nyert kivonat

A kerti borsfűnél (*Satureja hortensis* L.) alternatív vizsgálati módszerként jöhet számításba a szuperkritikus fluid extrakció, jóllehet a kihozatali értékek kisebbek a vízgőzdesztillációhoz képest. A maximális kivonattartalmat 50 °C-on és 500 bar nyomáson érték el. A szén-dioxidos kivonatokban a karvakrol, a VGD kivonatban pedig a γ-terpinén dominált. A szuperkritikus kivonatok mindegyikében megfigyelték a szeszkviterpéneket mintegy 5-10 %-os mennyiségben,

azonban az illóolaj p-cimol komponense az extrakció során csak alacsony hőmérsékleten és nyomáson jelentkezett. Összességében megállapították, hogy a VGD-hez képest hasonló összetételű illóolajban gazdag SFE-CO_2 kivonat nyerhető 100 bar nyomáson és 40 °C hőmérsékleten (Pluhár *et al*., 1996c).

Lemberkovics *et al.* (2001b) arra a következtetésre jutottak kerti borsfű és vad kakukkfű vizsgálata során, hogy az illó komponensek egy része eredetileg glikozidosan kötött formában található meg a fenti növényekben, és ezért szuperkritikus extrakcióval nem nyerhetők ki.

3.3.1.4. A *Thymus* fajokkal kapcsolatos szuperkritikus szén-dioxid extrakciós kutatások eddigi eredményei

A kerti kakukkfűből szén-dioxidos fluid extrakcióval előállított kivonat élelmiszeripari és kozmetikai felhasználás szempontjából is kiváló tulajdonságokkal rendelkezik. Különösen értékes az antioxidáns és kiemelkedő a gyökfogó tulajdonsága (Simándi *et al.*, 1999).

Aleksovski *et al.* (2001) a *vadkakukkfű* SFE és VGD extraktumának különbségeit vizsgálva a timol és a karvakrol, valamint prekurzoraik a p-cimol és a γ-terpinén jelenlétét mindkét kivonatban kimutatták. Az SFE extraktum vizet és kutikuláris viaszt is tartalmazott, melyek mennyisége az extrakciós idő és a nyomás növelésével feldúsult a kivonatokban.

Gioannis *et al.* (2001) a *T. herba-barona* faj SFE vizsgálatánál optimális paramétereknek tekintették a 90 bar-t, az 50 °C-ot és a 300 perces extrakciós időt. Megállapították, hogy az illó komponensek közül - a desztillált illóolajhoz képest - a borneol, a terpinén-4-ol, a timol, a karvakrol és a β-kariofillén - az SFE extraktumban voltak jelen nagyobb arányban.

Portugália északi részén gyűjtött *T. zygis* szuperkritikus extraktumának illó komponenseit vizsgálták Moldao-Martins *et al.* (2000) különböző hőmérséklet, nyomás és időparaméterek mellett. A kinyert extraktumokban található összetevőket GC-MS módszerrel azonosították. Arra a megállapításra jutottak, hogy a szuperkritikus kivonatok hozama magasabb volt, mint a gőzdesztillálációval előállított kivonaté. Magasabb nyomásértéken (20 MPa) és nagyobb extrakciós időtartam alatt (120 min) nagyobb kihozatalt értek el. Igazolták, hogy a monoterpének részaránya összefüggésben van az extrakciós hőmérséklettel, hiszen e komponenseknél 308 és 310 K (35 és 37 °C) hőmérsékleten értek el nagyobb kihozatali értékeket. A fenolok is magasabb hőmérsékleti és nyomásértéken voltak nagyobb arányban kinyerhetők. A terpén-alkoholok mennyisége a kivonatokban elsősorban a hőmérséklettől függött. Összességében azonban a nyomás bizonyult a legfontosabb befolyásoló tényezőnek a kivonás során.

A további SFE kísérletek eredményeit a **9. táblázat** foglalja össze.

9. táblázat: A *Thymus vulgaris legfontosabb* szuperkritikus fluid extrakciós kísérletei

Vizsgált faj vagy drog neve	SFE extrakciós körülmények és eredmények	Irodalmi források
Thymus vulgaris	SFE*: a komponensek nagy része kisebb arányban volt jelen, mint a párhuzamosan vizsgált VGD**-ben kivéve: β-pinén, linalool, terpinén-4-ol, α-terpineol, bornil-acetát, a zsírsav összetevők közül pedig a palmitinsav és a sztearinsav, a glikozidosan kötött timol jelenléte lehet az oka a különböző karvakrol-timol aránynak az SFE kivonatokban	Bestmann *et al.* (1985) Miura *et al.* (1989) Merks és Svendsen (1989) Stahl-Biskup *et al.* (1993)
	SFE: a VGD-hez képest a timol-tartalmat jelentősen (48-50 %-ról 10-15 %-ra) csökkenti, a karvakrol-szint pedig ezzel párhuzamosan növekszik (8-10 %-ról 30-35 %-ra). A szemcseméret csökkentésével csak kis mértékben növekedett a kihozatali arány. Mivel a mono- és szeszkviterpének egy része eredetileg glikozidosan kötött formában vannak jelen a kakukkfűben, emiatt a teljes illó frakciót csak előzetes savas kezeléssel tudták kinyerni	Oszagyán *et al.* (1996b) Simándi *et al.*, (1996b) Lemberkovics *et al.* (1996a és 2001a)
	Bizonyították, hogy a szuperkritikus extrakcióval a növényben kötött állapotban (cukrohoz kötve, polifenolos vagy kötésben) lévő komponenseket nem lehet kienyerni, illetve, hogy a karvakrol, a timol, az α-terpineol és az eugenol a növényben kötött formában is jelen vannak. Kísérleteik alapján igazolták, hogy a kis molekulatömegű terpén szénhidrogének az extrakció elején nyerhetők ki, míg a fenolos monoterpén komponensek a szeszkviterpénekkel együtt az extrakció végéig folyamatosan extrahálhatók. Arra a megállapításra jutottak, hogy az extrakció kíméletesebb körülményei a természetes összetételhez közelebbi minőségű termék előállítását teszik lehetővé.	Oszagyán *et al.* (1999)
	SFE optimalizálás konstans 40 °C és 2,5 óra extrakciós időtartam mellett; a timol (37,29 %) és a karvakrol (0,86 %) mennyisége 10 MPa nyomáson volt a legmagasabb. 15 MPa nyomáson 26,00 % timolt és 0,57 % karvakrolt, 20 MPa nyomáson 22,31 % timolt és 0,49 % karvakrolt, míg 40 MPa nyomáson 20,01 % timolt és 0,46 % karvakrolt tartalmaztak a kivonatok.	Zekovic *et al.* (2000)
	20 MPa extrakciós nyomás és 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett érték el a legmagasabb kihozatali arányt (3,50 %). 60 °C hőmérsékleten a nyomás 10 MPa-ról 30 MPa-ra növelésével a hozam növekedett.	Skerget *et al.* (2002)
	4,9 g/100g sz.a. szuperkritikus extraktumot nyert 40 MPa extrakciós nyomás és 60 °C extrakciós hőmérséklet alkalmazásával. A hőmérséklet és a nyomás extrakcióra gyakorolt hatása szignifikánsnak bizonyult. A kivonat mennyisége az extrakciós nyomás és hőmérséklet emelkedésével növekedett.	Vági (2005)
	A karvakrol és a kariofillén részarányát nem befolyásolta jelentősen a kivonási módszer. A szén-dioxidos extrakció hatására a p-cimol mennyisége jelentősen csökkent. Kizárólag a desztillátumban azonosított terpinén-4-olt, timol-metil-étert, karvakrol-metil-étert és γ-terpinént. Az SFE linalool és borneol tartalma kisebb, míg kariofillén-oxid aránya nagyobb volt.	Bátor (2006)

*SFE= szuperkritikus fluid extrakcióval nyert kivonat; **VGD=vízgőzdesztillációval nyert kivonat

3.3.2. A kísérletben szereplő fajok nem illó komponenseinek vizsgálata során eddig elért eredmények

A ***Melissa officinalis*** fenolos komponenseit elemezte Wang *et al.* (2004) HPLC eljárással, melynek során 27,4 mg/g rozmaringsavat és 0,3 mg/g kávésavat azonosított.

Ziaková és Brandsteterová (2003a) HPLC módszerrel vizsgálták *Lamiaceae* fajok drogjainak fenolsav összetételét, melynek során citromfű esetében 21,002 mg/g (2,29 %)

rozmaringsavat, 0,192 mg/g (3,65 %) kávésavat és 0,044 mg/g (1,56 %) protokatechusavat mutattak ki.

Modnicki *et al*. (2004) 1998-ban betakarított citromfű-levél kivonatát analizálták HPLC eljárással: 0,9-2,79 % rozmaringsavat, 4,08-11,93 % összes fenoltartalmat és 3,6-13,2 % tannin tartalmat detektáltak.

Ocimum taxonok levélfelületén kiváló flavonoid komponensek azonosítását tűzték ki célul Grayer *et al*. (1996b). A legnagyobb arányban nevadenzin (5,6-58,4 %) és szalvigenin (20,2-70,1 %) komponenseket mutattak ki. Grayer *et al.* (2001) a későbbiekben még részletesebben vizsgálták a levélfelületi flavonoidok alakulását. Az *Ocimum basilicum*, *Ocimum basilicum* var. *difforme*, *O. basilicum* 'Lettuce leaf', *O. basilicum* (ánizsos típus), *O. basilicum* (fahéj illatú), *O. basilicum* 'Sweet Dani' taxonoknál 0,6 mg/g sz.a. átlagos összflavonoid mennyiséget mértek és jelentős kémiai változékonyságot tapasztaltak. Igen nagy mennyiségben találtak szalvigenint (30 %), pendunkulint (30 %) és nevadenzint (19 %). Kisebb mennyiségben továbbá apigenin, cirzimaritim, cirzilineol, eupatorin, akacetin, ladanein, genkvanin és apigenin-7,4'-dimetil-éter komponenseket azonosítottak. Mindezek mellett csak a 'Sweet Dani' fajtában volt kimutatható a luteolin (0,48-0,78 %).

A ***Satureja*** *spinosa* és a *S. thymbra* levélfelületi flavonoid komponenseinek taxonómiai értékét elemezte Skoula *et al.* (2005) HPLC analízis segítségével. A *S. thymbra* mintáiban a naringenin, az aromadendrin, az eriodiktiol, a ladanein és a 6-hidroxiluteolin-7,3',4'-trimetiléter voltak a főbb komponensek, míg a *S. spinosa* esetében nagyobb mennyiségben csak az aromadendrint és az eriodiktiolt volt jelen.

Exarchou *et al.* (2002) *kerti borsfüvet* is vizsgáltak fenolos komponensek szempontjából, HPLC módszerrel. Jelentős mennyiségű rozmaringsavat mutatott ki, továbbá a luteolin, az apigenin és a kvercetin jelenlétét is igazolta.

Regnault-Roger *et al.* (2004) HPLC eljárással elemezte a *kakukkfüvek* és a *kerti borsfű* fenolos komponenseit. Kerti borsfűben azonosították a legkisebb mennyiségben a rozmaringsavat (3,05 mg/g sz.a. = 45,1 %), illetve a kávésavat (1,0 mg/g sz.a. = 14,8 %).

Cetkovic *et al.* (2007) etil-acetátos és n-butanolos extrakció után elemezte az *évelő borsfű* kivonatainak fenolkarbonsav összetételét HPLC módszerrel. A két mintaelőkészítési mód igen eltérő összetételt eredményezett **(10. táblázat)**.

Blazquez *et al.* (1994) ***Thymus webbianus*** esetében 7 különböző flavonoid komponenst mutatott ki UV-spektrum alapján, TLC és HPLC-DAD eljárással, melyek a következők voltak: luteolin, apigenin, eriodiktiol, naringenin, luteolin-7-O-glikozid, apigenin-7-O-glikozid, apigenin-6,8-di-C-glikozid. Ezeken kívül azonosítottak még protokatechu-, klorogén-, sziringa-, p-kumár- és 3,5-dikaffeoil-kínasavat.

10. táblázat: Évelő borsfű különböző kivonatainak HPLC-analízissel kapott eredményei (Cetkovic *et al*., 2007 nyomán)

Komponens	Fenolkarbonsavak mennyisége, µg/g	
	etil-acetátos kivonat	n-butanolos kivonat
Protokatechusav	5,48±0,27	7,60±0,37
Katechin	622,47±28,03	238,08±11,64
Vanillinsav	4,99±0,23	20,43±0,95
Kávésav	13,19±0,65	15,44±0,73
Sziringasav	14,07±0,70	45,86±2,18
Epikatechin	16,29±0,77	199,82±9,74
p-kumársav	4,82±0,22	4,04±0,20
Ferulasav	5,04±0,24	3,33±0,16

Janicsák *et al.* (1999) TLC-denzitometriás eljárással elemzett 96 ***Lamiaceae*** taxont rozmaringsav- és kávésavtartalom szempontjából. Ugyancsak Janicsák *et al*. (2006) vizsgálták 88 *Lamiaceae* taxon oleanol- és urzolsav tartalmát gázkromatográfiás módszerrel. Mindkét vizsgálati ciklus - az értekezésben tárgyalt fajokra vonatkozó - eredményei a **11. táblázatban** tekinthetők át.

11. táblázat: *Lamiaceae* fajokban azonosított fenolsavak és triterpén savak mennyisége (mg/g) (Janicsák *et al*., 1999 és 2006 nyomán)

Fajnév	Fenolsavak és triterpén savak mennyisége, mg/g			
	Rozmaringsav	Kávésav	Oleanolsav	Urzolsav
Melissa officinalis L.	1,20	0,14	0,140	0,581
Satureja montana L.	2,60	0,10	0,131	0,490
Thymus vulgaris L.	1,10	0,20	0,265	0,643
Thymus serpyllum L.	-	-	0,368	1,398

Koşar *et al.* (2005) kakukkfüvet, bazsalikomot és kerti borsfüvet vizsgált HPLC-PDA eljárással. A *kakukkfű* esetében nagy mennyiségű rozmaringsavat (145±0,14 mg/g) és luteolin-glikozidot (24,2±0,14 mg/g) azonosítottak. A *bazsalikom* mintákban nagy mennyiségű rozmaringsavat (36,3±0,07 mg/g), míg a *borsfű* mintáiban 103±1,06 mg/g rozmaringsavat, 57,2±0,69 mg/g luteolin-glikozidot és 1,38±0,04 mg/g kávésavat mutattak ki.

A *kakukkfű* (*T. vulgaris* L.) és az *egyéves borsfű* mintáiban Martin *et al.* (2009) a levél és néhány esetben a hajtás urzol- és oleanolsav tartalmát elemezte a virágzás elején, illetve a teljes virágzás fázisában. A kakukkfű-levélben kimutatható urzol- és oleanolsav mennyisége esetenként alulmaradt a hajtásban mérthez képest (urzolsav: 0,33-0,45%, ill. oleanolsav: 0,13-0,24 %), azonban a legtöbb esetben meghaladta (levél, átlag: 0,77 %) a hajtásban kimutatott értékeket (hajtás, átlag:

0,33 %). Schöpke (2004) korábban a kakukkfűnél összesen 2 % urzol- és oleanolsav mennyiséget mutatott ki. Az egyéves borsfűnél hasonlóan alakultak az eredmények. A levélben mért urzol- és oleanolsav eredmények (átlagosan: 0,54 % ill. 0,18 %) a legtöbb esetben túlszárnyalták a hajtásban mért mennyiségeket (0,16-0,25 % ill. 0,05-0,07 %), azonban még így sem érték el a referenciaként feltüntetett 1,6 %-os mennyiséget.

Zgórka és Głowniak (2001) Lengyelországban kereskedelmi mintákat analizált SPE, majd HPLC eljárással. A legnagyobb mennyiségű kávésavat a *bazsalikom*nál mutattak ki (> 2500 μg/g sz.a.), a többi vizsgált faj esetében 500 μg/g sz.a. alatti értéket mértek. A rozmaringsav nagy mennyiségben a *Satureja hortensis*-ben és az *Ocimum basilicum*-ban (~12 000 μg/g sz.a.) volt jelen, alacsonyabb értékeket pedig a *Melissa officinalis*-nál (~10 000 μg/g sz.a.) és a *Thymus vulgaris*-nál (~5 500 μg/g sz.a.) kaptak.

Regnault-Roger *et al.* (2004) HPLC eljárással elemezte a kakukkfüvek és a kerti borsfű fenolos komponenseit. A *T. vulgaris* mintáknál mutatták ki a legnagyobb mennyiségű rozmaring- (7,64 mg/g sz.a.= 36,6 %) és kávésavat (2,89 mg/g sz.a.= 12,8 %). A *T. serpyllum* esetében 5,86 mg/g (=40,2%) rozmaringsav- és 1,71 mg/g sz.a. (4,9 %) kávésavtartalom volt mérhető.

Wang *et al.* (2004) kereskedelmi forgalomban hozzáférhető gyógynövényminták fenolsav-tartalmát értékelték. A *kerti kakukkfű* esetében HPLC módszerrel 4,5-8,7 mg/g rozmaring- és 0,3-0,1 mg/g mennyiségű kávésav mennyiségeket detektált.

Marin *et al.* (2005) számos *Thymus* faj flavon komponenseit elemezte HPLC eljárással. Szerbia és Montenegro területéről származó *Thymus striatus*-t is vizsgált, melynél a minták túlnyomó részében luteolin (4-22 %), 5,6-dihidroxi-7,3',4'-trimetoxi-flavon (1-7 %), timuzin (1-9 %), 5,6-dihidroxi-7,8,3',4'-tetrametoxi-flavon (1-9 %), xantomikrol (19-63 %), gardenin (8-29 %) és 5-dezmetil-nobiletin (10-31 %) volt kimutatható.

Ziaková és Brandsteterová (2003b) HPLC módszerrel vizsgálták egyes *Lamiaceae* fajok fenolsav tartalmát. A *Thymus serpyllum*-nál 13,173 mg/g (2,78 %) rozmaringsavat, 0,262 mg/g (1,76 %) kávésavat és 0,201 mg/g (2,93 %) protokatechusavat azonosítottak.

Fecka és Turek (2008) kakukkfüvek és majoranna fenolos komponenseit elemezte különböző kromatográfiás technikákkal, többek között HPLC eljárással is. A *Thymus vulgaris*-nál 0,55 mg/g luteolint, 0,43 mg/g naringenint, 0,48 mg/g kávésavat és 21,94 mg/g rozmaringsavat (27 minta átlaga) mutattak ki. A *Thymus serpyllum* esetében a következő polifenolokat sikerült azonosították (26 minta átlaga): 0,63 mg/g eriodiktiol, 1,45 mg/g luteolin, 0,48 mg/g kávésav és 14,48 mg/g rozmaringsav.

Zheng és Wang (2001) 39 faj antioxidáns aktivitását és fenolos komponenseik mennyiségét tanulmányozták. Ennek során a *Thymus vulgaris* mintáiban 11,7±1,04 mg/100g kávésavat, 39,5 ±

1,53 mg/100g luteolint, 91,8 ± 2,75 mg/100g rozmaringsavat és 20,8 ±0,96 mg/100 g hiszpidulint mértek.

3.3.3. A vizsgálatba vont fajok segédoldószer hozzáadásával végzett szuperkritikus fluid extrakciója során kapott eddigi eredmények

Menaker *et al.* (2004) segédoldószerként etanolt alkalmaztak a *bazsalikom* szuperkritikus extrakciójánál. Arra a megállapításra jutottak, hogy a magasabb extrakciós nyomás a fő komponenseken kívül további összetevőket is képes kioldani, illetve képes lényegesen megváltoztatni az extrakt összetételét. 2,5 % etanol segédoldószer hozzáadása még nem okozott változást a hozamban, azonban 5 %-os arányban adagolva megduplázta a kihozatalt, a 7,5 %-os segédoldószer arány pedig háromszoros extrakt hozamot eredményezett.

Ziakova és Brandsteterova (2003b) négyféle kivonási technikát (SPE - szilárd fázisú extrakció off-line és on-line üzemmódban, PSE túlnyomásos oldószeres extrakció~~;~~ és SFE szuperkritikus fluid extrakció) teszteltek a *Melissa officinalis* fenolos komponenseinek (rozmaringsav, kávésav, protokatechusav és protokatehin-aldehid) kinyerésére. A mintákat azután HPLC analízissel vizsgálták és értékelték ki. A szuperkritikus fluid extrakciót SE-1 (SEKO-K, Brno, Csehország) típusú laboratóriumi extraktorral végezték, melyhez egy 50 μm átmérőjű restriktor tartozott. Az exrakciós hőmérséklet 60 °C, a nyomás 40 MPa volt. A fűthető restriktor hőmérsékletét 100 °C-ra állították be, a kivonást 60 percig folytatták. Míg az SFE a kevésbé poláris vegyületek kivonására megfelelő módszernek bizonyult, a poláris fenolos komponensek hozama igen alacsony volt. A mintákban nem találtak kávé- és protokatehinsavat. Segédoldószer használata nélkül a rozmaringsav nagyon kis százalékban volt jelen a kivonatokban, metanol hozzáadásával azonban mennyisége gyarapodott. Metanol és 0,2 % hangyasav keverékének addíciójával a rozmaringsav hányada kis mértékben nőtt, de értéke az SPE-kivonatok eredményeivel össze sem volt hasonlítható. A PSE-t és az SFE-t a szerzők nem ajánlják poláris fenolos összetevők növényanyagból történő kivonására. Ennek oka, hogy a vizsgált komponensek csak kis mennyiségben voltak azonosíthatók a szuperkritikus fluid extraktumokban, és a kromatogramok is kevésbé voltak átláthatóak, mint az SPE-kivonatoké**.**

4. Anyag és módszer

4.1. A vizsgálat növényanyaga

Kísérletünk során a 2006-ban, 2007-ben és 2008-ban – a citromfű kivételével - Soroksáron termesztett növényanyagot használtunk fel. A betakarítás minden fajnál teljes virágzásban történt, majd a növényanyagot természetes úton szárítottuk. A szárított drogra vonatkozó információk a **12. táblázatban** találhatók. A száraz drogok porítása közvetlenül az SFE extrakció előtt történt, a vízgőzdesztilláció során pedig azonos eredetű drogot alkalmaztunk.

12. táblázat: A vizsgált fajok drogjainak eredete, a betakírításuk éve és a drog előállítása

Faj	Eredet	Betakarítás éve	Drog
Melissa officinalis	Herbária Zrt. Köztermesztésű kereskedelmi minta	2007	*Melissae folium* Ph.Hg. VIII. Szárított, szártalanított, morzsolt
Ocimum basilicum	Soroksári Kísérleti Üzem 'A1'	2006	*Basilici herba* Szárított, szártalanított, morzsolt
Satureja hortensis	Soroksári Kísérleti Üzem Köztermesztésű faj	2006	*Saturejae herba* Szárított
Satureja montana	Soroksári Kísérleti Üzem 'Bokroska'	2007	*Saturejae montanae herba* Szártott, szártalanított, morzsolt
Thymus pannonicus	Soroksári Kísérleti Üzem Ceglédberceli eredetű populáció	2008	*Thymi pannonici herba* Szárított
Thymus vulgaris	Soroksári Kísérleti Üzem Kalocsai köztermesztésű populáció	2006	*Thymi herba* Ph.Hg. VIII. Szárított, morzsolt

4.2. Kísérleti módszerek

4.2.1. A vízgőzdesztilláció 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 extraktumok kihozatali értékeivel (g/100g = m/m %) való összevethetőség érdekében, az illóolajok sűrűsége (g/cm^3) figyelembe vételével - a kapott vegyes % értékeket m/m %-ba számítottuk át.

4.2.2. A szuperkritikus fluid extrakció

Kísérleteinket az **Isco SFX 2-10™** típusú (ISCO, Lincoln, Nevada, USA) laboratóriumi extraktor segítségével végeztük, melynek üzemi jellemzői a következők voltak:

-két extrakciós kamra

-kézi szelepvezérlés

-dinamikus üzemmód

-programozható hőmérséklet (max. 110 ^{O}C), nyomás (max. 510 bar), áramlási sebesség (1-90 ml/min)

-konstans (beállított értékű) nyomás és változó áramlási sebesség üzemmód

-restriktor: PEEK polimer kapilláris

-cartridge (mintatartó): 10 ml űrtartalmú hő-és nyomásálló polimer

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 ^{o}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 ^{o}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 ^{o}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 tényezőnként az átlagértékeket hasonlítottuk össze.

A kivont hatóanyagokat SFE-CO_2 extrakció esetén 4 ml n-hexánban (HPLC-tisztaság, Merck, Németország) nyelettük el. Az oldószert szobahőmérsékleten elpárologtattuk, majd a kivonatokat –visszahigítás után - gázkromatográfiás analízisnek vetettük alá. A GC-analízis előtt a várakozó mintákat 4 ^{o}C-on, hűtőszekrényben tároltuk. Az extraktum mennyiségét tömegszázalékban adtuk meg, amit a bemért drog szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva számítottunk ki.

4.2.3. A Soxhlet extrakció módszere

Az kivonatokat 1 g homogenizált növányanyagból készítettük 25 ml etanol (96 V/V %-os) 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.

4.2.4. 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-5MS (5 % fenil-metil-sziloxán), (hossz: 30 m, d= 250 µm, filmvastagság: 0,25 µm), hőmérsékleti program: 60-240 °C-ig: 3 °C/perc, 240 ^{o}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 %-os értékek meghatározása a csúcs alatti terület arányainak meghatározásával.

4.2.5. 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 BCE Gyümölcstermő Növények Tanszék HPLC laboratóriumában. A szuperkritikus fluid extrakcióval előállított mintákból (4 párhuzamos minta) – higítás (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 a következők voltak: 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 (100ml) (Merck, Németország), elúció: gradiens. Azonosítás: standardok és retenciós idők segítségével történtek.

4.3. Statisztikai értékelés

A mérési adatokat először a Microsoft Office Excel 2003 programmal elemeztük. Az eredmények (4 párhuzamos minta) statisztikai értékeléséhez a Statistica 8.0 programcsomagot használtuk.

A statisztikai analízis során különválasztottuk az illó- és nem illó komponensek kinyerésére irányuló extrakciós kísérletsorozatokat. Az extrakciós paraméterek (nyomás, hőmérséklet, időtartam, segédoldószer keverési aránya) kihozatalra és a főbb összetevők arányaira gyakorolt hatását tényezőnként varianciaanalízissel értékeltük.

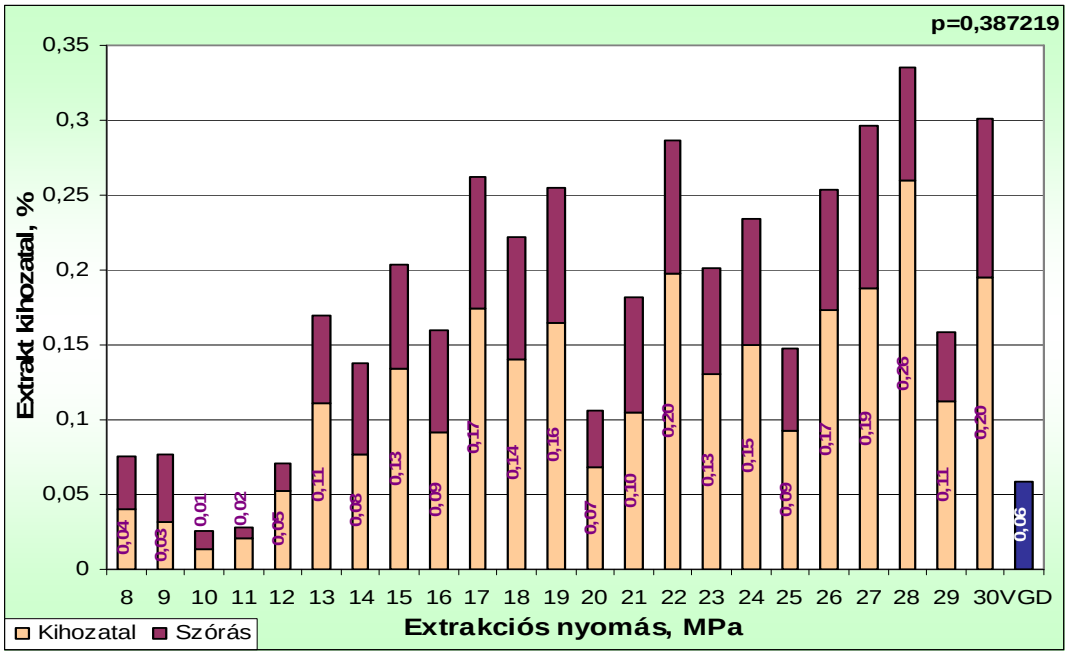
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. A *Melissa officinalis* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.1.1. Az illó komponensek kivonására irányuló kísérletek eredményei

5.1.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A nyomás változtatásakor 8-30 MPa közötti nyomásértékeket teszteltünk, konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett. Az SFE-extraktumok a kihozatal szempontjából a legtöbb esetben meghaladták a desztillációval nyert értéket (0,06 %). Már 13 MPa extrakciós nyomás esetén jelentősebb eredményt (0,11 %) értünk el, a nyomás további emelésével pedig növekvő tendenciát tapasztaltunk (**8. ábra**). A legalacsonyabb kihozatali értéket 10 MPa nyomáson kaptuk (0,01 %), míg a legkiemelkedőbb értéket 28 MPa extrakciós nyomásértéknél (0,26 %). 8 és 12 MPa közötti extrakciós nyomás nem eredményezett megfelelő kihozatalt, azonban a további nyomásértékek mellett kinyert extrakt mennyisége minden esetben meghaladta a desztillált kivonatét. Skerget *et al.* (2002) eredményei szerint a legnagyobb hozamot 20 MPa nyomáson érték el, amit kísérleteink alapján nem tudunk megerősíteni. A nyomásváltoztatás hatása a kihozatalra statisztikailag nem volt bizonyítható (p=0,387219) (**1a. melléklet**). A kivonási módok (SFE és VGD) között nem volt szignifikáns a különbség, ami valószínűsíthetően az SFE kivonás során tapasztalható magas szórások következménye (p=422721) (**1c. melléklet**).



8. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a citromfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

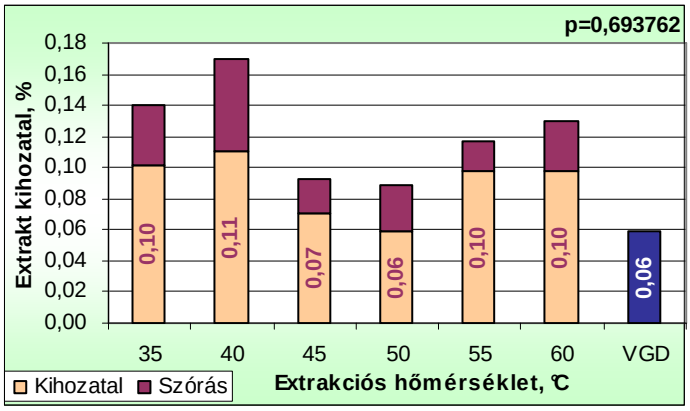
Összetétel szempontjából is kiemelkedő a 13 MPa nyomásérték, ugyanis ettől a ponttól jelennek meg az extraktumokban a citromfűre jellemző citronellál illetve nerál, valamint nagyobb arányban a geraniál, illetve a β-kariofillén és a kariofillén-oxid komponensek is nagyobb arányban fordultak elő. Carnat *et al.* (1998) ugyancsak citronellált, nerált és geraniált azonosított főbb komponensekként citromfűben gázkromatográfiás módszerrel. Eredményeink azt mutatják, hogy e komponensek közül csak a citronellál (p=0,022454) és a kariofillén-oxid (p=0,049788) arányt befolyásolta statisztikailag szignifikánsan a nyomás változtatása (**1b. melléklet**). A 13-18 MPa nyomástartományban azonosítottunk a mintákban az illóolaj főbb komponenseiből a legnagyobb mennyiséget. Azonban csak a β-kariofillén (13 MPa extrakciós nyomás esetén 8,85 %; 14 MPa 5,13 %, 16 MPa 6,45 %, 17 MPa 7,9 % és 21 MPa 5,33 %) és a kariofillén-oxid mennyisége haladta meg (8 MPa, 10 MPa, 11 MPa, 12 MPa, 15 MPa, 27 MPa extrakciós nyomás értékeket kivéve) a vízgőzdesztillátumban mért mennyiségeket (3,38 % és 6,17 %) (**13. táblázat**). A desztillációhoz képest az SFE-CO_2 kivonatokban csökkent a nerál, a geraniál és a citronellál, míg növekedett a kariofillén-oxid és a β-kariofillén szeszkviterpének mennyisége. Rozzi *et al.* (2002) 14 MPa extrakciós nyomás mellett harmad annyi citronellált (3,43 %), több nerált (22,57 %), kétszer annyi geraniált (63,23 %), míg kariofillén-oxidot mintáinkhoz képest csak igen csekély mennyiségben (1,43 %) azonosítottak (**5. táblázat**). 30 MPa nyomás esetében eredményeinkhez képest közel azonos mennyiségű citronellált (3,53 %), háromszor annyi nerált (22,17 %) és négyszer annyi geraniált (62,23 %), valamint ugyancsak nagyon kis mennyiségben kariofillén-oxidot (0,90 %) mutattak ki.

13. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a citromfű illó frakciójának főbb összetevőire (%)

Komponensek	Extrakciós nyomás, MPa										
	8	9	13	14	15	16	17	18	19	20	21
	Komponensek aránya, %										
citronellál	-	-	9,48	9,97	2,57	5,76	12,2	8,17	7,43	4,88	7,24
nerál	1,9	1,59	16,3	14,64	4,07	12,08	18,81	13,88	12,01	9,01	13,71
geraniál	3,55	7,53	36,58	30,48	9,44	33,51	42,25	32,56	26,32	18,08	27,72
β-kariofillén	1,98	1,4	8,85	5,13	1,2	6,45	7,9	2,39	2,48	1,68	5,33
kariofillén-oxid	2,98	14,94	12,03	13,93	3,09	13,02	13,94	17,08	16,13	13,71	16,6
Komponensek	Extrakciós nyomás, MPa									VGD	
	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
	Komponensek aránya, %										
citronellál	6,03	1,99	2,62	-	4,51	0,96	1,66	2,21	3,64	**10,93**	
nerál	9,08	5,05	3,48	0,54	6,79	-	3,64	1,97	7,24	**26,34**	
geraniál	23,5	10,06	6,76	-	15,95	-	6,7	3,4	14,18	**43,74**	
β-kariofillén	1,01	0,98	-	-	1,6	-	0,79	-	1,32	**3,38**	
kariofillén-oxid	18	9,76	8,8	2,43	10,05	1,52	6,49	8,29	13,49	**6,17**	

5.1.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja során a nyomás optimalizációja során már jelentős változást okozó 13 MPa nyomásértéket választottuk konstansnak 30 min extrakciós időtartam mellett. E kiválaszott nyomásértékek mellett vizsgáltuk, hogy a hőmérséklet 40 és 60 ^{o}C közötti emelésével milyen mértékű a kihozatal, illetve az illó összetevők arányainak változása. Azt állapítottuk meg, hogy a kihozatal 50 ^{o}C hőmérséklet esetén éppen azonos volt, míg a többi hőmérséklet értéknél minden esetben meg is haladta a vízgődesztillátum mennyiségét (0,06 %). A legmagasabb kihozatalt – szakirodalmi adatoknak megfelelően (Skerget *et al.*, 2002) - a 40 ^{o}C hőmérséklet mellett kivitelezett extrakció esetében értük el (0,11 %) (**9. ábra**). A hőmérséklet hatása a kihozatalra nem bizonyult szignifikánsnak (p=0,693762) (**1d. melléklet**) illetve a kivonási módok között sem volt szignifikáns a különbség (**1e. melléklet**).



9. ábra: Az extrakciós hőmérséklet hatása a citromfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

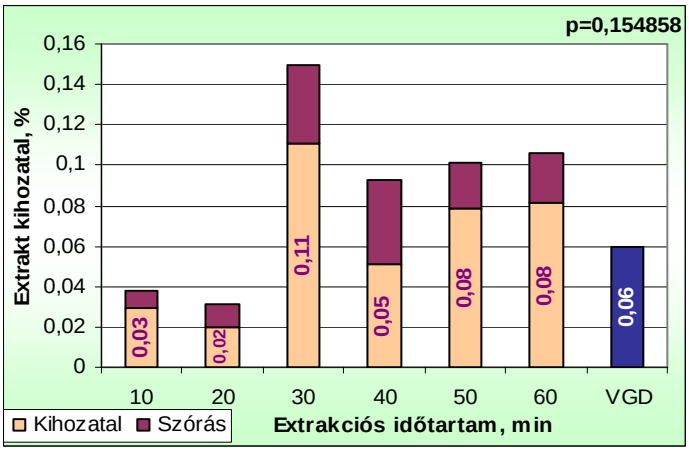
Az extraktumok összetétele a hőmérséklet optimalizáció során a következőképpen alakult (**14. táblázat**): a 35 ^{o}C-os extrakciós hőmérséklet egyik vizsgált komponens esetében sem eredményezett kiemelkedő értékeket. 40 ^{o}C-os hőmérsékleten azonosítottuk a legnagyobb részarányban a citronellált (9,48 %), a geraniált (36,58 %) és a β-kariofillént (8,85 %), melyek közül csak a β-kariofillén mennyisége haladta meg a vízgőzdesztillátumban kimutatott értékeket (3,38 %). Összességében ez a hőmérsékleti érték tekinthető a legmegfelelőbbnek, magasabb hőmérsékleten jelentősen változtak az arányok. A kariofillén-oxid mennyisége az 50 ^{o}C-os extrakció során (23,15 %) érte el a legnagyobb arányt, de minden más esetben is meghaladta a vízgőzdesztillátumban mért mennyiséget (6,17 %). A nyomásoptimalizációnál megállapítottakhoz hasonlóan a hőmérséklet változtatott azon a tényen, hogy az SFE extraktumokban alacsonyabb a VGD-hez képest a nerál és a geraniál, viszont magasabb a kariofillén-oxid és a kariofillén aránya.

14. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása a citromfű illó frakciójának főbb összetevőire (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Illó komponensek	Extrakciós hőmérséklet, ℃					VGD
	35	40	50	55	60	
	Komponensek aránya, %					
citronellál	-	9,48	-	0	7,44	**10,93**
nerál	0,86	16,34	-	5,46	20,12	**26,34**
geraniál	-	36,58	1,62	9,47	29,53	**43,74**
β-kariofillén	-	8,85	1,34	3,42	8,78	**3,38**
kariofillén-oxid	6,99	12,03	23,15	19,87	14,28	**6,17**

5.1.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az időparaméter optimalizációja során a kiválasztott 13 MPa extrakciós nyomás mellett 40 °C kivonási hőmérsékletet alkalmaztunk, miközben az 10 és 60 perc között teszteltük az extrakciós időtartam hatását a kihozatalra és az illó frakció összetételére. A 30 perces extrakciós időtartam mellett Rozzi *et al.* (2001) a legmagasabb kihozatalt mérte, kísérletünkben ugyancsak kiemelkedő eredményt nyújtott ez az időtartam (0,11 %), mely kihozatal szempontjából meg is haladta a vízgőzdesztillált kivonat mennyiségét (**10. ábra**). A 10, 20 és 40 perces extrakció (0,03 %, 0,02 % és 0,05 %) során a kivonatok mennyisége elmaradt a desztillátum mennyiségétől, azonban a 30, 50 és 60 perces extrakció (0,11 %, 0,08 % és 0,08 %) során sikerült jóval meghaladnunk a desztillátum során kapott hozamot. Statisztikailag nem volt alátámasztható az extrakciós időtartam hatása a kihozatalra (p=0,154858) (**1f. melléklet**), valamint a különböző extrakciós módszerek közötti különbség sem volt szignifikáns (**1g. melléklet**).



10. ábra: Az extrakciós időtartam hatása a citromfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Az időoptimalizáció során összetétel szempontjából is a 30 perces extrakció bizonyult megfelelőnek (**15. táblázat**), ugyanis a citronellál (9,48 %), a nerál (citrál-a) (16,3 %), a geraniál

(citrál-b) (36,58 %) és a β-kariofillén (8,85 %) aránya ekkor volt a legkedvezőbb. A kariofillén-oxid esetében pedig megállapítottuk, hogy mennyisége fokozatosan emelkedik az időtartam növelésével, részaránya 60 percnél a desztillátumének (6,17 %) több, mint négyszerese lett (27,43 %).

