

ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ *CISTUS CRETICUS* ΚΑΙ *SIDERITIS SYRIACA*

**Ν. Κάτσης¹, Μ. Χίλιου¹, Ν. Νόβακ¹, Ε. Πετροπούλου¹, Δ. Τσιμογιάννης¹, Κ. Γαρδίκης²,
Θ. Λυμπεροπούλου¹, Β. Λούλη^{1,*}, Β. Ωραιοπούλου¹, Κ. Μαγουλάς¹**

¹Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

²ΑΡΙΒΙΤΑ ΑΕΒΕ, ΒΙ.ΠΑ. Μαρκοπούλου, Ελλάδα

(*svlouli@chemeng.ntua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετάται η εκχύλιση των φυτών *Cistus creticus* και *Sideritis syriaca* με χρήση υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Συγκεκριμένα, εξετάζεται η επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας εκχύλισης καθώς και της ροής του διαλύτη στην απόδοση της διεργασίας. Σημαντικότερη αποδεικνύεται η επίδραση της πίεσης, με αύξηση της οποίας αυξάνει και η απόδοση. Επίσης τα εκχυλίσματα της υπερκρίσιμης εκχύλισης (Υ.Ε.) συγκρίνονται με εκείνα συμβατικών μεθόδων εκχύλισης, όπως η υδροαπόσταξη και η εκχύλιση με οργανικό διαλύτη, ως προς την απόδοση, τη σύσταση και την αντιοξειδωτική δράση. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η Υ.Ε. είναι ανταγωνιστική των κλασικών αυτών μεθόδων. Τέλος, η διεργασία της Υ.Ε. μοντελοποιήθηκε με επιτυχία με χρήση ενός μαθηματικού μοντέλου βασισμένου στα διαφορικά ισοζύγια μάζας, θεωρώντας εμβολική ροή και την ύπαρξη κατεστραμμένων και μη κυτταρικών δομών στην πρώτη ύλη.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ελληνική χλωρίδα είναι πλούσια σε αρωματικά φυτά, μοναδικά στο είδος τους και με εκχυλίσματα ιδιαίτερα βιοδραστικά, τα οποία τα τελευταία χρόνια έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα φυτά *Cistus creticus* (Κίστος ο Κρητικός) και *Sideritis syriaca* (τσάι του βουνού) που είναι ενδημικά της Κρήτης και τα εκχυλίσματά τους παρουσιάζουν σημαντικές ιδιότητες, όπως αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη, αντιμυκητιακή, αντιοξειδωτική κτλ. δράση^[1, 2]. Παρόλα αυτά οι μελέτες οι σχετικές με τη διεργασία ανάκτησης του ελαίου τους είναι ακόμα περιορισμένες.

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η μελέτη της εκχύλισης των φυτών αυτών με υπερκρίσιμο CO₂, καθώς πρόκειται για ένα φθινό, πτητικό, μη τοξικό, μη εύφλεκτο και εύκολα διαθέσιμο διαλύτη με καλή διαλυτική ικανότητα, που δεν οδηγεί σε θερμική ή χημική αλλοίωση του προϊόντος^[3].

Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση της πίεσης, της θερμοκρασίας και της ροής του διαλύτη στην απόδοση της διεργασίας. Επίσης, εξετάσθηκε η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων της Υ.Ε. καθώς και η χημική τους σύσταση με χρήση αέριας χρωματογραφίας (GC-MS), τα οποία και συγκρίθηκαν με εκείνα της υδροαπόσταξης και της εκχύλισης με οργανικό διαλύτη (Soxhlet), αποδεικνύοντας ότι η Υ.Ε. είναι ανταγωνιστική των κλασικών μεθόδων διαχωρισμού. Τέλος, η διεργασία μοντελοποιήθηκε με επιτυχία με χρήση ενός μαθηματικού μοντέλου εμβολικής ροής^[4].

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Το μοντέλο εμβολικής ροής που αναπτύχθηκε από τους Σονονά και συνεργάτες^[4, 5] βασίζεται στην ύπαρξη ενός γρήγορου σταδίου (I), που περιορίζεται από τη διαλυτότητα, και κατά το οποίο εκχυλίζεται το ποσό της διαλυόμενης ουσίας (δ.ο.) που ελευθερώνεται κατά το σπάσιμο των κυτταρικών δομών της πρώτης ύλης, και ενός αργού σταδίου (III), ελεγχόμενου από τη διάχυση, όπου εκχυλίζεται το παγιδευμένο εντός των σωματιδίων ποσό της δ.ο..

