



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyésmérnöki és Biomérnöki Kar
Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék

Fűrészpálma (*Serenoa repens*) kivonatok hatóanyagainak vizsgálata

TDK dolgozat

Készítette: Szternácsik Klaudia Mária

Szak: Biomérnök, MSc I. évfolyam

Témavezető: Dr. Simándi Béla

egyetemi tanár

"A dolgozat bemutatását a TÁMOP - 4.2.2.B-10/1--2010-0009 "Új tehetséggondozó programok és kutatások a Műegyetem tudományos műhelyeiben" című program támogatta."

Budapest, 2012.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1 Fűrészpálma	5
2.1.1 Taxonómia.....	5
2.1.2 Botanikai jellemzés.....	6
2.1.3 Történeti áttekintés	7
2.1.4 Tradicionális felhasználás.....	7
2.1.5 Esetleges mellékhatások	8
2.1.6 Farmakológiai hatások.....	8
2.1.6.1 Anti-androgénikus hatás	8
2.1.6.2 Gyulladásgátló hatás	10
2.1.6.3 Apoptózisa gyakorolt hatás	10
2.1.6.4 Növekedési faktorok működésének gátlása a prosztatában, illetve egyéb hatások	10
2.1.7 Kémiai összetétel	10
2.1.7.1 Zsírsavak és észterek	11
2.1.7.2 Fitoszterinek.....	14
2.1.7.3 Karotinoidok	17
2.1.7.4 Egyéb összetevők.....	17
2.2 Sovová-modell.....	19
2.2.1 Sovová-modell, Excel Makro által használt összefüggések	20
2.2.2 Lineáris modell	21
2.2.3 Modellparaméterek összefoglalása	26
2.3 Korábbi főbb munkálatok.....	27
2.3.1 Fűrészpálma hatóanyagának kinyerése.....	27
2.3.2 Szuperkritikus fluidum extrakció modellezéséhez szükséges paraméterek	29
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	33
3.1 Felhasznált anyagok.....	33
3.1.1 Fűrészpálma.....	33
3.1.2 Szén-dioxid.....	33
3.1.3 Oldószerek.....	33
3.2 Felhasznált módszerek.....	33
3.2.1 Karotinoid-tartalom mérés	33
3.2.2 Fitoszterin-tartalom	34
3.2.2.1 Elszappanosítás	34
3.2.2.2 Extrakció.....	34
3.2.2.3 Gázkromatográfiás vizsgálat.....	35
3.2.2.4 Vékonyréteg kromatográfia (VRK)	36
3.2.3 Modellezés, felhasznált Sherwood-egyenletek	38

4. KÍSÉRLETEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK.....	40
4.1 Karotinoid-tartalom.....	40
4.2 Fitoszterin-tartalom.....	42
4.3 Modellezés.....	50
5. ÖSSZEGZÉS	57
6. IRODALMI HIVATKOZÁSOK.....	59
7. JELÖLÉSJEGYZÉK	63
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	65
FÜGGELÉK	66

1. Bevezetés

Napjainkban egyre többen idegenkednek a gyógyszeres terápiáktól. A gyógyszeres kezelések költségei magasak, számolni kell nem kívánt mellékhatásokkal, így évről évre nő a figyelem a természet adta kincsekre, a gyógynövényekre. A gyógynövények mindazon növények összessége, amelynek valamely részét a bennük levő hatóanyagok miatt gyógyászati célokra használják.

A fűrészpálma (*Serenoa repens*) egy Amerikában őshonos pálmaféle. A növény hatóanyag-tartalmú része (drogja) a gyümölcs, melynek feldolgozása érett állapotban történik. A drog jótékony hatása évezredek óta ismeretes vizeleti gondok, jóindulatú prosztata megnagyobbodás kezelésére, illetve egyéb női és férfi bajok enyhítésére. A növény jelentősége évről évre nő, népszerűségének alapja, hogy kivonatának használata biztonságos, számos klinikai tanulmány készült róla és a növény hatalmas mennyiségben áll rendelkezésre, elsősorban Amerikában.

Korábbi munkám során a hasznos összetevőket hagyományos (Soxhlet-, keveréses), illetve szuperkritikus fluidum extrakcióval nyertem ki. A Soxhlet-extrakcióhoz n-pentánt, illetve 96%-os etanolt, a keveréses extrakcióhoz 96%-os etanolt, a szuperkritikus fluidum extrakcióhoz szén-dioxidot használtam oldószerként. Elvégeztem a különböző kivonatok zsírsav-analízisét és megállapítottam, hogy minőségi eltérés nincs a kivonatok között, az egyes zsírsavak mennyiségi eltérése pedig csekély.