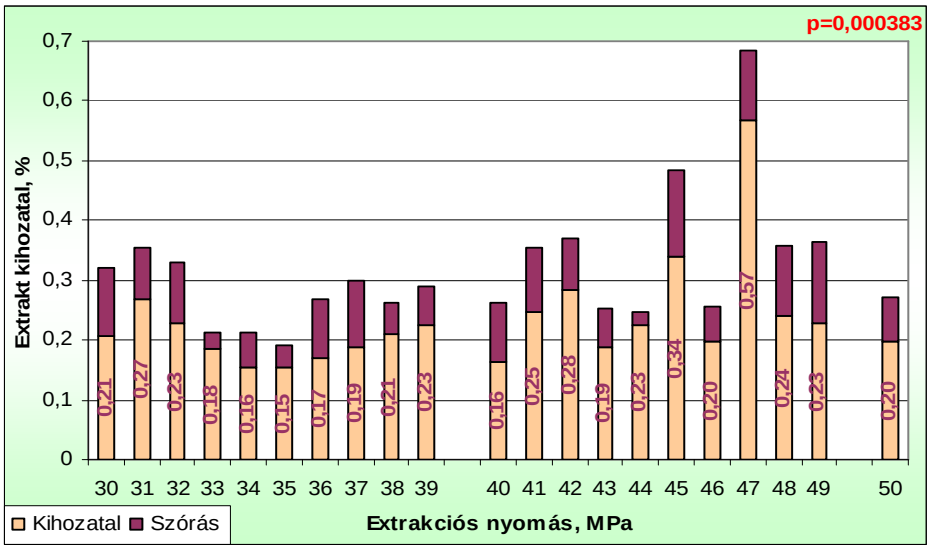
15. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása a citromfű főbb illó összetevőinek arányára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Komponensek	Extrakciós időtartam, min						VGD
	10	20	30	40	50	60	
	Komponensek aránya, %						
citronellál	-	-	9,48	-	1,73	2,99	**10,93**
nerál	-	-	16,3	1,58	8,28	5,98	**26,34**
geraniál	1,74	-	36,58	2,35	16,84	12,27	**43,74**
β-kariofillén	-	-	8,85	1,01	6,04	-	**3,38**
kariofillén-oxid	11,21	2,88	12,03	15,99	14,42	27,43	**6,17**

5.1.2. Nem illó komponensek kivonására irányuló kísérletek

5.1.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A nem illó komponensek vizsgálatát (állandó 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam beállítása mellett) először 30 és 50 MPa nyomástartományban (1 MPa nyomáskülönbségekkel) végeztük segédoldószer hozzáadása nélkül fluid CO_2 oldószerrel. A tartományon belül 0,15 % és 0,57 % között változtak az extrakt kihozatali értékek. A 47 MPa nyomás mellett végzett extrakció eredményezett kiemelkedő extrakciós hozamot (0,57 %) (**11. ábra**). A nyomás változtatása statisztikailag szignifikánsan befolyásolta a kihozatalt (p=0,000383) (**1h. melléklet**). Kontrollként Soxhlet extrakcióval kivonatot készítettünk (19,42 %), melynek kihozatali értékétől messze elmaradtak a szuperkritikus extraktumok. A szuperkritikus mintákkal való összevethetőség érdekében a növényekkel elvégzett Soxhlet extrakciók kihozatalát külön táblázatban (**16. táblázat**) szemléltettük. A két extrakciós módszer (SFE és Soxhlet) szignifikáns különbségét igazoltuk (p=0,000000; **1i. melléklet**).



11. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a citromfű nem illó frakciójának kihozatalára (%) (kontroll Soxhlet extraktum: 19,42 % kihozatal) Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,20 %, 40-49 MPa: 0,27 %, 50 MPa: 0,20 %

16. táblázat: A kontrollként alkalmazott Soxhlet extrakcióval kinyert minták kihozatala (%) száraz drogra vonatkoztatva

Vizsgált faj	Soxhlet kivonat kihozatala
Melissa officinalis	19,42 %
Ocimum basilicum	35,87 %
Satureja hortensis	23,37 %
Satureja montana	22,20 %
Thymus pannoncus	27,13 %
Thymus vulgaris	22,43 %

A nem illó komponensek közül a következőket vizsgáltuk a kivonatokban: kávésav, apigenin-7-glikozid, rozmaringsav, eriodiktiol, luteolin, urzolsav. Ezek közül a rozmaringsav volt általánosan jelen az extraktumokban (0,15-0,54 %), kivéve a 35 MPa extrakciós nyomáson kinyert mintát, ugyanis abban nem sikerült kimutatnunk. 45 és 50 MPa extrakciós nyomáson jelentős mennyiségű urzolsavat (38,64 % és 8,07 %) is azonosítottunk (**17. táblázat**). A kontrollként alkalmazott Soxhlet-extraktumban kimelkedő mennyiségű kávésavat (2,50 %) és rozmaringsavat (17,25 %) mértünk. Janicsák *et al.* (1997 és 2006) 1,20 mg/g rozmaringsavat, 0,14 mg/g kávésavat valamint 0,58 mg/g urzolsavat mutattak ki citromfűben TLC-denzitometriás eljárással.

17. táblázat: A nyomás változtatásának hatása a citromfű nem illó komponenseinek mennyiségére (%)

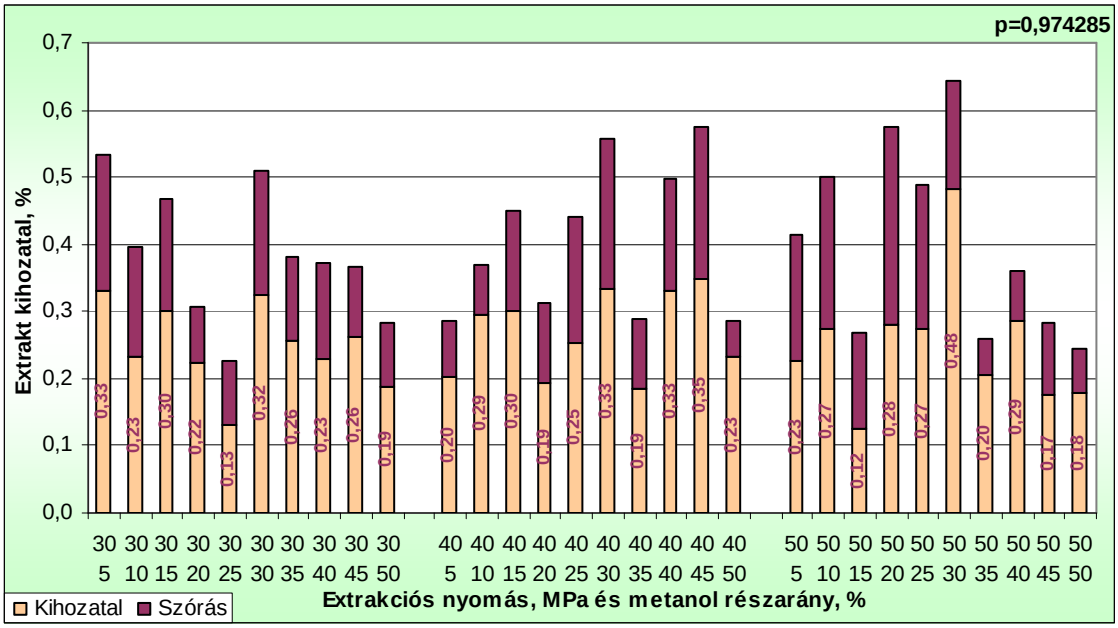
Extrakciós nyomás, MPa	Komponensek aránya, %		
	kávésav	rozmaring-sav	urzolsav
30	-	0,35	-
35	-	-	-
40	-	0,54	-
45	-	0,15	38,64
50	-	0,38	8,07
Soxhlet	2,50	17,25	-

5.1.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával

A segédoldószeres extrakció során a polaritás és a kihozatal növelése érdekében metanolt kevertünk a szuperkritikus szén-dioxidhoz 5-50 % arányban, valamint 3 nyomásértéken (30, 40 és 50 MPa) készítettünk kivonatokat *Melissae folium*-ból. Az egyes nyomásértékeken mért kihozatali értékek átlagát szemlélve a nyomásérték növelése nem okozott kihozatalbeli növekedést (30, 40 és 50 MPa extrakciós nyomáson: 0,25; 0,27; 0,25 %) (**12. ábra**). A szuperkritikus kivonatok hozama ebben az esetben sem érte el a kontroll Soxhlet kivonatét (19,42 %) (**11. ábra** és **15. táblázat**). A nem illó frakció segédoldószeres nyomásoptimalizációja esetén nem tudtuk igazolni a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását (p=0,974285) (**1j. melléklet**). Szignifikáns különbséget igazoltunk a szén-dioxidos és a Soxhlet-extrakció között (p=0,000000, **1k. melléklet**).

A Soxhlet minta kihozatala (19,41 %, **15. táblázat**) jóval meghaladta a segédoldószeres szén-dioxidos kivonatok mennyiségét is.

A segédoldószer hatására a 30 és 50 MPa nyomásértékeken emelkedett a kihozatalok átlaga (0,20 %-ról 0,25 %-ra), tehát érzékelhető növekedést okozott a segédoldószer alkalmazása. 40 MPa nyomásértéken azonban nem volt változás a kihozatalok átlagában (0,27 %) (**11. és 12. ábra**).



12. ábra: Az extrakciós nyomás és a hozzáadott segédoldószer hatása a citromfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
(x tengely, felső sor: extrakciós nyomás, MPa, alsó sor: hozzáadott segédoldószer részaránya, %)
Kihozatalok átlaga: 30 MPa: 0,25 %, 40 MPa: 0,27 %, 50 MPa: 0,25 %

A segédoldószeres kivonatok összetétele az SFE-CO_2-vel nyert extraktok összetételéhez képest eltérően alakult. A segédoldószer hatására újabb komponensek oldódtak ki. A segédoldószeres mintákban nem sikerült kimutatni kávésavat és urzolsavat sem, azonban rozmaringsavat, eriodiktiolt és luteolint viszonylag jelentős, de változó mennyiségben mértünk (**18. táblázat**). A legnagyobb mennyiségű rozmaringsavat 40 MPa extrakciós nyomásnál és 20 % metanol részarány esetén nyertük (19,93 %). Ez esetben sikerült túlszárnyalni a kontroll Soxhlet-kivonatnál kapott értéket (17,25 %) is (**15. táblázat**). 40 MPa extrakciós nyomás és 30 % metanol segédoldószer részarány esetében azonosítottuk a legmagasabb eriodiktiol arányt (35,24 %), de a komponens mennyisége igen széles skálán változott. Érdekességként említem meg, hogy a Soxhlet kivonatban nem volt értékelhető az eriodiktiol és a luteolin mennyisége. Luteolin több SFE mintában jelen volt: a legkisebb mennyiségben az 50 MPa extrakciós nyomás és 10 % metanol segédoldószer részarány esetén detektáltuk (0,16 %), míg a legnagyobb mennyiséget 50 MPa extrakciós nyomás és 40 % metanol segédoldószer részarány kombinációval nyertük (4,08 %).

18. táblázat: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer arányának hatása a citromfű nem illó komponenseinek mennyiségére (%)

Kezelések		Komponensek aránya, %		
extrakciós nyomás, MPa	metanol részarány, %	rozmaringsav %	eriodiktiol %	luteolin %
30	10	0,74	-	-
30	20	-	-	-
30	30	-	-	-
30	40	-	0,94	0,31
30	50	-	-	-
40	10	-	-	-
40	20	19,93	5,24	-
40	30	-	35,24	1,73
40	40	-	-	0,69
40	50	3,07	-	-
50	10	-	0,91	0,16
50	20	3,78	-	-
50	30	2,73	3,04	0,61
50	40	4,76	32,74	4,08
50	50	-	16,84	1,08
Soxhlet		17,25	-	-

Ziakova és Brandsteterova (2003a) SFE extrakcióval előállított kivonataiban – kísérleteinkkel összhangban - a rozmaringsav mennyisége növekedett segédoldószer (metanol) alkalmazásának hatására. Carnat *et al.* (1998) HPLC módszerrel 4,05 % rozmaringsavat mutatott ki (szárazanyagra vetítve) citromfű levélből, mely értéket csak a segédoldószeres extrakció esetében tudtuk meghaladni néhány esetben.

5.1.3. Összegzés

A citromfű nyomásoptimalizációja során először 13 MPa nyomás esetében kaptunk kiemelkedő kihozatalt, és ez az érték energetikai szempontból is optimálisnak tekinthető. A vizsgált komponensek közül a β-kariofillén aránya a 13 MPa nyomáson előállított kivonatban volt a legmagasabb, míg a többi komponensé (citronellál, nerál és a geraniál), kivéve a karifillén-oxidot, 17 MPa nyomásérték esetén. A hőmérséklet paraméter tesztelése során a 40 °C-os érték egyrészt kihozatal, másrészt pedig összetétel szempontjából is optimális, hiszen a citronellál, a geraniál és a kariofillén mennyisége ekkor volt a legmagasabb, míg a kariofillén-oxid mennyisége 50 °C-on illetve a nerál mennyisége 60 °C-on volt figyelemre méltó. Az időtartam vizsgálata során a 30 perces extrakciós idő mind kihozatal, mind pedig összetétel szempontjából optimálisnak tekinthető. Egyedül a kariofillén-oxid esetében tapasztaltuk azt, hogy a 60 perces extrakciós időtartam eredményezte a legnagyobb mennyiséget a komponensből.

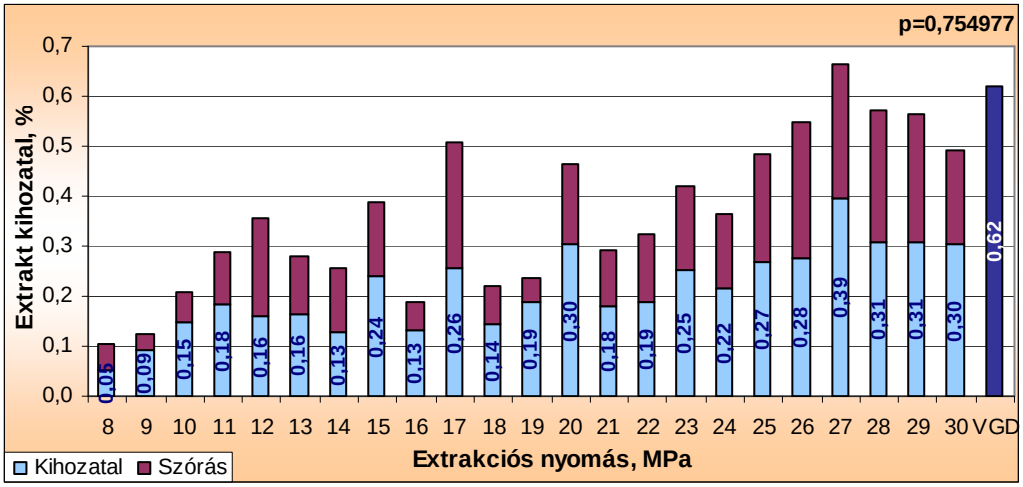
A nem illó frakció nyomásoptimalizációja során több érték is opimális lehet kihozatal szempontjából. 31 MPa, 42 MPa, 45 MPa illetve 47 MPa nyomásértékek eredményeztek kiemelkedő kihozatalt, azonban energetikai szempontból a 31 MPa érték tekintendő optimálisnak. Majdnem minden nyomásérték mellett azonosítottunk rozmaringsavat, azonban 45 és 50 MPa esetében kiemelkedő mennyiségű urzolsavat is detektáltunk. A segédoldószer alkalmazása 30 és 50 MPa nyomásértékeknél magasabb hozamot eredményezett a hasonló nyomáson kinyert szén-dioxidos kivonatokhoz képest. Számos mintában kimutattunk rozmaringsavat és eriodiktiolt kiemelkedő mennyiségben és nyomokban urzolsavat is azonosítottunk.

5.2. Az *Ocimum basilicum* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.2.1. Az illó komponensek kivonására irányuló kísérletek eredményei

5.2.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A *Basilici herba* SFE-CO_2 Extrakciója során a nyomás változtatásakor (8-30 MPa nyomásértékek között, konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett) az SFE-extraktumok a kihozatal átlagában kissé elmaradtak a vízgőzdesztillátumtól (0,62 %), azonban a nyomás emelésével növekvő tendencia volt megfigyelhető (**13. ábra**). A legmagasabb kihozatali arányt 27 MPa extrakciós nyomáson értük el (0,39 %), azonban még ez a mennyiség is elmaradt a desztillációval elérhetőtől (0,62 %). Kísérleteinkhez képest Menaker *et al.* (2004) az általa vizsgált mindkét nyomásértéken alacsonyabb kihozatali értékeket kapott (17,2 MPa: 0,38 % és 25,5 MPa: 0,44 %). Az extrakciós nyomás által gyakorolt hatás nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak (p=0,754977) (**2a. melléklet**). A kivonási módok (SFE és VGD) között nem volt szignifikáns különbség (p=0,000256; **2c. melléklet**).



13. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a bazsalikom illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Szuperkritikus kivonással nyert mintáinkban 22 komponenst azonosítottunk, melyek közül a főbb komponensek a linalool és az esztragol voltak. A desztillált olajhoz képest a szuperkritikus kivonatokban további minor komponenseket azonosítottunk (**19. táblázat**). A monoterpének közül a desztillátum nem tartalmazott az SFE kivonatokban jellemző monoterpének közül transz-szabinén-hidrátot, terpinolént, kámfort, terpinén-4-olt, linalil-acetátot és eugenolt, a szeszkviterpének közül pedig β-bourbonént, izo-kariofillént, β-kariofillént, germakrén-D-t, biciklo-germakrént, α-bulnezént, kariofillén-oxidot, l-epi-kubenolt és tau-kadinolt. Az előbbi felsorolásban alkalmazott komponensek konzekvensen jelenlevő, általában 1 % feletti arányt képviseltek. A linalool és az esztragol esetében nem, de izobornil-acetát, transz α-bergamotén, γ-kadinén és δ-

kadinén esetében megközelítette, sőt meghaladta a szuperkritikus kivonatokban azonosított komponensek aránya a desztillált kivonatban mért komponensek arányát. Összetétel szempontjából már 25 MPa nyomáson a vízgőzdesztillátumot megközelítő kompozíciót értünk el, míg Pluhár *et al.* (1996d) ezt már 9 MPa extrakciós nyomás esetén kimutatták. Esztragol esetében csak néhány extrakciós nyomásérték esetén (11 MPa, 18 MPa, 22 MPa és 25 MPa) sikerült megközelítő arányt kimutatnunk (rendre: 21,51 %, 25,44 %, 20,81 % és 30,96 %) a vízgőzdesztillált kivonathoz képest (51,24 %). Linalool esetén a desztillátumban detektált mennyiséget (36,59 %) csak a 25 MPa nyomásértéken előállított kivonatunk közelítette meg (32,44 %). Díaz-Maroto *et al.* (2002) korábban hozzánk hasonlóan 21,8 % esztragolt és 30,73 % linaloolt azonosított a szuperkritikus mintákban. A transz-α-bergamotén és γ-kadinén komponensek esetében statisztikailag igazolható a nyomás összetételre gyakorolt hatása ($p=0,003086$ és $p=0,035682$) (**2b. melléklet**).

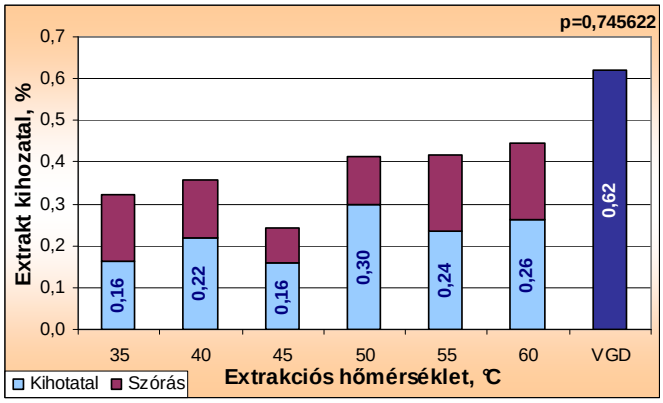
19. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a bazsalikom illó összetevőinek arányára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós nyomás, MPa																				VGD
	9	10	11	13	14	15	16	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
	Komponensek aránya, %																				
1,8-cineol	-	-	-	0,47	-	-	-	0,28	-	0,54	-	1,17	-	2,14	0,12	-	-	-	-	-	3,37
transz-szabinén-hidrát*	-	-	-	0,61	-	-	0,57	0,39	-	0,61	-	0,33	-	0,37	0,42	-	-	-	-	-	-
terpinolén*	-	0,52	-	0,65	-	-	0,62	0,43	-	0,62	-	0,35	-	0,37	0,42	-	-	-	-	-	-
linalool	**12,07**	**20,64**	**26,72**	**27,01**	**12,78**	**16,36**	**22,47**	**30,33**	**2,53**	**25,48**	**2,98**	**17,52**	**10,09**	**18,29**	**32,44**	**2,75**	**10,12**	**21,89**	**6,31**	**7,11**	**36,59**
kámfor*	-	-	0,62	0,82	-	-	0,64	1,27	-	1,09	-	0,79	-	0,92	1,35	-	-	0,50	-	-	-
terpinén-4-ol*	1,76	1,66	1,22	0,94	1,10	1,35	1,23	0,95	1,18	1,01	0,85	0,49	1,02	0,52	0,73	0,76	1,40	1,19	1,24	0,96	-
esztragol	**2,48**	**8,64**	**21,51**	**23,85**	**4,62**	**5,73**	**16,48**	**25,44**	**-**	**17,77**	**3,34**	**20,81**	**4,47**	**16,12**	**30,96**	**0,53**	**3,63**	**12,02**	**2,06**	**5,73**	**51,24**
linalil-acetát*	2,75	2,57	1,10	1,46	1,77	2,21	1,26	0,82	3,08	1,27	1,64	0,88	1,45	0,97	0,70	0,92	2,00	1,75	2,05	2,41	-
izobornil-acetát	0,68	0,69	0,57	0,48	0,52	0,61	0,63	0,75	0,63	0,65	0,51	0,28	0,50	0,34	0,49	-	0,74	1,00	0,71	0,51	0,22
eugenol*	4,49	4,06	2,59	2,22	1,92	2,27	2,30	2,82	4,11	3,04	0,97	0,29	3,42	1,07	2,10	2,60	5,30	1,35	1,53	1,50	-
béta-bourbonén*	-	-	-	0,15	-	-	-	0,22	-	0,23	-	-	-	0,10	0,17	-	-	0,37	-	-	-
izokariofillén*	0,72	-	0,37	0,16	-	-	0,63	0,70	-	0,49	0,46	-	1,20	0,25	0,56	-	0,82	0,53	1,18	-	-
kariofillén*	-	-	0,32	0,25	-	-	0,32	0,21	-	0,23	-	-	-	0,14	0,18	-	-	-	-	-	-
transz-α-bergamotén	5,88	5,18	4,02	3,33	3,16	4,35	3,70	3,12	3,86	3,11	0,95	1,60	2,78	1,66	2,72	2,80	3,86	4,99	4,66	3,90	0,79
germakrén-D*	0,96	0,47	0,35	0,28	-	0,58	0,45	0,40	-	0,43	0,41	-	-	0,13	0,14	0,49	0,63	0,61	0,64	0,37	-
biciklogermakrén*	-	-	0,21	0,14	-	-	-	-	-	-	0,42	0,20	-	0,26	-	-	-	-	-	-	-
α-bulnezén*	-	-	-	0,29	-	-	-	-	-	-	0,48	-	-	0,14	-	-	-	-	0,90	-	-
γ-kadinén	7,85	6,42	4,68	3,68	4,35	5,83	4,07	3,11	6,46	3,64	3,68	1,61	4,31	1,82	2,35	4,21	6,51	4,89	6,37	4,52	0,85
δ-kadinén	1,18	0,95	0,68	0,59	0,59	0,84	0,55	0,42	1,02	0,53	0,47	0,36	0,56	0,34	0,36	0,62	0,85	0,77	0,98	4,57	0,53
kariofillén-oxid*	-	1,07	0,39	0,43	0,68	0,61	0,42	0,24	0,79	0,33	0,75	0,42	0,90	0,17	0,27	0,62	1,00	0,40	1,11	0,45	-
l-epi-kubenol*	2,21	1,67	1,20	0,90	1,19	1,67	1,17	0,73	2,10	0,98	1,42	0,33	1,26	0,52	0,56	1,38	1,96	1,36	1,96	1,39	-
tau-kadinol*	15,57	11,51	8,38	6,43	7,78	10,77	7,34	4,71	14,5	6,29	8,33	2,51	8,18	3,40	3,54	8,63	12,51	9,14	11,7	9,47	-

5.2.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

A hőmérséklet paramétert 35 és 60 °C között vizsgáltuk (konstans 12 MPa extrakciós nyomás és 30 min extrakciós időtartam mellett) (**14. ábra**). A kiválasztott 12 MPa nyomásértéken a nyomásoptimalizáció során 40 °C mellett kapott kihozatali értéket (0,22 %) 50 °C-on és a felett növelni tudtuk a hőmérséklet emelése által. A legmagasabb kihozatalt értük el 50 °C hőmérséklet mellett (0,30 %), de ez is elmaradt a vízgőzdesztillációval kapott illóolaj-tartalomtól (0,62 %). Statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak az extrakciós hőmérséklet kihozatalra gyakorolt hatása (p=0,745622) (**2d. melléklet**).



14. ábra: A hőmérséklet hatása a bazsalikom illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A desztillált és a szuperkritikus kivonatokban is az esztragol és a linalool voltak a fő komponensek. Az extrakciós hőmérséklet változtatásának hatása az illó összetételre nem igazolható, egyik komponens esetében sem volt szignifikáns (**2e. melléklet**). A 40 °C-on előállított kivonatnál a esztragol mennyisége (29,5 %), az 50 °C-on kinyert extraktumnál pedig a linalool mennyisége (31,42 %) volt kiemelkedő (**20. táblázat**), azonban még így sem érték el a desztillátumban kimutatott mennyiségeket (51,24 % és 36,59 %). A nyomásoptimalizációs kísérlethez hasonlóan számos minor komponenst azonosítottunk, melyek aránya általában meghaladta a desztillátumban mért értékeket (kivétel: az 1,8-cineol volt).

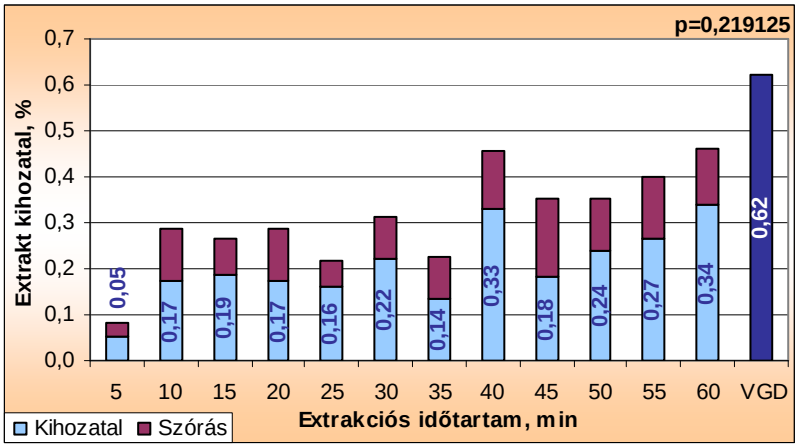
A kivonási módok (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000191; **2f. melléklet**).

20. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása a bazsalikom illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós hőmérséklet, ℃						VGD
	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %						
1,8-cineol	2,74	0,49	1,13	0,90	-	-	3,37
linalool	**29,77**	**29,07**	**24,83**	**31,42**	**27,38**	**30,78**	**36,59**
kámfor*	1,52	1,27	1,16	1,09	0,91	0,94	-
terpinén-4-ol*	0,81	0,88	0,75	0,74	0,88	0,97	-
esztragol	**27,86**	**29,50**	**28,52**	**27,48**	**27,46**	**27,80**	**51,24**
linalil-acetát*	0,55	0,64	0,61	0,82	0,85	0,84	-
izobornil-acetát	0,83	0,86	0,73	0,79	0,84	0,99	0,22
eugenol*	1,09	1,07	1,13	1,08	0,57	0,54	-
béta-bourbonén*	0,30	0,31	0,25	0,28	0,27	0,32	-
izokariofillén*	1,37	1,36	1,17	1,72	1,29	1,71	-
transz-α-bergamotén	3,47	3,80	3,34	3,31	3,73	4,48	0,79
germakrén-D*	0,92	0,94	0,59	1,48	0,98	1,59	-
α-bulnezén*	0,20	0,23	-	0,26	0,24	0,49	-
γ-kadinén	2,72	2,92	2,91	2,87	3,20	3,73	0,85
δ-kadinén	0,47	0,50	0,47	0,57	0,54	0,64	0,53
kariofillén-oxid*	0,21	0,22	1,32	0,18	0,30	1,79	-
l-epi-kubenol*	0,66	0,77	0,69	0,65	0,81	0,92	-
tau-kadinol*	4,50	4,68	4,67	4,40	5,30	6,30	-

5.2.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az extrakciós idő paramétert 5 és 60 perc között elemeztük (konstans 12 MPa extrakciós nyomás és 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett) (**15. ábra**). 40 min mellett és afelett egy enyhén növekvő tendencia volt megfigyelhető. Kiemelkedő mennyiségű extraktumot kaptunk 40 perc alatt (0,33 %), azonban még így is csak a vízgőzdesztillátum mennyiségének (0,62 %) felét azonosítottuk. Míg Diaz-Maroto *et al.* (2002) a 30 perces kivonást tartották optimálisnak a kihozatal szempontjából, addig saját kísérleteink alapján ezt nem tudtuk igazolni, ugyanis sem kihozatal (0,12 %), sem pedig összetétel szempontjából nem volt kiemelkedő a 30 perces extrakció. Megállapítottuk, hogy a 12 MPa extrakciós nyomáson és 40 °C extrakciós nyomáson elért korábbi eredményeinkhez (0,22 %) képest az extrakciós időtartam 50 perc fölé emelésével növelhető a kihozatal. Statisztikailag nem igazolható az extrakciós időtartam változtatás hatása a kihozatalra ($p=0,219125$) (**2g. melléklet**).



15. ábra: Az extrakciós időtartam hatása a bazsalikom illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A szuperkritikus extraktumokban a linalool és az esztragol volt a legnagyobb mennyiségben kimutatható (**21. táblázat**), azonban ezek aránya elmaradt a vízgőzdesztillátumban azonosított mennyiségektől (36,59 % és 51,24 %). A legnagyobb mennyiségű esztragolt 55 és 60 perc alatt kinyert extraktumokban mutattuk ki (30,25 és 30 %), illetve hasonlóan magas értéket tapasztaltunk a 40 perces (26,96 %), a 45 perces (27,75 %) valamint az 50 perces (27,75 %) extrakciós időtartamok alatt nyert extraktumok esetén. Linalool esetében is hasonló eredményekre jutottunk. Kiemelkedő mennyiséget mértünk 55 és 60 perces (28,34 és 28,5 %) extrakciós időtartamok alatt, azonban már 5, 10 és 15 perc alatt is jelentős mennyiségű linaloolt (26,94 %, 24,92 % és 29,37 %) nyertünk ki. Ezen komponensek esetén statisztikailag igazolható az extrakciós időtartam változtatásának hatása az összetevőkre (linalool: p=0,000924; esztragol: p=0,000049) (**2h. melléklet**). A korábban már ismertetett minor komponensek az időtartam optimalizációs kísérletben is jellemzték az SFE kivonatokat és nagyrészt hiányoztak a desztillátumból. A kivonási módok (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000013; **2i. melléklet**).

Megállapítottuk, hogy az extrakciós időtartam növelésével a kihozatal és a főbb komponensek aránya is növelhető illetve az utóbbiak aránya a célnak megfelelően változtatható.

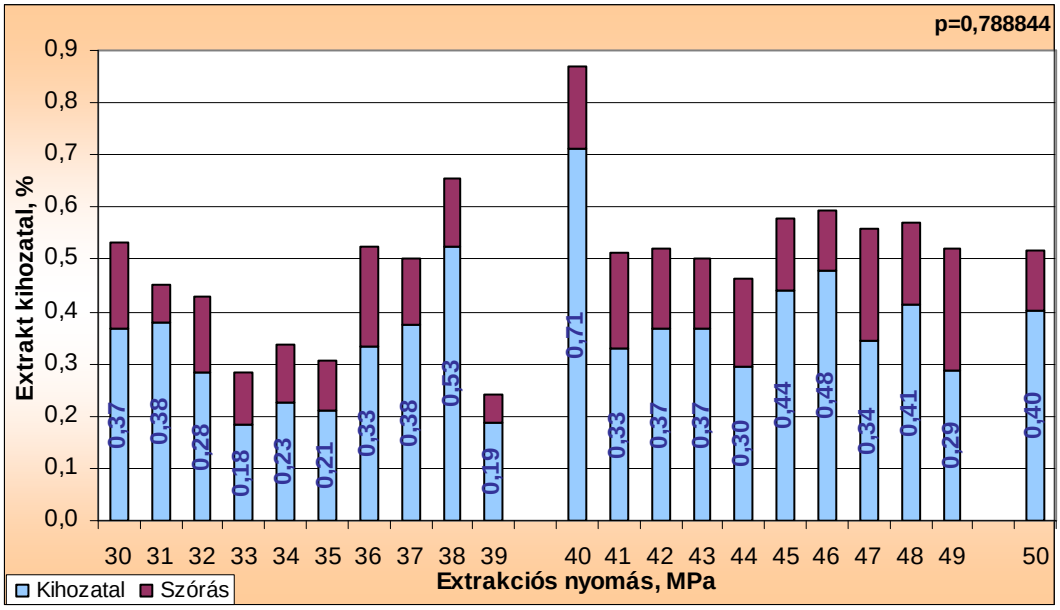
21. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása a bazsalikom illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós időtartam, min												
	5	10	15	20	25	30	40	35	45	50	55	60	VGD
	Komponensek aránya, %												
ß-pinén*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,23	0,23	-	-	-
1,8-cineol	0,85	0,23	1,96	0,11	-	-	1,08	-	3,43	3,43	0,13	0,12	3,37
transz-szabinén-hidrát*	0,24	0,17	0,21	-	-	-	0,20	-	0,57	0,57	0,25	0,28	-
terpinolén*	0,26	0,19	-	0,12	-	-	0,22	-	0,56	0,56	0,26	0,29	-
linalool	**26,94**	**24,92**	**29,37**	**17,09**	**16,45**	**19,43**	**26,99**	**19,43**	**25,50**	**25,50**	**28,34**	**28,5**	**36,59**
kámfor*	1,02	0,96	1,17	0,56	0,28	0,51	1,14	0,51	1,39	1,39	1,48	1,00	-
terpinén-4-ol*	0,76	0,88	0,66	0,60	0,91	1,14	0,93	1,14	0,78	0,78	1,26	1,80	-
esztragol	**23,72**	**20,65**	**23,7**	**12,56**	**9,81**	**9,05**	**26,96**	**9,05**	**27,75**	**27,75**	**30,25**	**30,00**	**51,24**
linalil-acetát*	0,82	0,89	0,60	0,69	0,91	1,59	0,88	1,59	0,73	0,73	0,96	0,91	-
izobornil-acetát	0,49	0,55	0,79	0,58	0,68	0,71	0,56	0,71	0,47	0,47	0,53	0,41	0,22
eugenol*	1,21	1,42	0,74	0,77	0,85	2,00	1,31	2,00	1,04	1,04	2,37	2,00	-
béta-bourbonén*	-	0,17	0,28	0,22	0,27	-	0,20	-	-	-	0,18	0,08	-
izokariofillén*	0,55	0,84	1,54	0,89	0,82	0,60	0,94	0,60	0,64	0,64	0,19	0,05	-
kariofillén*	-	0,17	-	-	-	0,35	0,17	0,35	0,25	0,25	0,18	0,04	-
transz-α-bergamotén	2,56	2,93	3,26	2,79	4,50	3,73	3,21	3,73	2,56	2,56	2,73	2,60	0,79
germakrén-D*	0,21	0,63	1,73	0,37	0,41	0,36	0,63	0,36	0,40	0,40	0,35	0,20	-
biciklogermakrén*	-	0,22	0,15	-	-	-	0,15	-	-	-	0,14	0,10	-
α-bulnezén*	-	0,18	0,43	0,13	0,5	0,56	0,15	0,56	-	-	-	-	-
γ-kadinén	2,57	3,18	2,59	2,67	4,19	4,33	2,96	4,33	2,54	2,54	2,85	2,60	0,85
δ-kadinén	0,40	0,58	0,49	0,44	0,73	0,66	0,50	0,66	0,37	0,37	0,44	0,40	0,53
kariofillén-oxid*	0,92	0,17	1,27	0,17	0,32	0,87	0,19	0,87	0,48	0,48	0,15	0,20	-
l-epi-kubenol*	0,69	0,78	0,60	0,71	1,11	1,28	0,76	1,28	0,64	0,64	0,71	0,20	-
tau-kadinol*	4,49	5,18	4,16	5,04	7,69	8,42	5,17	8,42	4,00	4,00	4,75	4,10	-

5.2.2. Nem illó komponensek kivonása

5.2.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A nem illó komponensek vizsgálatát először 30 és 50 MPa nyomástartományban (1 MPa nyomáskülönbségekkel) végeztük segédoldószer hozzáadása nélkül. Kiemelkedő mennyiséget eredményezett a 38 és 40 MPa nyomáson végzett SFE-extrakció (0,53 és 0,71 %), de a 40 MPa feletti értékek isrendre 0,3 % feletti kihozatalt eredményeztek (**16. ábra**). A szuperkritikus kivonatok meg sem közelítették a Soxhlet-extrakcióval nyert (35,87 %) kivonatot (**16. táblázat**). A nyomásváltoztatás kihozatalra gyakorolt szignifikáns hatását nem tudtuk statisztikailag igazolni (p=0,788844) (**2j. melléklet**). A különböző extrakciós módszerek (SFE és Soxhlet) közötti különbség szignifikáns volt (p=0,000000; **2k. melléklet**).



16. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a bazsalikom nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,31 %, 40-49 MPa: 0,40 %, 50 MPa: 0,40 %

Összetétel megállapításakor rutin, klorogénsav, apigenin, apigenin-7-glikozid, eriodiktiol, luteolin, urzolsav, kávésav és rozmaringsav mennyiségét elemeztük HPLC-módszerrel. Minden kivonatban jelentős mennyiségű luteolint azonosítottunk (6,47-29,31 %), továbbá 35 és 45 MPa nyomásértékek között még igen nagy mennyiségű urzolsavat is kimutattunk (10,61-17,75 %) (**22. táblázat**). Rutint, klorogénsavat, apigenint, apigenin-7-glikozidot és eriodiktiolt csak szórványosan azonosítottunk a szén-dioxidos mintáinkban. Közülük a klorogénsav és az apigenin jelentős arányban volt jelen. A kontrollként alkalmazott Soxhlet-kivonat jelentős mennyiségben tartalmazott kávésavat (2,44 %) és rozmaringsavat (69,34 %), melyek az SFE extraktumban nem voltak kimutathatók. A kivonási technika tehát hatással van a fenoloidok szelektív kinyerésére.

Viera *et al.* (2003) 19 flavon komponens jelenlétét igazolta különböző származási helyű *Ocimum basilicum* var. *americanum* herbájában, többek között az általunk is kimutatott luteolint és apigenint is. Lemberkovics *et al.* (1996) 2 kvercetin glikozidot, rutint és izokvercitrint találtak a bazsalikom SFE kivonataiban.

22. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a bazsalikom nem illó frakciójának összetételére (%)

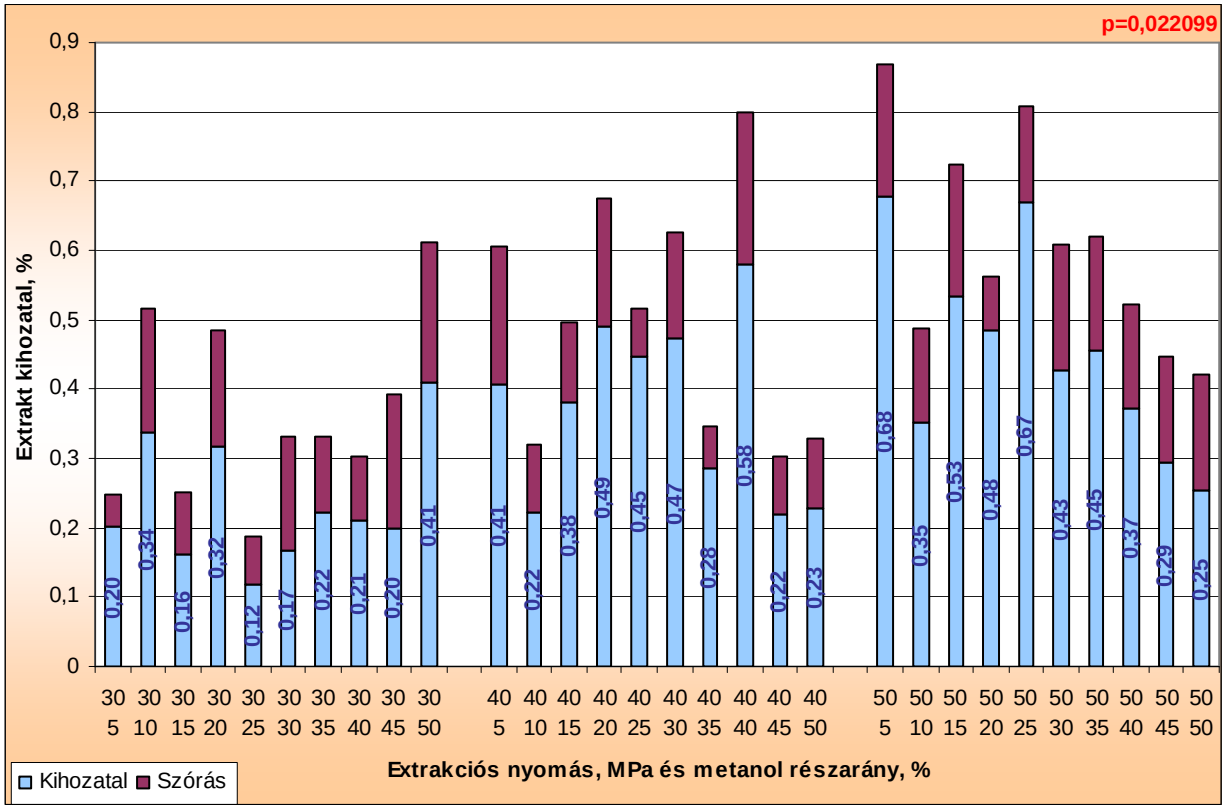
Extrakciós nyomás, Mpa	Komponensek aránya, %								
	rutin	klorogén-sav	apigenin	apigenin-7-glikozid	eriodiktiol	luteolin	urzolsav	kávésav	rozmaring-sav
30	-	-	-	-	-	16,82	-	-	-
35	0,04	-	-	0,65	-	15,75	11,15	-	-
40	-	-	-	-	-	6,47	17,75	-	-
45	0,04	28,45	-	-	2,47	29,31	10,61	-	-
50	-	-	36,74	-	-	22,55	-	-	-
Soxhlet	7,86	-	-	-	-	-	-	2,44	69,34

5.2.2.2. Az extrakciós nyomásoptimalizációja segédoldószer hozzáadásával

A segédoldószeres extrakció során metanolt kevertünk a szuperkritikus szén-doixidhoz 5-50 % arányban, valamint 3 nyomásértéken, 30, 40 és 50 MPa nyomáson készítettünk kivonatokat bazsalikomból. Várakozásainknak megfelelően a magasabb nyomásértékek magasabb kihozatali arányt eredményeztek, így 50 MPa extrakciós nyomás értéken a segédoldószer mennyiségétől függetlenül magasabb kihozatali értékeket mértünk (**17. ábra**).