Οι εξισώσεις του μοντέλου είναι οι ακόλουθες:

$$e = \begin{cases} q y_r [1 - \exp(-Z)] & q < q_m \quad \text{(I)} \\ y_r [q - q_m \exp(z_w - Z)] & q_m \leq q < q_n \quad \text{(II)} \\ x_0 - \frac{y_r}{W} \ln \left\{ 1 + \left[\exp\left(\frac{W x_0}{y_r}\right) - 1 \right] \exp[W(q_m - q)] x_k / x_0 \right\} & q \geq q_n \quad \text{(III)} \end{cases} \quad (1)$$

με:

$$q_m = (x_0 - x_k) / y_r Z, \quad q_n = q_m \frac{1}{W} \ln \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp\left(\frac{W x_0}{y_r}\right)}{x_0} \quad (2)$$

$$\frac{z_w}{Z} = \frac{y_r}{W x_0} \ln \frac{x_0 \exp[W(q - q_m)] - x_k}{x_0 - x_k} \quad (3)$$

$$Z = k_f a_o \rho / [\dot{q}(1 - \varepsilon) \rho_s] \quad \text{and} \quad W = k_s a_o / [\dot{q}(1 - \varepsilon)] \quad (4)$$

όπου e η ειδική ποσότητα εκχυλίσματος (kg δ.ο./kg τροφοδοσίας ελεύθερης δ.ο.), q η ειδική ποσότητα διαλύτη που καταναλώνεται (kg διαλύτη/kg τροφοδοσίας ελεύθερης δ.ο.), y_r η διαλυτότητα της δ.ο. στο διαλύτη (kg δ.ο./kg διαλύτη), Z η αδιάστατη παράμετρος μεταφοράς μάζας στη φάση του διαλύτη, x_0 η ολική συγκέντρωση της δ.ο. στο στερεό που μπορεί να εκχυλιστεί στις συνθήκες του πειράματος (kg δ.ο./kg τροφοδοσίας ελεύθερης δ.ο.), W η αδιάστατη παράμετρος μεταφοράς μάζας στη στερεά φάση, x_k η ολική συγκέντρωση του δεσμευμένου μέρους της δ.ο. στο στερεό (kg δ.ο./ kg τροφοδοσίας ελεύθερης δ.ο.), \dot{q} η ειδική ροή μάζας του διαλύτη (kg διαλύτη/s kg τροφοδοσίας ελεύθερης δ.ο.).

Η διαλυτότητα y_r μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση του πρώτου τμήματος της εκχύλισης, ενώ το x_0 προσδιορίζεται πειραματικά από την εκχύλιση της πρώτης ύλης μέχρι εξαντλήσεως. Συνεπώς οι προσαρμόσιμες παράμετροι του μοντέλου είναι οι: x_k , Z και W .

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Υλικά. Τα φύλλα από τα φυτά *Cistus creticus* και *Sideritis syriaca* συλλέχθηκαν στην Κρήτη το 2017 και 2018 αντίστοιχα. Η υγρασία τους βρέθηκε ίση με 7.5% και 7.1% κ.β. αντίστοιχα, ενώ πριν τη διεξαγωγή των πειραμάτων, η πρώτη ύλη τεμαχιζόταν και μετά από κοσκίνιση λαμβανόταν το κλάσμα με κοκκομετρία <425μm.

Το υγρό CO₂ (99.5%) που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρείας Air-Liquide, Ελλάδα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν (νερό, εξάνιο, αιθανόλη, μεθανόλη) ήταν καθαρότητας HPLC από την εταιρεία Merck KGaA, Darmstadt. Το αντιδραστήριο 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), καθαρότητας 95%, αγοράστηκε από την εταιρεία Sigma-Aldrich (USA).