Jelen munkám célja az egyéb hatóanyagok, ezen belül is a fitoszterinek, illetve a kivonatok vörös színét okozó karotinoid-tartalom megvizsgálása volt. A fitoszterin analízist gázkromatográfiás vizsgálattal, a karotinoid tartalmat spektrofotometriás vizsgálattal végeztem el. Vékonyréteg kromatográfia segítségével, a teljes szterin-tartalmon kívül sikerült külön-külön megvizsgálnom a szabad fitoszterineket, illetve a metil-szterineket. A legnagyobb mennyiségben előforduló fitoszterinek a kivonatokban a β -szitoszterin, a kampeszterin és a sztigmaszterin. A metil-szterinek közül a fő komponens a cikloartenol képviseli.

Ugyancsak célul tűztem ki a szuperkritikus extrakció modellezésének közelebbi tanulmányozását, ahol a Sovová-modellt használtam az extrakciós hozam leírására, majd a belső anyagátadási tényezőt tanulmányoztam. Az irodalomban számtalan Sherwood-összefüggés ismeretes, de mind pórusos mátrix jelenlétében adnak becslést a fluidum oldali anyagátadási tényezőre. Így ugyan jól alkalmazhatóak azoknál a konkrét növényeknél,

amelyre illesztették azokat, de univerzálisan nem. Célom, hogy megtaláljam azt a képletet, amely felhasználásával a legjobb illesztést érem el a rendszeremre.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 Fűrészpálma

2.1.1 Taxonómia

A fűrészpálma egy Dél- Amerikában őshonos törpe pálma. Számos latin néven ismert:

- *Serenoa repens*, L. (Bartram) Small;
- *Serenoa serrulata*, L. (Michaux) Nicholson;
- *Brahea serrulata*, L. (Michaux) H. Wendl;
- *Chamaerops serrulata*, L. Michaux;
- *Corypha obliqua*, L. Bartram;
- *Corypha repens*, L. Bartram;
- *Diglossophyllum serrulatum*, L. (Michaux) Wendl. ex Drude;
- *Sabal serrulata*, L. (Michaux) Nuttall.

A fent felsoroltak közül a leggyakrabban a *Serenoa repens* latin nevet használják. Az első tagot (*Serenoa*) Sereno Watson tiszteletére kapta a növény, a *repens* szó pedig kúszó természetére utal (Bennett and Hicklin, 1998).

A fűrészpálma a *Sabal* nemzetség több mint 15 fájának egyikét képviseli. A növény a zárvatermők (*Magnoliophyta*) törzsébe tartozó faj, ezen belül az egyszikűek (*Liliopsida*) osztályába és a pálmavirágúak (*Arecales*) rendjébe tartozik.

A növény két változata ismeretes (1. ábra). Az egyik hazájában szinte mindenhol megtalálható és sárgás-zöld lombozat jellemzi, míg a másik típus főleg az Atlanti óceán partjának gerince közelében nő és inkább ezüstös kék, ezüstös zöld lombozattal rendelkezik.



1. ábra: *Serenoa repens* két változata

2.1.2 Botanikai jellemzés

A fűrészpálma a legközségesebb pálmaféle az Amerikai Egyesült Államok délkeleti részén, azon belül is Florida és Dél-Karolina környékén. Hosszú élettartalmú, de lassú növekedésű növény. Jól bírja a sós környezetet, a szárazságot, illetve a szelet. Hidegtűrő képessége: -10°C (15°F).

Általában apró cserjeként nő, melynek szárrendszere a talaj felszínével párhuzamosan fut. Magassága függ a növekedési körülményektől. Cserjeként 0,6-2,5 méter között mozog, míg faként magassága elérheti a 6-7,5 métert is. A növény könnyen felismerhető szerteágazó, páfrány leveleiről, melyek sokszor a talaj alatti részből nőnek. Tenyeresen összetett, örökzöld levelek levélnyelei 50-60 cm hosszúak és 1 méter szélesek. Az ár alakú levélkék száma 6-20 darab. Apró, illatos, csontfehér virágai a levelek mögé bújva jelennek meg. A virágzás márciustól májusig tart. A növény tipikusan 3 virágzatot (2. ábra) hoz, egy-egy virágzaton pedig ezernyi virág jelenik meg. Gyümölcse (2. ábra) csonthéjas, tojásdad-kerekded formájú, mely 16-25 mm hosszú és 12-19 mm széles. Májustól júliusig az éretlen gyümölcs sárga, majd augusztus-október felé narancssárgára változik, és végül október-december között kékes-fekete lesz a megérett bogyó (Bennett and Hicklin, 1998; Carrington and Mullahey, 2006; Ross, 2005).