Kiemelkedő hozamot regisztráltunk 50 MPa extrakciós nyomáson 5 % és 25 % metanol segédoldószer alkalmazása mellett (0,68 % és 0,67 %). A kontroll Soxhlet kivonat mennyiségét (35,87 %) nem értük el SFE módszerrel segédoldószer hozzáadásával sem (**16. táblázat**). Statisztikailag igazolható volt a nyomásváltoztatás és a segédoldószer együttes hatása a kihozatalra (p=0,022099) (**2L. melléklet**). Menaker *et al.* (2004) ugyan etanolt használt segédoldószerként, azonban ők is bizonyították, hogy a magasabb segédoldószer arány magasabb extraktkihozatalt eredményez már 2,5-7,5 %-os segédoldószer-arány esetén is.

A segédoldószer alkalmazása csak 50 MPa exrtrakciós nyomás esetén okozott növekedést a kihozatalban, 30 és 40 MPa nyomás esetében kisebb csökkenést tapasztaltunk (**15. és 16. ábra**).



17. ábra: A nyomás (MPa) és a segédoldószer (%) hatása a bazsalikom nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30 MPa: 0,23 %, 40 MPa: 0,37 %, 50 MPa: 0,45 %

Az összetételt tekintve megállapítottuk, hogy a nyomásértéktől és a hozzáadott segédoldószer mennyiségétől függetlenül a luteolin egységesen jelen van az SFE-extraktumokban (**23. táblázat**). Az egyéb fenoloid komponensek szórványosan, bár esetenként jelentős arányban (pl. kávésav, apigenin, apigenin-7-glikozid) voltak jelen. Az apigenin aránya jelentős volt (10,99-30,72 %), de csak azokban a kivonatokban volt jelen, melyeknél 40 illetve 50 % segédoldószert kevertünk a fluid szén-dioxidhoz (30, 40 és 50 MPa mellett is). Érdekes, hogy glikozidja, az apigenin-7-glikozid a 20-30 %-os metanol segédoldószer arányoknál volt csak jelen és 40 és 50 MPa nyomásértékek mellett, szintén jelentős mennyiségben (13,05-32,34 %). Mindkét, az SFE-kivonatokban jelentős arányú komponens hiányzott viszont a Soxhlet-kivonatból, melyek valószínűleg az eltérő kivonási módból adódóan, elsősorban rozmaringsavat (69,34 %), kávésavat (2,44 %) és rutint (7,86 %) tartalmaztak. Azonban csupán 2 SFE-mintában mutattunk ki rozmaringsavat (4,43-5,68 %). A 40 MPa extrakciós nyomáson és 40 % metanollal extrahált minta kiemelkedő mennyiségben tartalmazott luteolint (27,85 %), míg többi mintában 1,35-22,87 % közötti mennyiségeket detektáltunk. A nyomásváltoztatás és a segédoldószer alkalmazásának együttes hatása a luteolintartalomra nem bizonyítható statisztikailag (p=0,737023) (**2m. melléklet**). Az SFE-CO_2 extraktumokban kapott luteolin arányok (30 MPa: 16,82 %; 40 MPa: 6,47 %; 50 MPa: 22,55 %) közül csak a 40 MPa nyomáson tapasztaltunk növekedést a segédoldószer hatására. A segédoldószer hatására megjelent az SFE-kivonatokban is a kávésav és szórványosan a rozmaringsav is, növekedett az apigenin-7-glikozid és az eriodiktiol mennyisége, azonban csökkent az urzolsav mennyisége. Statisztikalilag szignifikáns különbséget tapasztaltunk a különböző extrakciós módok (SFE és Soxhlet) között (p=0,000000; **2n. melléklet**).

23. táblázat: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a bazsalikom nem illó frakciójának összetételére (%)

Extrakciós nyomás, MPa és metanol részaránya, %	Komponensek aránya, %							
	kávésav	apigenin	apigenin-7-glikozid	rozmaringsav	eriodiktiol	luteolin	urzolsav	rutin
30 10	-	-	-	-	-	12,97	-	-
30 20	-	-	-	5,68	-	15,84	-	-
30 30	-	-	-	-	-	5,98	-	-
30 40	1,81	29,15	-	-	-	14,01	-	-
30 50	-	10,99	-	-	1,14	10,56	8,55	-
40 10	0,72	-	-	-	-	18,13	-	-
40 20	31,55	-	32,34	-	20,57	6,53	-	-
40 30	-	-	31,72	-	-	12,72	5,14	-
40 40	-	24,98	-	-	-	27,85	-	-
40 50	0,88	16,75	-	-	-	15,30	-	-
50 10	26,03	-	-	-	-	1,35	-	-
50 20	0,20	-	14,83	-	-	14,46	-	-
50 30	-	-	13,05	-	-	16,53	-	-
50 40	-	-	-	4,43	1,14	16,10	-	-
50 50	1,11	30,72	-	-	5,52	22,87	-	-
Soxhlet	2,44	-	-	69,34	-	-	-	7,86

5.2.3. Összegzés

Bazsalikom nyomásoptimalizációja során már a 11 MPa extrakciós nyomás az alacsonyabb nyomásértékekhez képest nagyobb kihozatali értéket eredményezett, azonban csak 15 MPa esetében ítéltük optimálisnak az extrakt mennyiségét. A linalool mennyisége 18 MPa nyomáson bizonyult kiemelkedőnek, míg az esztragol aránya 11 és 25 MPa extrakciós nyomás esetében volt a legmagasabb. A hőmérséklet optimalizáció során 40 és 50 °C-os értékek esetében tapasztaltunk magas kihozatali arányokat, tehát energetikai szempontból a 40 °C-os extrakciós hőmérséklet optimálisnak tekinthető. Összetétel szempontjából is a 40 és 50 °C közötti tartomány között találjuk az optimális hőmérséklet paramétert, ugyanis a linalool mennyisége 50 °C-on, míg az esztragol mennyisége 40-45 °C-on volt a legmagasabb. Az időtartam tesztelése során a 40 perces extrakciós időtartam 50 %-kal nagyobb kihozatali arányt eredményezett a szakirodalomban ajánlott 30 perces extrakciós időtartamhoz képest. Linalool tartalom szempontjából 15 perces extrakciós időtartamot tekintjük optimálisnak, ugyanakkor esztragol esetében a 60 perces extrakció eredményezte a legmagasabb értéket.

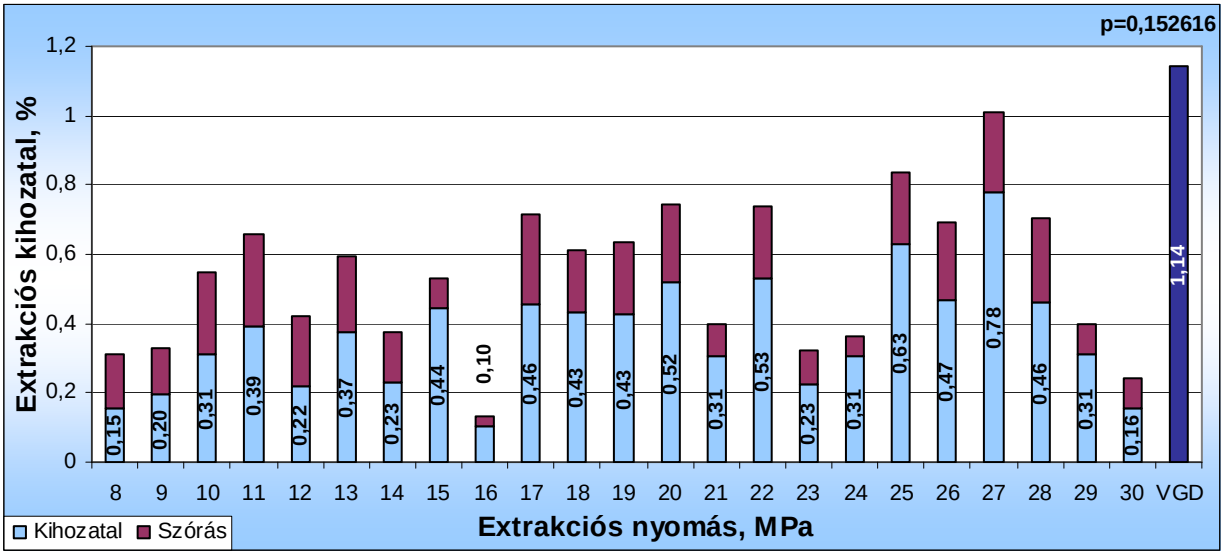
Nem illó frakció nyomásoptimalizációja során a 40 MPa extrakciós nyomásértéket tekintjük optimálisnak. Luteolint minden mintában azonosítottunk. A segédoldószeres kísérletek során a magasabb nyomásértékek és segédoldószer részarány magasabb kihozatali arányt eredményezett. Ezt már 40 MPa extrakciós nyomás és 40 % metanol segédoldószer részarány esetén tapasztaltuk. A magasabb nyomásérték és a magasabb segédoldószer részarány összefüggése az összetétel esetében is bizonyítható. Minden mintában azonosítottunk luteolint illetve általában a magasabb segédoldószer arány magasabb komponens arányokat eredményezett.

5.3. A *Satureja hortensis* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.3.1. Illó komponensek kivonása

5.3.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A nyomás változtatásakor (8-30 MPa extrakciós nyomásértékek között, konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett) az SFE-extraktumok a kihozatal átlagában jóval elmaradtak a vízgőzdesztillátumtól (1,14 %), azonban kis mértékű emelkedő tendencia figyelhető meg. 25 és 27 MPa nyomásértékek esetében sikerült elérnünk kiemelkedő kihozatali értékeket (0,63 és 0,78 %) (**18. ábra**). Az alacsonyabb nyomástartományban már 11 MPa esetében kiemelkedő hozamot (0,39 %) mértünk. A nyomásváltoztatás által gyakorolt hatás nem bizonyult statisztikailag szignifikánsnak (p=152616) (**3a. melléklet**). A kivonási módszerek (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000015; **3c. melléklet**). Különböző szerzők (Pluhár *et al.*, 1996c és Esquível *et al.*, 1999) korábban eltérő optimális nyomásértéket (10 illetve 12 MPa) állapítottak meg az illóolajban dús frakció kinyeréséhez.



18. ábra: A nyomás hatása a kerti borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A szuperkritikus kivonatokban minden esetben a karvakrol volt a fő komponens, változó (1,20-21,67 %) arányú γ-terpinén tartalom mellett. A vízgőzdesztillátumban jelentősebb mennyiségű γ-terpinént (40,14 %) mutattunk ki (**24. táblázat**), viszont a karvakrol aránya alacsonyabb volt (54,84 %), mint az SFE-CO_2 extraktumokban (47,17-80,32 %; átlag: 65,15 %). A nyomás paraméter változtatásakor az SFE extraktumok karvakrol-tartalma csaknem minden esetben meghaladta a desztillátumban azonosított karvakrol (54,84 %) mennyiségét. Kiemelkedő, 70 % feletti karvakrol tartalmat azonosítottunk 17 MPa illetve 19-22 MPa nyomásértékek között. A p-cimol aránya a

legtöbb nyomásértéken meghaladta a desztillátumra jellemző értéket (3,98 %). A karvakrol esetében igazoltuk a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását (p=0,017839) (**3b. melléklet**).

Ahogy azt korábban Pluhár *et al.* (1996c) borsfűnél (karvakrol), valamint Kutta (2005) a kakukkfű esetében (timol) már tisztázták, jelen kísérleteinkben is beigazolódott: az említett fenolos monoterpének az illó frakcióban történő dúsítására lehetőséget nyújt az SFE-CO_2 extrakció.

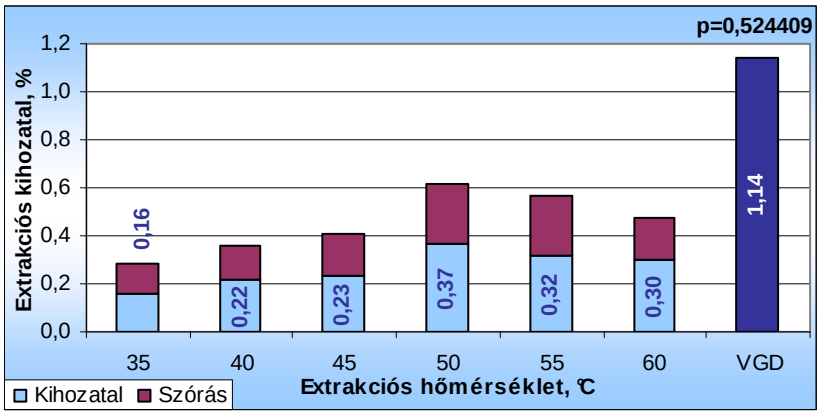
A szuperkritikus mintákban több olyan minor komponenst is kimutattunk, melyek hiányoztak a desztillált illóolajból. A monoterpén szénhidrogének (pl. β-mircén, α-terpinén) aránya az alacsonyabb nyomástartományban volt jelentősebb, míg az oxigéntartalmú monoterpének (pl. linalool, terpinén-4-ol, izoborneol) és egyes szeszkviterpének (pl. kariofillén, kariofillén-oxid, β-bizabolén) aránya minden nyomásérték mellett közel azonos volt. Jelentősebb minor monoterpén komponensek a transz-szabinén-hidrát és a timol, valamint a szeszkviterpének közül a kariofillén, a β-bizabolén és a kariofillén-oxid voltak.

24. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása kerti borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós nyomás, Mpa																					VGD
	8	9	10	11	12	13	14	15	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
	Komponensek aránya, %																						
alfa-pinén*	-	-	0,30	0,30	0,15	-	-	0,36	-	-	-	-	-	-	0,21	-	0,27	-	-	-	-	-	-
béta-mircén*	-	1,00	1,25	1,17	0,95	0,54	0,12	1,07	-	-	-	-	-	0,31	0,96	-	0,95	-	0,60	-	0,60	0,63	-
alfa-terpinén	0,40	1,36	1,31	1,01	1,18	0,48	-	1,17	-	-	-	-	-	0,34	0,61	-	0,46	-	0,37	-	-	-	1,05
p-cimol	**6,97**	**5,16**	**9,82**	**9,66**	**5,65**	**8,13**	**1,28**	**6,02**	**4,31**	**-**	**0,71**	**0,68**	**-**	**2,70**	**5,95**	**-**	**5,19**	**0,70**	**4,42**	**1,53**	**4,26**	**4,05**	**3,98**
limonén*	0,36	0,47	0,71	0,70	0,52	0,58	0,11	0,55	-	-	-	-	-	0,24	0,46	-	0,42	-	-	0,15	0,37	-	-
1,8-cineol*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,31	-	-	0,35	-	-	-	-	-	0,34	-
gamma-terpinén	**8,13**	**21,67**	**21,65**	**20,59**	**20,88**	**12,73**	**2,24**	**18,90**	**2,97**	**-**	**2,00**	**1,97**	**-**	**8,07**	**18,68**	**-**	**18,05**	**1,20**	**15,21**	**6,5**	**14,94**	**13,85**	**40,14**
transz-szabinén-hidrát*	-	1,14	1,21	1,16	1,16	0,91	0,80	0,97	0,47	0,46	0,61	0,87	0,82	0,65	0,90	0,57	0,94	0,73	0,92	0,70	0,78	0,77	-
cisz-szabinén-hidrát*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	0,42	-	-	0,33	-	-	-	-	-	-	-
linalool*	-	0,37	0,34	-	0,32	0,33	0,47	0,32	-	0,47	0,42	0,54	0,26	0,32	0,29	0,3	0,33	0,49	0,35	0,37	0,33	0,32	-
kámfor*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,54	-	-	0,29	-	-	0,37	-	-	-	-	-	-	-
izoborneol*	0,34	-	0,43	0,44	0,35	0,45	0,33	0,31	-	-	0,29	0,38	0,27	0,21	0,26	0,32	0,25	0,33	0,28	0,28	0,33	0,28	-
terpinén-4-ol*	0,38	0,33	0,26	0,25	0,27	0,29	0,35	0,25	0,35	0,38	0,33	0,41	0,43	0,32	0,25	0,38	0,31	0,37	0,29	0,28	0,26	0,25	-
karvakrol-metiléter*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,71	0,40	-	0,29	-	0,21	0,21	0,37	-	-	0,45	0,40	0,46	-
linalil-acetát*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,38	0,43	0,41	0,18	-	0,33	-	-	-	0,29	0,25	0,28	-
timol*	1,67	2,08	1,16	2,05	2,46	1,06	1,74	0,36	0,46	0,67	2,42	0,40	0,37	0,24	0,26	0,35	0,34	0,59	0,31	0,20	0,33	0,53	-
karvakrol	**59,04**	**47,17**	**49,45**	**51,68**	**53,87**	**61,96**	**66,7**	**57,54**	**76,5**	**80,32**	**70,38**	**79,74**	**75,27**	**71,89**	**56,31**	**78,11**	**58,09**	**81,94**	**65,43**	**67,89**	**61,75**	**62,27**	**54,84**
kariofillén*	0,78	2,63	1,23	1,00	1,81	1,00	1,96	1,64	2,00	-	2,24	2,04	2,71	1,73	1,07	0,82	1,46	1,58	1,28	0,97	0,63	0,70	-
béta-bizabolén*	1,19	1,94	1,29	1,38	1,52	1,71	2,05	1,34	2,06	2,37	2,29	1,88	1,71	1,56	1,49	1,76	1,82	1,86	1,54	1,51	1,38	1,61	-
spatulenol*	1,49	-	0,15	-	0,15	-	0,23	-	-	0,32	0,26	-	0,25	-	-	0,19	-	0,21	-	0,20	0,18	0,21	-
kariofillén-oxid*	1,86	1,19	1,67	1,63	1,41	1,98	1,89	1,30	1,67	3,38	1,45	1,94	1,46	1,22	1,53	2,19	1,67	1,97	1,55	1,71	1,88	1,85	-

5.3.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

Az extrakciós hőmérséklet változtatásának hatását 35 és 60 °C között vizsgáltuk (konstans 12 MPa és 30 min mellett). Esquível *et al.* (1999) 12 MPa nyomás valamint 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett nyert optimális mennyiségű extraktot, azonban kísérleteinkben 50 °C esetén (0,37 %) értük el a legmagasabb kihozatali arányt, jóllehet még ez az érték is alig 1/3 része volt a desztillációval kinyertnek (1,24 %) (**19. ábra**). A szakirodalomban használatos (Coelho *et al.*, 2007) 40 °C-os extrakciós hőmérséklet kísérleteink során nem hozott kiemelkedő eredményt. Az extrakciós hőmérséklet hatását a kihozatalra statisztikailag nem tudtunk alámasztani (p=0,522409) (**3d. melléklet**). A két kivonási módszer (SFE és VGD) közötti különbség szignifikáns volt (p=0,000000; **3f. melléklet**). Az adott bázisparaméterek mellett a hőmérséklet emelésével növelni tudtuk a kihozatali értéket, de kevésbé hatékonyan, mint a nyomás növelése által.



19. ábra: A hőmérséklet hatása a kerti borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A kivonatok összetételét tekintve megállapítottuk, hogy karvakrol a legnagyobb arányú komponens. Mennyisége az SFE kivonatokban minden esetben meghaladta a desztillátumban mért mennyiséget (54,84 %). Emellett jelen volt még a p-cimol, melynek aránya szintén desztillált illóolajban volt kisebb (3,98 %) (**25. táblázat**). A γ-terpinén e kísérletben is jelentősebb arányt képviselt a desztillációval előállított kivonatban. A minor komponensek aránya a nyomásoptimalizációs kísérlethez hasonlóan alakult. Közülük jelentékenyebb (1 %<) arányban a szeszkviterpének voltak jelen az SFE kivonatokban.

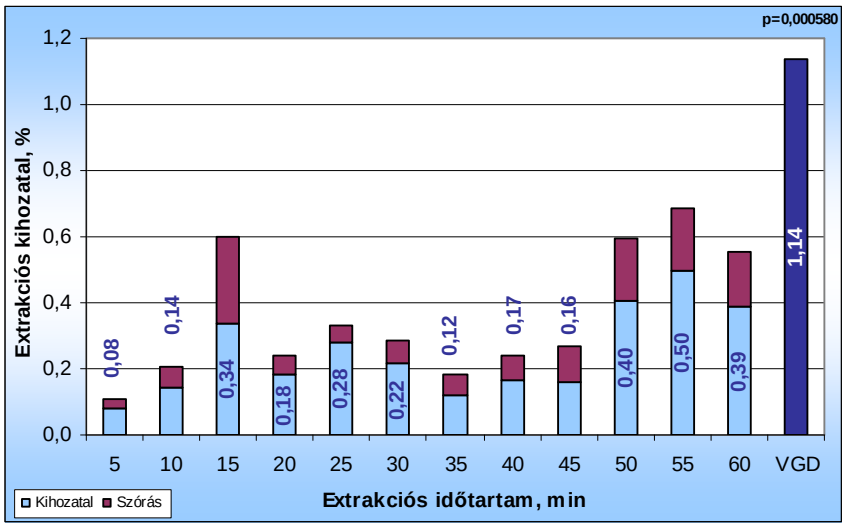
Egyik főbb komponens esetében sem tudtuk bizonyítani azonban az eltérő hőmérsékletértékek szignifikáns hatását (**3e. melléklet**).

25. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása a kerti borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós hőmérséklet, ℃						VGD
	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %						
béta-mircén*	0,84	-	0,81	0,97	0,63	0,66	-
alfa-terpinén	0,60	-	0,58	1,07	0,73	0,88	1,05
p-cimol	**10,00**	**2,87**	**5,90**	**7,82**	**10,43**	**7,31**	**3,98**
limonén*	0,51	-	0,46	0,55	-	0,52	-
gamma-terpinén	**13,99**	**4,35**	**16,00**	**16,70**	**11,08**	**13,76**	**40,14**
transz-szabinén-hidrát*	0,79	0,75	1,00	1,01	0,84	0,99	-
linalool*	0,30	0,41	0,40	0,35	0,31	0,40	-
izoborneol*	0,27	0,28	0,28	0,31	0,28	0,28	-
terpinén-4-ol*	0,27	0,36	0,31	0,34	0,33	0,37	-
linalil-acetát*	0,21	0,26	0,25	0,22	0,26	0,33	-
timol*	0,48	0,29	0,17	0,17	0,21		-
karvakrol	**57,05**	**75,37**	**61,85**	**59,64**	**64,35**	**62,99**	**54,84**
kariofillén*	0,93	1,78	1,34	1,64	1,60	2,33	-
béta-bizabolén*	1,39	1,92	1,30	1,32	1,30	1,46	-
spatulenol*	1,56	-	-	0,17	-	-	-
kariofillén-oxid*	1,64	1,88	1,65	1,46	1,43	1,14	-

5.3.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az idő paramétert 5 és 60 perc között elemeztük (konstans 12 MPa extrakciós nyomás és 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett). Az adott körülmények között növelhetőnek bizonyult a kihozatal az extrakció 50-60 percig történő növelésével, jóllehet kevésbé jelentős mértékben, mint a nyomás emelésével. Az SFE extrakció során az 50 (0,41 %) és az 55 perces (0,50 %) extrakciós időtartam hozott kiemelkedő eredményt, a kapott értékek azonban elmaradtak a desztillált extraktum kihozatalától (1,14 %) (**20. ábra**). Az extrakciós időtartam változtatása statisztikailag igazolhatóan befolyásolta a kihozatalt (p=0,000580) (**3g. melléklet**) illetve a különböző kivonási módszerek (SFE és VGD) között szignifikáns különbség volt (p=0,000000; **3i. melléklet**).



20. ábra: Az extrakciós időtartam hatása a kerti borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A kísérletben nyert mintákat összetétel szempontjából szemlélve egységes képet látunk, minden esetben karvakrol és γ-terpinén volt kimutatható a legnagyobb arányban (**26. táblázat**). Míg azonban a szuperkritikus extraktumokban a karvakrol mennyisége nagyobb, addig a γ-terpinéné alacsonyabb volt a vízgőzdesztillátum megfelelő értékéhez képest. További jelentős komponensként itt is azonosítottunk p-cimolt, melynek aránya szintén az SFE extraktokban volt magasabb.

26. táblázat: Az időtartam hatása a kerti borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

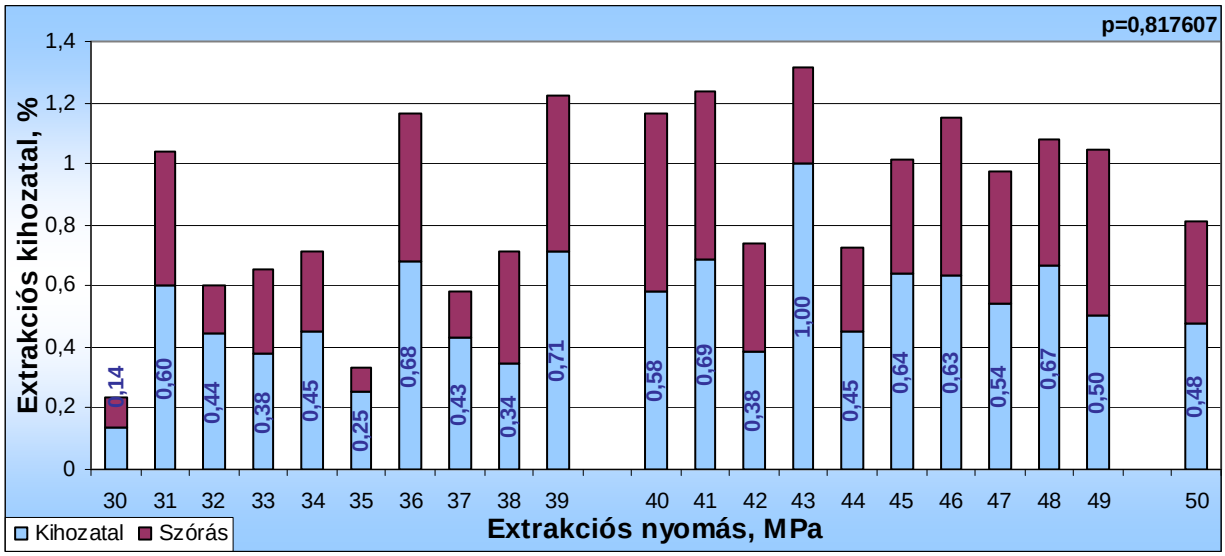
Komponensek	Extrakciós időtartam, min						VGD
	10	20	30	40	50	60	
	Komponensek aránya, %						
alfa-pinén*	-	-	-	-	0,20	0,19	-
béta-mircén*	-	0,58	-	0,55	0,70	1,06	-
alfa-terpinén	-	0,71	-	0,69	0,94	1,01	1,05
p-cimol	**4,60**	**4,29**	**0,16**	**4,02**	**5,63**	**5,37**	**3,98**
limonén*	-	0,34	-	0,35	0,39	0,52	-
1,8-cineol*	-	-	0,23	-	-	-	-
gamma-terpinén	**6,30**	**12,82**	**0,63**	**13,74**	**14,17**	**22,09**	**40,14**
transz-szabinén-hidrát*	0,67	0,84	0,54	0,90	0,92	1,23	-
linalool*	-	0,38	0,31	0,43	0,39	0,33	-
izoborneol*	-	0,28	0,45	0,31	0,27	0,31	-
terpinén-4-ol*	-	0,36	0,58	0,36	0,35	0,33	-
alfa-terpineol*	-	-	0,20	-	-	-	-
karvakrol-metiléter*	-	-	0,25	-	-	0,15	-
linalil-acetát*	-	0,23	0,33	0,27	0,33	0,27	-
timol*	0,42	0,22	-	-	-	0,16	-
karvakrol	**62,46**	**64,00**	**78,56**	**63,45**	**66,01**	**58,15**	**54,84**
kariofillén*	0,76	2,32	2,18	2,06	2,10	1,91	-
béta-bizabolén*	2,34	1,77	2,48	1,66	1,62	0,35	-
spatulenol*	0,44	0,24	0,36	0,26	0,23	-	-
kariofillén-oxid*	2,20	1,30	1,77	1,60	1,52	1,23	-

Karvakrolt a legnagyobb arányban a 30 perces extrakciós időtartamnál (78,56 %), γ-terpinént a 60 perces extrakciónál (22,09 %) illetve p-cimolt pedig az 50 perces extrakció (5,63 %) esetén mértünk. A karvakrol (p=0,085947) és a γ-terpinén (p=0,360680) arányát az extrakciós időtartam nem befolyásolta szignifikánsan (**3h. melléklet**). A nyomás és a hőmérséklet optimalizációjához hasonlóan itt is szélesebb komponens-spektrummal rendelkeztek az SFE kivonatok a desztillált illóolajhoz képest.

5.3.2. Nem illó komponensek kivonása

5.3.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A nem illó komponensek vizsgálatát először 30 és 50 MPa nyomástartományban (1 MPa nyomáskülönbségekkel) végeztük segédoldószer hozzáadása nélkül (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett). Kiugró eredményt értünk el a 43 MPa nyomáson (1,00 %), azonban ez az érték is jelentősen alulmaradt a Soxhlet minta kihozatali értékéhez (23,37 %) képest (**16. táblázat**). Magasabb extrakthozamok voltak elérhetők általában a 36 MPa extrakciós nyomásértéke feletti tartományban (**21. ábra**). Statisztikai próbánk alapján megállapítottuk, hogy a nyomásváltoztatás hatása nem bizonyult szignifikánsnak (p=0,817607) (**3j. melléklet**). A kivonási módok (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbséget (p=0,000000; **3k. melléklet**).



21. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a kerti borsfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,44 %, 40-49 MPa: 0,61 %, 50 MPa: 0,48 %

A nem illó komponensek arányát vizsgáltunk a 30, 35, 40, 45 és 50 MPa nyomásértéken extrahált mintákban. Minden mintában azonosítottunk kvercetint, melynek mennyisége a 40 MPa nyomáson előállított mintában volt a legmagasabb (11,93 %). 35, 40 és 45 MPa nyomásértéken

kisebb arányú luteolin volt kinyerhető, melynek mennyisége a 45 MPa nyomásértéken volt a legmagasabb (2,93 %) (**27. táblázat**). A 40 és 45 MPa nyomásértéken extrahált mintában még jelentős arányban eriodiktiolt is sikerült azonosítanunk (40 MPa: 8,99 %, 45 MPa: 12,85 %). Kávé- és rozmaringsav csak néhány mintában volt kimutatható. A kontrollként alkalmazott Soxhlet kivonatban csekély mennyiségű kávésavat (0,68 %) illetve jelentősebb mennyiségű rozmaringsavat (10,31 %) detektáltunk. A rutin (3,54 %) és a kiemelkedő mennyiségű klorogénsav (38,38 %) csak a Soxhlet-extraktumban volt kimutatható.

27. táblázat: A nyomás hatása a kerti borsfű nem illó frakciójának főbb komponenseire (%)

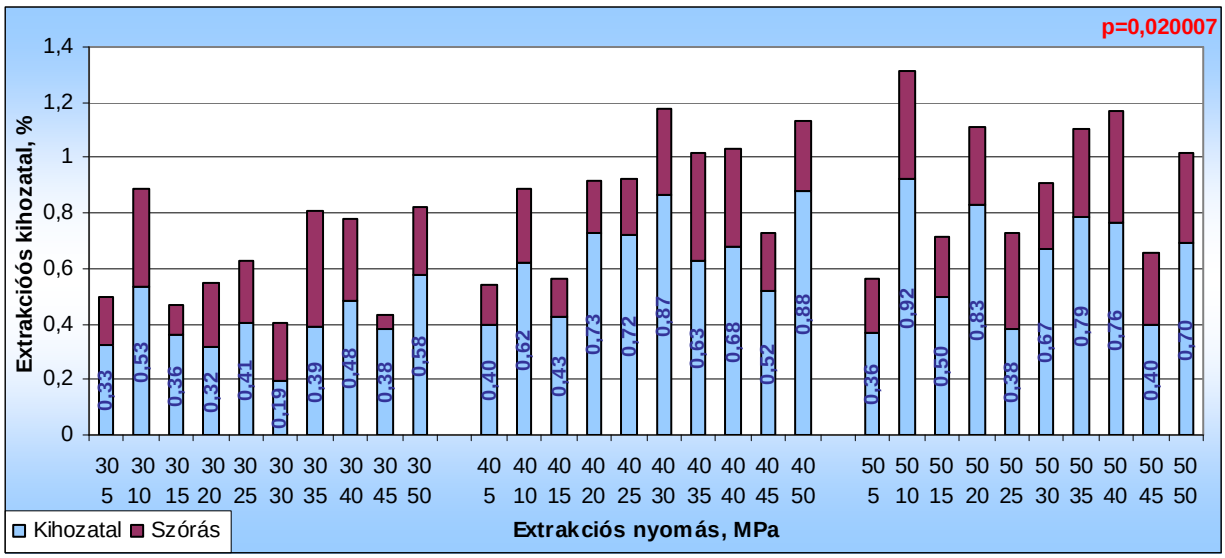
Extrakciós nyomás, MPa	Komponensek aránya, %							
	kávésav	kvercetin	eriodiktiol	luteolin	rozmaringsav	urzolsav	rutin	klorogénsav
30	16,72	8,69	-	-	-	-	-	-
35	-	8,69	-	0,72	-	0,29	-	-
40	-	11,93	8,99	1,54	-	17,19	-	-
45	3,86	7,29	12,85	2,93	4,78	35,06	-	-
50	-	2,38	-	-	1,08	-	-	-
Soxhlet	0,68	-	-	6,02	10,31	-	3,54	38,38

5.3.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával

A segédoldószeres extrakció során metanolt kevertünk a szuperkritikus szén-doixidhoz 5-50 % mennyiségben valamint 3 nyomásértéken (30, 40 és 50 MPa mellett) készítettünk kivonatokat. Az előzetes várakozásoknak megfelelően a magasabb nyomásértékek és a nagyobb arányú segédoldószer a borsfű esetében is magasabb kihozatali arányt eredményeztek. A legmagasabb kihozatali eredményeket 40 és 50 MPa nyomásértékek mellett értük el, azonban az optimális kihozatalt eredményező nyomásparaméter még további kísérleteket igényel (**22. ábra**). Kiemelkedő eredményt hoztak a 40 MPa és 30 % (0,87 %), a 40 MPa és 50 % (0,88 %), az 50 MPa és 10 % (0,92 %), valamint az 50 MPa nyomásértéken 20 % (0,83 %) metanol hozzáadásával extrahált minták, amelyek azonban még így is nagyságrendekkel elmaradtak a kontroll Soxhlet minta kihozatalától (23,37 %) (**15. táblázat**). Az optimalizáció szempontjából megállapításra került, hogy alacsonyabb (40 MPa) nyomástartományban nagyobb arányú segédoldószer arányt, míg magasabb (50 MPa) nyomás alkalmazásakor kisebb segédoldószer arányt érdemes alkalmazni.

Statisztikailag igazolható volt a nyomásváltoztatás és a segédoldószer együttes hatása a kihozatalra (p=0,020007) (**3L. melléklet**), illetve ugyancsak volt szignifikáns különbség a kivonási módszerek (SFE és Soxhlet) között (p=0,000000; **3n. melléklet**).

A segédoldószer alkalmazása 40 és 50 MPa extrakciós nyomásértékek mellett okozott kihozatalbeli növekedést (**21. és 22. ábra**), azonban 30 MPa esetén kisebb csökkenést tapasztaltunk.



22. ábra: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása kerti borsfű a nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,40 %, 40-49 MPa: 0,65 %, 50 MPa: 0,63 %

A segédoldószerrel kinyert kerti borsfű mintákat összetétel szempontjából is elemeztük. Rozmaringsavat majdnem minden mintánkban sikerült azonosítani, a legnagyobb mennyiséget (14,31 %) a 50 MPa extrakciós nyomás és 20 % segédoldószer arány mellett mértünk. Urzolsavat minden vizsgált nyomásértéken előállított mintában azonosítottunk, a legnagyobb mennyiségben 30 MPa nyomásértéken 50% metanol hozzáadása mellett (52,12 %). A szintén minden SFE mintában jellemző luteolin esetében a legnagyobb értékeket 40 és 50 MPa nyomásértékek mellett mutattuk ki. 40 MPa 40 % metanol (8,13 %) valamint 50 MPa nyomásértéken 10 % metanol (7,13 %) hozzáadásával értünk el kiemelkedő arányt. A kontrollként alkalmazott Soxhlet extraktumban figyelemre méltó mennyiségű rozmaringsavat (10,31 %) és luteolint (6,02 %) azonosítottunk, valamint rutint (3,54 %) és klorogénsavat (38,38 %) is, melyeket a szuperkritikus mintákban nem sikerült kimutatnunk (**28. táblázat**).

Janicsák *et al.* (1999) TLC denzitometriás módszerrel 2,60 mg/g rozmaring és 0,10 mg/g kávésavat mutattak ki *Satureja montanae herba* drogból.

A nyomásváltoztatás és a segédoldószer szignifikáns hatását csak az urzolsav esetén (p=0,000153) sikerült statisztikailag bizonyítanunk (**3m. melléklet**). Szignifikán különbsége volt a kivonási módok (SFE és Soxhlet) között (p=0,000000; **3n. melléklet**)

28. táblázat: A nyomás és a segédoldószer hatása a kerti borsfű nem illó frakciójának főbb komponenseire (%)

Extrakciós nyomás, MPa és metanol részarány, %	Komponensek aránya, %					
	kávésav	rozmaring-sav	luteolin	urzolsav	rutin	klorogénsav
30 10		5,83	1,15	12,18	-	-
30 20	1,23	1,02	1,43	11,27	-	-
30 30	4,52	4,77	0,50	14,76	-	-
30 40	16,13	-	3,13	44,85	-	-
30 50	1,64	-	0,29	52,12	-	-
40 20	-	11,73	1,00	52,01	-	-
40 30	-	3,70	0,81	20,24	-	-
40 40	17,37	-	8,13	28,04	-	-
40 50	7,52	-	2,46	5,08	-	-
50 10	9,24	1,74	7,13	21,64	-	-
50 20	-	14,31	3,08	10,11	-	-
50 30	4,80	-	1,65	14,93	-	-
50 40	-	10,99	1,85	17,69	-	-
50 50	0,24	4,02	1,89	14,19	-	-
Soxhlet	0,68	10,31	6,02	-	3,54	38,38

5.3.3. Összegzés

Kerti borsfű nyomásparaméterének elemzésekor 11, 13 és 15 MPa nyomásértékek esetén mértünk kiemelkedő extrakt mennyiségeket, tehát a 11 MPa extrakciós nyomást optimálisnak tekinthetjük. A fő komponens, a karvakrol esetében a 13-14 MPa nyomás eredményezte a legmagasabb értékeket, míg a γ-terpinén esetében 9-12 MPa illetve a p-cimolnál 10-11 MPa nyomásértékek között tapasztaltuk a legnagyobb mennyiségeket. Az 50 °C-os extrakciós hőmérséklet esetében mértük a legmagasabb kihozatali arányt, illetve a γ-terpinén is ezen érték mellett fordult elő a legnagyobb mennyiségben. 40 °C mellett a karvakrol, míg 35 és 55 °C mellett a p-cimol mennyisége volt a legmagasabb a tesztelt hőmérsékleti értékek között. 15 perces extrakciós időtartam már jelentős extrakt mennyiséget eredményezett, jóllehet 50 perc felett még magasabb volt a kihozatali arány. A karvakrol mennyisége a 30 perces extrakció során volt a legmagasabb, míg 50 és 60 perces extrakció a γ-terpinén és a p-cimol esetében hozott kiemelkedő eredményt.

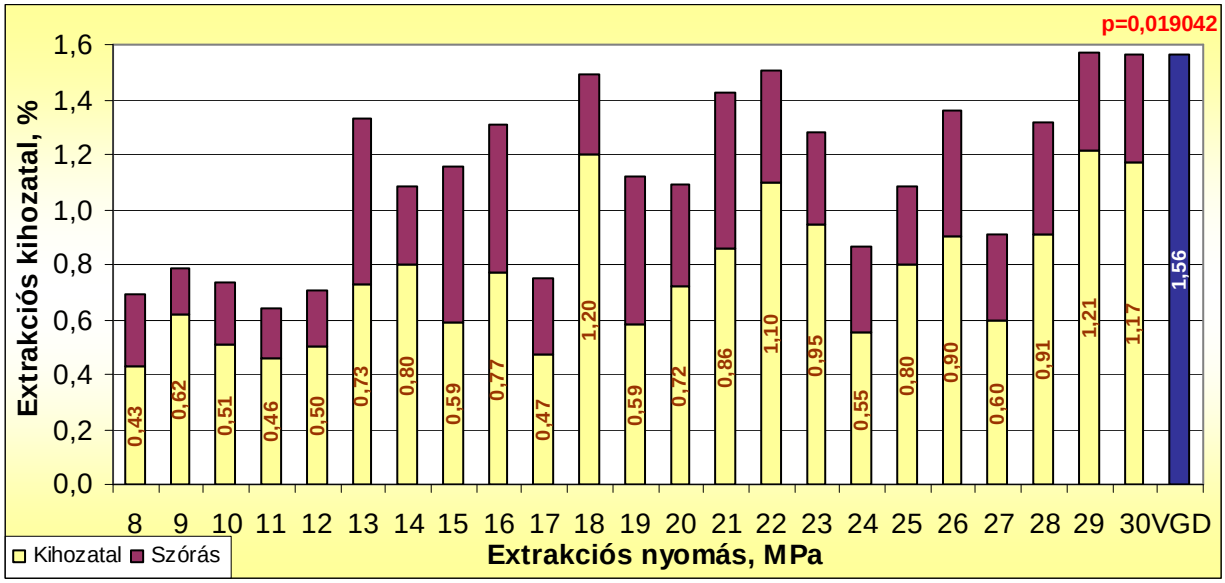
A nem illó frakció nyomás optimalizációja során már a 39 MPa nyomásérték optimális kihozatalt eredményezett. Kvercetin minden mintában előfordult, az alacsonyabb nyomásértékek esetén kicsit nagyobb arányban. A segédoldószer alkalmazása az előzetes várakozásoknak megfelelően magasabb kihozatali értékeket eredményezett 40 és 50 MPa nyomásértékek esetén, 30 MPa nyomásnál csekély visszaesés volt megfigyelhető a kihozatalt illetően. A segédoldószeres kivonatok mindegyikében azonosítottunk luteolint és urzolsavat, illetve szórványosan, de esetenként jelentős mennyiségben rozmaring- és kávésavat is. Az optimalizáció szempontjából megállapításra került, hogy alacsonyabb (40 MPa) nyomástartományban nagyobb arányú segédoldószer arányt, míg magasabb (50 MPa) nyomás alkalmazásakor kisebb segédoldószer arányt érdemes alkalmazni.