Υπερκρίσιμη Εκχύλιση. Τα πειράματα της Υ.Ε. πραγματοποιήθηκαν στη μονάδα SFE-500 (SEPAREX, France). Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε όπως και η διάταξη περιγράφονται αναλυτικά από τους Paramichail et al. [6], ενώ για τον σχεδιασμό των πειραμάτων εφαρμόστηκε παραγοντικός σχεδιασμός 3 παραγόντων (A,B,C) σε δύο επίπεδα, ένα υψηλό και ένα χαμηλό, με ένα κεντρικό σημείο (4 επαναλήψεις) με τη βοήθεια του Design Expert v11 trial version. Επίσης πραγματοποιήθηκε και δοκιμαστικό πείραμα με χρήση αιθανόλης σαν συνδιαλύτη σε συγκέντρωση 5% κ.β..

Υδροαπόσταξη. Η υδροαπόσταξη πραγματοποιήθηκε σε συσκευή τύπου Clevenger και είχε διάρκεια 4h για το *Cistus creticus*, ενώ για το *Sideritis syriaca* χρησιμοποιήθηκε μεγαλύτερης κλίμακας διάταξη υδροαπόσταξης λόγω της μικρής ποσότητας του περιέχόμενου αιθέριου ελαίου.

Εκχύλιση Soxhlet. Οι εκχυλίσεις με οργανικούς διαλύτες (εξάνιο και αιθανόλη) πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή τύπου Soxhlet, και η διάρκεια των εκχυλίσεων ήταν περίπου 5-6h.

Μέθοδος ελευθέρων ριζών (DPPH). Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων προσδιορίστηκε με τη βοήθεια μιας μέθοδου ελευθέρων ριζών [7], σύμφωνα με την οποία μετράται η ποσότητα του δείγματος που απαιτείται για τη μείωση της αρχικής συγκέντρωσης της ρίζας 2,2- Diphenyl- 1-

picrylhydrazyl (DPPH) κατά 50% (IC₅₀). Εναλλακτικά, η αντιοξειδωτική δράση μπορεί να εκφραστεί σε ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalents, TE), όπως και έγινε στην περίπτωση του *Sideritis syriaca*.

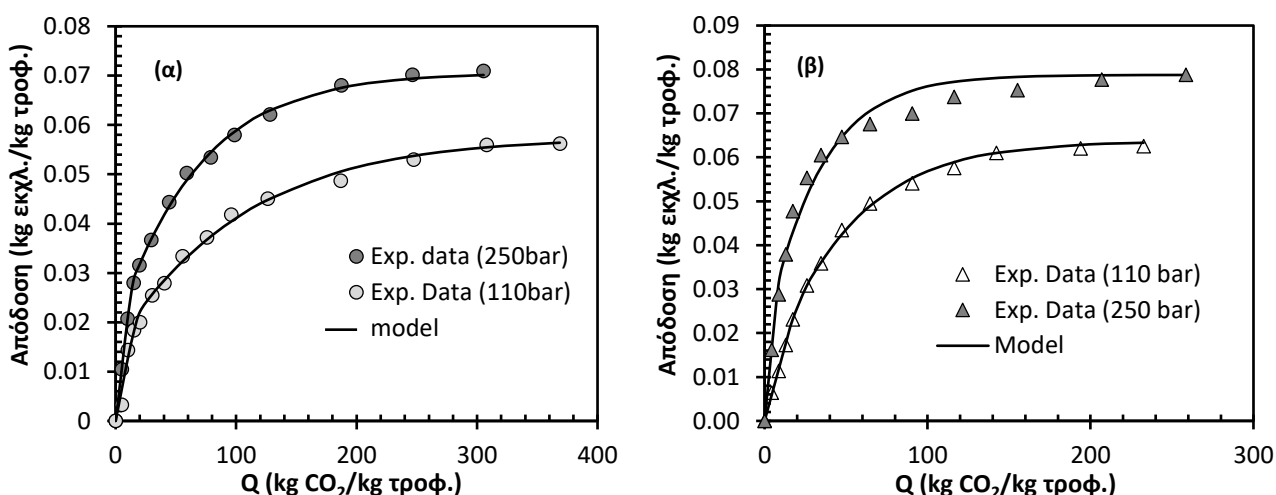
Χρωματογραφική ανάλυση GC-MS. Η σύσταση των εκχυλισμάτων προσδιορίστηκε με τη χρήση του αέριου χρωματογράφου, Hewlett-Packard GC 6890, εξοπλισμένου με τριχοειδή στήλη HP-5 MS (30m × 0.32mm, 0.25m) και ανιχνευτή μάζας HP-5973 MSD. Το φέρον αέριο ήταν το ήλιο. Τέλος, η ταυτοποίηση των ουσιών έγινε με τη χρήση της βιβλιοθήκης Wiley και NIST.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα για την Υ.Ε. παρουσιάζονται στα **Σχήματα 1-3**, στα οποία επίσης απεικονίζεται και η περιγραφή των πειραματικών σημείων από το μοντέλο των Sonová et al..