5.4. A *Satureja montana* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.4.1. Illó komponensek kivonása

5.4.1.1. Az extrakciós nyomásoptimalizációja

A nyomás változtatásakor (8-30 MPa, konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett) az SFE-extraktumok a kihozatal átlagában elmaradtak a vízgőzdesztillátumtól (1,56 %). A nyomás emelkedésével párhuzamosan kismértékű növekvő tendencia figyelhető meg. 18 és 29 MPa nyomásértékek esetében értünk el kiemelkedő kihozatali értékeket (1,20 és 1,21 %) (**23. ábra**). Igazoltuk a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását a kihozatalra (p=0,019042) (**4a. melléklet**). A kivonási módok között (SFE és VGD) szignifikáns különbség volt (p=0,046404; **4c. melléklet**).



23. ábra: Az extrakciós nyomás hatása az évelő borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Az évelő borsfű szuperkritikus kivonatainak összetétele hasonlóan alakult a kerti borsfűéhez, ugyanis itt is a karvakrol volt a fő komponens, valamint kisebb arányban előfordult még p-cimol is (**29. táblázat**). A karvakrol bioszintézisének két prekurzora közül azonban itt nem a γ-terpinén, hanem a p-cimol volt jelen az illó frakcióban nagyobb arányban (a *Satureja hortensis* esetében a γ-terpinén volt jelentősebb). A γ-terpinén igen kis arányban volt megtalálható az SFE-extraktumokban, minor komponensnek számított. Változás továbbá a kerti borsfűhöz képest, hogy a karvakrol aránya nem az SFE-exraktumokban, hanem a desztillált olajban volt nagyobb. Ugyanez igaz az SFE-kivonatokban jelentősen lecsökkent arányú γ-terpinénre is, míg a p-cimol aránya az SFE-extraktumokban gyakran megközelítette a desztillátumét. A desztillált kivonatban az említett

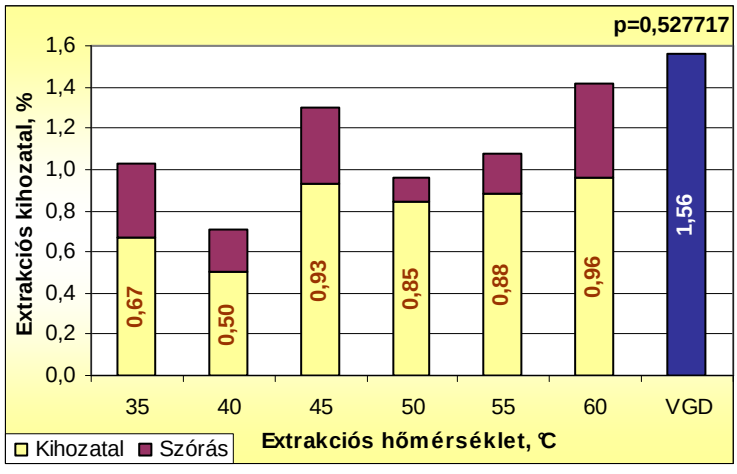
29. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása az évelő borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós nyomás, MPa																							VGD
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
	Komponensek aránya, %																							
α-tujén*	-	0,17	-	0,42	-	0,13	-	0,28	-	-	-	-	0,20	-	-	-	-	-	-	-	0,22	-	-	-
α-pinén*	-	0,16	-	0,33	-	0,10	-	0,25	-	-	-	-	0,18	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-	-	-
szabinén*	3,08	2,71	2,40	2,48	1,28	1,84	1,62	2,21	2,15	2,26	1,98	1,88	1,89	1,67	1,73	1,45	1,52	1,42	1,55	1,26	1,61	1,63	1,52	-
ß-mircén*	-	-	-	0,48	-	0,14	-	0,20	-	-	0,10	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	0,40	-	0,34	-
α-terpinén*	0,45	0,53	-	0,85	-	0,43	-	0,53	0,38	0,47	0,34	0,27	0,46	0,20	-	-	-	-	0,27	-	0,50	0,23	0,39	-
p-cimol	**11,30**	**12,16**	**4,12**	**16,74**	**1,81**	**10,68**	**2,44**	**11,41**	**9,88**	**10,4**	**8,80**	**6,30**	**10,93**	**5,71**	**4,88**	**4,54**	**6,62**	**6,75**	**6,44**	**5,66**	**10,97**	**5,89**	**9,04**	**12,88**
limonén*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,31	-	-	0,25	-	0,24	-	-	-	0,26	-	-	-	0,20	-	-
1,8-cineol*	0,68	0,62	0,41	0,66	-	0,46	0,31	0,53	0,51	0,46	0,45	0,41	0,49	0,37	0,32	0,28	0,39	0,37	0,35	0,28	0,43	0,35	0,39	-
γ-terpinén	**-**	**0,21**	**-**	**0,76**	**-**	**0,20**	**-**	**0,27**	**0,27**	**-**	**0,14**	**0,14**	**0,27**	**0,18**	**0,37**	**-**	**0,32**	**0,34**	**0,28**	**-**	**1,27**	**0,32**	**1,16**	**8,24**
transz-szabinén-hidrát*	2,22	1,87	1,82	1,64	1,41	1,30	1,41	1,51	1,45	1,57	1,37	1,22	1,32	1,69	1,09	1,33	1,41	1,33	1,28	1,39	1,21	1,30	1,21	-
linalool*	0,67	0,60	0,57	0,53	0,46	0,41	0,51	0,53	0,48	0,55	0,46	0,46	0,47	0,47	0,33	0,23	0,40	0,40	0,38	0,25	0,18	0,20	0,34	-
izoborneol*	1,20	1,00	1,08	0,89	0,96	0,84	0,94	0,95	0,92	0,98	0,91	0,9	0,91	0,92	0,78	0,84	1,05	0,99	0,93	0,88	0,84	0,90	0,78	-
terpinén-4-ol*	0,52	0,44	0,48	0,39	0,44	0,35	0,44	0,39	0,38	0,42	0,36	0,38	0,35	0,40	0,40	0,33	0,34	0,33	0,32	0,35	0,29	0,32	0,29	-
α-terpineol*	0,31	0,24	0,24	0,23	-	0,23	-	0,22	0,21	-	0,21	0,22	0,23	0,24	-	-	-	-	-	-	0,18	0,20	-	-
karvakrol-metiléter*	-	-	-	-	-	0,10	-	-	-	-	0,11	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
geraniol*	**2,67**	**2,02**	**3,17**	**1,47**	**6,07**	**4,56**	**5,76**	**2,74**	**2,69**	**3,56**	**4,22**	**3,52**	**2,95**	**4,1**	**4,59**	**5,45**	**4,39**	**4,05**	**4,09**	**5,96**	**3,09**	**3,67**	**3,15**	**-**
timol*	1,79	1,53	1,84	1,23	1,49	1,38	1,52	1,38	1,46	1,31	1,72	1,73	1,60	1,73	0,60	0,54	0,55	0,45	0,57	0,58	0,54	0,69	0,61	-
karvakrol	**58,57**	**60,67**	**66,80**	**55,76**	**68,71**	**61,72**	**66,91**	**62,21**	**63,53**	**59,26**	**62,37**	**62,71**	**57,92**	**61,37**	**64,92**	**65,14**	**61,92**	**66,28**	**63,84**	**64,99**	**58,2**	**62,01**	**63,84**	**78,88**
α-terpinil-acetát*	-	0,20	0,18	0,18	-	0,21	0,29	-	0,23	-	0,21	0,23	0,21	0,24	-	0,26	0,34	0,29	0,25	0,26	0,24	0,27	-	-
linalil-izobutanoát*	-	-	-	-	-	0,12	-	-	-	-	0,13	0,15	0,13	0,16	-	-	-	-	-	-	0,13	-	-	-
geranil-izobutirát*	0,25	0,24	0,21	0,21	-	0,17	0,26	0,24	0,22	-	0,20	0,16	0,21	0,17	-	0,24	0,33	0,28	0,28	0,26	0,17	0,18	-	-
kariofillén*	1,95	1,80	1,70	1,55	1,49	1,84	1,59	1,5	1,47	1,74	1,39	1,41	1,40	1,41	1,38	1,28	1,50	1,32	1,35	1,37	1,21	1,34	1,16	-
ß-bizabolén*	1,78	1,56	1,64	1,35	1,70	1,10	1,60	1,42	1,31	1,66	1,26	1,26	1,20	1,26	1,56	1,74	1,61	1,58	1,58	1,83	1,26	1,50	1,28	-
spatulenol*	0,33	0,27	0,34	0,28	0,43	0,29	0,40	0,44	0,34	0,49	0,38	0,35	0,93	0,66	0,38	1,52	0,67	-	0,62	0,47	0,52	0,50	1,82	-
kariofillén-oxid*	0,88	0,64	0,75	0,62	0,95	0,64	0,80	0,71	0,71	0,92	0,73	0,71	1,26	1,53	0,69	1,72	1,78	1,55	1,50	0,96	1,00	0,88	1,49	-

komponensek nagyobb arányban képviseltették magukat (78,88 %, 12,88 % és 8,24 %, megfelelő sorrendben) a szén-dioxidos extraktumokhoz képest. Ezen kívül még számos minor komponenst azonosítottunk, melyek egyáltalán nem fordultak elő a desztillált kivonatban. A jelentősebb (1 % feletti szintet elérő) minor komponensek (transz-szabinén-hidrát, kariofillén, β-bizabolén és timol) jelenléte a kerti borsfű SFE-extraktumaihoz hasonló volt, de a geraniol és a szabinén új, nagyobb arányt képviselő komponensként jellemezte az évelő borsfű kivonatait. A transz-szabinén-hidrát (p=0,004015), a timol (p=0,000093), a kariofillén (p=0,002170) és a kariofillén-oxid (p=0,002533) esetében statisztikailag is alátámasztható módon befolyásolta a nyomásváltoztatás a komponensek arányát (**4b. melléklet**).

5.4.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

A hőmérséklet változtatásakor (35-60 °C között, konstans 30 min extrakciós időtartam és 12 MPa extrakciós nyomás mellett) az SFE-extraktumok a kihozatal szempontjából kissé elmaradtak a desztillált kivonat mennyiségétől (1,56 %) (**24. ábra**). Míg Grosso *et al.* (2009) 40 °C extrakciós időtartam mellett nyerte ki a legnagyobb mennyiségű kivonatot, addig a mi kísérletünkben a 45 °C-os illetve a 60 °C-os hőmérsékleten előállított szuperkritikus kivonatok hoztak kiemelkedő eredményeket (0,93 % és 0,96 %). A bázisértékhez képest (40 °C: 0,50 %) a hőmérséklet emelése jelentősen megnövelte a kihozatalt, csaknem a duplájára. Ez alapján 45 °C javasolható a megfelelő kihozatal eléréshez. A hőmérséklet változtatás hatását a kihozatalra nem sikerült statisztikailag igazolnunk (p=0,527717) (**4d. melléklet**), azonban a kivonási módok (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbséget (p=0,001976; **4f. melléklet**).



24. ábra: Az extrakciós hőmérséklet hatása az évelő borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Összetétel szempontjából a kerti borsfűvel végzett vizsgálatainkhoz képest a nyomás optimaizációjánál detektáltakhoz hasonló tendencia volt tapasztalható. A fő komponensek a karvakrol és a p-cimol voltak, melyek közül a karvakrol desztillátumban mért aránya magasabb volt

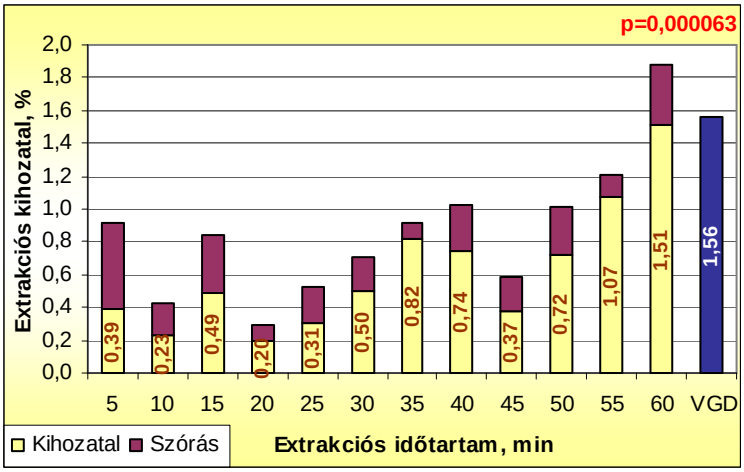
(78,88 %), mint a szuprekritikus kivonatokban (**30. táblázat**). A p-cimolra a hőmérséklet jelentősebb hatást gyakorolt, mint a nyomásváltoztatás, ugyanis a 60 °C-os extrakciós hőmérsékleten előállított kivonatban már kétszeres mennyiségű p-cimolt (24,79 %) azonosítottunk a desztillátumhoz képest, de a többi esetben is általában nagyobb arányban volt jelen. A legmagasabb karvakrol mennyiséget 40 °C-os extrakciós hőmérséklet mellett nyertük ki (68,70 %), azonban ez párosult a legalacsonyabb p-cimol aránnyal (1,81 %). Emellett még számos minor komponenst sikerült kimutatnunk, melyek csak a szén-dioxidos kivonatokban fordultak elő. Ezek közül is a geraniol és a szabinén voltak a legjelentősebbek. Csak a linalool esetén sikerült statisztikailag igazolni a hőmérséklet változtatás hatását (p=0,031443) (**4e. melléklet**).

30. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása az évelő borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós hőmérséklet, ℃						VGD
	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %						
α-tujén*	0,33	-	0,30	0,44	0,33	0,50	-
α-pinén*	0,25	-	0,24	0,33	0,27	0,36	-
kamfén*	0,12	-	0,14	0,16	0,15	0,19	-
szabinén*	**2,04**	**1,28**	**2,16**	**2,30**	**2,72**	**3,22**	**-**
ß-pinén*	0,13	-	0,13	0,15	0,14	0,19	-
ß-mircén*	0,47	-	0,30	0,54	0,24	0,47	-
α-terpinén*	0,70	-	0,67	0,86	0,59	1,08	-
p-cimol	**15,97**	**1,81**	**15,90**	**19,91**	**15,10**	**24,79**	**12,88**
1,8-cineol*	0,60	-	0,62	0,71	0,66	0,91	-
γ-terpinén	**1,11**	**-**	**0,74**	**1,30**	**0,36**	**0,90**	**8,24**
transz-szabinén-hidrát*	1,52	1,41	1,62	1,70	1,87	2,21	-
linalool*	0,35	0,46	0,31	0,34	0,64	0,80	-
izoborneol*	0,87	0,96	0,96	0,94	1,06	1,09	-
terpinén-4-ol*	0,34	0,44	0,37	0,38	0,43	0,47	-
α-terpineol*	0,21	-	0,22	0,19	0,25	0,21	-
karvakrol-metiléter*	0,15	-	0,17	0,19	0,18	0,16	-
geraniol*	4,06	6,07	3,66	2,76	4,15	4,26	-
timol*	1,50	1,49	1,08	0,77	1,13	0,84	-
karvakrol	**51,87**	**68,71**	**53,75**	**50,25**	**53,89**	**40,32**	**78,88**
α-terpinil-acetát*	0,21	-	-	0,13	0,16	-	-
linalil-izobutanoát*	0,13	-	0,15	-	-	-	-
geranil-izobutirát*	0,16	-	0,17	0,13	0,19	0,24	-
kariofillén*	1,52	1,49	1,54	1,56	1,80	2,08	-
ß-bizabolén*	1,44	1,70	1,51	1,52	1,55	1,68	-
spatulenol*	0,92	0,43	0,40	0,88	0,51	0,92	-
kariofillén-oxid*	1,06	0,95	0,88	1,12	1,11	1,13	-

5.4.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az extrakciós időtartam változtatásakor (5 és 60 perc között, konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 12 MPa extrakciós nyomás mellett) az SFE-extraktumok a kihozatal szempontjából elmaradtak a desztillált kivonat mennyiségétől (1,56 %) (**25. ábra**). A 30 perces extrakciónál mért alapértékhez (0,50 %) képest emelkedő tendencia figyelhető meg a növekvő extrakciós időtartamok alatt kapott hozamok tekintetében. A 60 perces extrakciós időtartam alatt kinyert extrakt mennyisége már megközelítette a desztillált illóolaj mennyiségét (1,51 %). Az extrakciós időtartam kihozatalra gyakorolt szignifikáns hatását statisztikailag (p=0,000063) (**4g. melléklet**) valamint a különböző kivonási módszerek között (SFE és VGD) szignifikáns különbség volt (p=0,001217; **4i. melléklet**) is igazoltuk.



25. ábra: Az extrakciós időtartam hatása az évelő borsfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Az időtartam kísérletben hasonló illó összetételt és arányokat kaptunk, mint az extrakciós nyomás és hőmérséklet optimalizálásakor. Míg azonban a karvakrol és a γ-terpinén aránya a desztillált kivonatban volt magasabb, addig p-cimol esetében a szuperkritikus kivonatokban található mennyiség a vizsgált extrakciós időtartamok túlnyomó többségében meghaladta a desztillátumnál mért mennyiséget (**31. táblázat**). A β-bizabolén (p=0,003466), a timol (p=0,013292) és a linalool (p=0,000020) komponensek esetében statisztikailag bizonyítottuk az extrakciós időtartam változtatás szignifikáns hatását (**4h. melléklet**).

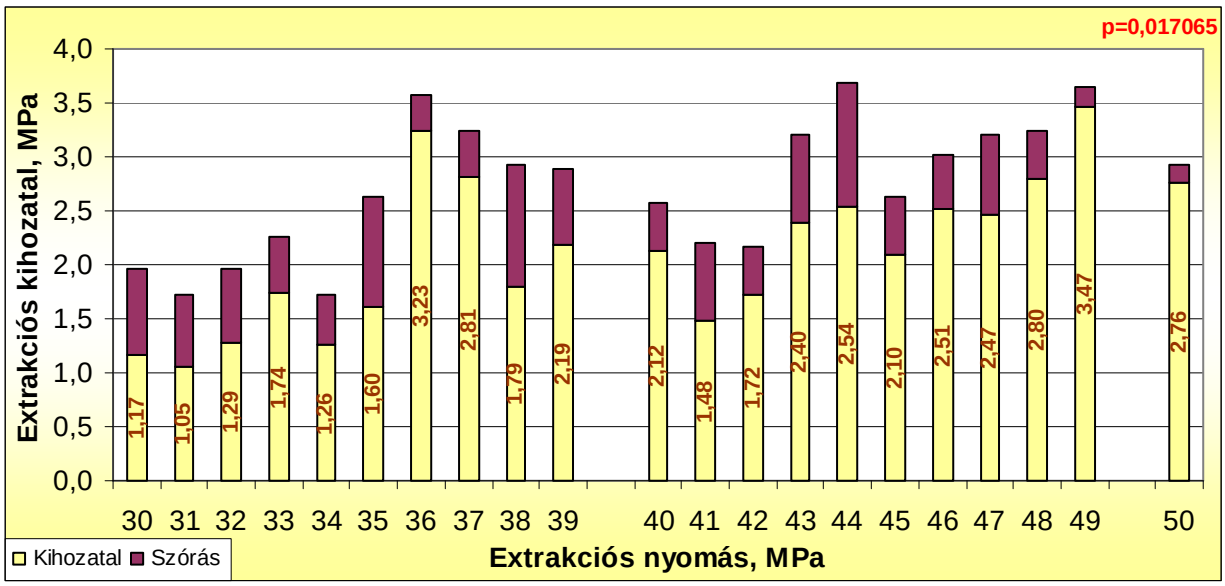
31. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása az évelő borsfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós időtartam, min												VGD
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %												
α-tujén*	-	0,25	-	0,55	0,52	-	0,27	0,36	0,44	0,37	0,27	0,33	-
α-pinén*	-	0,21	-	0,41	0,39	-	0,21	0,28	0,32	0,29	0,2	0,25	-
kamfén*	-	-	-	0,17	0,18	-	-	-	0,16	0,16	0,11	0,13	-
szabinén*	**1,22**	**2,21**	**1,20**	**2,50**	**2,65**	**1,28**	**2,16**	**2,28**	**2,54**	**2,27**	**2,20**	**2,06**	**-**
ß-pinén*	-	-	-	0,17	0,17	-	-	-	0,16	0,15	0,12	0,13	-
ß-mircén*	-	0,22	-	0,60	0,56	-	0,28	0,32	0,48	0,49	0,31	0,38	-
α-terpinén*	-	0,47	-	0,88	0,90	-	0,64	0,61	0,92	0,75	0,61	0,74	-
p-cimol	**3,06**	**10,61**	**0,36**	**16,39**	**18,86**	**1,81**	**14,14**	**14,8**	**20,61**	**16,38**	**14,75**	**16,41**	**12,88**
limonén*	-	0,30	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,8-cineol*	0,26	0,48	0,22	0,58	0,69	-	0,55	0,60	-	0,65	0,59	0,62	-
γ-terpinén	**1,18**	**0,40**	**-**	**1,27**	**0,97**	**-**	**0,69**	**0,66**	**0,85**	**0,89**	**0,67**	**1,07**	**8,24**
transz-szabinén-hidrát*	0,24	1,51	1,60	1,56	1,73	1,41	1,52	1,61	1,74	1,60	1,58	1,50	-
linalool*	0,38	0,37	0,40	0,47	0,47	0,46	0,39	0,38	0,42	0,34	0,34	0,33	-
izoborneol*	0,77	0,86	1,08	0,79	0,92	0,96	0,89	0,98	0,99	0,94	0,93	0,93	-
terpinén-4-ol*	0,32	0,36	0,45	0,35	0,39	0,44	0,36	0,37	0,38	0,36	0,35	0,34	-
α-terpineol*	-	0,20	0,24	0,16	0,19	-	0,22	0,22	0,18	0,24	0,21	0,23	-
karvakrol-metiléter*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16	0,15	0,13	-
geraniol*	**4,59**	**2,50**	**8,39**	**2,09**	**2,51**	**6,07**	**2,85**	**3,94**	**3,18**	**3,10**	**3,87**	**3,64**	**-**
timol*	0,68	0,66	0,77	0,57	1,06	1,49	1,47	1,78	1,51	1,23	1,37	1,47	-
karvakrol	**65,13**	**57,83**	**69,44**	**55,2**	**52,5**	**68,71**	**57,79**	**55,5**	**49,16**	**53,26**	**55,06**	**54,41**	**78,88**
α-terpinil-acetát*	-	-	-	0,10	0,16	-	0,23	-	-	0,21	0,20	0,10	-
linalil-izobutanoát*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,13	0,12	-
geranil-izobutirát*	-	0,18	0,19	0,14	0,17	-	0,20	0,24	0,18	0,13	0,14	0,07	-
kariofillén*	1,41	1,49	1,61	1,54	1,75	1,49	1,58	1,61	1,78	1,57	1,56	1,46	-
ß-bizabolén*	0,80	1,38	0,59	1,19	1,50	1,70	1,40	1,48	1,59	0,53	0,51	0,51	-
spatulenol*	8,68	3,19	0,32	0,33	0,30	0,43	0,34	0,35	0,36	0,36	0,38	0,42	-
kariofillén-oxid*	0,53	3,64	0,86	0,89	0,70	0,95	0,74	0,81	0,83	0,78	0,80	0,88	-

5.4.2. Nem illó komponensek kivonása

5.4.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

Nem illó komponensek elemzése során a nyomás paramétert is vizsgáltuk 30 és 50 MPa között (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 perces extrakciós időtartam mellett). A 36 és a 49 MPa nyomáson előállított kivonat mennyisége volt kiemelkedő (3,23 % és 3,47 %) illetve emellett emelkedő tendencia volt megfigyelhető a kivonatok mennyiségét illetően a nyomás növelésének hatására (**26. ábra**). A kontroll Soxhlet-extrakcióval nyert minta kihozatalát (22,20 %) (**16. táblázat**) egyik szuperkritikus extraktumnál sem értük el. Statisztikailag igazolni tudtuk a nyomásváltoztatás kihozatalra gyakorolt szignifikáns hatását (p=0,017065) (**4j. melléklet**) illetve a kivonási módszerek között (SFE és Soxhlet) szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **4k. melléklet**).



26. ábra: Az extrakciós nyomás hatása az évelő borsfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 1,81 %, 40-49 MPa: 2,36 %, 50 MPa: 2,76 %

A szuperkritikus és a Soxhlet kivonatokat összetétel szempontjából is elemeztük. Ennek során megállapítottuk, hogy valamennyi minta tartalmazott luteolint és rozmaringsavat (**32. táblázat**), azonban míg luteolinban a Soxhlet minta szegényebb volt (0,61 %), addig rozmaringsav tekintetében jó közepes mennyiséget (11,37 %) tudtunk mérni a szuperkritikus kivonatokhoz képest (0,17-32,44 %). A szén-dioxidos SFE-mintáinkban kimutattunk még jelentős mennyiségben rutint is (14,90-36,18 %), ami hiányzott a Soxhlet-extraktumból. Az SFE-mintáinkban nem detektáltunk sem kávé-, sem klorogénsavat, melyeket viszont a Soxhlet kivonatban azonosítottunk 3,60 % és 19,33 % mennyiségben. 45 és 50 MPA mellett jelentős mennyiségű rutint, luteolint és rozmaringsavat SFE-CO_2-dal nyertünk ki.

32. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása az évelő borsfű fenoloid komponenseinek arányára (%)

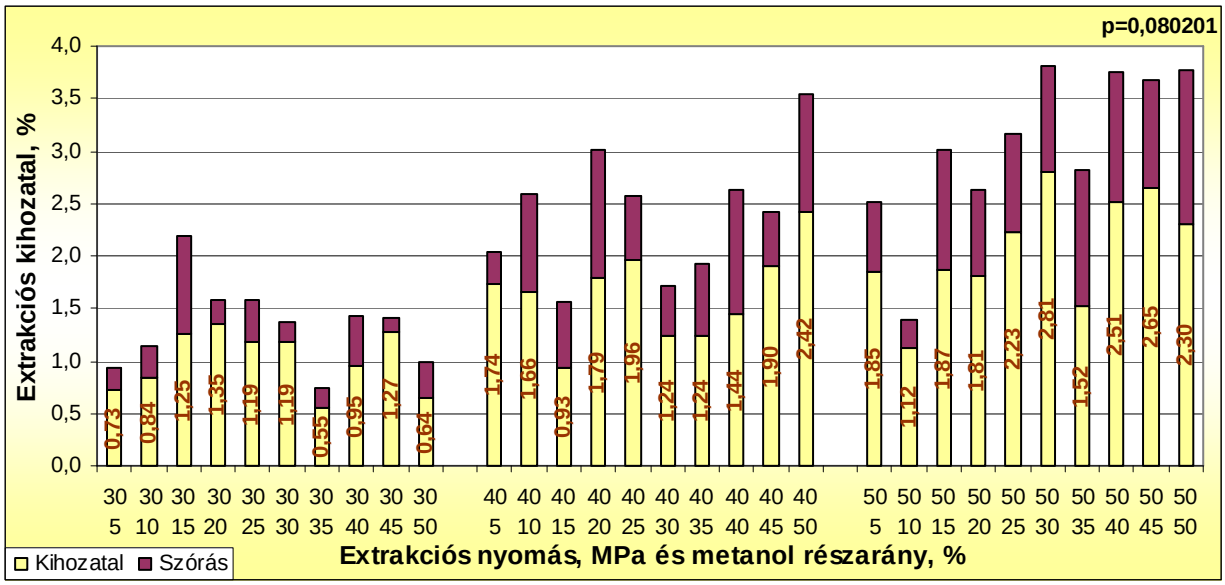
Extrakciós nyomás, MPa	Komponensek aránya, %				
	rutin	luteolin	rozmaring-sav	kávésav	klorogénsav
30	14,90	41,67	12,49	-	-
35	26,72	34,83	18,53	-	-
40	26,41	28,56	0,17	-	-
45	36,18	59,68	4,12	-	-
50	24,57	52,03	22,44	-	-
Soxhlet	-	0,61	11,37	3,60	19,33

5.4.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával

A nyomásoptimalizáció során segédoldószert 5-50 %-os részarányban alkalmaztunk (40 °C-os extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett), melynek során - a várakozásoknak megfelelően - a magasabb extrakció nyomás és a nagyobb segédoldószer részarány

magasabb kihozatali arányt eredményezett. Kiemelkedő kihozatali értékeket tapasztaltunk 40 és 50 MPa extrakciós nyomásértékek mellett (**27. ábra**), különösen 40 MPa nyomás és 50 %-os metanol részarány (2,42 %) illetve 50 MPa nyomás és 25-50 % metanol részarány (2,23-2,81 %) esetén. Ha összehasonlítjuk a segédoldószer segítségével elért hozamokat a tisztán SFE-CO_2-dal, hasonló nyomáson elért eredményekkel, jelentős kihozatalbeli csökkenést tapasztalunk, így a segédoldószer hozzáadása nem bizonyult hatékony megoldásnak.

A kontroll Soxhlet minta kihozatalát (22,20 %) (**16. táblázat**) egyik szuperkritikus minta extrakt mennyisége sem érte el. A nyomásváltoztatás és a segédoldószer együttes hatását a kihozatalra nem tudtuk statisztikailag igazolni (p=0,080201; **4L. melléklet**), azonban a kivonási módszerek (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **4n. melléklet**).



27. ábra: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes hatása az évelő borsfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30 MPa: 1,00 %, 40 MPa: 1,63 %, 50 MPa: 2,07 %

Összetétel szempontjából hasonló eredményeket kaptunk, mint az előző kísérlet során. Minden kivonatban azonosítottunk luteolint, illetve majdnem minden SFE-extraktum tartalmazott rutint (**33. táblázat**). Ez utóbbi komponenst azonban a Soxhlet kivonatban nem sikerült kimutatnunk. A kontroll minta jóval kisebb mennyiségű luteolint tartalmazott (0,61 %), míg rozmaringsav tekintetében a szuperkritikus kivonatok részben alacsonyabb, részben magasabb értéket értek el a kontrollhoz képest (11,37 %). A kávé- és a klorogénsavat itt sem tudtuk kinyerni SFE-vel. A luteolin esetében nem sikerült statisztikailag igazolni a nyomásváltoztatás és a segédoldószer együttes szignifikáns hatását (p=0,296321) (**4m. melléklet**). A segédoldószer hozzáadásával újabb komponenseket – kvercitrint, apigenint és kvercetint – nyertünk ki, melyek a Soxhlet- és az SFE-CO_2 extrakciókkal nem tudtuk extrahálni. E komponensek megjelenése nem volt általános, de az alacsony-közepes nyomás tartományban segédoldószerrel kivonhatók voltak.

Évelő borsfű (*Satureja montana* L.) esetében 0,13 % oleanolsavat és 0,49 %-ban urzolsavat azonosítottak Janicsák *et al.* (2006), mely komponensek egyik általunk alkalmazott SFE-extrakciós eljárással sem voltak kinyerhetők annak ellenére, hogy a kerti borsfűnél az urzolsav egy konzekvensen megjelenő komponens volt az SFE-mintáinkban.

33. táblázat: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes hatása az évelő borsfű nem illó frakciójának összetételére (%)

Extrakciós nyomás, MPa és metanol részarány, %	Komponensek aránya, %							
	rutin	kvercitrin	apigenin	luteolin	rozmaring-sav	kvercetin	kávésav	klorogénsav
30 10	6,47	-	-	2,70	-	-	-	-
30 20	11,08	0,90	-	25,90	-	-	-	-
30 30	10,58	22,46	39,47	13,97	20,89	-	-	-
30 40	-	-	-	15,72	21,52	34,70	-	-
30 50	18,10	-	37,93	20,04	3,19	10,38	-	-
40 10	6,01	12,50	35,04	17,46	6,24	-	-	-
40 20	8,22	-	38,20	24,66	10,80	13,93	-	-
40 30	13,44	-	-	15,97	16,20	13,57	-	-
40 40	11,19	25,41	11,17	22,09	-	-	-	-
40 50	-	-	-	36,13	-	25,18	-	-
50 10	7,15	15,27	-	19,74	6,02	-	-	-
50 20	1,63	-	-	14,35	-	-	-	-
50 30	20,19	-	-	31,69	5,87	13,08	-	-
50 40	4,87	3,97	-	24,83	-	-	-	-
50 50	4,78	8,81	-	24,02	-	-	-	-
Soxhlet	-	-	-	0,61	11,37	-	3,60	19,33

5.4.3. Összegzés

A nem illó frakció vizsgálata során arra a megállapításra jutottunk, hogy a 9 MPa extrakciós nyomás már megfelelő kihozatali értéket eredményezett, azonban az egyes komponensek ennél magasabb nyomásértéken érték el maximális értéküket (a p-cimol: 11 MPa, a geraniol: 12 MPa és a karvakrol 10 MPa). A 45 °C-os extrakciós hőmérsékletnél megfelelő kihozatalt detektáltuk, azonban a karvakrol (40 °C) és a p-cimol (60 °C) optimális mennyisége ettől eltérő hőmérsékleten volt tapasztalható. A 35 perces extrakciós időtartamnál nyertünk ki kiemelkedő mennyiségű extraktot, azonban a geraniol és a karvakrol komponenseknél a 15 perces, míg p-cimolnál a 45 perces extrakció tekinthető megfelelőnek.

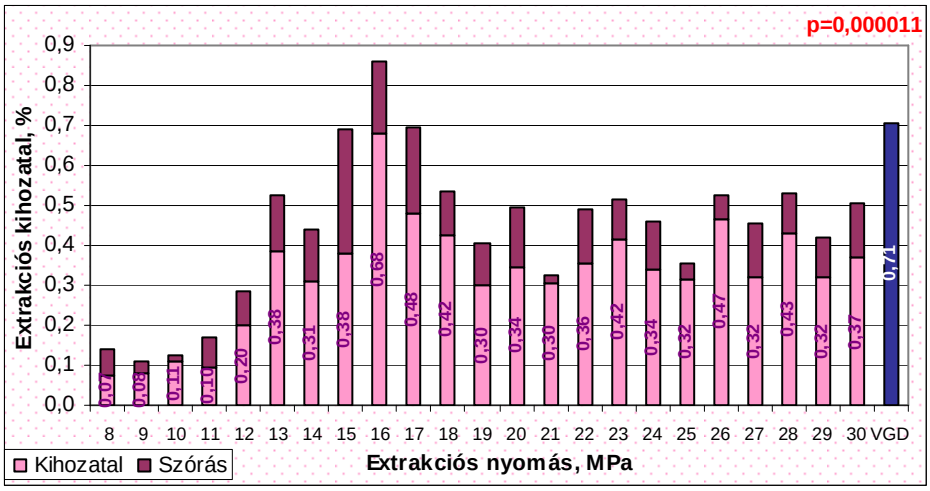
A nem illó frakció vizsgálata során a 36 MPa nyomásérték eredményezett először megfelelő kihozatalt, azonban a vizsgált komponensek ezen értékhez képest nagyobb nyomáson voltak optimális mennyiségben extrahálhatók. A segédoldószer alkalmazása során 40 és 50 MPa extrakciós nyomáson nyertünk kiemelkedő kihozatali értékeket. A vizsgált komponensek általában a magasabb segédoldószer arány esetén mutatkoztak nagyobb arányban.

5.5. A *Thymus pannonicus* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.5.1. Illó komponensek kivonása

5.5.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

Kutatócsoportunk először foglalkozott a hazai kaukkfűfajok közül a *Thymus pannoncius* SFE extrakciójával. Magyar kakukkfű nyomásoptimalizációja során 8 és 30 MPa között teszteltük a nyomásparamétert (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett). Ennek során kiemelkedő kihozatali értéket kaptunk 16 MPa extrakciós nyomásértéken (0,68 %) (**28. ábra**), mely megközelítette a desztillált kivonat VGD mennyiségét (0,71 %). 8 és 15 MPa között dinamikus kihozatal növekedés figyelhető meg. A szakirodalomban *Thymus vulgaris*-szal kapcsolatosan publikált (Zekovic *et al.*, 2000) 10 MPa nyomásérték optimális voltát nem tudtuk igazolni, mert kihozatal szempontjából kísérletünkben a 13 MPa feletti értékek bizonyultak megfelelőnek. A nyomás szignifikáns hatását a kihozatalra statisztikailag bizonyítottuk (p=0,000011) (**5a. melléklet**), valamint a különböző extrakciós módszerek (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000747; **5c. melléklet**).



28. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Összetétel szempontjából érdekes eredményeket kaptunk. A szuperkritikus kivonatokban a kakukkfű fajokra általában jellemző főbb komponenseket, timolt (36,61-100 %), timol-metil-étert (1,35-7,52 %) és γ-terpinént (0,1-0,16 %) is azonosítottunk, azonban karvakrolt csak igen kis mennyiségben (0,65-5,5 %). Ez utóbbi a desztillált kivonatban egyáltalán nem volt jelen (**34. táblázat**). A desztillátumban nagyobb arányban, de szűkebb spektrumban képviseltették magukat az illó összetevők, ez alól csak az izoborneol és a kariofillén volt kivétel, melyek a szén-dioxidos kivonatokban többszörös mennyiségben fordultak elő. Számos minor komponenst is kimutattunk az SFE-kivonatokban, melyek nem jelentek meg a desztillátumban, közülük 19 mono- és 5

szeszkviterpént azonosítottunk. Ezek közül figyelemre méltó volt a p-cimol (0,19-6,83 %), a linalool (0,41-1,56 %), a geraniol (3,36-5,81 %), a karvakrol (0,65-5,50 %), a β-bizabolén (5,90-10,20 %) és a kariofillén-oxid (0,69-3,82 %) mennyisége. A timol (p=0,004026), az 1,8-cineol (p=0,029880), a linalool (p=0,009179), α-terpineol (p=0,001756) és a β-bizabolén (p=0,000197) esetében igazoltuk a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását (**5b. melléklet**).

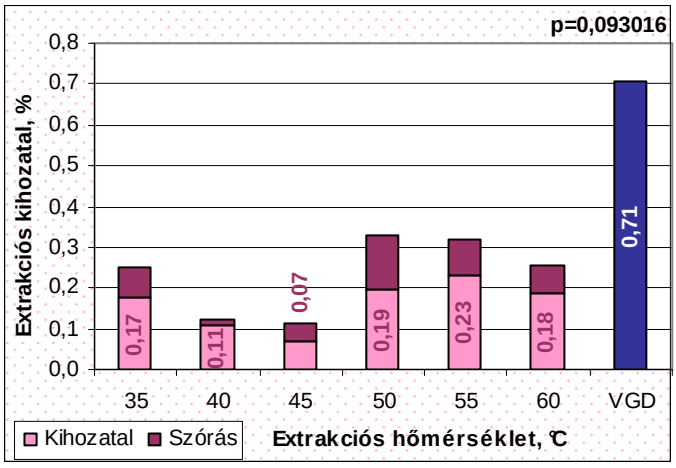
A fentiek alapján megállapítottuk, hogy az SFE-CO_2 kivonás az illó frakció szélesebb aromakomponens spektrumát eredményezte, mint a desztilláció. Ez a komplex összetétel, különösen gazdag formában, az alacsonyabb nyomástartományban (11-15 MPa) érhető el. A desztilláció ebben az esetben az illó frakció komponenseinek redukálódásához vezet. Mivel az SFE kihozatal is viszonylag kielégítőnek tekinthető a nyomás 13 MPa feletti tartományában és a timol-tartalom is stabilan 50 % feletti értékeket vett fel 16 MPa felett, optimálisnak a 16 MPa extrakciós nyomást tekintettük az adott extrakciós körülmények között.

34. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós nyomás, MPa																							VGD
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
	Komponensek aránya, %																							
α-tujén*	-	-	-	0,20	0,21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-pinén*	-	-	-	0,28	0,26	-	-	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kamfén*	-	-	-	0,39	0,42	0,12	-	0,12	-	-	-	0,20	-	-	-	-	-	-	0,16	-	-	-	-	-
szabinén*	-	-	-	0,53	0,60	0,43	0,41	0,41	0,29	-	0,14	-	0,18	-	0,20	0,13	-	-	-	0,33	-	0,15	0,19	-
ß-pinén*	-	-	-	0,21	0,31	0,13	0,16	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ß-mircén*	-	-	-	0,12	0,13	0,10	0,10	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-terpinén*	-	-	-	0,37	0,42	0,17	0,18	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cimén*	-	0,49	0,33	4,53	6,83	2,25	1,48	2,43	0,71	0,31	0,43	0,19	0,39	0,44	0,38	0,42	0,38	0,41	0,20	1,08	0,33	0,35	0,45	-
limonén*	-	-	-	0,27	0,24	-	-	-	-	0,23	0,26	0,19	0,23	0,27	0,24	0,24	0,24	0,26	0,22		0,24	0,24	0,29	-
1,8-cineol	-	0,31	0,33	2,15	1,96	1,19	1,20	1,09	0,73	0,34	0,33	0,27	0,43	0,31	0,37	0,30	0,27	0,33	0,25	0,36	0,32	0,27	0,28	1,14
γ-terpinén	-	-	-	0,16	0,15	-	0,10	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,13
transz-szabinén-hidrát*	-	0,33	0,31	0,98	0,92	0,82	0,47	0,64	0,87	0,65	0,56	0,54	0,81	0,54	0,82	0,52	0,5	0,66	0,51	0,87	0,74	0,62	0,73	-
linalool*	-	0,71	0,70	1,56	1,46	1,51	1,21	1,26	1,25	1,14	0,53	0,88	0,95	0,68	0,92	0,48	0,45	0,76	0,41	0,89	0,57	0,44	0,55	-
kámfor*	-	0,36	0,51	-	0,10	0,13	0,18	0,13	0,20	0,44	0,23	0,52	0,63	-	0,24	0,22	0,24	0,22	0,24	-	0,23	0,23	0,17	-
izoborneol	-	2,35	3,05	4,90	4,75	4,90	4,72	4,55	4,67	4,42	3,45	3,65	4,21	2,88	3,55	2,98	2,75	3,02	2,94	3,50	3,34	2,93	2,53	1,75
terpinén-4-ol*	-	-	0,34	0,46	0,40	0,40	0,47	0,40	0,34	0,36	0,24	0,33	0,50	-	0,29	0,25	0,23	0,25	0,30	0,31	0,29	0,21	0,19	-
α-terpineol*	-	0,50	0,64	0,45	0,42	0,46	0,48	0,42	0,44	0,44	0,39	0,45	0,51	0,34	0,36	0,35	0,33	0,34	0,35	0,40	0,37	0,33	0,34	-
timol-metiléter	-	1,53	1,35	6,86	7,52	6,13	5,31	6,29	5,20	3,13	2,61	1,71	3,57	2,70	4,25	2,77	2,54	3,22	2,47	4,49	3,81	2,94	3,09	8,66
karvakrol-metiléter	-	0,81	0,78	3,63	3,89	3,21	2,78	3,12	2,58	1,63	1,34	1,00	1,77	1,36	2,09	1,48	1,35	1,63	1,33	2,13	1,91	1,55	1,59	4,19
geraniol*	-	5,81	5,02	5,39	3,76	5,05	3,57	4,11	4,50	4,21	4,20	3,62	4,21	3,36	4,52	4,37	3,93	4,03	3,91	4,33	4,41	3,72	4,43	-
timol	100	49,29	51,22	37,6	36,61	45,15	49,51	47,82	50,51	54,46	58,51	60,47	51,52	54,25	50,9	54,17	53,2	54,93	54,89	52,89	52,63	56,17	54,02	64,27
karvakrol*	-	1,73	0,83	0,70	0,65	0,88	0,96	0,98	1,00	1,13	1,23	1,16	1,10	0,95	1,08	1,16	1,11	1,05	1,17	5,50	1,09	1,17	1,06	-
α-terpinil-acetát*	-	0,36	0,25	0,25	0,27	0,27	0,25	0,24	0,26	0,24	0,23	0,25	0,30	0,25	0,29	0,27	0,25	0,24	0,27	-	0,35	0,31	0,23	-
linalil-izobutanoát*	-	-	-	0,11	0,10	0,14	0,10	0,10	0,13	-	0,17	-	0,16	-	0,15	0,14	0,16	-	0,15	-	0,16	0,18	0,42	-
geranil-izobutirát*	-	0,59	0,21	0,11	0,10	0,22	0,21	0,10	0,20	0,16	0,13	0,17	0,16	0,21	0,15	0,14	0,12	0,18	0,13	0,45	0,20	0,13	0,13	-
kariofillén*	-	1,76	2,24	5,30	4,55	4,31	3,64	4,15	4,06	3,60	0,28	3,00	3,47	1,98	3,33	3,09	2,69	2,85	2,68	3,70	3,73	2,20	2,42	0,69
ß-bizabolén*	-	9,03	9,10	6,17	5,98	6,50	6,39	5,90	6,67	7,23	6,50	6,73	8,58	9,56	9,68	9,89	9,64	9,31	9,65	9,99	10,20	8,59	8,82	-
spatulenol*	-	-	1,77	0,71	0,64	0,62	0,75	0,52	0,63	0,72	1,03	1,08	0,89	2,28	1,36	1,24	1,85	1,23	1,30	-	1,22	1,32	1,30	-
kariofillén-oxid*	-	3,82	2,38	0,93	0,74	0,8	0,85	0,69	0,85	1,04	2,54	1,30	1,00	2,95	1,54	1,67	2,04	1,81	1,88	2,11	1,53	2,35	2,26	-
l-epi-kubenol*	-	0,70	0,42	0,43	0,18	0,18	0,21	0,19	0,22	0,27	0,55	0,29	0,32	1,19	0,47	0,48	0,6	0,49	0,57	-	0,48	0,71	0,71	-
farnezol*	-	0,80	0,73	0,29	0,26	0,27	0,25	0,27	0,27	0,28	0,43	0,51	0,29	0,32	0,24	0,41	0,31	0,29	0,55	-	0,48	0,41	0,48	-

5.5.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

A hőmérséklet paraméter tesztelése során 35 és 60 °C között vizsgáltuk az extrakciós hőmérsékleti értékek hatását a kihozatalra és az illó összetevőkre (konstans 10 MPa extrakciós nyomás és 30 perces extrakciós időtartam mellett). A szakirodalomban ajánlott (Zekovic *et al.*, 2000) 40 °C-os érték nem hozott kiemelkedő eredményt, 50 °C-os és afölötti extrakciós hőmérsékleten előállított kivonatok (**29. ábra**) megfelelő értéket mutattak (0,18 % és 0,23 %). De így sem sikerült megközelíteni a desztillációnál mért értéket (0,71 %). A hőmérséklet növelése a nyomásváltoztatáshoz képest kevésbé hatékonynak bizonyult, a kihozatalra gyakorolt hatását statisztikailag nem sikerült igazolnunk (p=0,093016; **5d. melléklet**). A kivonási módok (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbséget (p=0,000000; **5f. melléklet**).



29. ábra: Az extrakciós hőmérséklet hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A kivonatok összetétele a nyomásoptimalizációja során tapasztaltaknak megfelelően alakult. A fő komponens itt is a timol volt, azonban a szén-dioxidos kivonatok timoltartalma (46,51-56,96 %) kissé elmaradt a desztillátuméhoz képest (64,27 %) (**35. táblázat**). A legmagasabb timol arányt 45 °C-nál tapasztaltunk (56,96 %). Az α-terpinén (12,35 %) és a γ-terpinén (6,13 %) csak a desztillátumban fordult elő, a szuperkritikus kivonatokban egyáltalán nem voltak kimutathatók. A mindkét kivonattípusban jelenlévő minor komponensek közül csak az izoborneol és a kariofillén esetében azonosítottunk magasabb arányokat a szuperkritikus kivonatokban a desztillátumhoz képest, az 1,8-cineol, a tranmsz-szabinén-hidrát, a timol-metiléter és a karvakrol-metiléter esetében fordított volt a helyzet. Az SFE-kivonatok a hőmérséklettől függetlenül szélesebb spektrumban tartalmazták az illó komponenseket, mint a desztillált illóolaj. A geraniol (3,63-7,04 %) és a β-bizabolén (9,10-14,08 %) csak az SFE-extraktumokban volt jelen, ahol figyelemre méltó arányt képviseltek. Mennyiségük a hőmérséklet növekedésével kissé emelkedő volt. Az extrakciós

hőmérséklet szignifikáns hatását az összetételre statisztikailag igazoltuk a következő komponenseknél: geraniol (p=0,036905) és spatulenol (p=0,027029) (**5e. melléklet**).

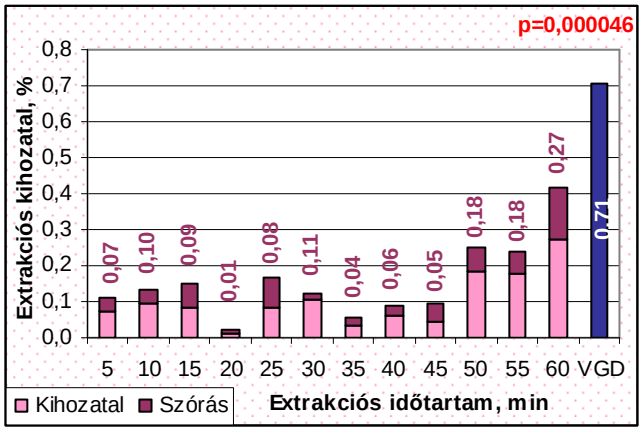
35. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek	Extrakciós hőmérséklet, ℃						VGD
	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %						
szabinén*	0,17	-	-	0,18	0,15	-	-
cimén*	**0,19**	**0,33**	**-**	**0,23**	**0,2**	**-**	**-**
α-terpinén	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**12,35**
limonén*	0,17	-	-	0,18	0,15	-	-
1,8-cineol	0,29	0,33	-	0,39	0,35	0,26	1,14
transz-szabinén-hidrát	0,77	0,31	-	0,67	0,92	0,66	6,13
linalool*	1,04	0,7	0,52	1,06	0,77	0,61	-
kámfor*	0,46	0,51	0,65	0,48	0,69	0,74	-
izoborneol	**3,17**	**3,05**	**1,65**	**2,94**	**3,32**	**3,07**	**1,75**
γ-terpinén	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**6,13**
terpinén-4-ol*	0,42	0,34	-	0,5	0,51	0,51	-
α-terpineol*	0,5	0,64	0,79	0,56	0,64	0,66	-
timol-metiléter	**1,62**	**1,35**	**0,92**	**1,55**	**1,36**	**0,98**	**8,66**
karvakrol-metiléter	**1,16**	**0,78**	**0,66**	**1,11**	**1,03**	**0,76**	**4,19**
geraniol*	**5,67**	**5,02**	**3,63**	**6,65**	**6,43**	**7,04**	**-**
geraniál*	-	-	-	0,21	-	-	-
timol	**52,35**	**51,22**	**56,96**	**52,15**	**46,51**	**50,43**	**64,27**
karvakrol*	**1,08**	**0,83**	**1,06**	**1,15**	**0,96**	**1,04**	**-**
α-terpinil-acetát*	0,26	0,25	-	0,26	0,35	0,34	-
linalil-izobutanoát*	0,27	-	-	0,16	0,14	-	-
geranil-izobutirát*	0,14	0,21	-	0,1	0,14	0,17	-
kariofillén	**2,99**	**2,24**	**1,84**	**2,67**	**3,21**	**2,53**	**0,69**
ß-bizabolén*	**10,15**	**9,1**	**10,73**	**9,17**	**11,66**	**14,08**	**-**
spatulenol*	1,34	1,77	1,9	0,7	0,83	1,19	-
kariofillén-oxid*	1,72	2,38	2,89	1,14	1,63	0,57	-
l-epi-kubenol*	0,36	0,42	-	0,29	0,39	-	-
farnezol*	0,37	0,73	1,27	0,38	0,54	1	-

5.5.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az időtartam paraméter vizsgálata során 5 és 60 perc között teszteltük az extrakciós időtartam hatását a kihozatalra (konstans 10 MPa extrakciós nyomás és 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett). 5 és 45 perc között nem tapasztaltunk kiemelkedő értékeket, azonban efelett az időtartam növekedése hatékonynak bizonyult a kihozatal tekintetében (**30. ábra**). Csak az 50, 55 és 60 perces extrakciók esetén mérhettünk 0,1 % feletti hozamokat, azonban még ezen értékek sem közelítették meg a desztillált illóolaj mennyiségét (0,71 %). Az extrakciós időtartam kihozatalra gyakorolt szignifikáns hatását statisztikailag igazoltuk (p=0,000046) (**5g. melléklet**). A kivonási

módok (SFE és VGD) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **5i. melléklet**). Megállapítottuk azonban, hogy a nyomásparaméter hatásához képest kevésbé volt eredményes a kihozatal tekintetében az extrakciós időtartam növelése.



30. ábra: Az extrakciós időtartam hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Az időtartamoptimalizáció során ugyancsak a timol volt a fő komponens a szuperkritikus kivonatokban, karvakrol pedig csak igen csekély mennyiségben fordult elő (**36. táblázat**). Nagyobb arányban sikerült azonosítani a szén-dioxidos extraktumokban β-bizabolént (8,69-30,11 %) és

36. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása a magyar kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

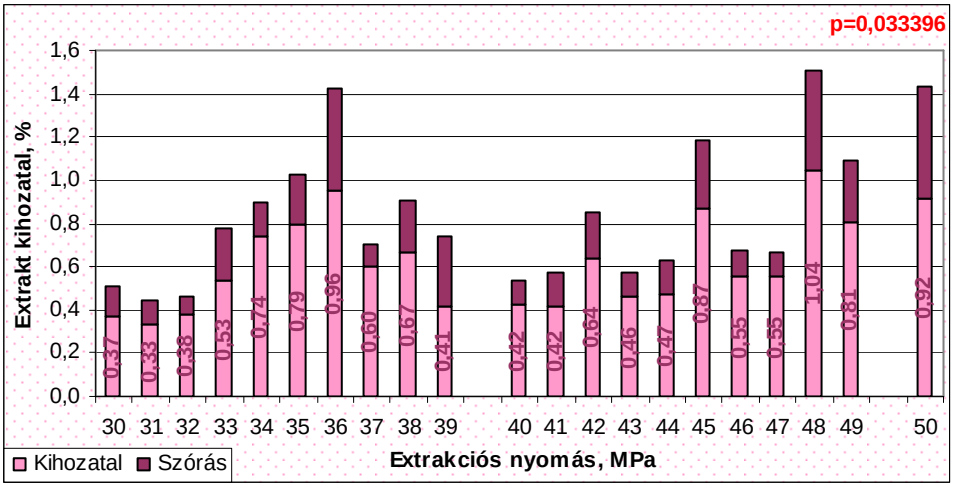
Komponensek	Extrakciós időtartam, min										VGD
	5	10	15	25	30	35	40	45	50	55	
	Komponensek aránya, %										
szabinén*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17	0,31	-
α-terpinén	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**12,35**
cimén*	5,43	-	-	-	0,33	-	-	-	0,14	0,15	-
limonén*	3,01	-	-	-	-	-	-	-	0,12	-	-
1,8-cineol	-	-	-	-	0,33	-	-	0,28	0,44	0,68	1,14
γ-terpinén	**3,58**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**6,13**
transz-szabinén-hidrát*	10,06	0,61	0,73	0,76	0,31	0,85	0,73	0,56	0,97	1,23	-
linalool*	-	0,80	0,97	0,97	0,70	1,05	0,52	0,9	1,19	1,32	-
kámfor*	-	-	0,44	-	0,51	-	0,54	0,5	0,52	0,35	-
izoborneol	2,91	1,72	2,49	2,18	3,05	2,09	2,11	2,59	2,94	3,69	1,75
terpinén-4-ol*	-	-	-	-	0,34	-	-	0,40	0,51	0,50	-
α-terpineol*	-	-	0,50	-	0,64	-	0,49	0,50	0,46	0,50	-
timol-metiléter	**4,88**	**1,81**	**2,12**	**2,25**	**1,35**	**3,07**	**1,87**	**1,47**	**1,76**	**2,00**	**8,66**
karvakrol-metiléter	**2,52**	**1,00**	**1,08**	**1,26**	**0,78**	**1,51**	**1,00**	**1,10**	**1,31**	**1,31**	**4,19**
geraniol*	**5,06**	**4,05**	**5,15**	**3,20**	**5,02**	**3,43**	**5,07**	**5,20**	**5,53**	**5,75**	**-**
timol	**45,82**	**42,29**	**42,36**	**46,51**	**51,22**	**53,74**	**49,69**	**50,55**	**46,74**	**46,44**	**64,27**
karvakrol*	-	0,82	0,72	1,11	0,83	1,08	0,84	0,97	1,09	1,00	-
α-terpinil-acetát*	-	0,55	-	-	0,25	0,56	0,53	0,34	0,39	0,33	-
geranil-izobutirát*	-	-	0,41	0,45	0,21	-	0,36	0,31	0,15	0,16	-
kariofillén	**5,84**	**2,25**	**3,03**	**2,64**	**2,24**	**2,52**	**2,78**	**2,06**	**4,12**	**3,70**	**0,69**
ß-bizabolén*	**-**	**30,11**	**18,11**	**17,42**	**9,10**	**8,69**	**14,36**	**11,39**	**9,57**	**9,49**	**-**
spatulenol*	3,52	3,38	2,28	3,55	1,77	3,06	2,55	2,43	1,45	0,98	-
kariofillén-oxid*	1,55	3,48	2,38	3,08	2,38	2,93	2,66	2,52	1,76	1,31	-
l-epi-kubenol*	-	1,22	0,83	0,76	0,42	-	-	-	0,46	0,33	-
farnezol*	-	0,72	0,55	1,93	0,73	0,60	0,66	0,85	0,29	-	-

geraniolt (3,20-5,75 %), melyek nem fordultak elő a desztillált kivonatban. Egyedül a timolra volt szignifikáns hatása az extrakciós időtartamváltozásnak (p=0,034084) (**5h. melléklet**), mely legnagyobb mennyiségben a 30 és 35 perces extrakciós időnél volt jelen az SFE-kivonatokban. A többi komponens aránya és előfordulására a nyomás- és hőmérsékletoptimalizációs kísérleteknél leírtaknak megfelelően alakult.

5.5.2. Nem illó komponensek kivonása

5.5.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

Nyomásoptimalizációt végeztünk 30 és 50 MPa között is a nem illó frakció kinyerése érdekében (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett). A kísérlet során 30 és 36 MPa között dinamikusan növekedett a kihozatali arány (**31. ábra**), majd 44 MPa nyomásértékig stagnált, végül pedig ismét növekedett a kivonatok mennyisége. 36 MPa és 48 MPa esetében kiemelkedő értékeket tapasztaltunk (0,96 % és 1,04 %), azonban még így sem értük el a kontroll Soxhlet-extraktum kihozatalát (27,13 %) (**16. táblázat**). Statisztikailag igazoltuk a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását a kihozatalra (p=0,033396) (**5j. melléklet**), valamint a különböző extrakciós módszerek (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **5k. melléklet**). Az egyes nyomástartományokban tapasztalt kihozatali átlagok alapján megállapítható, hogy a magasabb nyomástartományban a kihozatali arány is magasabb értékeket vett fel.



31. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a magyar kakukkfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,58 %, 40-49 MPa: 0,62 %, 50 MPa: 0,92 %

A nem illó frakció összetételének elemzésekor minden szuperkritikus mintánkban azonosítottunk rozmaring- és kávésavat, illetve luteolint (**37. táblázat**). A kontrollként alkalmazott Soxhlet-kivonat több rozmaring- (34,62 %) és kávésavat (2,93 %) tartalmazott a szén-dioxidos kivonatokhoz képest. Kiemelkedő rozmaringsav mennyiséget azonosítottunk 50 MPa nyomás

(16,96 %) esetén kapott SFE kivonatban, míg a 45 MPa nyomáson kivitelezett extrakció hozta a legnagyobb kávésav arányt (0,88 %). Ugyancsak az 50 MPa nyomáson előállított kivonatban mutattuk ki a legnagyobb luteolin arányt (2,64 %). A fentieken kívül jelentős mennyiségű rutin és klorogénsav volt kinyerhető Soxhlet-extrakcióval, mely azonban luteolin-mentesnek bizonyult.

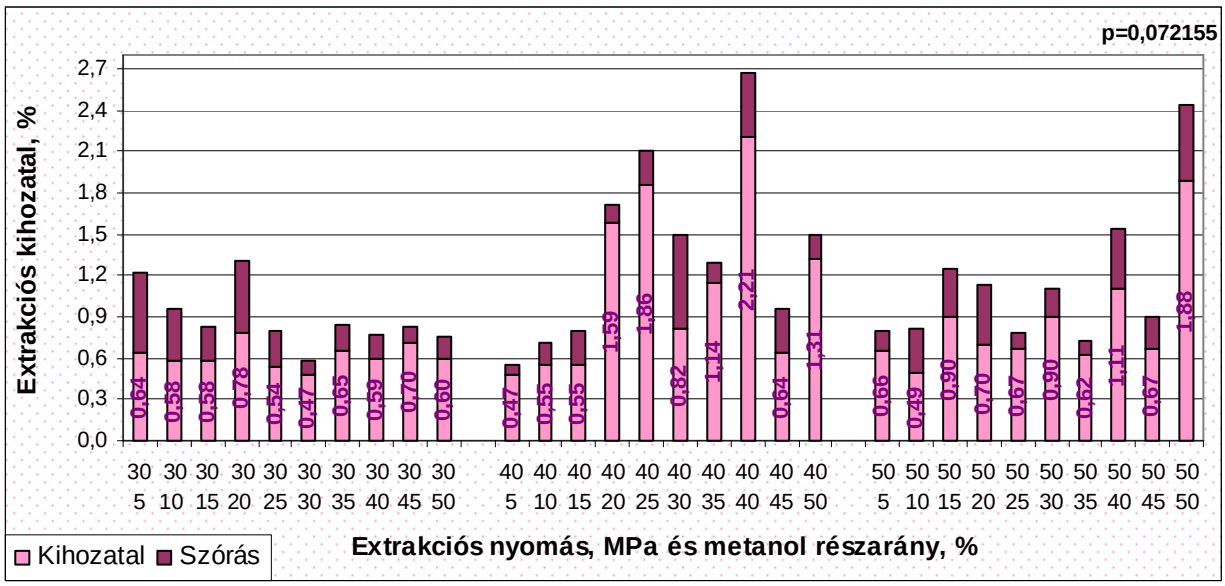
37. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a magyar kakukkfű nem illó frakciójának összetételére (%)

Extrakciós nyomás, MPa	Komponensek aránya, %				
	rozmaring-sav	kávésav	luteolin	rutin	klorogénsav
30	1,15	0,19	0,10	-	-
35	1,59	0,76	1,06	-	-
40	7,67	0,16	0,61	-	-
45	6,63	0,88	1,05	-	-
50	16,96	0,63	2,64	-	-
Soxhlet	34,62	2,93	-	12,81	33,96

5.5.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával

A nyomásparamétert hatását a nem illó frakció kinyerésére segédoldószer hozzáadásával is elemeztük. 30 MPa nyomásérték mellett csak csekély változást tapasztaltunk a kihozatal szempontjából (**32. ábra**). A segédoldószeres extrakcióban az egyes nyomásértékek (30, 40 és 50 MPa) átlagai alapján elmondható, hogy a 40 MPa extrakciós nyomáson nyert extraktok eredményezték a legmagasabb értékeket, ez után következett az 50 MPa, majd pedig a 30 MPa kivonatok átlagértéke (**32. ábra**). Ebből adódóan ezt a nyomást tartjuk az optimálisnak. 40 MPa extrakciós nyomáson 20-25 % illetve 40 % metanol részarány esetén születtek kiugró eredmények (1,59 %, 1,86 % illetve 2,21 %). 50 MPa nyomásértéken csak az 50 %-os metanol részaránnyal kinyert extraktum mennyisége volt figyelemre méltó (1,88 %), emiatt ezt a nyomásértéket nem tartjuk megfelelőnek. A segédoldószeres szuperkritikus szén-dioxid extrakcióval előállított minták kihozatala egy esetben sem közelítette meg a kontroll Soxhlet extrakcióval nyert értéket (27,13 %) (**16. táblázat**) Statisztikailag nem bizonyítottuk a nyomásváltoztatás és a segédoldószer alkalmazásának hatását a kihozatalra (p=0,072155; **5L. melléklet**). Az extrakciós módok (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **5n. melléklet**).

Összehasonlítva a tisztán szén-dioxidos és a segédoldószerrel kinyert kivonatok mennyiségét megállapítható, hogy a segédoldószeres SFE kivonatok kihozatali átlaga majdnem minden esetben elérte, illetve az alacsonyabb nyomásértékeknél (30-49 MPa) meg is haladta a tiszta SFE-CO_2 kivonatok átlagértékét (**31-32. ábra**).



32. ábra: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a magyar kakukkfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30 MPa: 0,61 %, 40 MPa: 1,11 %, 50 MPa: 0,86 %

A kivonatok összetétele részben megfelelt az SFE-CO_2-vel kinyert extraktumokénak. Minden szuperkritikus mintában azonosítottunk rozmaringsavat és luteolint, illetve a minták többségében kávésavat illetve apigenint (**38. táblázat**). Az apigenin - az évelő borsfűhöz hasonlóan - a magyar kakukkfűnél is csak a segédoldószer hatására jelent meg és vált a legfontosabb fenoloid összetevővé. Emelett jelentősen megnövekedett a rozmaringsav, a kávésav és a luteolin mennyisége is a tisztán fluid SFE-CO_2-vel kivont mintákhoz képest. A legnagyobb mennyiségű rozmaringsavat 50 MPa extrakciós nyomás és 50 % metanol részarány mellett (26,53 %), luteolint ugyancsak ezen paraméterek mellett (41,01 %) nyertünk ki. Az apigenin, a rozmaringsav és a luteolin esetében megállapítottuk, hogy a nyomás és a segédoldószer arányának emelésével adott komponens mennyisége is növekedett a kivonatokban. Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatását a különböző komponensekre azonban statisztikailag nem tudtuk igazolni (luteolin: p=0,075796; rozmaringsav: p=0,231756) (**5m. melléklet**), azonban a kivonási módok (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbség (p=0,000000; **5n. melléklet**).

A nem illó kompnensekre vonatkozó eredményeink a *Satureja* fajoknál kapottakkal egybecsengenek, hiszen ott sem tudtunk rutint és klorogénsavat kinyerni SFE módszerrel - segéoldószerrel sem -, kizárólag Soxhlet-extrakcióval.

38. táblázat: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a magyar kakukkfű nem illó frakciójának összetételére (%)

Extrakciós nyomás, Mpa és metanol részaránya, %	Komponensek aránya, %					
	rozmaring-sav	kávésav	luteolin	apigenin	rutin	klorogén-sav
30 10	19,72	5,66	2,23	43,67	-	-
30 20	14,93	4,42	5,58	32,04	-	-
30 30	6,33	0,72	6,28	44,45	-	-
30 40	15,12	3,04	7,04	53,87	-	-
30 50	7,00	0,51	5,08	32,76	-	-
40 10	13,11	2,62	19,51	52,66	-	-
40 20	13,52	1,26	14,25	60,48	-	-
40 30	15,76	-	28,34	55,11	-	-
40 40	12,75	1,21	12,53	56,48	-	-
40 50	11,82	1,35	9,27	58,24	-	-
50 10	13,12	-	8,64	76,12	-	-
50 20	10,67	1,80	16,30	64,86	-	-
50 30	13,97	4,45	12,71	69,39	-	-
50 40	20,12	-	26,01	-	-	-
50 50	26,53	-	41,01	-	-	-
Soxhlet	34,62	2,93	-	-	12,81	33,96

5.5.3. Összegzés

Az illó frakció nyomásoptimalizációja során optimális eredményre jutottunk 13 MPa extrakciós nyomás alkalmalzásakor, ugyanakkor a timol aránya 19 MPa-nál, a timol-metiléter aránya 12 MPa-nál valamint a β-bizabolén aránya 28 MPa-nál érte el a legmagasabb értékét. A hőmérséklet paraméter tesztelésekor kihozatal szempontjából a legjobb eredményt az 50 °C-os extrakció hozta, azonban a timol aránya 45 °C-on, míg a β-bizabolén aránya 60 °C-on volt optimális. Az 50 perces extrakciós időtartam eredményezte az optimális kihozatalt a paraméter vizsgálata során, ám a timol aránya a 35 perces, míg a β-bizabolén aránya a 10 perces extrakciós időtartam eredményeként volt optimális.

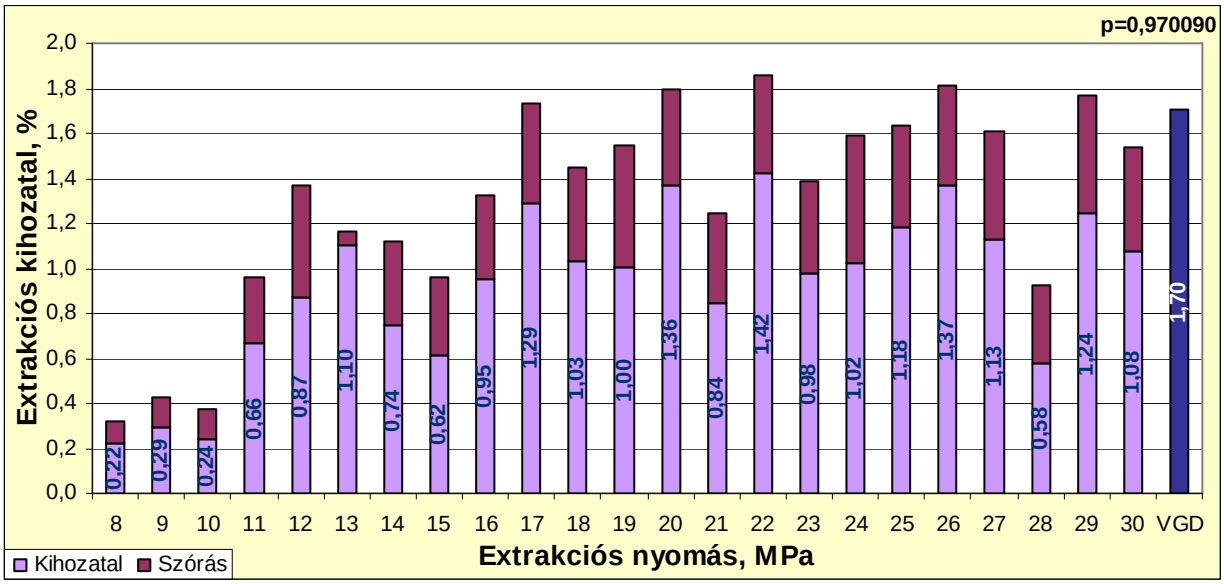
A nem illó frakció elemzése során 36 MPa nyomásérték eredményezett először megfelelő kihozatalt, azonban a kávésav aránya 45 MPa nyomásérték esetén, míg a rozmaringsav és a luteolin aránya 50 MPa extrakciós nyomásnál volt optimális. A segédoldószeres extrakció már 40 MPa extrakciós nyomás és 20-40 % metanol részarány mellett figyelemre méltó kihozatali értékeket eredményezett. A kávésav aránya a 30 MPa nyomásnál 10 % metanol részarány, míg a rozmaringsav, a luteolin és az apigenin aránya 50 MPa nyomás és 30-50 % metanol részarány esetén volt optimális. Összehasonlítva a tisztán szén-dioxidos és a segédoldószerrel kinyert kivonatok mennyiségét megállapítható, hogy a segédoldószeres SFE kivonatok kihozatali átlaga majdnem minden esetben elérte, illetve az alacsonyabb nyomásértékeknél (30-49 MPa) meg is haladta a tiszta SFE-CO_2 kivonatok átlagértékét.

5.6. A *Thymus vulgaris* szuperkritikus kivonatainak értékelése

5.6.1. Illó komponensek kivonása

5.6.1.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

A kísérlet során a nyomás paramétert 8 és 30 MPa között teszteltük (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett). 17 MPa nyomásértéke felett értünk el magasabb kihozatali arányokat (**33. ábra**), azonban még így sem sikerült elérni a desztillációval kinyert illóolaj mennyiségét (1,70 %). A nyomásváltoztatás hatását a kihozatalra nem sikerült statisztikailag igazolni (p=0,970090) (**6a. melléklet**). Nem volt szignifikáns különbség a kivonási módok között (p=0,117740; **6c. melléklet**) Optimális paraméternek kihozatal szempontjából a 20-22 MPa extrakciós nyomásértékeket tekinthetjük.



33. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A szuperkritikus minták összetétele hasonlóan alakult a magyar kakukkfű eredményeihez. A fő komponens az SFE és a VGD kivonatokban is a timol volt, illetve kisebb mennyiségben kimutattunk még γ-terpinént, p-cimolt és karvakrolt is (**39. táblázat**). A szuperkritikus kivonatokban a timol mennyisége nem érte el, de több esetben megközelítette a desztillátumban regisztrált értéket (69,91 %). A p-cimol aránya kétféle kivonatban közel azonosnak volt tekinthető. A legmagasabb timol arányt (67,03 %) 18 MPa nyomás mellett értük el. A γ-terpinén kisebb arányban volt kimutatható az SFE-kivonatokban, mint a desztillált illóolajban. Ez a *Satureja* fajokhoz és a magyar kakukkfűhöz hasonló tendenciának tekinthető. A fenolos komponensek közül a karvakrol az SFE-extraktumokban volt nagyobb arányban jelen ezeknél a fajoknál (a *Satureja montana* kivételével). Számos minor komponenst is sikerült azonosítanunk, azonban ezek általában nagyobb részarányban fordultak elő a szuperkritikus kivonatokban a desztillátumhoz képest. Kilenc

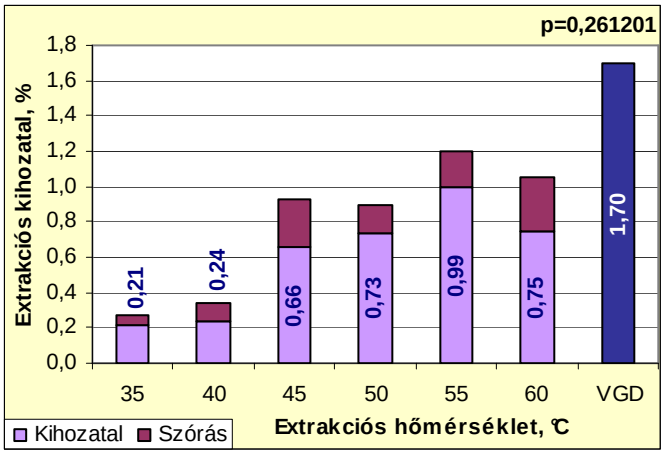
mono- és 2 szeszkviterpén csak az SFE extraktumokban volt jelen az azonosított komponensek közül. Statisztikailag csupán a karvakrol (p=0,042462) és a karvakrol-metiléter (p=0,044860) arányára vonatkozóan tudtuk igazolni a nyomásváltoztatás hatását (**6b. melléklet**).

39. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponensek, %	Extrakciós nyomás, MPa											VGD
	8	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
	Komponensek aránya, %											
alfa-pinén*	0,14	0,20	0,20	0,06	0,09	0,18	0,16	0,25	0,25	0,08	0,37	-
kámfén*	0,14	0,12	0,12	-	0,06	0,12	-	0,14	0,14	-	0,21	-
béta-fellandrén*	0,64	0,42	0,44	0,29	0,32	0,38	0,36	0,41	0,41	0,30	0,44	-
béta-pinén*	-	-	-	-	-	-	-	0,08	-	-	0,12	-
béta-mircén	-	0,69	0,78	0,28	0,39	0,67	0,57	0,70	0,73	0,25	0,9	0,46
alfa-terpinén	0,55	0,62	0,76	0,32	0,43	0,66	0,59	0,68	0,70	0,12	0,79	0,50
p-cimol	**11,33**	**8,82**	**8,86**	**4,49**	**6,20**	**8,08**	**7,40**	**7,72**	**8,85**	**4,95**	**10,1**	**9,99**
limonén	0,39	0,33	0,36	0,15	0,23	0,33	0,30	0,33	0,37	0,15	0,43	0,18
1,8-cineol	0,78	0,51	0,63	0,30	0,34	0,54	0,39	0,51	0,52	0,29	0,60	0,52
gamma-terpinén	**3,99**	**3,89**	**5,29**	**1,77**	**2,23**	**4,30**	**3,50**	**4,20**	**4,19**	**0,95**	**4,65**	**10,48**
terpinolén	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,13
transz-szabinén-hidrát*	2,07	1,31	1,4	0,93	1,03	1,23	1,08	1,25	1,22	1,11	1,15	-
linalool	3,74	2,23	2,47	0,81	1,92	2,05	1,87	1,97	2,06	1,98	1,99	1,69
kámfor*	0,42	0,23	0,25	0,18	0,17	0,21	0,19	0,20	0,20	0,22	0,20	-
borneol	1,20	0,81	0,82	0,71	0,70	0,74	0,68	0,73	0,71	0,81	0,68	0,79
terpinén-4-ol*	0,43	0,28	0,31	0,29	0,26	0,26	0,25	0,26	0,25	0,3	0,27	-
alfa-terpineol*	0,23	0,17	0,18	0,21	0,15	0,15	0,14	0,14	0,14	0,18	0,15	-
timol-metil-éter	-	-	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	0,16
karvakrol-metil-éter	0,79	0,49	0,54	0,37	0,38	0,43	0,35	0,37	0,41	0,38	0,38	0,15
geraniol*	0,48	0,41	0,41	0,43	0,44	0,43	0,44	0,46	0,50	0,56	0,39	-
timol	**54,01**	**51,27**	**54,98**	**62,16**	**67,03**	**60,61**	**66,17**	**54,73**	**59,8**	**57,31**	**58,57**	**69,91**
karvakrol	**3,79**	**3,85**	**4,18**	**4,70**	**5,07**	**4,57**	**5,07**	**4,20**	**4,6**	**4,55**	**4,52**	**2,39**
neril-acetát*	-	-	-	0,06	0,06	-	-	-	-	0,12	-	-
geranil-acetát	-	-	-	0,06	0,07	-	-	-	-	0,11	-	0,90
β-kariofillén*	4,15	2,83	3,13	2,34	2,43	2,65	2,46	2,42	2,69	2,42	2,53	-

5.6.1.2. Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja

A hőmérséklet paraméter tesztelése során 35 és 60 °C között vizsgáltuk hatásukat a kihozatalra és az illó frakció öszetételére (konstans 10 MPa extrakciós nyomás és 30 min extrakciós időtartam mellett). A szakirodalomban (Zekovic *et al.*, 2000) leírt 40 °C-os extrakciós hőmérséklet esetünkben gyenge eredményt hozott (0,73 %), a hőmérséklet további emelésével viszont jelentősen növelhető volt a kihozatal. Egyik hőmérsékleti értékkel sem sikerült azonban megközelítenünk a desztillációval előállítható mennyiségét (1,70 %) (**34. ábra**). Statisztikailag nem sikerült igazolni a hőmérsékletváltoztatás szignifikáns hatását (p=0,261201) (**6c. melléklet**), azonban szignifikáns különbség volt a kivonási módok (SFE és VGD) között (p=0,000293; **6f. melléklet**).



34. ábra: Az extrakciós hőmérséklet hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

A hőmérséklet optimalizáció során kapott eredmények a nyomásoptimalizációhoz hasonlóan alakultak (**40. táblázat**). A 40 °C-on extrahált minta timoltartalma (68,93 %) megközelítette a

40. táblázat: Az extrakciós hőmérséklet hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

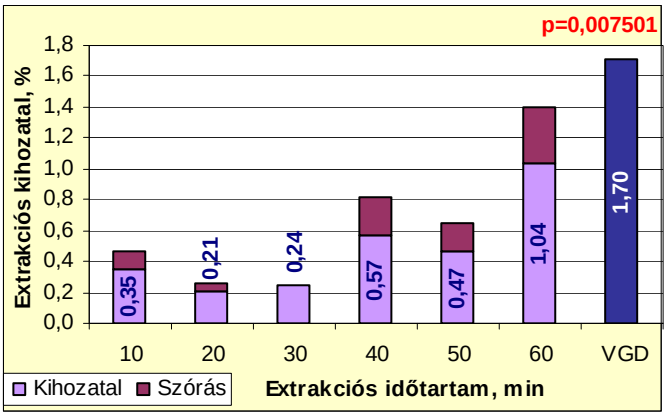
Komponensek, %	Extrakciós hőmérséklet, ℃						VGD
	35	40	45	50	55	60	
	Komponensek aránya, %						
alfa-pinén*	0,24	-	0,13	0,10	0,40	0,30	-
kámfén*	0,16	-	0,08	-	0,22	0,17	-
béta-fellandrén*	0,47	0,36	0,37	0,49	0,57	0,58	-
béta-pinén*	-	-	-	-	0,14	0,11	-
béta-mircén	0,68	-	0,44	0,40	1,18	0,94	0,46
alfa-terpinén	0,61	-	0,42	0,40	1,05	0,89	0,50
p-cimol	**7,54**	**0,57**	**6,16**	**5,62**	**9,99**	**8,64**	**9,99**
limonén	0,30	-	0,22	0,18	0,47	0,39	0,18
1,8-cineol	0,51	0,31	0,38	0,50	0,74	0,70	0,52
gamma-terpinén	**3,68**	**0,34**	**2,36**	**2,57**	**8,13**	**6,84**	**10,48**
terpinolén	-	-	-	-	-	-	1,13
transz-szabinén-hidrát*	1,35	1,41	1,11	1,65	1,93	1,98	-
linalool	2,49	2,79	1,97	2,86	2,78	2,92	1,69
kámfor*	0,23	0,32	0,20	0,30	0,27	0,28	-
borneol	0,76	1,00	0,68	0,95	0,88	0,93	0,79
terpinén-4-ol*	0,33	1,42	0,28	0,41	0,37	0,38	-
alfa-terpineol*	0,17	0,23	0,15	0,24	0,20	0,21	-
timol-metil-éter	-	-	-	-	-	-	0,16
karvakrol-metil-éter	0,45	0,47	0,37	0,50	0,53	0,53	0,15
geraniol*	0,40	0,69	0,40	0,55	-	-	-
timol	**55,55**	**68,93**	**58,11**	**61,18**	**55,19**	**57,62**	**69,91**
karvakrol	**4,17**	**5,22**	**4,47**	**4,83**	**4,23**	**4,40**	**2,39**
neril-acetát*	-	-	0,09	0,19	0,13	0,12	-
geranil-acetát	-	-	-	0,15	0,11	-	0,90
β-kariofillén*	3,38	3,72	2,82	3,79	3,41	3,61	-
kariofillén-oxid*	0,49	0,79	0,39	0,54	0,45	0,50	-

desztillátumban regisztrált értéket (69,91 %). A p-cimol (0,57-9,99 %) szén-dioxidos kivonatokra jellemző aránya megközelítette, illetve egy esetben (55 °C) meg is haladta a desztillátumban kimutatott értéket (9,99 %).

A β-fellandrén (p=0,031563), a transz-szabinén-hidrát (p=0,014940) és a karvakrol-metiléter (p=0,048823) esetében statisztikailag is bizonyítható a hőmérsékletváltozás szignifikáns hatása (**6e. melléklet**).

5.6.1.3. Az extrakciós időtartam optimalizációja

Az extrakciós időtartamot 10 és 60 perc között teszteltük (konstans 10 MPa extrakciós nyomás és 40 °C extrakciós hőmérséklet mellett). Az extrakciós időtartam növekedésével növelhető volt a bázisértékhez (30 min: 0,24 %) képest a kihozatal, azonban nem érte el a desztillált kivonat mennyiségét (1,70 %) (**35. ábra**). A 60 perc alatt extrahált hozam volt a legmagasabb (1,04 %). Az időtartam változtatás hatását statisztikailag igazoltuk (p=0,007501) (**6g. melléklet**). Szignifikáns különbség volt az egyes kivonási módok (SFE és VGD) között (p=0,000736; **6i. melléklet**).



35. ábra: Az extrakciós időtartam hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának kihozatalára (%) (VGD: desztillált illóolaj)

Az időtartam optimalizáció során az összetétel megfelelően alakult. A desztillátumban jelenlévő fő komponensek (timol, γ-terpinén és p-cimol) arányát a szuperkritikus kivonatokban mérhető értékek nem érték el, bár a hosszabb extrakciós idő alatt extrahált SFE-kivonatokban a timol aránya fokozatosan növekedett (**41. táblázat**). A legmagasabb timol arányt a 60 perces extrakció során mutattunk ki (67,49 %). A timol (p=0,028331), a γ-terpinén (p=0,037579) és az 1,8-cineol (p=0,022654) esetében tudtuk statisztikailag is alátámasztani az időtartam változtatás szignifikáns hatását (**6h. melléklet**).

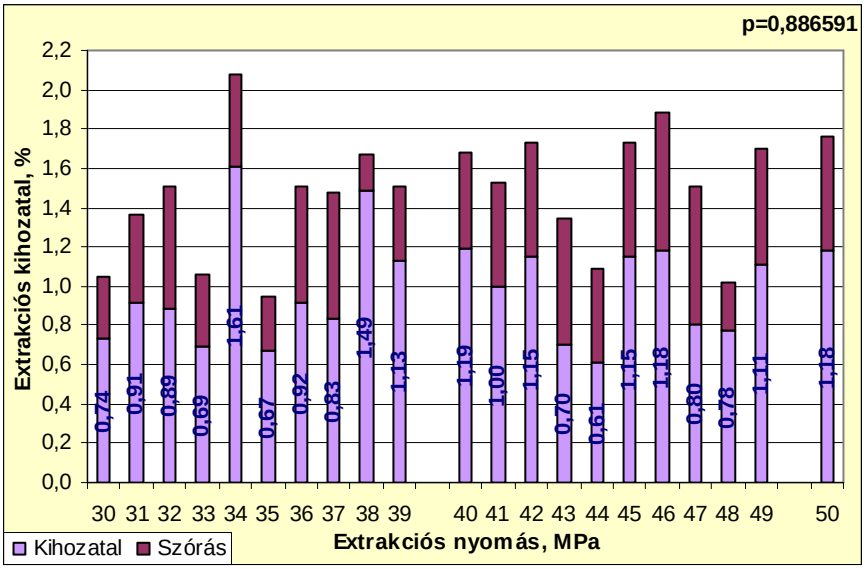
41. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása a kerti kakukkfű illó frakciójának összetételére (%) (VGD: desztillált illóolaj)
***= csak az SFE extraktumokban kimutatható komponensek**

Komponens	Extrakciós időtartam, min						VGD
	10	20	30	40	50	60	
	Komponensek aránya, %						
alfa-pinén	0,18	0,26	0,1	0,1	-	0,08	-
kámfén	0,14	0,15	0,07	0,07	0,11	-	-
béta-fellandrén	0,48	0,51	0,34	0,35	0,47	0,34	-
béta-mircén	0,7	1	0,39	0,38	0,11	0,41	0,46
alfa-terpinén	0,7	0,92	0,38	0,41	0,21	0,45	0,5
p-cimol	**7,48**	**9,38**	**5,33**	**5,67**	**2,6**	**6,11**	**9,99**
limonén	0,31	0,44	0,18	0,19	0,16	0,22	0,18
1,8-cineol	0,62	0,53	0,36	0,38	0,45	0,43	0,52
gamma-terpinén	**4,84**	**6,57**	**1,9**	**1,98**	**1,88**	**2,99**	**10,48**
terpinolén	-	-	-	-	-	-	1,13
transz-szabinén-hidrát	1,71	1,51	0,88	1,03	1,75	1,18	-
linalool	2,79	2,73	1,76	1,97	3,15	1,79	1,69
kámfor	0,32	0,25	0,17	0,18	0,33	0,14	-
borneol	0,92	0,78	0,62	0,67	1,02	0,69	0,79
terpinén-4-ol	0,4	0,34	0,26	0,27	0,44	0,29	-
alfa-terpineol	0,23	0,18	0,14	0,15	0,23	0,15	-
timol-metil-éter	-	-	-	-	-	0,08	-
karvakrol-metil-éter	0,48	0,51	0,31	0,39	0,5	0,34	-
geraniol	0,43	0,41	0,37	0,44	0,45	-	-
timol	**59,39**	**57,74**	**64,36**	**61,15**	**67,06**	**67,49**	**69,91**
karvakrol	**4,69**	**4,46**	**4,93**	**4,69**	**5,07**	**5,48**	**2,39**
neril-acetát	0,12	-	-	-	-	0,14	-
geranil-acetát	0,13	-	0,06	0,06	-	0,13	0,9
β-kariofillén	3,41	3,55	2,32	2,74	4,08	2,82	-
kariofillén-oxid	0,72	0,71	0,35	1,11	0,81	0,36	-

5.6.2. Nem illó komponensek kivonása

5.6.2.1. Az extrakciós nyomás optimalizációja

Nyomásoptimalizációt végeztünk 30 és 50 MPa között a nem illó frakció optimális kinyerése érdekében (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett). Ennek során 34 MPa és 38 MPa mellett értünk el kiemelkedő eredményeket (1,61 % és 1,49 %) (**36. ábra**). A kontroll minta mennyiségét (22,43 %) (**16. táblázat**) nem érték el a szén-dioxidos minták kihozatali értékei. Statisztikailag nem tudtuk igazolni a nyomásváltoztatás szignifikáns hatását a kihozatalra (p=0,886591) (**6j. melléklet**). Az extrakciós mószerek között (SFE és Soxhlet) szignifikáns különbség volt (p=0,000000; **6k. melléklet**).



36. ábra: Az extrakciós nyomás hatása a kerti kakukkfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30-39 MPa: 0,99 %, 40-49 MPa: 0,97 %, 50 MPa: 1,18 %

A kivonatok összetételét tekintve heterogén képet kaptunk (**42. táblázat**). 30, 35 és 40 MPa nyomáson extrahált SFE-mintákban azonosítottunk luteolint (0,18-1,89 %), rozmaringsavat (0,12-3,55 %) és kvercetint (0,16-1,37 %) is, azonban a 45 MPa nyomáson csak rozmaringsavat (5,46 %), míg 50 MPa nyomáson csupán kvercetint (0,88 %) sikerült kimutatnunk. A kontroll Soxhlet kivonat a legmagasabb szuperkritikus kivonat rozmaringsav tartalmánál egy nagyságrenddel nagyobb mennyiségben tartalmazta a komponenst (23,23 %). Ezen kívül csak a Soxhlet-extraktum tartalmazott rutint, kávésavat, klorogénsavat is.

A vizsgált komponensek heterogén előfordulása miatt nem alkalmazhattunk statisztikai próbát a nyomás hatásának vizsgálatára.

42. táblázat: Az extrakciós nyomás hatása a kerti kakukkfű nem illó frakciójának összetételére (%)

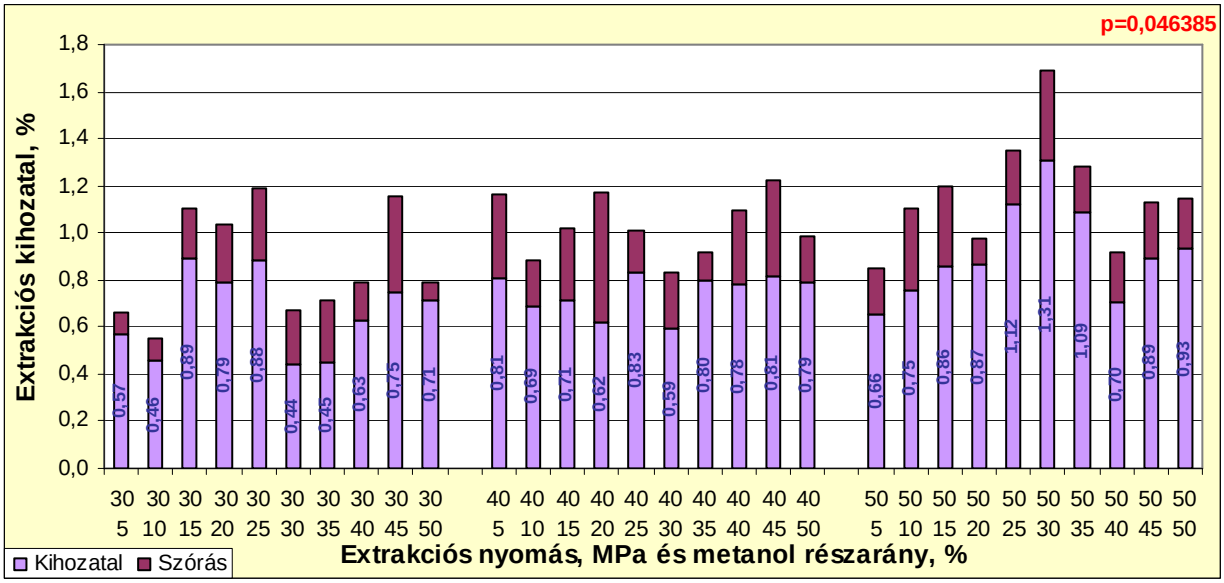
Extrakciós nyomás, MPa	Komponensek aránya, %					
	luteolin	rozmaringsav	kvercetin	rutin	kávésav	klorogénsav
30	0,18	0,12	0,16	-	-	-
35	0,77	0,30	0,44	-	-	-
40	1,89	3,55	1,37	-	-	-
45	-	5,46	-	-	-	-
50	-	-	0,88	-	-	-
Soxhlet	1,06	23,23	-	1,56	3,13	36,34

5.6.2.2. Az extrakciós nyomás optimalizációja segédoldószer hozzáadásával

Nyomásoptimalizációt végeztünk 30 és 50 MPa között 5-50 % metanol segédoldószer hozzáadásával is (konstans 40 °C extrakciós hőmérséklet és 30 min extrakciós időtartam mellett).

Kiemelkedő kihozatali értékeket regisztráltunk 50 MPa extrakciós nyomáson, különösen 25-35 % metanol részarány mellett (1,12 %, 1,31 % illetve 1,09 %) (**37. ábra**). A segédoldószeres nyomásoptimalizáció során a kivonatok mennyisége egy esetben sem érte el a kontroll Soxhlet kivonat mennyiségét (22,43 %) (**16. táblázat**). Statisztikailag igazolni tudtuk a nyomásváltoztatás és a segédoldószer együttes alkalmazásának szignifikáns hatását a kihozatalra (p=0,046385) (**6L. melléklet**), valamint a kivonási módok (SFE és Soxhlet) között szignifikáns volt a különbség (p0,000000; **6m. melléklet**).

Összehasonlítva a tiszta SFE-CO_2-vel és a segédoldószerrel nyert minták kihozatalát megállapítható, hogy a segédoldószer hatására ugyan csökkent a szuperkritikus minták kihozatala, azonban a segédoldószeres minták átlaga 30, 40 és 50 MPa nyomásértékeken egyértelműen növekszik, tehát a magasabb nyomásértékek magasabb kihozatalt eredményeznek a segédoldószer mennyiségi arányától függetlenül (**36-37. ábrák**).



37. ábra: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a kerti kakukkfű nem illó frakciójának kihozatalára (%)
Kihozatalok átlaga: 30 MPa: 0,66 %, 40 MPa: 0,74 %, 50 MPa: 0,92 %

A segédoldószer hozzáadásával extrahált szuperkritikus kivonatok összetétele – hasonlóan az előző kísérlethez – igen heterogén képet mutatott (**43. táblázat**). A minták többségében sikerült kimutatnunk luteolint, rozmaringsavat és kvercetint. A rozmaringsav 30 MPa nyomáson függetlenül a hozzáadott segédoldószer mennyiségétől, szinte csak nyomokban volt kimutatható (4,40-8,76 %). 30 MPa nyomás és 50 % segédoldószer mellett nyertük ki a legnagyobb mennyiségű luteolint (44,33 %), illetve a komponens kinyert aránya minden esetben meghaladta a Soxhlet-mintában detektált arányt (1,06 %). A rozmaringsav esetén a legnagyobb értéket 50 MPa és 50 % metanol részarány (65,17 %) esetén tapasztaltuk, mely még a kontroll értéket is meghaladta (23,23 %).

A komponensek heterogén előfordulása miatt nem alkalmazhattunk statisztikai próbát a nyomás és a segédoldószer összetételre gyakorolt hatásának vizsgálatára.

43. táblázat: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a kerti kakukkfű nem illó frakciójának összetételére (%)

Extrakciós nyomás, MPa és metanol részarány, %	Komponensek aránya, %					
	luteolin	rozmaring-sav	kvercetin	rutin	kávésav	klorogén-sav
30 10	-	4,40	1,79	-	-	-
30 20	20,35	-	0,22	-	-	-
30 30	32,85	8,76	5,19	-	-	-
30 40	19,82	-	4,23	-	-	-
30 50	44,33	-	0,32	-	-	-
40 10	9,65	-	5,75	-	-	-
40 20	3,16	-	0,52	-	-	-
40 30	3,11	18,09	5,21	-	-	-
40 40	5,11	16,62	6,22	-	-	-
40 50	-	-	1,51	-	-	-
50 10	10,01	30,54	5,90	-	-	-
50 20	-	-	-	-	-	-
50 30	13,24	41,27	-	-	-	-
50 40	8,60	27,75	-	-	-	-
50 50	22,85	65,17	-	-	-	-
Soxhlet	1,06	23,23	-	1,56	3,13	36,34

5.6.3. Összegzés

Az illó frakció nyomásoptimalizációja során megállapítottuk, hogy optimális tartománynak lehet tekinteni a 20-22 MPa közötti extrakciós nyomást, azonban a főbb komponensek, a timol aránya 18 MPa, míg a p-cimol és a γ-terpinén aránya 14 MPa extrakciós nyomásnál volt optimális. 55 °C extrakciós hőmérséklet eredményezte a legmagasabb kihozatali arányt, ám a timol és a karvakrol aránya 40 °C-on, illetve a p-cimol aránya 55 °C-on bizonyult optimálisnak. A 60 perces extrakciós időtartam hozta meg az optimális kihozatali arányt, illetve timolnál és karvakrolnál is ezen időtartam mellett volt a legmagasabb a komponensek aránya. A p-cimol és γ-terpinén aránya már a 20 perces extrakció alatt elérte a maximumot.

A nem illó frakció vizsgálata során optimális tartománynak tekinthető a 34-38 MPa extrakciós nyomásérték, azonban a luteolin és a kvercetin aránya 40 MPa, míg a rozmaringsav aránya 45 MPa nyomáson volt optimális. A segédoldószerrel végzett kísérletben a legmagasabb kihozatali arányokat 50 MPa nyomáson és 25-35 % metanol részarány esetén értük el. A luteolin aránya 30 MPa nyomáson 50 % metanollal, a rozmaringsav aránya 50 MPa nyomáson 50 % metanollal, valamint a kvercetin aránya 40 MPa nyomáson 40 % metanol segédoldószerrel volt opimálisnak tekinthető. Összehasonlítva a tiszta SFE-CO_2-vel és a segédoldószerrel nyert minták kihozatalát megállapítható, hogy a segédoldószer hatására ugyan csökkent a szuperkritikus minták kihozatala, azonban a segédoldószeres minták átlaga 30, 40 és 50 MPa nyomásértékeken egyértelműen növekszik, tehát a magasabb nyomásértékek magasabb kihozatalt eredményeznek a segédoldószer mennyiségi arányától függetlenül.

5.7. 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 majdnem 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 β-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 a legkiemelkedőbb. A kariofillén-oxid esetében igazoltuk, hogy a 60 perces extrakciós időtartam nagyobb arányt eredményez.

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 elsőként azonosítottunk kiemelkedő mennyiségű rozmaringsavat nyertünk ki. Az eriodiktiolt első alkalommal mutattuk ki a citromfű szuperkritikus kivonatából. A szakirodalomból ismertekhez képest ugyancsak első alkalommal nyertünk ki 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 első alkalommal bizonyítottuk, hogy 15 MPa extrakciós nyomásnál optimális az illó komponensekben dús extrakt kihozatala. Megállapítottuk, hogy a linalool mennyisége 18 MPa nyomáson kiemelkedő, az esztragolé pedig 11 és 25 MPa extrakciós nyomás esetében a legmagasabb. Bizonyítottuk, hogy összetétel szempontjából a 40 és 50 °C közötti tartomány között találjuk az optimális hőmérséklet paramétert, ugyanis a linalool aránya 50 °C-on, míg az esztragolé 40-45 °C-on volt kiemelkedő. Az időtartam tesztelése során elsőként igazoltuk, hogy a 40 perces extrakciós időtartam 50 %-kal nagyobb kihozatali arányt eredményez a szakirodalomban ajánlott 30 perces extrakciós időtartamhoz képest. Tisztáztuk

továbbá, hogy a linalool tartalom szempontjából a 15 perces extrakciós időtartam az optimális, ugyanakkor az esztragol esetében a 60 perces extrakció eredményezi a legmagasabb értéket.

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 rutint a szuperkritikus kivonatokban 35 és 45 MPa, klorogénsavat 45 MPa, apigenint 50 MPa, apigenin-7-glikozidot 35 MPa, eriodiktiolt 45 MPa extrakciós nyomásérték mellett. Ezeken 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. Újonnan igazoltuk továbbá a szuperkritikus kivonatokban az apigenin, az apigenin-7-glikozid, az eriodiktiol valamint 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 γ-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. A karvakrol mennyisége a 30 perces extrakció során volt a legmagasabb, míg az 50, illetve a 60 perces extrakció a γ-terpinén és a p-cimol esetében hozott kiemelkedő eredményt. Az időparaméter hatása a kihozatalra szignifikánsnak bizonyult.

A nem illó frakció nyomás SFE-CO_2 kivonószerrel történő optimalizációja során már a 39 MPa extrakciós nyomás optimális kihozatalt eredményezett. Elsőként azonosítottunk kerti borsfű kivonatában eriodiktiolt és urzolsavat. Elsőként elemeztük e fajnál a segédoldószer alkalmazásával előállított szuperkritikus minták összetételét. 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. A segédoldószeres kivonatok mindegyikében első alkalommal azonosítottunk urzolsavat. A borsfű nem illó frakciója kihozatalának optimalizációja szempontjából először került megállapításra, 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. Továbbá azt is bizonyítottuk, hogy az idő és a hőmérséklet jelentős befolyással van néhány komponens arányára is. 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-cimolnál a 45 perces extrakció tekinthető megfelelőnek.

A nem illó frakció fluid szén-dioxiddal végzett extrakciós kísérlete során első alkalommal 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_2+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 újnak tekinthetők.

Az illó frakció nyomásoptimalizációja során bizonyítottuk, hogy a nyomás hatást gyakorol a kihozatalra. Elsőként állapítottuk meg, hogy optimális a 13 MPa extrakciós nyomás alkalmazása, ugyanakkor a timol 19 MPa-nál, a timol-metiléter 12 MPa-nál, a β-bizabolén pedig 28 MPa nyomásnál érte 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 β-bizaboléné 60 °C-on volt optimális. A hőmérséklet vizsgálata során csak a geraniol és a spathulenol 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 β-bizaboléné pedig a 10 perces extrakciós időtartam eredményeként volt optimális. 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 magyar kakukkfűnél luteolint, melynek aránya 50 MPa extrakciós nyomásnál volt kiemelkedő. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a kihozatalt szemlélve 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_2 eredményekhez hasonlóan, kísérletünkban ugyancsak elsőként 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. Újonnan 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 első alkalommal azonosítottunk kvercetint a kerti kakukkfű SFE kivonataiban. Újonnan 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 szén-dioxidos mintákból segédoldószer alkalmazása mellett is.

6. 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, poláris, nagyobb molekulatömegű hatóanyagok kivonására hagyományosan alkalmazott Soxhlet-extrakció során ugyancsak a hőmérséklet, valamint az eltérő polaritású és kivonóképességű 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 össszetételéhez, 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_2-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_2-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_2 extrahálószer javasolható. Az apigenin-7-glikozid és az eriodiktiol komponensek kimutatására a segédoldószeres SFE-extrakció a követendő.
- A *Satureja hortensis* illó frakciójának SFE-CO_2-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 szén-dioxiddal megfelelő arányban kinyerhető, azonban az apigenin, a kvercetin és a kvercitrin csak segédoldószer segítségével

extrahálható kielégítő arányban. A kávésav 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 β-bizabolén 28 MPa nyomás, 60 °C hőmérséklet és 10 perces extrakciós időtartam mellett nyerhető ki optimális arányban. A luteolin, a kávésav és az apigenin komponensek kivonására a Soxhlet-extrakció volt a legeredményesebb módszer. A segédoldószeres fluid extrakció a luteolin, a kávésav és az apigenin komponensek kivonására ajánlható.
- A *Thymus vulgaris* illó frakciójának SFE-CO_2 extrakciójakor a timol 18 MPa nyomáson, 40 °C hőmérsékleten és 60 perces időtartam alatt vonható ki eredményesen, ugyanakkor a másik fő komponens, a p-cimol 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 kávésav 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.

Az **1L. mellékletben** nyomon követhető, hogy az alkalmazott kivonási módszerek mely fajoknál és mely paraméter optmalizációja során voltak szignifikáns különbségek (95 %-os valószínűségi szinten) a kivonási módok között. Az illékony frakció vizsgálata során a vízgőzdesztillátum (VGD), míg a nem illékony frakció elemzésekor Soxhlet-kivonat szolgált kontrollként. Az illó frakció vizsgálata során évelő borsfűnél és magyar kakukkfűnél a nyomás és időtartam paraméternél, kerti borsfűnél és kerti kakukkfűnél csak az időtartam paraméternél volt

statisztikailag igazolható különbség a különböző kivonási módok között. A nem illó frakció vizsgálata során citromfű, évelő borsfű és magyar kakukkfűnél a nyomás paramáternél, míg kerti bazsalikom, kerti borsfű és kerti kakukkfű esetében a nyomás és segédoldószer együttes hatása között volt statisztikailag igazolható különbség a különböző kivonási módok között.

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 hatóanyagonként 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.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérletünkben 6 *Lamiaceae* családban tartozó faj drogjából szuperkritikus fluid extrakcióval kivont illó és nem illó frakciók kihozatalát és összetételét részletesen elemeztük, annak érdekében, hogy megállapítsuk a vizsgált paraméterek (extrakciós nyomás, hőmérséklet, időtartam és segédoldószer) hatását az extrakt mennyiségére és fontosabb összetevőire nézve.

Bár számos szerző, többféle SFE és egyéb kivonási módszerrel vizsgálta az általunk elemzett taxonokat is, azonban a feldolgozott irodalomnak csak csekély százaléka volt teljes mértékben összevethető az eredményeinkkel. Egyes fajokkal (pl. *Thymus pannonicus, Satureja montana*) kapcsolatban nem is találtunk korábbi SFE kísérletekre vonatkozó irodalmat, így az általunk kapott eredmények teljes mértékben újnak tekinthetők és jelzik, hogy egy növény nemzetségen (pl. *Satureja, Thymus*) belül is lehetnek eltérések az extrakció során kinyerhető hatóanyagok kvantitatív és kvalitatív jellemzői, valamint az alkalmazható módszer tekintetében.

Az SFE-vel kinyert illó frakció elemzésekor a párhuzamosan előállított vízgőzdesztillátumot, míg a nem illó frakció elemzéséhez a Soxhlet-extrakcióval nyert kivonatot választottuk kontrollnak.

Céljaink között szerepelt az egyes taxonoknál az optimális extrakciós paraméterek megállapítása, melyek mellett az optimális kihozatal (m/m %) és/vagy az optimális összetétel (komponensek százalékos aránya, %) megvalósul.

Az alábbiakban foglaljuk össze az egyes vizsgált fajoknál kapott legfontosabb eredményeket:

Melissa officinalis:

Az illó frakció nyomásoptimalizációja során kimutattuk, hogy a vizsgált komponensek közül a citronellál és a β-kariofillén aránya is a 13 MPa nyomáson előállított kivonatban volt a legmagasabb, míg a citronellál, a kariofillén-oxid és a geraniál aránya 17 MPa vagy afeletti nyomásértékek esetében volt kiemelkedő. A kariofillén-oxid esetében azt kaptuk, hogy a 60 perces extrakciós időtartam nagyobb arányt (27,43 %) eredményez.

A nem illó frakció nyomásoptimalizációja során statisztikailag igazoltuk a nyomás hatását a kihozatalra ($p=0,000383$). A kihozatal szempontjából a 31 MPa érték (0,27 %) tekinthető optimálisnak. Megállapítottuk, hogy 40 MPa nyomásérték eredményezi a legnagyobb mennyiségű rozmaringsavat (0,54 %), illetve 45 és 50 MPa mellett kiemelkedő mennyiségű urzolsav–arányt (38,64 % és 8,07 %) mértünk. A segédoldószer alkalmazása során 40 MPa extrakciós nyomás és 20 % segédoldószer arány mellett kiemelkedő mennyiségű (19,93 %) rozmaringsavat detektáltunk. Az eriodiktiolt is kimutattunk a citromfű SFE kivonataiból. Luteolint ugyancsak azonosítottunk fluid

szén-dioxid extrahálószer, valamint segédoldószer alkalmazásával, melynek aránya 50 MPa extrakciós nyomás és 40 % metanol hozzákeverése esetén volt a legmagasabb (4,08 %).

Ocimum basilicum:

A nyomás optimalizációja során bizonyítottuk, hogy 15 MPa mellett optimális az illóolajban dús extrakt mennyisége (0,44 %). Megállapítottuk, hogy a linalool aránya 18 MPa nyomáson kiemelkedő (30,33 %), míg az esztragolé 11 és 25 MPa extrakciós nyomás esetében volt a legmagasabb (21,51 % és 30,96 %). Igazoltuk, hogy összetétel szempontjából a 40 és 50 °C közötti tartományban találjuk az optimális hőmérséklet paramétert, ugyanis a linalool aránya (31,42 %) 50 °C-on, míg az esztragolé (29,50 % és 28,52 %) 40-45 °C-on volt optimális. Az időtartam tesztelése során megállapítottuk, hogy a 40 percig tartó extrakció 50 %-kal nagyobb kihozatali arányt (0,33 %) eredményez a szakirodalomban ajánlott 30 perces extrakciós időtartamhoz képest. A linalool aránya (29,37 %) szempontjából a 15 perces extrakciós időtartam az optimális, ugyanakkor az esztragol esetében a 60 perces extrakció eredményezi a legmagasabb értéket (30,00 %).

A nem illó frakció SFE-CO_2 kivonószerrel végzett nyomásoptimalizációja során a kihozatal (0,71 %) szempontjából a 40 MPa extrakciós nyomásértéket tekintjük optimálisnak. A fluid szén-dioxiddal kinyert kivonatokban rutint 35 és 45 MPa, klorogénsavat 45 MPa, apigenint 50 MPa, apigenin-7-glikozidot 35 MPa, eriodiktiolt 45 MPa extrakciós nyomásérték mellett azonosítottunk kiemelkedő arányban. Luteolint legnagyobb arányban (29,31 %) a 45 MPa mellett kapott extraktumban detektáltunk. A segédoldószeres kísérletek során igazoltuk az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes, szignifikáns hatását (p=0,022099) a kihozatalra. A segédoldószeres SFE kivonatokban kimutattunk továbbá az apigenin, az apigenin-7-glikozid, az eriodiktiol, valamint az urzolsav jelenlétét. Luteolint kiemelkedő arányban (27,85 %) 40 MPa nyomáson és 40 % segédoldószer arány mellett azonosítottunk.

Satureja hortensis:

Az illó frakció SFE-CO_2 kivonószerrel végzett extrakciója során optimális nyomásparaméternek a 27 MPa bizonyult, mely a legmagasabb kihozatali arányt (0,78 %) erdményezte. Ezen kívül bizonyítottuk, hogy az 50 °C-os extrakciós hőmérséklet eredményezi a legnagyobb extrakt-kihozatalt (0,37 %), illetve a γ-terpinén is ezen érték mellett fordult elő a legnagyobb arányban (16,70 %). A legfontosabb illó komponensek közül 40 °C mellett a karvakrol (75,37 %), míg 35 és 55 °C mellett a p-cimol (10,00 % és 10,43 %) érte el maximális arányát. A 15 perces extrakciós időtartam már optimális extrakciós hozamot (0,34 %) eredményezett. A karvakrol aránya a 30 perces extrakció során volt a legmagasabb (78,56 %), míg az 50 és a 60 perces extrakció a γ-terpinén és a p-cimol esetében hozott kiemelkedő eredményt. Az időparaméter változtatás hatása szignifikánsnak (p= 0,000580) bizonyult a kihozatalra.

A nem illó frakció SFE-CO_2 oldószer alkalmazásával végzett nyomásoptimalizációja során már a 39 MPa nyomásérték optimális kihozatalt (0,71 %) eredményezett. Igazoltuk a nyomásváltoztatás hatását a kihozatalra (p=0,020007). Ezen kivonatokban eriodiktiolt és urzolsavat azonosítottunk. A metanol segédoldószer alkalmazása - az előzetes várakozásoknak megfelelően - magasabb kihozatali értékeket (0,65 %, illetve 0,63 %) eredményezett 40 és 50 MPa nyomásértékek esetén, mint a fluid CO_2-dal végzett extrakció. A segédoldószeres kivonatok mindegyikében azonosítottunk urzolsavat, valamint statisztikailag bizonyítottuk a segédoldószer és a nyomásváltoztatás együttes hatását a komponens arányára (p=0,000153). A kihozatal 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 megfelelő eredmény eléréséhez.

Satureja montana:

A nyomás és az idő paraméter tesztelése során igazoltuk, hogy e tényezők jelentős (p=0,019042 és p=0,000063) hatást gyakorolnak az illó frakció kihozatalára. Az idő- és a hőmérséklet- optimalizáció során bizonyítottuk, hogy e paraméter változtatásának szignifikáns hatása van néhány komponens arányára (extrakciós időtartam: timol, β-bizabolém, linalool; extrakciós hőmérséklet: linalool). Kísérleteinkben 45 °C-os extrakciós hőmérsékletnél optimális illó kihozatalt (0,93 %) detektáltuk, azonban a karvakrol és a p-cimol legnagyobb aránya ettől eltérő hőmérsékleten (40°C ill. 60°C) volt kimutatható. Megállapítottuk, hogy a 35 perc alatt nyerhető ki optimális mennyiségű extrakt, azonban a geraniol és a karvakrol komponenseknél a 15 perces, míg a p-cimolnál a 45 perces extrakció tekinthető a legmegfelelőbbnek.

A nem illó frakció vizsgálata során igazoltuk, hogy tisztán fluid szén-dioxiddal a 36 MPa nyomásérték eredményez optimális kihozatalt, illetve hogy a nyomás szignifikáns hatást (p=0,017065) gyakorol a kihozatalra. Az évelő borsfű SFE-CO_2–os kivonataiban rutint, luteolint, valamint rozmaringsavat azonosítottunk. A segédoldószer alkalmazásakor kihozatali optimumként a 40 MPa nyomás mellett 50 % metanol arányt jelöltük meg. Évelő borsfű SFE-CO_2 + metanol segédoldószeres kivonataiban rutint, kvercitrint, apigenint, luteolint és kvercetint mutattunk ki, melyek aránya esetenként a Soxhlet-kivonatban mért értékeket is meghaladta.

Thymus pannonicus:

Az e fajra vonatkozó minden eredmény újnak tekinthető, mivel korábban nem végeztek SFE optimalizációs kísérleteket. Az illó frakció nyomásoptimalizációja során bizonyítottuk, hogy a nyomás szignifikáns hatást (p=0,000011) gyakorol a kihozatalra. Megállapítottuk, hogy extrakt-kihozatal szempontjából optimális a 13 MPa extrakciós nyomás alkalmazása, ugyanakkor a timol aránya (60,47 %) 19 MPa-nál, a timol-metiléteré (7,52 %) 12 MPa-nál, a β-bizaboléné pedig 28 MPa nyomásnál éri el a legmagasabb értéket. A hőmérséklet paraméter tesztelésekor igazoltuk,

hogy a kihozatal szempontjából legjobb eredményt az 50 °C-on végzett extrakcióval érhetjük el, a timol aránya viszont 45 °C-on, míg a β-bizaboléné 60 °C-on optimális. A hőmérséklet vizsgálata során csak a geraniol és a spatulenol terpén komponensek esetében tudtuk statisztikailag alátámasztani e paraméter hatását ($p=0,036905$ és $p=0,027029$). A vizsgált extrakciós időtartamok közül az 50 perces kivonással értük eleredményezte az optimális kihozatalt (0,18 %). A timol aránya azonban a 35 perces, míg a β-bizaboléné a 10 perces extrakciónál érte el maximumát. Igazoltuk, hogy az időtartam változtatása szignifikáns hatást gyakorol a kihozatalra, illetve a kivonatok timol arányára. Ez a jövőben lehetőséget nyújt a timolban dús extraktumok előállítására.

A nem illó frakció SFE-CO_2 extrakciós kísérlete során megállapítottuk, hogy a 36 MPa nyomásérték eredményezi az optimális kihozatalt. E kivonatokban luteolint azonosítottunk, melynek aránya 50 MPa extrakciós nyomásnál volt kiemelkedő és mely komponens a párhuzamosan analizált Soxhlet-kivonatban nem volt kimutatható. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a kihozatal szempontjából a nyomás változtatás hatása szignifikáns ($p=0,033396$). Bizonyítottuk, hogy a segédoldószeres extrakció már 40 MPa extrakciós nyomás és 20-40 % metanol részarány mellett optimális kihozatali értékeket (1,59-2,21 %) eredményez. Az SFE-CO_2 eredményekhez hasonlóan a mintáink jelentős mennyiségű luteolint tartalmaztak.

Thymus vulgaris:

SFE-CO_2-dal végzett, az illó frakció optimális kinyerésére irányuló kísérleteink alapján igazoltuk, hogy az extrakciós időtartam ($p=0,007501$) szignifikáns hatást gyakorol a kihozatalra. Megállapítottuk, hogy az 55 °C-os extrakciós hőmérséklet eredményezi a legnagyobb extrakciós hozamot (0,99 %), míg a timol és a karvakrol aránya 40 °C-on, a p-cimolé viszont 55 °C-on volt a legmagasabb. Igazoltuk, hogy a 60 perces extrakciós időtartam eredményezi az optimális kihozatalt (1,04 %), valamint a legmagasabb timol (67,49 %) és a karvakrol (5,48 %) arányokat is.

A nem illó frakció SFE-CO_2 extrakciója során optimális nyomás-tartománynak a 34-38 MPa közötti értékeket tekintettük. Igazoltuk, hogy a metanol segédoldószerrel végzett extrakció során a legmagasabb kihozatali arányokat 50 MPa nyomáson és 25-35 % metanol részarány mellett lehet elérni. Kvercetint mind tisztán SFE-CO_2 –dal, mind pedig segédoldószer hozzáadásával jelentős arányban tudtunk kinyerni.

Az illó frakció esetében a kontrollként alkalmazott vízgőzdesztillációval ill. a nem illó frakció esetében - a szintén referenciaként szolgáló - Soxhlet-extrakcióval kapott eredményekhez képest az SFE-kivonással általában alacsonyabb kihozatali értékeket értünk el.

Az illóolajban dús extraktumok kihozatala a *Melissa officinalis* fajnál azonban meghaladta a vízgőzdesztillációval elérhetőt. Az illó komponensek GC összetételét tekintve megállapítottuk, hogy az SFE eljárás a vízgőzdesztillációhoz képest jelentős eltérést okozott az *Ocimum basilicum* és

a *Satureja* fajoknál, viszont nem tért el jelentősen a *Thymus* fajoknál. Az SFE eljárással általában szélesebb komponens-spektrum volt kinyerhető, mint a vízgőzdesztillációval.

A Soxhlet-extrakcióval kinyert, nem illó komponensekben dús kivonatok mennyisége majdnem minden vizsgált faj esetében 1-2 nagyságrenddel nagyobb volt, mint a megfelelő szuperkritikus fluid extrakcióval előállított minták kihozatala. A kétféle extrakciós eljárással előállított kivonatok nem illó frakciójának összetétele jelentősen eltért minden vizsgált faj esetében. A Soxhlet-extrakció során kivonódtak olyan komponensek (citromfűnél például a kávésav, bazsalikomnál a rozmaringsav, borsfüveknél a rutin, kakukkfüveknél a rutin) is, melyek nem jelentek meg az SFE-extraktumokban, és ez fordítva is igaz volt (citromfűnél például az urzolsav, bazsalikomnál a luteolin, borsfüveknél az urzolsav, kakukkfüveknél a luteolin). Az SFE extrakció hatására azonban általában szélesebb hatóanyag-spektrum volt azonosítható.

A legtöbb fajnál beigazolódott az a feltevésünk, hogy az extrakciós paraméterek magasabb értékeinek beállításakor megnő az extraktum mennyisége, azonban ez nem volt minden esetben statisztikailag igazolható.

Fontosnak tartjuk megjegyezni továbbá, hogy a folyamatosan megjelenő hatóanyag-izolációs technikák egy része - pl. illóolaj-izoláció esetén a headspace-technikák - kizárólag kutatási illetve analitikai célok elérésére alkalmas, míg az SFE egy nagyobb léptékben is megvalósítható, akár ipari célokat is szolgáló kivonási eljárás, mely lehetőséget nyújt a természeteshez közeli összetételű és a legtöbb esetben oldószermentes végtermékek előállítására. Az ily módon előállított növényi kivonatok szerepet kapnak az egészség megőrzésében, élelmiszer-adalékként (aroma, fűszerkivonat, természetes antioxidáns és festékanyag formájában), valamint terápiás célok megvalósítására is alkalmasak (hatóanyag-kivonatok formájában) lehetnek.

Az általunk kapott eredmények jó kiindulási alapnak tekinthetők adott taxon részletesebb megismerése terén, valamint iránymutatóak lehetnek egy esetleges nagyobb léptékű SFE-kivonás megvalósulása esetén.

SUMMARY

In our experiments, the amount and composition of supercritical extracts of six species belonging to the *Lamiaceae* family were analysed in details, in order to determine the effects of extraction parameters investigated – extraction pressure, temperature, time and ratio of the modifier - on the quality as well as on the proportion of certain compounds within the extracts.

Although many authors have already been investigated the taxa involved partly in our studies with SFE and other extraction methods, quite few data obtained by them could have been compared to our results.

Regarding certain species examined (e.g. *Thymus pannonicus* and *Satureja montana*), previous data cannot be found in the literature concerning supercritical fluid extraction studies, therefore, our results can be considered as completely new.

When analyzing volatile fraction obtained by SFE, hydrodistillation carried out by Clevenger apparatus was used as a control. In the case of supercritical extracts of non-volatile fraction, the results were compared to those of obtained by the conventional Soxhlet extraction.

The main aim of our studies was to determine the optimal extraction parameters by taxa, resulting in considerable extract yield (m/m %) as well as in advantageous extract composition (%).

The most important outcomes obtained by taxa were summarized as follows:

Melissa officinalis

As a result of the pressure optimalization experiment, it was established that the ratio of β-caryophyllene within the essntial oil rich fraction of *Melissae folium* was the highest at 13 MPa, while the proportion of other important compounds (citronellal, caryophyllene oxide and geranial) was outstanding at 17 MPa or higher pressure values. In the case of caryophyllene oxide, the effect of the extraction time was also proven, where the longer extraction period resulted in higher percentage (27.43 %) of this compound.

In the pressure optimalization of non-volatile fraction, the effect of pressure on the yield was statistically proven ($p=0.000383$). 31 MPa have been considered as optimal value from the point of view of yield (0.27 %). It was established that the pressure of 40 MPa resulted in the highest amount of rosmarinic acid (0.54 %), while the highest ursolic acid ratio (38.64 %) could have been measured at 45 MPa. By using 20 % methanol modifier at 40 MPa, outstanding amount of rosmarinic acid (19.93 %) have been detected. Eriodictiol and luteolin were also identified in the supercritical extracts. The latter one have been appeared in the extracts made with or without modifier, however, the highest proportion (4.08 %) have been reached at pressure of 50 MPa and 40 % methanol modifier.

Ocimum basilicum

The amount of the volatile-rich extract of *Basilici herba* was proven to be optimal (0.44 %) at the extraction pressure of 15 MPa. It was established that outstanding ratio of linalool can be obtained at 18 MPa, while the highest proportions of estragol have been detected at 11 as well as at 25 MPa (21.51 and 30.96 %, respectively). The optimal value of the extraction temperature have been considered to be between 40 and 50 °C, as the most advantageous ratio of linalool (31.42 %) and that of the estragol (29.50 %) could be found using temperature values of this interval. The extraction yield and the volatile composition could be influenced by the duration of the extraction. We have found that the 40 minutes' extraction resulted in 50 % higher yield (0.33 %) than the 30 minutes' one, recommended by the literature. Regarding the proportion of linalool, the optimal value (29.37 %) could have been obtained during a 15 minutes' period, while the highest ratio of estragol (30.00 %) was found after a 60 minutes' extraction.