Είναι φανερό ότι η σημαντικότερη επίδραση στην απόδοση της διεργασίας είναι αυτή της πίεσης. Συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση της απόδοσης με την πίεση λόγω της αύξησης της πυκνότητας του CO₂ και επομένως και της διαλυτικής του ικανότητας (**Σχήμα 1**). Όσο αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας, η αύξησή της επηρεάζει θετικά την απόδοση της εκχύλισης (**Σχήμα 2**). Αυτό οφείλεται στο ότι η αύξηση της τάσης ατμών των προς εκχύλιση ουσιών με την αύξηση της θερμοκρασίας κυριαρχεί έναντι της μείωσης της πυκνότητας του διαλύτη. Τέλος, η αύξηση της ροής του διαλύτη δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση, αλλά ευνοεί το ρυθμό εκχύλισης σε βάρος βέβαια της κατανάλωσης του CO₂ (**Σχήμα 3**).

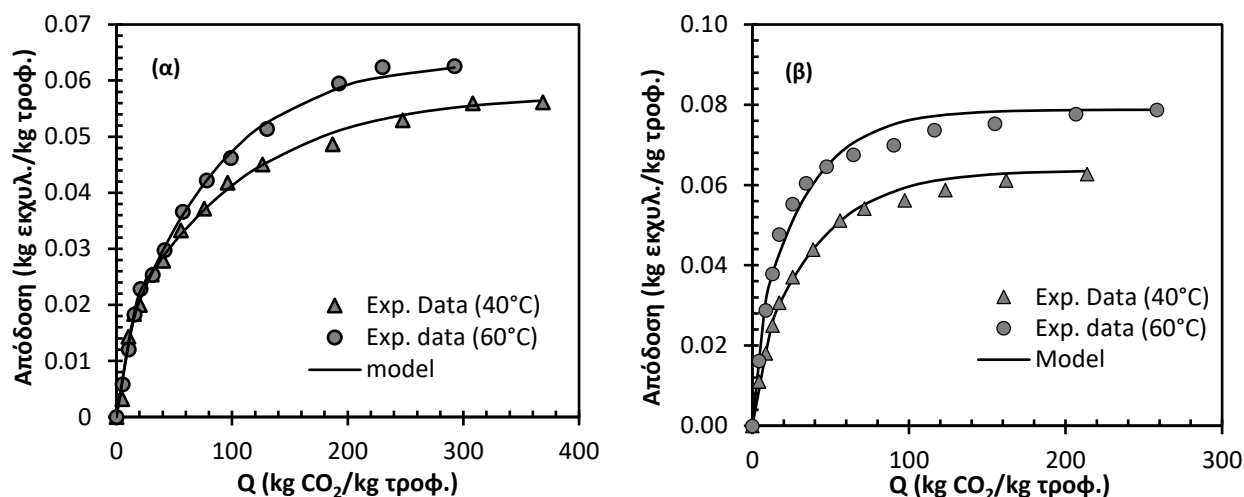
Όσο αφορά στο μαθηματικό μοντέλο, τα αποτελέσματα της περιγραφής των πειραματικών σημείων είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικά.



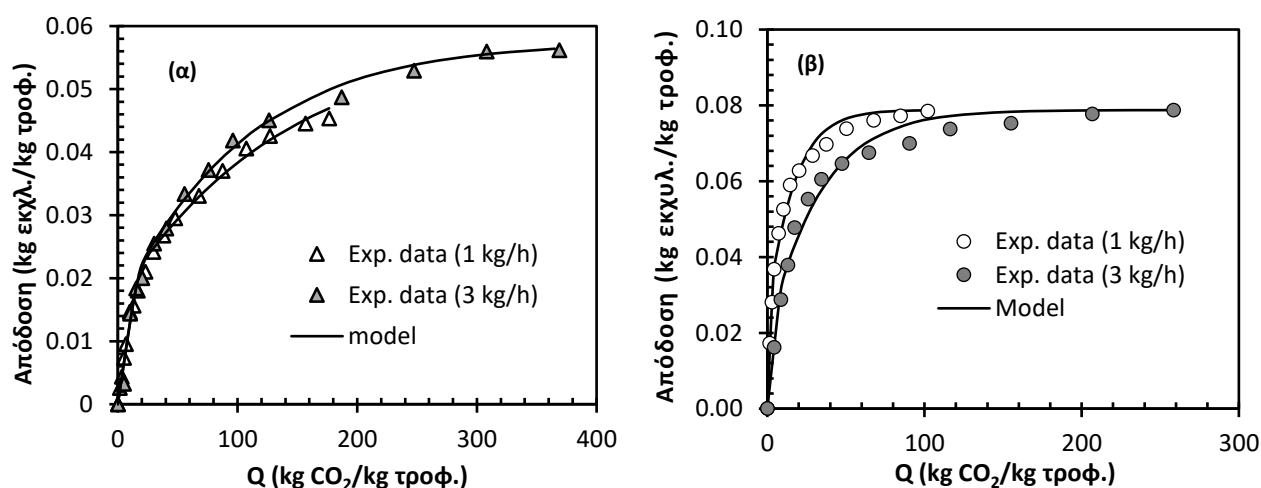
Σχήμα 1. Επίδραση της πίεσης στην απόδοση της Υ.Ε. (α) του *Cistus creticus* σε θερμοκρασία 40°C και ροή 3kg/h, και (β) του *Sideritis syriaca* σε θερμοκρασία 60°C και ροή 3kg/h.

Στον **Πίνακα 1** παρουσιάζονται οι αποδόσεις των διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης και για τα δύο φυτά. Η υδροαπόσταξη, όπως ήταν αναμενόμενο, οδηγεί στη μικρότερη απόδοση καθώς εκχυλίζεται αποκλειστικά το αιθέριο έλαιο. Αντίθετα, η εκχύλιση με αιθανόλη, λόγω της πολικότητάς της, οδηγεί στη μεγαλύτερη απόδοση. Η Υ.Ε. ακολουθεί ως προς την απόδοση υπερτερώντας της εκχύλισης με εξάνιο ιδιαίτερα στις πιο έντονες συνθήκες εκχύλισης.

Όσο αφορά στην αντιοξειδωτική δράση, τα πιο δραστικά εκχυλίσματα είναι αυτά της αιθανόλης, όπως αναμενόταν (IC₅₀: 3.2 mg εκχυλ./ ml διαλύτη για το *Cistus creticus*, και 22mg TE/gr εκχυλ. για το *Sideritis syriaca*). Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα εμφανίζουν μικρή αντιοξειδωτική δράση, αλλά είναι αξιοσημείωτο ότι στην περίπτωση της Υ.Ε. με χρήση μικρού ποσοστού (5% κ.β.) αιθανόλης σαν συνδιαλύτη, η δραστικότητα του εκχυλίσματος αυξάνεται σημαντικά. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση του *Sideritis syriaca* βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη (26mg TE/gr εκχυλ.) από αυτή του εκχυλίσματος της αιθανόλης.



Σχήμα 2. Επίδραση της θερμοκρασίας στην απόδοση της Υ.Ε.: (α) του *Cistus creticus* σε πίεση 110 bar και ροή 3kg/h, και (β) του *Sideritis syriaca* σε πίεση 250 bar και ροή 3kg/h.



Σχήμα 3. Επίδραση της ροής του CO₂ στην απόδοση της Υ.Ε.: (α) του *Cistus creticus* σε πίεση 110 bar και θερμοκρασία 40°C, και (β) του *Sideritis syriaca* σε πίεση 250 bar και θερμοκρασία 60°C.

Συνεπώς, παρά το γεγονός ότι η εκχύλιση με αιθανόλη οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα, το βασικό πλεονέκτημα της Υ.Ε. είναι η ποιότητα των εκχυλισμάτων καθώς αυτά δεν ταλαιπωρούνται θερμικά, ενώ η απόδοση και η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων μπορούν να βελτιωθούν σημαντικά με τη χρήση μόνο μικρής ποσότητας συνδιαλύτη.

Πίνακας 1. Σύγκριση μεθόδων διαχωρισμού ως προς την απόδοση για τα φυτά *Cistus creticus* και *Sideritis syriaca*.