The extract yield of the non-volatile fraction of basil was found to be optimal (0.71 %) at the pressure value of 15 MPa, when using SFE-CO_2 as a solvent. In these SFE extracts outstanding amounts of phenoloids have been detected at certain pressure values as follows: rutin (35 and 45 MPa), chlorogenic acid (45 MPa), apigenin (50 MPa), apigenin-7-glycosid (35 MPa) and eryodictiol (45 MPa). The highest proportion (29.31 %) of luteolin have been measured at the pressure of 45 MPa. The kombined effect of extraction pressure and modifier on the yield was verified by ANOVA ($p=0.022099$). In the SFE extracts produced by adding methanol modifier, apigenin, apigenin-7-glycoside, eryodyctiol as well as ursolic acid were revealed. The amount of luteolin did not changed significantly, comparing its highest ratio (27.85 %: 40 MPa with 40 % methanol) to those of the SFE-CO_2 extracts.

Satureja hortensis:

During extraction pressure optimalization of the volatile fraction of *Saturejae herba* with SFE-CO_2, 27 MPa was proven to be optimal, resulted in the highest extract yield (0.78 %). The effect of the extraction pressure on the most important compound, carvacrol, was statistical proved ($p=0.017839$). Besides, it has been verified that the extraction temperature of 50 °C resulted in the highest extract yield (0.37 %), as well as in the highest proportion of γ-terpinene (16.0 %). However, the most important volatile compounds reached their maximal ratio at 40 °C (carvacrol: 75.37 %) and at 35 °C (p-cymene: 10.00 %), respectively. Regarding time parameter, the 15 minutes' extraction resulted in optimal yield (0.34 %), while the highest ratio of carvacrol has been reached at 30 min. The effect of time modification on the yield was found to be significant ($p=0.000580$).

When extracting the non-volatile fraction of savory with SFE-CO_2, the extraction pressure of 39 MPa was found to be optimal concerning extract yield (0.71 %). In these extracts, eryodictiol

and ursolic acid have been identified. With the addition of methanol modifier, as it was expected, higher extract yield have been obtained at 40 and 50 MPa (0.65 % and 0.63 %, respectively), than with fluid CO_2 extraction. The collective effect of pressure and modifier on ursolic acid content was significant (p=0.020007).

It was also established that it worth utilizing lower pressure values with higher modifier ratio and vice versa.

Satureja montana

The significant effect of the extraction pressure as well as the extracion time on the yield of volatile fraction of *Saturajea montanae herba* was confirmed (p=0.019042 and p=0.000063, respectively). When analysing the results of the extraction time and temperature optimization experiments, it was proven that the change of these parameters had significant effect on the proportion of certain compounds (extraction time on thymol, β-bisabolen and linalool; extraction temperature on linalool). In our experiment, the extraction temperature of 45 °C was found to be optimal, concerning extract yield of volatiles (0.93 %). However, the highest ratio of carvacrol and of p-cymene have been revealed at different values (at 40 and at 60 °C, respectively). Regarding extraction time, the optimal yield of volatile fraction have been obtained during 35 minutes, however, in the case of geraniol and of carvacrol, another values were considered to be the most appropriate (15 and 45 min, respectively).

When investigating the effects of the pressure on the non-volatile fraction of winter savory, the following results have been obtained: with fluid carbon dioxide, the extract yield was optimal at 36 MPa and the pressure had significant effect on extract yield (p=0.017065). In the SFE-CO_2 extract, rutin, luteolin as well as rosmarinic acid were detected. The pressure of 40 MPa with 50 % methanol modifier was determined as extraction optimum. By adding modifier, rutin, quercitrin, apigenin, luteolin and quercetin have been identified in the extracts, proportion of which sometimes exceeded even those of the Soxhlet extracts.

Thymus pannonicus

Regarding this species, all the results obtained in our studies can be considered as new, because no SFE research have been conducted previously on the SFE extraction of its herba drug.

Considering the data obtained during SFE-CO_2 extraction of volatile fraction, it has been proven that the effect of pressure on the yield was statistically significant (p=0.000011). Extract yield at 13 MPa was found to be optimal, however, the highest proportion of thymol (60,47 %) were obtained at 19 MPa. In the case of the thymol methyl ether, the highest level (7.52 %) could be measured at 12 MPa, while the optimal level of β-bisabolene was isolated by 28 MPa. During testing temperature parameter it has been established that the best result for extract yield was achieved at 50 °C, while the ratio of thymol was the highest at 45 °C. The effect of the extraction

temperature was statistically proven only on the proportion of geraniol (p=0.036905) and on the ratio of spathulenol (p=0.27029). Among temperature values investigated, the 50 minutes' extraction resulted in optimal yield (0.18 %). The proportion of thymol reached its maximum at 35 minutes, while the highest ratio of β-bisabolene could have been detected after a 10 minutes' extraction. The significant effect of the extraction time was proven on the extract yield (p=0.000046) and on the ratio of thymol (p=0.034084), either. This makes possible to manufacture timol rich extracts in the future.

After analysing the results of the investigations of non-volatile fraction obtained by SFE-CO_2, it was established that the optimal pressure was 36 MPa, from the point of view of extract yield. In SFE-CO_2 extracts, luteolin was detected, with an outstanding value obtained at 50 MPa. This compound was absent from all the Soxhlet-extracts. According to our results obtained, it could be determined that the effect of pressure on the yield of non-volatile fraction was significant (p=0.033396). It have been proved, that the extraction using 20-40 % of modifier at 40 MPa pressure resulted in the optimal extract yield (1.59-2.21 %). Similarly to the SFE-CO_2 experiment of non-volatile compounds, samples obtained by modifier contained significant amount of luteolin.

Thymus vulgaris

From the point of view of yield, the significant effect (p=0.007501) of the extraction time on volatile fraction extracted by SFE-CO_2 could have been confirmed. It was also proven that the extraction temperature of 55 °C resulted in the highest extract yield (0.99 %), while thymol and carvacrol reached their highest proportion at 40 °C within the volatile fraction. It was established, that the 60 minutes extraction time was optimal regarding either the extract yield (1.04 %), or the ratio of thymol (67.49 %) and of carvacrol (5.48 %).

When extracting non-volatile fraction by SFE-CO_2, pressure range of 34-38 MPa was regarded as optimal. It was verified, that extraction with modifier resulted in the highest yields at 50 MPa by adding 25-35 % of methanol entrainer. Quercetin – with or without modifier – was generally present in garden thyme extracts in outstanding amount.

Comparing to the extract yields obtained by supercritical fluid ectraction to the reference methods, hydrodistillation and Soxhlet ectraction, the SFE was usually less effective. However, the yield of the volatile rich SFE extracts of *Melissa officinalis* has exceeded that of the distillated sample. After a comparison of the GC chromatograms of volatile-rich supercritical extracts with those of the distilled essential oils, it was established, that the SFE method caused significant differences in the case of *Ocimum basilicum* and of *Satureja* species, while both volatile profiles of *Thymus* species were quite similar. Generally, wider spectra of compounds could have been obtained with SFE method than with hydrodistillation.

The total amount of extracted non-volatile materials was significantly higher, when Soxhlet-extraction was used paralelly with SFE extraction. The composition of the non-volatile fraction obtained by the two extraction methods, highly differred in the case of all species studied. There were some compounds, which were detected in Soxhlet extracts (e.g. caffeic acid at *Melissa*, rosmarinic acid at *Ocimum* and rutin at *Satureja* and *Thymus* species), though they were completely absent from SFE-extracts. This phenomenon has also appeared *vice versa*: e.g. ursolic acid at *Melissa*, luteolin at *Ocimum* and *Thymus* species as well as ursolic acid at *Satureja* species were only identified in SFE extracts. However, SFE extraction resulted generally in wider spectra of phenolic and/or triterpenic compounds.

In the case of most species our hypothesis was confirmed concerning the fact that higher the value of extraction parameters had been set, higher the yield was obtained. However, this phenomenon couldn't have been always proven statistically.

We have found to be important to note that the recently developped isolation technics– e.g. HS-GC for on-line isolation of volatiles – are usually suitable to research work and to laboatory, analytical purposes, while SFE method can be realised in larger scale, as an extraction method serving industrial aims. The SFE method give opportunity to isolate active substance comlpexes in near natural composition as well as to obtain solvent free end product in most cases. This kind of plant extracts may plays an important role in, the prevention of deseases, as food additives (in forms of the extracts of aroma compounds, of spices, of natural antioxidants and of natural colourants), as well as they are suitable to realise therapeutic purposes (in form the extracts of active substances).

Our results can serve as a basis of further investigations and as a starting point of their larger scale SFE extraction.

MELLÉKLETEK

M1: IRODALOMJEGYZÉK

1. **Abbasi, K., Sefidkon, F., Yamini, Y. (2005)** Comparison of Oil Content and Composition of Two *Satureja* species (*S. hortensis* L. and *S. rechingeri* Jamzad) by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction (SFE). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 21 (3): 307-318.

2. **Abdel-Sattar, A., Bankova, V., Kujumgiev, A., Galabov, A., Ignatova, A., Todorova, C., Popov, S. (1995)** Chemical Composition and Biological Activity of Leaf Exudates from Some *Lamiaceae* Plants. Pharmazie, 50: 62-65.

3. **Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B.C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., Arouma, O.I. (1994)** Antioxidant Actions of Thymol, Carvacrol, Zingerone and Hydroxytyrosol. Food and Chemical Toxicology, 32 (1): 31-36.

4. **Aleksovski, S., Sovova, H., Poposka, F.A. (2001)** Extraction of Thyme Oil: Comparison Between Hydrodistillation and Supercritical CO_2 Extraction, Acta Pharmacologica, 51: 305-310.

5. **Allahverdiyev, A., Duran, N., Ozguven, M., Koltas, S. (2004)** Antiviral Activity of Volatile Oils of *Melissa officinalis* L. Against *Herpes simplex* Virus Type-2. Phytomedicine, 11: 657-661.

6. **Ayurveda Pharmacopoeia (1975)** Department of Ayurveda Publication, Colombo, Sri Lanka. P. 1023.

7. **Bátor, H. (2006)** Extrakciós eljárások tanulmányozása a *Lamiaceae* családra jellemző hatóanyagok kivonása szempontjából. Budapesti Corvinus Egyetem Gyógy- és Aromanövények Tanszék, Diplomamunka.

8. **Bencze, É. (2000a)** *Thymus serpyllum* L. In: Bernáth, J. (szerk.) (2000) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest. p. 558-559.

9. **Bencze, É. (2000b)** *Thymus vulgaris* L. In: Bernáth, J. (szerk.) (2000) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest. p. 560-562.

10. **Bestmann, H.J., Erler, J., Vostrowsky, O. (1985)** Extraktion von Thymian mit Flüssigem CO_2 im Labormaßstab, 180: 491-493.

11. **Blaich, G. (2009)** *Melissa officinalis* fotó, www.guenther-blaich.de/de/Me008123.jpg

12. **Blazquez, M.A., Manez, S., Zafrapolo, M.C. (1994)** Further Flavonoids and Other Phenolics of *Thymus webbianus* Rouy. Zeitschrift für Naturforschung C – A Journal of Biosciences, 49 (9-10): 687-688.

13. **Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckmann, J. (2000)** Herbal Medicine-Expanded Commission E Monographs, Integrativ Medicine Communications, First edition, USA, pp. 230-232.

14. **Bodács, N. (2002)** Különböző extrakciós módszerek hatása a *Salvia officinalis* L. – orvosi zsálya extrakt-tartalmára és illóolaj összetételére, Budapesti Corvnius Egyetem Gyógy- és Aromanövények Tanszék, Budapest. Diplomamunka.

15. **British Herbal Pharmacopoeia (1996)** (4th edition) Londres: BHMA. p. 502.

16. **Bruni, A., Modenesi, P. (1983)** Development, Oil Storage and Dehiscence of Peltate Trichomes in *Thymus vulgaris (Lamiaceae).* Nordic Journal of Botany, 3: 245-251.

17. **Caceres, A., Cano, O., Samayoa, B., Aguilar, L. (1990)** Plants Used in Guatemala for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. I. Screening of 84 Plants Against Enterobacteria. Journal of Ethnopharmacology, 30: 55-73.

18. **Carnat, A.P., Carnat, A., Fraisse, D., Lamaison, J.L. (1998)** The Aromatic and Polyphenolic Composition of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) Tea. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72: 301-305.

19. **Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A., Bešta, R. (2008)** Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activity of Two *Satureja* Essential Oils. Food Chemistry, 111: 648-653.

20. **Cetkovic, G., Mandic, A., Canadanovic-Brunet, J., Djilas, S., Tumbas, V. (2007)** HPLC Screening of Phenolic Compounds in Winter Savory (*Satureja montana* L.) Extracts. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 30 (2): 293-306.

21. **Coelho, J.A.,Grosso, C., Pereira, A.P., Burillo, J., Urieta, J.S., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Mendes, R.L., Palavra, A.M.F. (2007)** Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Volatiles From *Satureja fruticosa* Béguinot. Flavour and Fragnance Journal, 22 (5): 438-442.

22. **Cushman, D.A. (2003)** Thymol Safety Data, www.website.lineone.net

23. **Czygan, F.C. (1997a)**: *Serpylly herba*. In: Wichtl, M. (ed.) Teedrogen. 2nd ed. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, p. 498-500.

24. **Czygan, F.-Ch. (1997b)** *Basilici herba*. In: Wichtl, M.: Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. p. 104-106.

25. **Czygan, F.-Ch. (1997c)** *Melissae folium*. In: Wichtl, M.: Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. p. 383-387.

26. **Czygan, F.-Ch. (1997d)** *Thymi herba***.** Wichtl, M.: Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. p. 578-580.

27. **DAB 10 (1991)** (Deutsches Arzneibuch): 10. Német Gyógyszerkönyv. p. 345.

28. **Damjanović-Vratnica, B. (2008)** Chemical Composition of Winter Savory Essential Oil Isolated by Hydrodistillation and Supercritical CO_2 Extraction. 5th Conference on the Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (5th CMAPSEEC). Brno, Czech Republic, 2-5 September, 2008, *Proceedings*, (ISBN: 978-80-7375-209-5.) p.1-5.

29. **Deans, S.G., Svoboda, K.P. (1989)** Antibacterial Activity of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.) Essential Oils and Its Constituents. Journal of Horticultural Science, 64 (2): 205-210.

30. **Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S., Cabezudo, M.D. (2002)** Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Volatiles From Spices in Comparison with Simultaneous Distillation-Extraction. Journal of Chromatography A, 947: 23-29.

31. **Domokos, J., Héthelyi, É., Dános, B., Pálinkás, J., Szirmai, S. (1995)** The Essential Oil of a Hungarian Taxon of *Thymus pulegioides*. In: Baser, K.H.C. (ed.) Proceedings of 13th International Congress of Flavour, Fragrances and Essential Oils, *Vol. 1*, AREP Publ, Istambul (1995), p. 75.

32. **Dube, S., Upadhyay, P.D., Tripathi, S.C. (1989)** Antifungal, Physicochemical and Insect-repelling Activity of the Essential oil of *Ocimum basilicum*. Canadian Journal of Botanicals, 67: 2085-2087.

33. **Enjalbert, F., Bessiere, J.M., Pellecuer, J., Privat, G. (1983)** Analyse des Essences de Melisse in: Sorensen, J.M. (2000) *Melissa officinalis*: Essential oil - Authenticity, Production and Pharmacological Activity - A Review, The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

34. **ESCOP Monographs on the Uses of Plant Drugs (2003a)** *Melissae folium*. Thieme. Fascicule 2. p. 324-328.

35. **ESCOP Monographs on the Uses of Plant Drugs (2003b)** *Thymi herba*. Thieme. Fascicule 1. p. 505-510.

36. **Esquível, M.M., Ribeiro, M.A., Brnardo-Gil, M.G. (1999)** Supercritical extraction of Savory Oil: Study of Antioxidant Activity and Extract Characterization. Journal of Supercritical Fluids, 14: 129-138.

37. **Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A., Boskou, D. (2002)** Antioxidant Activities and Phenolic Composition of Extract From Greek Oregano, Greek Sage and Summer Savory. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (19): 5294-5299.

38. **Fecka, I., Turek, S. (2008)** Determination of Polyphenolic Compounds in Commercial Herbal Drugs and Spices from *Lamiaceae*: Thyme, Wild Thyme and Sweet Marjoram by Chromatographic Techniques. Food Chemistry, 110 (4): 1051-1052.

39. **Gioannis de, B., Marongiu, B., Pocedda, S. (2001)** Isolation of *Thymus herba-barona* Volatiles by Supercritical Fluid Extraction. Journal of Essential Oil Research, 13 (4): 240-244.

40. **Granger. R., Passet, J. (1971)** Types Chimiques (chémotypes) de l 'espèce *Thymus vulgaris L*. C. R. Acad. Sci. Paris, 273: 2350-2353.

41. **Granger. R., Passet, J. (1973)** *Thymus vulgaris* Spontane de France: Races Chimiques et Chemotaxonomie. Phytochemistry, 12: 1683-1691.

42. **Grayer, R.J., Bryan, S.E., Veitch, N.C., Goldstone, F.J., Paton, A., Wollenweber, E. (1996b)** External Flavones in Sweet Basil, *Ocimum basilicum* and Related Taxa. Phytochemistry, 43: 1041-1047.

43. **Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Bryan, S., Paton, A., Putievsky, E. (1996a)** Infraspecific Taxonomy and Essential Oil Chemotypes in Sweet Basil, *Ocimum basilicum*. Phytochemistry, 43: 1033-39.

44. **Grayer, R.J., Veitch, N.C., Kite, G.C., Price, A.M., Kokubun, T. (2001)** Distribution of 8-oxygenated Leaf-surface Flavones in the Genus *Ocimum*. Phytochemistry, 56: 559-67.

45. **Grosso, C., Figueiredo, A.C., Burillo, J., Mainar, A.M., Urieta, J.S., Barroso, J.G., Coelho, J.A., Palavra, A.M. (2009)** Enrichment of the Thimoquinon Content in Volatile Oil from *Satureja montana* Using Supercritical Fluid Extraction. Journal of Separation Science, 32 (2): 328-34.

46. **Grosso, C., Tavares Cardoso, M.A., Figueiredo, A.C., Moldão-Martins, M., Burillo, J.,, Urieta, J.S., Barroso, J.G., Coelho, J.A., Palavra, A.M. (2007)** Supercritical Fluid Extraction, Hydrodistillation and Soxhlet Extraction of the Aerial Part of Winter Savory. Comparative Evaluation of the Extraction Method on the Chemical Composition. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6) Copenhagen, 16-20 September 2007 (in CD-ROM)

47. **Günther, E. (1949)** The Essentil Oils. Vol. 3. Van Nostrand Company. New York. P. 56.

48. **Halászné Zelnik, K. (2000)** *Satureja hortensis* L. In: Bernáth, J. (szerk.) (2000) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest. p. 525-527.

49. **Halmai, J. Novák, I. (1963)** Farmakognózia. Medicina Könyvkiadó, Budapest. p. 685.

50. **Hegnauer, R. (1978)** Die Systematische Bedeutung der Ätherischen Öle (Chemotaxonomie der Ätherischen Öle). Dragocco Report, p. 204-230.

51. **Hiltunen, R., Holm, Y. (1999)** Essential Oil of *Ocimum*. In: Hiltunen, R., Holm, Y. Basil – The Genus *Ocimum*. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Harwood Academic Publishers. Amsterdam. pp. 67, 78.

52. **Hollá, M.; Svajdlenka, E.; Tekel, J.; Vaverkova, S.; Havranek, E. (1997)** Composition of the Essential Oil from *Melissa officinalis* L. Cultivated in Slovak Republic**.** Plant Physiology and Biochemistry, 9 (4): 481-484.

53. **Holm, Y. (1999)** Bioactivity of Basil. In: Hiltunen, R., Holm, Y. Basil – The Genus *Ocimum*. Harwood Academic Publishers. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Amsterdam. p.126.

54. **Holthuijzen, J. (1994)** Ätherische Öle und Glykosidisch Gebundene Flüchtige Inhaltsstoffe in Ausgewählten Arten der Gattung *Thymus L.* Doctoral thesis, University of Hamburg.

55. **Janicsák, G., Máthé, I. (1997)** Paralel Determination of Rosmarinic Acid and Caffeic Acids by TLC-Densitometry. Chromatographia. 46: 322-324.

56. **Janicsák, G., Máthé, I., Miklóssy-Vári, V., Blunden, G. (1999)** Comparative Studies of the Rosmarinic and Caffeic Acid Contents of *Lamiaceae* Species. Biochemical Systematics and Ecology, 27: 733-38.

57. **Janicsák, G., Veres, K., Kakasy, A.Z., Máthé, I. (2006)** Study of Oleanolic and Ursolic Acid Contents of Some Species of the *Lamiaceae*. Biochemical Systematics and Ecology, 34: 392-396.

58. **Janssen, A.M., Chin, N.L.J., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A. (1986)** Screening of Antimicrobial Activity of Some Essential Oils by the Agar Overlay Technique. Pharmaceutisch Weekblad. Scientific Edition, 8: 277-280.

59. **Karasova, G., Lehotay, J., Kodzinska, E., Gadzaa-Kopciuch, R., Buszewski, B. (2006)** Comparison of Several Extraction Methods for the Isolation of Benzoic Acid Derivatives from *Melissa officinalis*. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 29 (9/12): 1633-1644.

60. **Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006)** Screening of 70 Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenols, Food Chemistry, 94: 550-557.

61. **Kerekes, J.** (1969) Gyógynövénytermesztés. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. p. 227-228.

62. **Kéry Á., Simándi B., Oszagyán M., Lemberkovics É. (1996)** A szuperkritikus extrakció alkalmazási lehetőségei nem illó, biológiailag aktív növényi hatóanyagok előállításában, Olaj, Szappan, Kozmetika, 45, Különszám, pp. 42-46.

63. **Kéry, Á. (szerk.) (2000)** Gyógynövényekkel az egészségért. Gyógynövények, növényi drogok és készítményeik ismerete. KIT Képzőművészeti Kiadó és Nyomda Kft. p. 150-151.

64. **Klesper, E., Corwin, A.H., Turner, D.A. (1962)** High Pressure Gas Chromatography Above Critical Temperatures. Journal of Organic Chemistry, 27: 700-701.

65. **Koşar, M., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R. (2005)** Effect of an Acid Treatment on the Phytochemical and Antioxidant Characteristics of Extracts From Selected *Lamiaceae* Species. Food Chemistry, 91: 525-33.

66. **Kurkin,V.A. (2003)** Phenylpropanoids From Medicinal Plants: Distribution, Classification, Structural Analysis, and Biological Activity, Chemistry of Natural Compounds, 39 (2):123-147.

67. **Kutta G. (2005)** A szuperkritikus fluid extrakció alkalmazási lehetőségei különböző eredetű kakukkfű minták esetében. Budapesti Corvinus Egyetem. Gyógy- és Aromanövények Tanszék. Diplomamunka.

68. **Kutta, G. (2006)** *Ocimum basilicum* fotó

69. **Kutta, G. (2006)** *Thymus pannonicus* fotó

70. **Lachovitz, K.J., Jones, G.P., Briggs., D.R., Bienvenu, F.E., Palmer, M.V., Vijaja-Mishra, H., M.M., Mishra, V. (1997)** Characteristics of Plants and Plant Extracts From Five Varieties of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Grown in Australia. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (7): 2660-2665.

71. **Lang, Q., Wai, C.M. (2001)** Supercritical Fluid Extraction in Herbal and Natural Product Studies – A Practical Review. Talanta, 53: 771-782.

72. **Lawrence, B.M. (1981)** Essential Oils in: Sorensen, J.M. (2000) *Melissa officinalis*: Essential Oil – Authenticity, Production and Pharmacological Activity - A Review, The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

73. **Lawrence, B.M. (1993)** A Planning Scheme to Evaluate New Aromatic Plants for the Flavor and Fragrance Industries. In: Janick, J., Simon, J.E. (eds.) New Crops. John Wiley and Sons, New York, USA, p. 620-27.

74. **Lee, S.J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K.-G. (2005)** Identification of Volatile Components in Basil (*Ocimum basilicum* L.) and Thyme Leaves (*Thymus vulgaris* L.) and Their Antioxidant Properties. Food Chemistry, 91: 131-137.

75. **Lemberkovics, É., Kéry, Á., Kakasy, A., Szőke, É. (2001a)** Effect of Extraction Methods on the Composition of Essential Oils, Proceedings of the International Conference on Medical Plants, Budapest, Hungary, 8-11 July, 2001, Acta Horticulturae, No. 597. Part II. p. 49-56.

76. **Lemberkovics, É., Kéry, Á., Marzal, G., Simándi, B., Máthé, I. (1996a)** Analysis of Essential Oils and Their Phytotherapeutical Preparations, First Egypt-Hung. Hort. Conf. Kart-el-Sheikh, Egypt, Proceedings, Vol. 2. p. 326-337.

77. **Lemberkovics, É., Kéry, Á., Simándi, B., Kristo, T.S., Kakasy, A., Szőke, É. (2001b)** Evaluation of Supercritical Plant Extracts on Volatile and Non-Volatile Biologically Active Lipophil Components. International Journal of Horticultural Science, 7 (2): 78-83.

78. **Lemberkovics, É., Nguyen, H., Taar, K., Máthé, I. Jr., Petri, G.,Vitányi, Gy. (1993)** Formation of Biologically Active Substances of *Ocimum basilicum* L. During the Vegetation Period. Acta Horticulturae, 344: 334-46.

79. **Lemberkovics, É., Petri, G., Nguyen, H., Máthé, I. (1996b)** Relationships Between Essential Oil and Flavonoid Biosynthesis in Sweet Basil. In: Craker, L.E., Nolan, L., Shetty, K. (eds.) Proceedings of the International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants. Acta Horticulturae, 426: 647-55.

80. **Lemberkovics, É., Petri, G., Nguyen, H., Máthé, I. (1996c)** Relationships Between Essential Oil and Flavonoid Biosynthesis in Sweet Basil. In: Craker, L.E., Nolan, L. és K. Shetty (eds.) Proceedings. International Symposium of Medicinal and Aromatic Plants. Acta Horticulturae, 426: 647-55.

81. **Lenchés, O. (2000a)** *Melissa officinalis*. In: Bernáth, J. (szerk.) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó. Budapest. p. 422-426.

82. **Lenchés, O. (2000b)** *Ocimum basilicum.* In: Bernáth, J. (szerk.) Gyógy- és aromanövények. Mezőgazda Kiadó. Budapest. p. 436-439.

83. **Leung, A.Y., Foster, S. (1996)** Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food Drugs and Cosmetics. 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, USA, p. 153.

84. **List, P.H., Hörhammer, L. (1977)** Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, 4th edition, Band VI.A, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, p. 211.

85. **Luque de Castro, M.D., Jiménez-Carmona, M.M. (2000)** Where is Supercritical Fluid Extraction Going? Trends in Analytical Chemistry, 19 (4): 223-228.

86. **Luque de Castro, M.D., Tena, M.T. (1996)** Strategies for Supercritical Fluid Extraction of Polar and Ionic Compounds. Trends in Analytical Chemistry, 15 (1): 32-37.

87. **Luque de Castro, M.D., Valcárcel, M., Tena, M.T. (1994)** Analytical Supercritical Fluid Extraction, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 123.

88. **Magyar Szabvány (1984)** Borsikafű. (MSZ 20047:1984). Magyar Népköztársaság. Országos Szabvány.

89. **Magyar Szabvány (1984)** Kakukkfű. (MSZ 20067:1984). Magyar Népköztársaság. Országos Szabvány.

90. **Magyar Szabvány (1985)** Bazsalikom. (MSZ 20687:1985). Magyar Népköztársaság. Országos Szabvány.

91. **Marin P.D., Grayer, R.J., Kite, G.C., Veljic, M. (2005)** External flavones from *Thymus striatus* Vahl (*Lamiaceae*). Biochemical Systematics and Ecology, 33 (11): 1179-1182.

92. **Marongiu, B., Porcedda, S., Diras, A., Rosa, A., Dreiana, M., Dessi, M.A. (2004)** Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* ssp. *officinalis* and *Melissa officinalis* ssp. *inodora* , Phytotherapy-Research, 18 (10): 789-792.

93. **Martin, R., Fausten, G., Bischoff, F. (2009)** Screening Verschiedener Arten auf Ihren Gehalt an den Triterpenen Ursol- und Oleanolsäure. Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen, 14 (1): 37-43.

94. **Masakova, N.S., Tserevatuy, B.S., Trofimenko, S.L., Renner, G.S. (1979)** Chemical Composition of Volatile Oil in Lemon-balm as Indicator of Therapeutic use. Plant Physiology and Biochemistry, 36 (3): 27.

95. **Mastelic, J., Grzunov, K., Kravar, A. (1992)** The Chemical Composition of Terpene Alcohols and Phenols From the Essential Oil and Terpene Glycosides Isolated From *Thymus pulegoides L.* Grown Wild in Dalmatia. Riv. Italica, 3: 19-22.

96. **Mastelić, J., Jerković, I. (2003)** Gas Chromatography Mass Spectrometry Analysis of Free and Glycoconjugated Aroma Compounds of Seasonal Collected *Satureja montana* L. Food Chemistry, 80 (1): 135-140.

97. **Maulik, G., Mauli, N., Bhandari, K.V., Kagan, V.E., Pakrashi, S., Das, D.K. (1997)** Evaluation of Antioxidant Effectiveness of a Few Herbal Plants. Free Radical Research, 27: 221-228.

98. **Menaker, A., Kravets, M., Koel, M., Orav, A. (2004)** Identification and Characterisation of Supercritical Fluid Extracts from Herbs. C.R. Chimie, 7: 629-633.

99. **Merks, I.J.M., Svendsen, A.B. (1989)** Occurrence and Possible Role of Glycosidic Bound Eugenol and 2-methoxy-4-vinylphenol in the Lignin Biosynthesis of some *Lamiaceae*. Planta Medica, 55: 88.

100. **Miura, K., Inagaki, T., Nakatani, N. (1989)** Structure and Activity of New Deodorant Biphenyl Compounds from Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 37 (7): 1816-1819

101. **Modnicki, D., Patora, J., Klimek, B. (2004)** The Content of Rosmarinic Acid, Total Content of Phenolic Acid, Tannins and Flavonoids in Lemon Balm Leaves (*Melissae folium*). Herba Polonica, 50 (2): 42-49.

102. **Mohiuddin, S., Qureshi, R.A., Khan, M.A., Nasir, M.K.A. (1987)** Laboratory Investigation on the Repellency of Some Plant Oils to Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. Pakistani Journal of Science of Industry Research, 30: 754-756.

103. **Moldao-Martins, M., Palavra, A., da Costa, M.L.B., Bernardo-Gil, M.G. (2000)** Supercritical CO_2 Extraction of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* Aroma. Journal of Supercritical Fluids, 18 (1): 25-34.

104. **Myer, L., Tehrani, J., Thrall, C., Gurkin, M. (1991)** Supercritical Fluid Extraction (SFE), Advantages, Applications, and Instrumentation for Sample Preparation, ISCO Applications Bulletin, 69: 15-19.

105. **Ndounga, M., Ouamba, J.M. (1997)** Antibacterial and Antifungal Activities of *Ocimum gratissimum* and *O. basilicum* from Congo. Fitoterapia, 67: 190-191.

106. **Németh, É., Pluhár, Zs., Héthelyi, É., Bernáth, J. (1995):** CO_2 Extraction (SFE) as Alternative Method in Determining Essential Oil Plants Quality. 55th International Congress of FIP (Federation International Pharmaceutics), Stockholm, August 31-September 5. Abstracts, p. 351.

107. **Nguyen, H., Lemberkovics, É., Taar, K., Máthé, Jr. I., Petri, G. (1993a)** A Comparative Study on Formation of Flavonoid, Tannin and Polyphenol Contents in Ontogenesis of *Ocimum basilicum* L. Part I., Acta Agronomica Hungarica, 42: 31-39.

108. **Nguyen, H., Lemberkovics, É., Taar, K., Máthé, Jr. I., Petri, G. (1993b)** A Comparative Study on Formation of Flavonoid, Tannin and Polyphenol Contents in Ontogenesis of *Ocimum basilicum* L. Part II., Acta Agronomica Hungarica, 42: 41-50.

109. **Ondarza, M., Sanchez, A. (1990)** Steam Destillation and Supercritical Fluid Extraction of Some Mexican Spices. Chromatography, 30 (1/2): 16-18.

110. **Oszagyán, M. (1999)** Gyógynövények szuperkritikus extrakciója. Budapesti Műszaki Egyetem. Doktori értekezés tézisei.

111. **Oszagyán, M., Simándi, B., Kéry, Á., Lemberkovics, É. (1999)** Szuperkritikus állapotú CO_2-dal gyógynövényekből extrahálható komponensek. Szuperkritikus oldószerek analitikai és műveleti alkalmazása konferencia. Budapest, 1999. május 20. Összefoglalók, p. 30.

112. **Oszagyán, M., Simándi, B., Kéry, Á., Lemberkovics, É. (2000)** A szuperkritikus állapotú szén-dioxiddal gyógynövényekből extrahálható komponensek, *Olaj, Szappan, Kozmetika*, 49 évfolyam, Különszám, p. 98-101.

113. **Oszagyán, M., Simándi, B., Sawinsky, J., Kéry, Á. (1996a)** A Comparison Between the Oil and Supercritical Carbon Dioxide Extract of Hungarian Wild Thyme *(Thymus serpyllum L.).* Journal of Essential Oil Research, 8: 333-335.

114. **Oszagyán, M., Simándi, B., Sawinsky, J., Kéry, Á., Lemberkovics, É., Fekete, J. (1996b):** Supercritical Fluid Extraction of Volatile Compounds from Lavandin and Thyme, Flavour and Fragrance Journal, 11: 157-165.

115. **ÖAB (1990)** Pharmacopoea Austriaca, Österreichisches Arzneibuch: Verlag der österreichischen Staatsdruckerei, Wien. p. 2343.

116. **Pappas, R. (1999)** Essential Oil of the Month, October. Essential Oils Database Online in: Sorensen, J.M. (2000) *Melissa officinalis*: Essential oil - Authenticity, Production and Pharmacological Activity - A Review, The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

117. **Paton, A., Harley, M.R., Harley, M.M. (1999)** *Ocimum*. An Overview of Classification and Relationships. In: Hiltunen, R., Holm, Y. (1999) Basil – The Genus *Ocimum*. Harwood Academic Publishers. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Amsterdam, p.1-38.

118. **Pavela, R., Sajfrotová, A., Sovová, H., Bárnet, M. (2008)** The Insecticidal Activity of *Satureja hortensis* L. Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction and Traditional Extraction Techniques. Applicational Entomologycal Zoology, 43 (3): 377-382.

119. **Pellecuer Enjalbert, F., Bessiere, J.M., Privat, G. (1981)** Contribution a l'étude de l'huile essentielle de Mélisse: *Melissa officinalis* L. In: Sorensen, J.M. (2000) *Melissa officinalis*: Essential oil - Authenticity, Production and Pharmacological Activity - a Review, The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

120. **Petró O-né, Domokos, J., Hornok, L., Ottó, A., Perédi, K., Zámbó, I. (1991)** Újratermelhető alapanyagokból szuperkritikus extrakcióval előállítható élelmiszeripari, kozmetikai és gyógyszeripari termékek, technológiák. Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár Kiadványa. Budapest.

121. **Pharmacopoea Hungarica (1986)** VII. kiadás, II. kötet. Medicina Könyvkiadó. Budapest. p. 1691-1694.

122. **Pharmacopoea Hungarica (2004)** VIII. kiadás, II. kötet. Medicina Könyvkiadó. Budapest. *Melissae folium*: p. 2208-2209. *Thymi aetheroleum*: p. 2395-2397., *Thymi herba*: p. 2397-2399., *Serpylli herba*: p. 2359-2360.

123. **Pino, J. A., Garcia, J., Martinez, M.A. (1998)** A Comparison Between the Oil, Solvent Extraction and Supercritical Carbon Dioxide Extract of *Ocimum gratissimum* L., Journal of Essential Oil Research, 10: 575-577.

124. **Pluhár, Zs., Kutta, G., Héthelyi, É. (2004)** Comparison of Supercritical Fluid Extracts and Essential Oils of Different Thyme (*Thymus*) taxa. 23^{iemes} Journées Internationales Huiles Essentielles et Extraits, Digne les Bains, France, 9-10 Septembre, 2004. *Abstracts*, p. 20. (Actes CD ROM)

125. **Pluhár, Zs., Németh, É., Bernáth, J., Héthelyi, É. (1996d):** Illóolaj tartalmú drogok szuprerkritikus extraktumainak analízise. Olaj, Szappan, Kozmetika, 45. évfolyam, Különszám, p. 70-74.

126. **Pluhár, Zs., Németh, É., Bernáth, J.,Veres, K.,Varga, E., Dobos, Á, Hajdú, Zs., Máthé I. (1996a):** Comparative Study on Hyssop Oil of Several Populations Obtained by Different Extraction Methods. Third International Conference " Cultivation, Harvesting and Processing of Herbs" Small Carpathian, Slovak Republic, 5-8. September, 1996. *Abstracts*, p. 46.

127. **Pluhár, Zs., Németh, É., Héthelyi, É. (1996b)** Analysis of Supercritical Extracts of Essential Oil Containing Medicinal plants. The First Egyptian-Hungarian Horticultural Conference. Kafr El-Sheikh, Egypt, 15-17. September, 1996. Proceedings, Vol. II. p. 318-324.

128. **Pluhár, Zs.; Padisák, G.; Héthelyi, É. (1996c):** A borsfű (*Satureja hortensis* L.) szuperkritikus szén-dioxid extrakciója. Lippay János Tudományos Ülésszak, 1996. okt. 17-18. *Összefoglalók*, p. 174-175.

129. **Pluhár, Zs. (2007)** *Thymus pannonicus* fotó

130. **Prasad, G., Kumar, A., Singh, A.K., Bhattacharya, A.K., Singh, K., Sharma, V.D. (1986)** Antimicrobial Activity of Essential Oils of some *Ocimum* species and Clove Oil. Fitoterapia, 57: 429-432.

131. **Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P., Chericon, S. (2007)** In Vitro Activity of the Essential Oils of *Origanum vulgare, Satureja montana* and Their Main Constituents in Peroxynitrite-induced Oxidative Processes. Food Chemistry, 104 (3): 889-895.

132. **Putievsky, E. (1983)** Temperature and Day-length Influences on the Growth and Germination of Sweet Basil and Oregano. Journal of Horticulture Sciences, 58: 583-87.

133. **Radonic, A., Milos, M. (2008)** Chemical Composition and *In Vitro* Evaluation of Antioxidant Effect of Free Volatile Compounds From *Satureja montana* L. Free Radical Research, 37 (6): 673-679.

134. **Raeissi, S., Peters, C.J. (2001)** Bubble-point Pressures of the Binary System Carbon Dioxide + Linalool. Journal of Supercritical Fluids, 20: 221-228.

135. **Regnault-Roger, C., Ribodeau, M., Hamraoui, A., Bareau, I., Blanchard, P., Gil-Munoz, M.-I., Barberan, F.T. (2004)** Polyphenolic Compounds of Mediterranean *Lamiaceae* and Investigation of Oriantational Effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). Journal of Stored Products Research, 40: 395-408.

136. **Reverchon, E., De Marco, I. (2006)** Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Natural Matter. Journal of Supercritical Fluids, 38: 146-166.

137. **Reverchon, E., Porta, G.D. (1997)** Tuberose Concrete Fractionation by Supercritical Carbon Dioxide. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (4): 1356-1360.

138. **Reverchon, E., Russo, P., Stassi, A. (1993)** Solubilities of Solid Octacosane in Supercritical Carbon Dioxide. Journal of Chemical Engineering Data, 38: 458-460.

139. **Reverchon, E., Senatore, F. (1992)** Isolation of Rosemary Oil: Comparison Between Hydrodistillation and Supercritical CO_2 Extraction. Flavour and Fragrance Journal. 7(4): 227-230.

140. **Reverchon, E., Taddeo, R., Porta, G. (1995)** Extraction of Sage Oil by Supercritical CO_2: Influence of some Process Parameters. Journal of Supercritical Fluids. 8 (4): 302-309.

141. **Ribeiro, M.A., Bernardo-Gil, M.G., Esquível, M.M. (2001)** *Melissa officinalis*, L.: Study of Antioxidant Activity in Supercritical Residues, Journal of Supercritical Fluids, 21: 51-60.

142. **Rónyai, E., Simándi, B., Kéry, Á., Lemberkovics, É., Then, M., Csordás, A. (1996)** Növényi kivonatok előállítása szuperkritikus extrakcióval. Olaj, Szappan, Kozmetika, 45. évfolyam, Különszám, pp. 94-99.

143. **Rónyai, E., Simándi, B., Lemberkovics, É., Veress, T., Patiaka, D. (1999)** Comparison of the Volatile Composition of Clary Sage Oil Obtained by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction. Journal of Essential Oil Research, 11: 69-71.

144. **Rosengarten, F. Jr. (1969)** The Book of Spices. Livingstone Publishing Company. Wynnewood, Pennsylvania. 1st edition. pp. 110-113; 412-414; 435-440.

145. **Roy, B.C., Goto, M., Kodama, A., Hirose, T. (1996)** Supercritical Fluid Extraction of Essential Oils and Cuticular Waxes from Peppermint Leaves. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 67 (1): 21-26.

146. **Rozzi, N.L., Phippen, W., Simon, J.E., Singh, R.K. (2002)** Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 35: 319-324.

147. **Ruberto, G., Baratta, M.T. (2000)** Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. Food Chemistry, 69: 167-174.

148. **Schöpke, T. (2004)** Kleines Arzneipflanzenlexikon Greifswald (online) www.pharmakobotanik.de/systematik/6droge-f/thmi-he.htm

149. **Sefidkon, F., Abbasi, K., Knaniki, G.B. (2006)** Influence of Drying and Extraction Methods on Yield and Chemical Composition of the Essential Oil of *Satureja hortensis*. Food Chemistry, 99 (1): 13-23.

150. **Simándi B., Sawinsky J. (2000)** A szuperkritikus oldószerek új alkalmazási lehetőségei: kémiai és biokémiai reakciók, Olaj, Szappan, Kozmetika, 49. évfolyam, Különszám, pp.3-13.

151. **Simándi, B. (2006)** A szuperkritikus extrakció műveleti fejlesztése és alkalmazása növényi hatóanyagok kinyerésére és enantiomerek elválasztására. Akadémiai Doktori Értekezés Tézisei. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest.