Μέθοδος Εκχύλισης	Απόδοση (% κ.β.)	
	<i>Cistus creticus</i>	<i>Sideritis syriaca</i>
Υδροαπόσταξη	0.041	0.05% v/w
Soxhlet (εξάνιο)	4.6	3.8
Soxhlet (αιθανόλη)	28.5	9.4
Υ.Ε. (250bar, 60°C)	8.4	7.9

Τέλος, στους Πίνακες 2 και 3 δίνονται τα βασικά κοινά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα εκχυλίσματα της υδροαπόσταξης και της Υ.Ε.. Συγκεκριμένα, αξίζει να σημειωθεί ότι ανιχνεύθηκαν

σε σημαντικές ποσότητες, ιδιαίτερα στο εκχύλισμα της Υ.Ε., τα λιπαρά οξέα, λινολεϊκό οξύ (πολυακόρεστο ω-3) και λινολενικό οξύ (ω-3 το α-λινολενικό και ω-6 το γ-λινολενικό).

Πίνακας 2. Σύγκριση ως προς τη σύσταση των εκχυλισμάτων της υδροαπόσταξης και της Υ.Ε. για το φυτό *Cistus creticus* με χρήση GC-MS.

Συστατικό	Επιφάνεια %	
	Υδροαπόσταξη	Υ.Ε. (180bar, 50°C)
Thymol	0.9	0.2
Carvacrol	7.6	1.1
Viridiflorol	1.7	0.4
Tetradecanoic acid	4.9	1.8
Hexadecanoic acid	46.9	8.5
Manoyloxide	3.1	1.1
13-epi-manoyl oxide	3.3	1.0
Linoleic acid	9.9	24.4
9-Nonadecene	0.02	13.0

Πίνακας 3. Σύγκριση ως προς τη σύσταση των εκχυλισμάτων της υδροαπόσταξης και της Υ.Ε. για το φυτό *Sideritis syriaca* με χρήση GC-MS.

Συστατικό	Επιφάνεια %	
	Υδροαπόσταξη	Υ.Ε. (250bar, 60°C)
Carvacrol	2.2	0.3
δ-Cadinene	1.1	0.5
α-caryophyllene	0.2	0.5
Hexadecanoic acid	2.5	13.4
Oleyl alcohol	0.6	9.3
Linolenic acid	-	6.2

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η υπερκρίσιμη εκχύλιση των φυτών *Cistus creticus* και *Sideritis syriaca* και συγκεκριμένα η επίδραση των συνθηκών λειτουργίας (πίεση, θερμοκρασία, ροή διαλύτη) στην απόδοση της διεργασίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επίδραση της πίεσης είναι η σημαντικότερη, οδηγώντας σε αύξηση της απόδοσης με την αύξησή της. Όσο αφορά στη θερμοκρασία, η αύξησή της οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης, ενώ η ροή του διαλύτη δεν φαίνεται να επηρεάζει ιδιαίτερα την απόδοση της διεργασίας. Επίσης, τα πειραματικά αποτελέσματα της Υ.Ε. περιγράφηκαν ικανοποιητικά από το μαθηματικό μοντέλο των Sonová et al.. Τέλος, τα προϊόντα της Υ.Ε. συγκρίθηκαν με εκείνα των συμβατικών μεθόδων της υδροαπόσταξης και της εκχύλισης με οργανικό διαλύτη (εξάνιο και αιθανόλη), αποδεικνύοντας ότι η Υ.Ε. αποτελεί μια καλή εναλλακτική έναντι των κλασικών μεθόδων διαχωρισμού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] M. Skoric, S. Todorovic, N. Gligorijevic, R. Jankovic, S. Zivkovic, M. Ristic, S. Radulovic. *Industrial Crops and Products* 38 (2012) 153– 159.
- [2] E. González-Burgos. *Journal of Ethnopharmacology* 135 (2011) 209-225.
- [3] G. Brunner G. *Gas Extraction*, Darmstadt, Steinkopff (1994).
- [4] H. Sovoná. *Chem Eng. Sci.* 49(3) (1994) 409-414.
- [5] H. Sovoná, J. Kučera, J. Jež. *Chem. Eng. Sci.* 49 (3) (1994) 415-420.
- [6] I. Papamichail, V. Louli, K. Magoulas. *J. Supercritical Fluids* 18 (200) 213–226.
- [7] W. Brand-Williams, M.E. Culevier, C. Berset. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* 28 (1995) 25–30.