152. **Simándi, B., Sawinsky, J., Deák, A., Kemény, S., Fogassy, E., Fekete, J., Tömösközi, S. (1996)** A szuperkritikus extrakció néhány alkalmazása. Olaj, Szappan, Kozmetika. 45. évfolyam, Különszám: 36-41.

153. **Simándi, B., Sawinsky, J., Deák, A., Kemény, S., Sass-Kiss,Á., Hussein, D., Vásárhelyiné Perédi, K., Czukor, B., Domokos, J., Héthelyi, É., Pálinkás, J. (1999)** Növényi hatóanyagok kinyerése szuperkritikus extrakcióval, a kivonatok felhasználása élelmiszerekben és kozmetikumokban. Szuperkritikus oldószerek analitikai és műveleti alkalmazása konferencia. 1999. május 20. *Összefoglalók*, p.16-17.

154. **Simon, T. (2000)** A magyarországi edényes flóra határozója, Harasztok. Virágos növények, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest. pp. 374, 376-377, 377-378, 383.

155. **Skaltsa, H., Philianos, S. (1990)** Contribution á l'Étude Chimique d'*Ocimum basilicum* L. Plantes Médicinales et Phytothérapie, 24: 193-196.

156. **Škerget, M., Stangler Herodež, Š., Hadolin Kolar, M., Knez, Ž. (2002)** Separation of Antioxidative Components from Plants of the *Labiatae* Family by Supercritical Fluid Extraction. 4th International Symposium on High Pressure Process Technology and Chemical Engineering "High Pressure in Venice", September 22-25 2002, Venice, Italy. Assiciazione Italiana di Ingegneria Chimica AIDIC. 1: 187-192.

157. **Skopp, K., Hörster, H. (1976)** An Zucker Gebundene Reguläre Monoterpene. Teil I. Thymol- und Carvacrolglykoside in *Thymus vulgaris*. Planta Medica, 29: 208-215.

158. **Skoula, M., Grayer, R., Kite, G.C. (2005)** Surface Flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (*Lamiaceae*). Biochemical Systematics and Ecology, 33: 541-544.

159. **Slavkovska, V., Jancic, R., Bojovic, S., Milosavljevic, S., Djokovic, D. (2001)** Variability of Essential Oils of *Satureja montana* L. and *Satureja kitaibelii* Wierzb. Ex Heuff. from the Central Part of the Balkan Penninsula. Phytochemistry, 57: 71-76.

160. **Sorensen, J.M. (2000)** *Melissa officinalis*: Essential Oil - Authenticity, Production and Pharmacological Activity - A Review. The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

161. **Stahl-Biskup, E. (2002)** Essential Oil Chemistry of the Genus Thymus: A Global View. In: Stahl-Biskup, E., Sáez, F. Thyme. The Genus *Thymus*, Taylor and Francis. p. 76-81.

162. **Stahl-Biskup, E., Inert, F., Holthuijzen, J., Stengele, G., Schulz, G. (1993)** Glycosidically Bound Volatiles - a Review 1986-1991. Flavour and Fragrance Journal, 8 (2): 61–80.

163. **Stübers, H. (2001)** Melissa officinalis ábra; caliban.mpiz-koeln.mpg.de/koehler/ZITRONE2.jpg

164. **Sváb, J-né (1990)** Borsfű. In: Hornok, L. (szerk.): Gyógynövények termesztése és feldolgozása. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. p. 214-216.

165. **Szőke É., Kéry Á. (szerk.) (2003)** Farmakognózia – Növényi drogok farmakobotanikai és fitokémiai vizsgálata, Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognózia Intézet, Budapest, 2. kötet, p. 128.

166. **Tétényi, P. (1970)** Infraspecific Chemical Taxa of Medicinal Plants. Akadémiai Kiadó, Budapest. p. 225.

167. **Teyber, A. (1913)** Beitrag zur Flora Österreichs. Österreichische Botanische Zeitung, 63: 21-26.

168. **Tipsrisukond, L.N., Fernando, A.D., Clark, A.D. (1998)** Flavors and Aromas: Antioxidant Effects of Essential Oil and Oleoresin of Black Pepper From Supercritical Carbon Dioxide Extractions in Ground Pork. Journal of Agricultural Food Chemistry, 446: 4329-4333.

169. **Tittel, G., Wagner, H., Bos, R. (1982)** Über die Chemische Zusammensetzung von Melissenölen In**:** Sorensen, J.M. (2000) *Melissa officinalis*: Essential Oil - Authenticity, Production and Pharmacological Activity - A Review, The International Journal of Aromatherapy, 10 (1-2): 7-15.

170. **Tóth L. (2005)** Gyógynövények, drogok, fitoterápia, Debreceni Eegyetem, Kossuth Egyetemi Kiadó, Debrecen, pp. 9-12; 78-79; 81-85; 85-88; 88-89; 91-92.

171. **Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (1972)** Flora Europaea. Vol. 3. Cambridge University Press, Cambridge. p.163-165.

172. **Vági, E. (2005)** Természetes anyagok kinyerése szuperkritikus extrakcióval és a kivonatok biológiai tulajdonságai. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem. Ph.D. értekezés tézisei.

173. **Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á., Janzsó., B. (2002)** Szuperkritikus szén-dioxiddal kivont fűszer- és gyógynövény extraktumok mikrobiológiai aktivitásának vizsgálata, Olaj, Szappan, Kozmetika, 51. évfolyam, Különszám, pp. 48-51.

174. **Vásárhelyiné Perédi K., Simándi B., Benczur J., Hajdú V. (2000)** Szuperkritikus extrakcióval előállított fűszernövény kivonatok antioxidáns hatásának vizsgálata, Olaj, Szappan, Kozmetika, 49. évfolyam, Különszám, pp. 57-60.

175. **Viera, R.F., Grayer, R.J., Paton, A.J. (2003)** Chemical profiling of *Ocimum americanum* using external flavonoids. Phytochemistry. 60(5): 555-567.

176. **Vintageprintable (2009)** Ocimum basilicum ábra, www.vintageprintable.com

177. **Viorica, H. (1987)** Polyphenols of *Ocimum basilicum* L. Chujul. Med. 61: 340-344.

178. **Wang, H., Provan, G.J. Helliwell, K. (2004)** Determination of Rosmarinic Acid and Caffeic Acid in Aromatic Herbs by HPLC. Food Chemistry, 87 (2): 307-311.

179. **World Health Organization, (2002)** WHO Monographs on selected medicinal plants, Geneva, Volume 2. *Folium Melissae*: 180-187.

180. **www.chemicaland21.com (2009)** Material safety data: thymol, citral, citronellal, limonen, eugenol

181. **www.milleniumchem.com/aromaxChemicals/A (2002)** Material Safety Data Sheet: carvacrol, linalool, p-cymen, gamma-terpinene

182. **Zeković, Z., Lepojević, Ž., Vujić, Dj. (2000)** Supercritical Extraction of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Chromatographia, 51 (3-4): 175-179.

183. **Zgórka, G., Głowniak, K. (2001**) Variation of Free Phenolic Acids in Medicinal Plants Belonging to the *Lamiaceae* Family. Journal of the Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 26: 79-87.

184. **Zheng, W., Wang, S.Y. (2001)** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49 **(**11): 5165–5170.

185. **Ziakova, A., Brandsteterova, E. (2003a)** Application of Different Preparation Techniques for Extraction of Phenolic Antioxidants from Lemon Balm (*Melissa officinalis*) before HPLC Analysis. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 25 (19): 3017-3032.

186. **Ziakova, A., Brandsteterova, E. (2003b)** Validation of HPLC Determination of Phenolic Acids Present in Some *Lamiaceae* Family Plants. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 26 (3): 443-453.

M2: TOVÁBBI MELLÉKLETEK

1. melléklet: Melissa officinalis

1a. melléklet: A extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,366064	22	0,016639	1,061448	69	0,015383	1,081645	0,387219

Var2=nyomás

1b. melléklet: A extrakciós nyomás hatása a főbb illó összetevők arányára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Citronellál	144,808	8	18,1010	52,646	11	4,7860	3,782103	0,022454
Nerál	320,856	8	40,1071	496,383	16	31,0240	1,292777	0,314027
Geraniál	1830,660	8	228,8325	1833,135	16	114,5709	1,997300	0,113717
Kariofillén	31,030	8	3,8787	122,436	12	10,2030	0,380156	0,911432
Kariofillén-oxid	519,746	8	64,9682	497,813	19	26,2007	2,479639	0,049788

1c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Mo	0,149791	1	0,149791	44,78777	193	0,232061	0,645483	0,422721

Mo: *Melissa officinalis* – nyomásoptimalizáció, kihozatali értékek

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1)
N=195 (No missing data in dep. var. list)

kiv.	Mo Means	Mo N	Mo Std.Dev.
1	0,458024	192	0,483270
2	0,232833	3	0,299790
All Grps	0,454559	195	0,481287

1= SFE, 2= VGD

1d. melléklet: A extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	0,008164	5	0,001633	0,048211	18	0,002678	0,609600	0,693762

1e. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Mo	0,002452	1	0,002452	0,056377	25	0,002255	1,087507	0,307004

Mo: *Melissa officinalis* – hőmérséklet optimalizációs kihozatali értékek

Az extrakciós hőmérsékleti optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Mo Means	Mo N	Mo Std.Dev.
1	0,089459	24	0,049508
2	0,059133	3	0,001201
All Grps	0,086090	27	0,047568

1= SFE, 2= VGD

1f. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
időtartam	0,024237	5	0,004847	0,047316	18	0,002629	1,844050	0,154858

1g. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Mo	0,000019	1	0,000019	0,071556	25	0,002862	0,006694	0,935445

Mo: *Melissa officinalis* – időtartam optimalizáció kihozatali értékek

Az extrakciós időtartam optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Mo Means	Mo N	Mo Std.Dev.
1	0,061814	24	0,055776
2	0,059133	3	0,001201
All Grps	0,061516	27	0,052468

1= SFE, 2= VGD

1h. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	0,692528	22	0,031479	0,745865	69	0,010810	2,912080	0,000383

1i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Mo	1066,071	1	1066,071	1,348886	85	0,015869	67178,45	0,00

Mo: *Melissa officinalis* nyomásoptimalizációja, kihozatali értékek

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Mo Means	Mo N	Mo Std.Dev.
1	0,23208	84	0,126435
2	19,41667	3	0,105040
All Grps	0,89361	87	3,523048

1= SFE, 2= VGD

1j. melléklet: A extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára segédoldószerrel végzett extrakció esetében

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	0,624984	29	0,021551	3,691270	90	0,041014	0,525458	0,974285

1k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Mo	1074,596	1	1074,596	4,338321	121	0,035854	29971,54	0,00

Mo: *Melissa officinalis* – nyomás és segédoldószer optimalizáció, kihozatali értékek

Az extrakciós nyomás és segédoldószer optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=123 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Mo Means	Mo N	Mo Std.Dev.
1	0,25541	120	0,190450
2	19,41667	3	0,105040
All Grps	0,72276	123	2,973841

1= SFE, 2= VGD

1L. melléklet: A különböző (szuperkitikus szén-dioxidos és kontroll) extrakciós módszerek hatása a kihozatalra (kontroll: illó frakciónál: vízgőzdesztilláció; nem illó frakciónál: Soxhlet-extrakció) (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

vizsgált faj	Extrakciós paraméter				
	illó frakció			nem illó frakció	
	nyomás	időtartam	hőmérséklet	nyomás	nyomás + segédoldószer
Melissa officinalis	p=0,387219	p=0,154858	p=0,693762	***p=0,000383**	p=0,974285
Ocimum basilicum	p=0,754977	p=0,219125	p=0,745622	p=0,788844	***p=0,022099**
Satureja hortensis	p=0,152616	***p=0,000580**	p=0,524409	p=0,817607	***p=0,020007**
Satureja montana	***p=0,019042**	***p=0,000063**	p=0,527717	***p=0,017065**	p=0,080201
Thymus pannonicus	***p=0,000011**	***p=0,000046**	p=0,093016	***p=0,033396**	p=0,072155
Thymus vulgaris	p=0,970090	***p=0,007501**	p=0,261201	p=0,886591	***p=0,046385**

*95 %-os valószínűségi szinten kapott $p_{0,5\ \%}$-értékek

2. melléklet: Ocimum basilicum

2a. melléklet: A extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,605850	22	0,027539	2,483328	69	0,035990	0,765170	0,754977

2b. melléklet: A extrakciós nyomás hatása a főbb illó összetevők arányára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
linalool	340,5109	5	68,1022	1359,920	14	97,13717	0,701093	0,631774
esztragol	517,1716	5	103,4343	1068,716	13	82,20893	1,258188	0,338647
lin.-ac.	2,5346	5	0,5069	6,619	14	0,47282	1,072111	0,416693
eugenol	9,5091	5	1,9018	21,776	14	1,55543	1,222698	0,349328
t-berg.	20,0305	5	4,0061	9,023	14	0,64451	6,215728	0,003086
t-kadinén	28,5059	5	5,7012	24,230	14	1,73072	3,294105	0,035682
t-kadinol	108,7886	5	21,7577	131,107	14	9,36482	2,323347	0,098208

Jelmagyarázat: lin.-ac.= linalil-acetát
t-berg.= t-bergamotén

2c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ob	0,442429	1	0,442429	6,218867	195	0,031892	13,87290	0,000256

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=197 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Ob Means	Ob N	Ob Std.Dev.
1	0,233015	194	0,179401
2	0,620000	3	0,060000
All Grps	0,238909	197	0,184353

1= SFE, 2= VGD

2d. melléklet: A extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,074000	5	0,014800	0,495955	18	0,027553	0,537146	0,745622

Var2= extrakciós hőmérséklet kihozatali értékek

2e. melléklet: A extrakciós hőmérséklet hatása a főbb illó összetevők arányára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
linalool	1,803100	2	0,901550	27,73905	3	9,246350	0,097503	0,909859
esztragol	1,134533	2	0,567267	1,94340	3	0,647800	0,875682	0,501712
t-berg.	0,616933	2	0,308467	0,33615	3	0,112050	2,752938	0,209461
t-kadinén	0,501033	2	0,250517	0,16125	3	0,053750	4,660775	0,120139
t-kadinol	2,044900	2	1,022450	0,55265	3	0,184217	5,550258	0,098136

Jelmagyarázat: lin.-ac.= linalil-acetát
t-berg.= t-bergamotén

2f. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ob	0,440957	1	0,440957	0,577155	25	0,023086	19,10046	0,000191

Ob= hőmérséklet optimalizációs kihozatali értékek

Az extrakciós hőmérsékletoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Ob Means	Ob N	Ob Std.Dev.
1	0,213356	24	0,157419
2	0,620000	3	0,060000
All Grps	0,258539	27	0,197884

1= SFE, 2= VGD

2g. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,311682	11	0,028335	0,733230	36	0,020367	1,391174	0,219125

2h. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása a főbb illó összetevők arányára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
linalool	174,9964	2	87,4982	18,88720	6	3,147867	27,79602	0,000924
esztragol	499,4474	2	249,7237	18,96207	6	3,160344	79,01787	0,000049
t-berg.	1,2851	2	0,6425	1,93940	6	0,323233	1,98787	0,217580
t-kadinén	1,7987	2	0,8993	2,03027	6	0,338378	2,65781	0,149080
t-kadinol	11,7626	2	5,8813	7,57100	6	1,261833	4,66092	0,060051

Jelmagyarázat: t-berg.= t-bergamotén

2i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ob	0,506880	1	0,506880	1,052112	49	0,021472	23,60695	0,000013

Az extrakciós időtartamoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=51 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Ob Means	Ob N	Ob Std.Dev.
1	0,196302	48	0,149105
2	0,620000	3	0,060000
All Grps	0,221225	51	0,176578

1= SFE, 2= VGD

2j. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	1,182443	20	0,059122	5,158446	63	0,081880	0,722058	0,788844

2k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ob	3652,900	1	3652,900	6,345889	85	0,074658	48928,76	0,00

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Ob Means	Ob N	Ob Std.Dev.
1	0,35775	84	0,276399
2	35,87000	3	0,050000
All Grps	1,58231	87	6,522988

1= SFE, 2= VGD

2l. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes hatása a nem illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	2,583227	29	0,089077	4,537363	90	0,050415	1,766866	0,022099

2m. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer együttes hatása a luteolin tartalomra

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
luteolin	0,784323	4	0,196081	3,924513	10	0,392451	0,499631	0,737023

2n. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ob	3691,392	1	3691,392	7,125590	121	0,058889	62683,70	0,00

Az extrakciós nyomás és segédoldószeres extrakció optimalizációja: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=123 (No missing data in dep. var. list)		
Ob Means	Ob N	Ob Std.Dev.
0,35626	120	0,244616
35,87000	3	0,050000
1,22245	123	5,505971

3. melléklet: Satureja hortensis

3a. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	2,367912	22	0,107632	5,352348	69	0,077570	1,387547	0,152616

Var2= nyomásoptimalizáció kihozatali értékei

3b. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a főbb illó összetevők arányára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
g-terpinén	454,069	6	75,6781	591,3928	12	49,28273	1,535591	0,247942
karvakrol	1401,100	6	233,5166	937,4825	15	62,49883	3,736336	0,017839

3c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sh	1,737998	1	1,737998	7,727460	93	0,083091	20,91681	0,000015

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=95 (No missing data in dep. var. list)		
Sh Means	Sh N	Sh Std.Dev.
0,366551	92	0,291270
1,140000	3	0,060000
0,390975	95	0,317327

3d. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,159156	5	0,031831	0,663777	18	0,036876	0,863185	0,524409

Var2= hőmérséklet optimaliáció kihozatali értékei

3e. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása a főbb illó összetevők arányára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
g-terpinén	8,640000	1	8,640000	93,3675	4	23,34188	0,370150	0,575777
karvakrol	8,857350	1	8,857350	192,2363	4	48,05908	0,184301	0,689815
p-cimén	7,684017	1	7,684017	31,2115	4	7,80287	0,984768	0,377196

3f. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sh	2,092634	1	2,092634	0,830133	25	0,033205	63,02107	0,000000

Az extrakciós hőmérsékletoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sh Means	Sh N	Sh Std.Dev.
1	0,254146	24	0,189155
2	1,140000	3	0,060000
All Grps	0,352574	27	0,335282

1= SFE, 2= VGD

3g. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihozatal	0,765335	11	0,069576	0,605754	36	0,016827	4,134901	0,000580

3h. táblázat: Az extrakciós időtartam hatása a főbb illó összetevők arányára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
g-terpinén	152,5104	1	152,5104	118,6297	4	29,65743	5,142401	0,085947
karvakrol	50,5180	1	50,5180	189,9995	4	47,49987	1,063540	0,360680

3i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sh	2,233334	1	2,233334	1,378290	49	0,028128	79,39792	0,000000

Az extrakciós időtartam optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=51 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sh Means	Sh N	Sh Std.Dev.
1	0,250634	48	0,170798
2	1,140000	3	0,060000
All Grps	0,302949	51	0,268761

1= SFE, 2= VGD

3j. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	2,779012	20	0,138951	12,62406	63	0,200382	0,693429	0,817607

3k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sh	1511,747	1	1511,747	15,41587	85	0,181363	8335,469	0,00

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sh Means	Sh N	Sh Std.Dev.
1	0,52459	84	0,430789
2	23,37000	3	0,080000
All Grps	1,31236	87	4,213990

1= SFE, 2= VGD

3l. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a nem illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet21) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	4,511606	29	0,155573	7,833403	90	0,087038	1,787414	0,020007

3m. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a nem illó frakció főbb összetevőire (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
luteolin	0,00	4	0,00	0,003	9	0,0004	0,97379	0,467682
urzolsav	43379,02	4	10844,75	4767,547	9	529,7275	20,47233	0,000153

3n. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sh	1523,017	1	1523,017	12,35781	121	0,102131	14912,43	0,00

Az extrakciós nyomás és segédoldószer optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=123 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sh Means	Sh N	Sh Std.Dev.
1	0,55851	120	0,322086
2	23,37000	3	0,080000
All Grps	1,11489	123	3,547540

1= SFE, 2= VGD

4. melléklet: Satureja montana

4a. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	12,76839	22	0,580381	20,55636	69	0,297918	1,948123	0,019042

4b. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció főbb összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
cimén	29,42544	7	4,203634	252,3303	15	16,82202	0,24989	0,96435
t-szab.hidr.	1,02002	7	0,145717	0,4300	15	0,02867	5,08334	0,00401
geraniol	7,74519	7	1,106455	25,0163	15	1,66776	0,66344	0,69943
timol	4,78235	7	0,683193	0,9889	15	0,06593	10,36258	0,00009
karv	28,66241	7	4,094629	202,3977	15	13,49318	0,30346	0,94140
kariofillén	0,66404	7	0,094863	0,2461	15	0,01641	5,78119	0,00217
b-bizabol.	0,32447	7	0,046352	0,6323	15	0,04216	1,09956	0,41161
kariof.oxid	2,33395	7	0,333421	0,8930	15	0,05953	5,60068	0,00253

Jelmagyarázat: t-szab.hidr.= transz-szabinén.hidrát
karv.=karvakrol
b-bizabol.= β-bizabolén
kariof.oxid= kariofillén-oxid

4c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sm	1,460166	1	1,460166	33,32476	93	0,358331	4,074910	0,046404

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=95 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sm Means	Sm N	Sm Std.Dev.
1	0,853562	92	0,605150
2	1,562500	3	0,002600
All Grps	0,875949	95	0,608319

1= SFE, 2= VGD

4d. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	0,628364	5	0,125673	2,637151	18	0,146508	0,857786	0,527717

4e. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció főbb összetevőire (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kariof	0,2289	2	0,11445	0,0399	3	0,01328	8,61606	0,057098
b-bizab	0,0100	2	0,00502	0,0423	3	0,01410	0,35579	0,726680
szabinén	1,7257	2	0,86287	0,4236	3	0,14120	6,11095	0,087494
tszh	0,3420	2	0,17102	0,0670	3	0,02235	7,65175	0,066356
linalool	0,1744	2	0,08722	0,0193	3	0,00643	13,55699	0,031443
izoborn	0,0283	2	0,01415	0,0047	3	0,00157	9,03191	0,053750
terp4ol	0,0063	2	0,00315	0,0058	3	0,00195	1,61538	0,334095
geraniol	3,4471	2	1,72355	2,4311	3	0,81037	2,12688	0,265973
timol	0,3924	2	0,19620	0,0902	3	0,03005	6,52912	0,080749
karv	177,6862	2	88,84312	239,9903	3	79,99675	1,11058	0,435542
spath	0,0056	2	0,00282	0,3193	3	0,10643	0,02646	0,974108
kariof.oxid	0,0184	2	0,00922	0,0351	3	0,01168	0,78887	0,530523

Jelmagyarázat: kariof.= kariofillén
b-bizab.= β-bizabolén
tszh= transz-szabinén-hidrát
izoborn = izoborneol
terp4ol= terpinén-4-ol
karv= karvakrol
spath= spathulenol
kariof.oxid= kariofillén-oxid

4f. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sm	1,559193	1	1,559193	3,265529	25	0,130621	11,93676	0,001976

Az extrakciós hőmérsékletoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sm Means	Sm N	Sm Std.Dev.
1	0,797845	24	0,376801
2	1,562500	3	0,002600
All Grps	0,882807	27	0,430774

1= SFE, 2= VGD

4g. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihoz	6,529606	11	0,593601	4,028172	36	0,111894	5,305042	0,000063

4h. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció főbb összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
b-biz	1,9668	3	0,65559	0,4854	8	0,06068	10,80493	0,003466
spath	30,8050	3	10,26832	36,1002	8	4,51252	2,27552	0,156811
kariof.oxid	1,6555	3	0,55183	5,8806	8	0,73508	0,75071	0,551960
geraniol	6,5097	3	2,16990	28,3342	8	3,54178	0,61266	0,625647
timol	1,3294	3	0,44312	0,5166	8	0,06457	6,86213	0,013292
karv	201,2578	3	67,08594	261,3780	8	32,67225	2,05330	0,185000
cimén	265,4035	3	88,46783	253,4003	8	31,67503	2,79298	0,109102
tszh	0,4973	3	0,16576	1,2382	8	0,15478	1,07095	0,414238
linalool	0,0260	3	0,00868	0,0015	8	0,00018	47,31818	0,000020
izoborn	0,0074	3	0,00247	0,0728	8	0,00910	0,27106	0,844652
terp4ol	0,0029	3	0,00096	0,0133	8	0,00167	0,57833	0,645407

Jelmagyarázat: b-bizab.= β-bizabolén
spath= spathulenol
kariof.oxid= kariofillén-oxid
karv= karvakrol
tszh= transz-szabinén-hidrát
izoborn = izoborneol
terp4ol= terpinén-4-ol

4i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sm	2,541846	1	2,541846	10,55779	49	0,215465	11,79702	0,001217

Az extrakciós időtartamoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=51 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sm Means	Sm N	Sm Std.Dev.
1	0,613692	48	0,473955
2	1,562500	3	0,002600
All Grps	0,669504	51	0,511852

1= SFE, 2= VGD

4j. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	38,03485	20	1,901742	58,80602	63	0,933429	2,037373	0,017065

4k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sm	1168,063	1	1168,063	96,86087	85	1,139540	1025,031	0,00

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sm Means	Sm N	Sm Std.Dev.
1	2,11867	84	1,080165
2	22,20000	3	0,100000
All Grps	2,81113	87	3,835156

1= SFE, 2= VGD

4l. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a nem illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	78,65484	29	2,712236	164,0531	90	1,822812	1,487940	0,080201

4m. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a luteolin arányára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet23) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
luteolin	0,027625	4	0,006906	0,048604	10	0,004860	1,420941	0,296321

4n. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Sm	1243,436	1	1243,436	168,9300	121	1,396116	890,6398	0,00

Az extrakciós nyomás és segédoldószer optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=123 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Sm Means	Sm N	Sm Std.Dev.
1	1,58834	120	1,191391
2	22,20000	3	0,100000
All Grps	2,09106	123	3,402465

1= SFE, 2= VGD

5. Thymus pannonicus

5a. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	1,793513	22	0,081523	1,477470	69	0,021413	3,807257	0,000011

5b. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció főbb összetevőire (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
1,8-cineol	3,3300	5	0,66600	3,1995	16	0,19997	3,330582	0,029880
tszh	0,0322	5	0,00644	0,6865	16	0,04291	0,150084	0,977062
linalool	1,6775	5	0,33551	1,1851	16	0,07407	4,529865	0,009179
a-terpineol	0,0821	5	0,01643	0,0404	16	0,00253	6,505491	0,001756
timol-metiléter	24,1260	5	4,82521	40,2721	16	2,51701	1,917043	0,147425
karv.metiléter	6,2992	5	1,25984	10,1658	16	0,63537	1,982854	0,136231
geraniol	2,5908	5	0,51816	5,0117	16	0,31323	1,654223	0,202721
timol	434,8433	5	86,96866	254,5398	16	15,90874	5,466722	0,004026
karv	4,4676	5	0,89351	15,3255	16	0,95784	0,932837	0,485826
ger.izobutirát	0,0428	5	0,00857	0,2354	16	0,01471	0,582374	0,713219
kariof	6,8350	5	1,36699	18,4842	16	1,15526	1,183273	0,360345
b-bizab	38,0880	5	7,61760	12,4345	16	0,77716	9,801884	0,000197
kariof.oxid	5,0435	5	1,00869	9,1717	16	0,57323	1,759668	0,178309

Jelmagyarázat: tszh= transz-szabinén-hidrát
karv= karvakrol
ger.izobutirát= geranil-izobutirát
kariof= kariofillén
b-bizab= β-bizabolén
karof.oxid= kariofillén-oxid

5c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tp	0,428349	1	0,428349	3,275984	93	0,035226	12,16016	0,000747

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása (1= SFE, 2= VGD**)**

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=95 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tp Means	Tp N	Tp Std.Dev.
1	0,326022	92	0,189591
2	0,710000	3	0,050000
All Grps	0,338148	95	0,198514

5d. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,071468	5	0,014294	0,114103	18	0,006339	2,254850	0,093016

5e. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció főbb összetevőire (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
linalool	0,00540	1	0,00540	0,24353	4	0,060883	0,08869	0,780672
kámfor	0,01402	1	0,01402	0,05747	4	0,014367	0,97564	0,379195
izoborn	0,35527	1	0,35527	1,50287	4	0,375717	0,94557	0,385912
a-terpineol	0,00082	1	0,00082	0,04767	4	0,011917	0,06853	0,806415
timol-mé	0,00000	1	0,00000	0,41773	4	0,104433	0,00000	1,000000
karv-mé	0,01500	1	0,01500	0,20353	4	0,050883	0,29479	0,616005
geraniol	5,60667	1	5,60667	2,36293	4	0,590733	9,49103	0,036905
timol	21,81227	1	21,81227	35,20367	4	8,800917	2,47841	0,190535
karvakrol	0,00540	1	0,00540	0,05680	4	0,014200	0,38028	0,570820
kariof	0,29927	1	0,29927	0,93953	4	0,234883	1,27411	0,322110
b-bizabolén	4,05082	1	4,05082	13,42013	4	3,355033	1,20738	0,333545
spath	0,87402	1	0,87402	0,30067	4	0,075167	11,62772	0,027029
kariof-oxid	2,22042	1	2,22042	1,25107	4	0,312767	7,09928	0,056130

Jelmagyarázat: izoborn= izoborneol
timol-mé= timol-metil-éter
karv-mé= karvakrol-metil-éter
kariof= kariofillén
spath= spathulenol
kariof-oxid= kariofillén-oxid

5f. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tp	0,804246	1	0,804246	0,190571	25	0,007623	105,5048	0,000000

Az extrakciós hőmérsékletoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tp Means	Tp N	Tp Std.Dev.
1	0,160826	24	0,089824
2	0,710000	3	0,050000
All Grps	0,221845	27	0,195607

1= SFE, 2= VGD

5g. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,238401	11	0,021673	0,142505	36	0,003958	5,475023	0,000046

5h. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció főbb összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
tszh	19,33621	2	9,66811	59,21128	7	8,458754	1,142971	0,371922
izoborn	0,44187	2	0,22093	2,61834	7	0,374049	0,590656	0,579379
timol-me	2,31853	2	1,15926	7,34603	7	1,049433	1,104656	0,382867
karv-me	0,26008	2	0,13004	1,81133	7	0,258762	0,502540	0,625264
geraniol	3,87883	2	1,93942	2,99821	7	0,428315	4,528008	0,054716
timol	77,97174	2	38,98587	47,95730	7	6,851043	5,690502	0,034084
spathulenol	2,87587	2	1,43793	4,35654	7	0,622363	2,310443	0,169631
kariof-oxid	0,94211	2	0,47105	3,37034	7	0,481477	0,978352	0,422012

Jelmagyarázat: tszh= transz-szabinén-hidrát
izoborn= izoborneol
timol-mé= timol-metil-éter
karv-mé= karvakrol-metil-éter
kariof-oxid= kariofillén-oxid

5i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tp	1,041178	1	1,041178	0,385906	49	0,007876	132,2024	0,000000

Az extrakciós időtartamoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=51 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tp Means	Tp N	Tp Std.Dev.
1	0,102752	48	0,090024
2	0,710000	3	0,050000
All Grps	0,138472	51	0,168943

1= SFE, 2= VGD

5j. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	102,4880	20	5,124401	174,2410	63	2,765730	1,852821	0,033396

5k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tp	1993,881	1	1993,881	276,7362	85	3,255720	612,4239	0,00

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tp Means	Tp N	Tp Std.Dev.
1	0,89332	84	1,825947
2	27,13000	3	0,060000
All Grps	1,79803	87	5,138338

1= SFE, 2= VGD

5l. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a nem illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet14) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	24,53749	29	0,846120	50,36479	90	0,559609	1,511985	0,072155

5m. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a luteolin és a rozmaringsav arányára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
luteolin	0,053081	4	0,013270	0,045114	10	0,004511	2,941494	0,075796
rozm.sav	0,009007	4	0,002252	0,013456	10	0,001346	1,673499	0,231756

5n. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tp	2019,574	1	2019,574	74,90948	121	0,619087	3262,183	0,00

Az extrakciós nyomás és segédoldószer optimalizációja: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=123 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tp Means	Tp N	Tp Std.Dev.
1	0,86175	120	0,793367
2	27,13000	3	0,060000
All Grps	1,50244	123	4,143416

1= SFE, 2= VGD

6. Thymus vulgaris

6a. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	4,771542	19	0,251134	33,04986	60	0,550831	0,455918	0,970090

6b. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása az illó frakció összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
a-pinén	0,0236	3	0,00785	0,05765	7	0,00824	0,953166	0,465503
b-fellandrén	0,0466	3	0,01554	0,04527	7	0,00647	2,403311	0,153056
a-terpinén	0,0949	3	0,03163	0,31438	7	0,04491	0,704263	0,579058
p-cimén	17,8050	3	5,93499	25,00492	7	3,57213	1,661471	0,260824
limonén	0,0259	3	0,00864	0,05973	7	0,00853	1,012547	0,442288
1,8-cineol	0,1004	3	0,03346	0,12818	7	0,01831	1,827232	0,230081
g-terpinén	5,5944	3	1,86481	12,01953	7	1,71708	1,086038	0,415403
tszh	0,5002	3	0,16674	0,40880	7	0,05840	2,855127	0,114303
linalool	2,3764	3	0,79215	2,26385	7	0,32341	2,449380	0,148411
kámfor	0,0241	3	0,00805	0,02293	7	0,00328	2,456043	0,147754
borneol	0,1106	3	0,03688	0,10945	7	0,01564	2,358722	0,157729
terpinén-4-ol	0,0127	3	0,00423	0,01372	7	0,00196	2,160647	0,180796
a-terpineol	0,0043	3	0,00143	0,00492	7	0,00070	2,041397	0,196747
karv.mé	0,1089	3	0,03629	0,05560	7	0,00794	4,568999	0,044860
geraniol	0,0037	3	0,00125	0,01965	7	0,00281	0,445293	0,728222
timol	154,3267	3	51,44225	96,36173	7	13,76596	3,736916	0,068563
karvakrol	1,2095	3	0,40318	0,60252	7	0,08607	4,684111	0,042462
b-kariofillén	1,6846	3	0,56153	1,05698	7	0,15100	3,718779	0,069240

Jelmagyarázat: tszh= transz-szabinén-hidrát
karv-mé= karvakrol-metil-éter

6c. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tv	1,234694	1	1,234694	41,01221	83	0,494123	2,498759	0,117740

Az extrakciós nyomás optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása (1= SFE, 2= VGD**)**

kiv.	Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=85 (No missing data in dep. var. list)		
	Tv Means	Tv N	Tv Std.Dev.
1	1,033170	82	0,711515
2	1,686333	3	0,053003
All Grps	1,056223	85	0,709182

6d. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	0,000790	5	0,000158	0,001990	18	0,000111	1,429738	0,261201

6e. melléklet: Az extrakciós hőmérséklet hatása az illó frakció összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
b-fellandrén	0,03227	1	0,03227	0,0123	4	0,00307	10,52174	0,031563
p-cimén	16,60007	1	16,60007	37,2577	4	9,31443	1,78219	0,252794
1,8-cineol	0,09127	1	0,09127	0,0537	4	0,01342	6,80248	0,059535
g-terpinén	20,75760	1	20,75760	22,5963	4	5,64908	3,67451	0,127727
tszh	0,47602	1	0,47602	0,1137	4	0,02842	16,75132	0,014940
linalool	0,28602	1	0,28602	0,3541	4	0,08853	3,23061	0,146683
kámfor	0,00167	1	0,00167	0,0083	4	0,00207	0,80645	0,419940
borneol	0,01707	1	0,01707	0,0581	4	0,01452	1,17566	0,339224
terpinén-4-ol	0,12615	1	0,12615	0,8309	4	0,20773	0,60727	0,479348
a-terpineol	0,00167	1	0,00167	0,0043	4	0,00108	1,53846	0,282631
karv.mé	0,01215	1	0,01215	0,0062	4	0,00155	7,83871	0,048823
timol	12,32667	1	12,32667	119,0363	4	29,75908	0,41422	0,554881
karvakrol	0,02667	1	0,02667	0,7763	4	0,19407	0,13741	0,729666
b-kariofillén	0,13202	1	0,13202	0,4853	4	0,12133	1,08805	0,355795
kariofillén oxid	0,00540	1	0,00540	0,0907	4	0,02268	0,23806	0,651147

Jelmagyarázat: tszh= transz-szabinén-hidrát
karv-mé= karvakrol-metil-éter

6f. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/hőmérséklet paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tv	2,705415	1	2,705415	3,827091	25	0,153084	17,67279	0,000293

Az extrakciós hőmérséklet optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1) N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tv Means	Tv N	Tv Std.Dev.
1	0,679094	24	0,407616
2	1,686333	3	0,053003
All Grps	0,791010	27	0,501249

1= SFE, 2= VGD

6g. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció kihozatalára
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
V2	2,723830	5	0,544766	2,161872	18	0,120104	4,535784	0,007501

6h. melléklet: Az extrakciós időtartam hatása az illó frakció összetevőire
(piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
béta-fellandrén	0,02280	2	0,01140	0,008950	3	0,002983	3,82123	0,149665
béta-mircén	0,38663	2	0,19332	0,090050	3	0,030017	6,44031	0,082107
alfa-terpinén	0,27123	2	0,13562	0,053450	3	0,017817	7,61179	0,066793
p-cimén	17,66770	2	8,83385	8,022850	3	2,674283	3,30326	0,174515
limonén	0,04690	2	0,02345	0,010300	3	0,003433	6,83010	0,076412
1,8-cineol	0,04343	2	0,02172	0,004450	3	0,001483	14,64045	0,028331
gamma-terpinén	16,74210	2	8,37105	2,115700	3	0,705233	11,86990	0,037579
transz-szabinén-hidrát	0,47343	2	0,23672	0,193700	3	0,064567	3,66624	0,156450
linalool	0,83410	2	0,41705	0,948650	3	0,316217	1,31887	0,388171
kámfor	0,01213	2	0,00607	0,020550	3	0,006850	0,88564	0,498572
borneol	0,05743	2	0,02872	0,065500	3	0,021833	1,31527	0,388917
terpinén-4-ol	0,01403	2	0,00702	0,013100	3	0,004367	1,60687	0,335469
alfa-terpineol	0,00390	2	0,00195	0,004500	3	0,001500	1,30000	0,392103
karvakrol-metil-éter	0,02103	2	0,01052	0,016450	3	0,005483	1,91793	0,290731
timol	75,90040	2	37,95020	6,605750	3	2,201917	17,23508	0,022654
karvakrol	0,50763	2	0,25382	0,139300	3	0,046433	5,46626	0,099917
β-kariofillén	1,16653	2	0,58327	0,891800	3	0,297267	1,96210	0,285186
kariofillén-oxid	0,02543	2	0,01272	0,390100	3	0,130033	0,09780	0,909610

6i. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/időtartam paraméter és a vízgőzdesztilláció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tv	2,893408	1	2,893408	4,891321	25	0,195653	14,78848	0,000736

Az extrakciós időtartam optimalizációja: a kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=27 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tv Means	Tv N	Tv Std.Dev.
1	0,644687	24	0,460892
2	1,686333	3	0,053003
All Grps	0,760425	27	0,547186

1= SFE, 2= VGD

6j. melléklet: Az extrakciós nyomás hatása a nem illó frakció kihozatalára

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet16) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Var2	5,754149	20	0,287707	29,46037	63	0,467625	0,615253	0,886591

6k. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tv	1331,841	1	1331,841	35,24832	85	0,414686	3211,684	0,00

Az extrakciós nyomásoptimalizáció: kihozatali értékek átlagai és szórása

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=87 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tv Means	Tv N	Tv Std.Dev.
1	0,98700	84	0,651361
2	22,43000	3	0,130000
All Grps	1,72642	87	3,987027

1= SFE, 2= VGD

6l. melléklet: Az extrakciós nyomás és a segédoldószer hatása a nem illó frakció kihozatalára (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet19) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
kihozatal	8,998003	29	0,310276	17,34633	90	0,192737	1,609841	0,046385

6m. melléklet: Az extrakciós módszer (szuperkritikus extrakció/nyomás és segédoldószer paraméter és a Soxhlet-extrakció) hatása a kihozatalra (piros kiemelés: szignifikáns a kezelés hatása, p<0,05000)

Variable	Analysis of Variance (Spreadsheet1) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Tv	1368,551	1	1368,551	26,37814	121	0,218001	6277,723	0,00

Az extrakciós nyomás és segédoldószer optimalizációja: kihozatali értékek átlagai és szórása (1= SFE, 2= VGD**)**

Breakdown Table of Descriptive Statistics (Spreadsheet1 N=123 (No missing data in dep. var. list)			
kiv.	Tv Means	Tv N	Tv Std.Dev.
1	0,80621	120	0,470511
2	22,43000	3	0,130000
All Grps	1,33362	123	3,381397

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton mondok köszönetet témavezetőmnek, dr. Pluhár Zsuzsannának, aki lehetővé tette számomra a téma kidolgozását és folyamatosan segítette munkámat, valamint építő kritikákkal segített, illetve prof. Dr. Bernáth Jenő tanszékvezetőnek, aki biztosította eredményeim publikálását és közzétételét különböző konferenciákon illetve tanulmányutakon. Az illóolaj tartalom mennyiségi és minőségi analízisében nyújtott értékes segítségét szeretném megköszönni Ruttner Klárának és Sárosi Szilviának. A fenolos és fenolos komponensek analíziséért köszönet illeti dr Végvári Györgyöt és Sándor Gergőt. Fülöp Anita Lillának, 2008-ban végzett okleveles kertészmérnök hallgatómnak is itt mondok köszönetet több éves, kitartó munkájáért, mellyel nagyban hozzájárult disszertációm megszületéséhez.

Végül, de nem utolsó sorban megköszönöm szüleim és párom szerető támogatását és türelmét, melyet tanulmányaim és az értekezés írása során tanúsítottak.