2. ábra: Virágzat és gyümölcs

2.1.3 Történeti áttekintés

A növény gyümölcsét már az Első Nemzetek (Native American) is alapélelmiszernek tekintették. A dél-amerikai bennszülött indiánok a korai 1700-as években herezsugorodás, merevedési zavarok, prosztatata gyulladás kezelésére alkalmazták (Diamond, 2011). 1906 és 1916 között az United States Pharmacopeia (USP) hivatalos droként tartotta nyilván. Az érett bogyókat begyűjtötték és felvásárolták olyan cégek, mint pl. a 1907-ben létrejött Lilly & Company (Florida, Vero Beach), ahol a gyümölcsöt a dohánylevelekhez hasonlóan megszárították. Később, mikor a gyártónak már folyékony kivonatra volt szüksége, az extrakció történhetett alkohollal, hexánnal vagy szuperkritikus fluidum extrakcióval. Ma a legtöbb ilyen kivonat az utóbbi módszerrel készül (Saw Palmetto Harvesting Company, 2011).

1994-ben a növényt az étrendkiegészítők közé sorolták az Egyesült Államokban, így vonatkozik rá az Étrend-kiegészítő Egészségügyi és Oktatási törvény (DSHEA, Dietary Supplement Health and Education Act), melyet az FDA (Food and Drug Administration) szabályoz. Ennek értelmében a fűrészpálma használható kezelésre, gyógyításra vagy betegség, állapot megelőzésére, vagy egyszerűen klinikai tanulmányokra, de az FDA szabályozza a reklám mikéntjét (pl. hogy mi lehet a címkén feltüntetve) (Marks and Tyler, 1999).

2.1.4 Tradicionális felhasználás

A növény drogját különböző országokban más-más célokra használják fel. Németországban a gyümölcsöt ösztrogénforrásként, Észak-Amerikában a gyümölcs forró vizes kivonatát nyugtatószerként, míg az Egyesült Államokban a forró vizes kivonatot a szervezetbe juttatva prosztatata gyulladás és jóindulatú prosztatata megnagyobbodás kezelésére, megfázások, torokfájások enyhítésére (egy teáskanál bogyó 1 csésze forró vízbe); továbbá szuperkritikus fluidum extrakcióval kinyert kivonatát menstruációs fájdalmak kezelésére használják (Ross, 2005).

A fent említetteken kívül a gyümölcs jótékony hatással van húgyúti rendellenességekre, impotencia, meddőség, hajhullás, pajzsmirigy problémákra. Étvágyserkentő és javítja az emésztést, mindemellett gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatással bír. Testépítők előszeretettel fogyasztják a belőle készült termékeket, azt remélve, hogy izomnövesztő hatású. Számos afrodiziákum nyersanyaga (pl. Yohimbe plus). Napi használatra általában 320 mg törpepálma kivonatot javasolnak (Bennett and Hicklin, 1998).

Nem szabad megfeledkezni a növény többi részének a felhasználhatóságáról sem. Kemény, rostos gyökerének szerkezete hasonló a kókusz héjához, így könnyen lehet belőle súrolókefét készíteni. A gyökérből papír is készíthető, igaz elég szerény minőségben. A levél, illetve a szár rostjaiból ecset készülhet és kitűnően alkalmazható kárpitok kitöltésére. Florida őslakosai a levélnyélből kosarakat fontak a 18.-19. században. Bár a durva fűrészpálma rostok begyűjtése igen nehéz, mai napig az egyik legkedveltebb kézműves alapanyag a Seminolek és Miccosukee indián törzsek között. A híres Seminole babák kizárólag a fűrészpálma levélnyél rostjaiból készülnek, vöröses színe miatt. Ezenkívül a levelek kiváló viasz források (Bennett and Hicklin, 1998).

Bár igen széles körben használható a növény, illetve az extraktum, a legelterjedtebb felhasználása a prosztatata bajok kezelése. A legtöbb tanulmány ezzel kapcsolatban készült.

2.1.5 Esetleges mellékhatások

A növény egészségre káros hatásáról a korai tanulmányok (1990-es évek) nem számoltak be (Carraro et al., 1996; Marks and Tyler, 1999). Később Avins és munkatársai egy éven át 225 beteg bevonásával hasonlították össze egy placebo kapszula, illetve egy fűrészpálma kivonatot tartalmazó kapszula hatását. Az eredmények szerint pár páciensnél a következő mellékhatások léptek fel: fejfájás, hányinger, szédülés, székrekedés (Avins et al., 2008). Fontos megjegyezni azonban, hogy egészségre káros nagy kockázatról egy irodalom sem számol be.

2.1.6 Farmakológiai hatások

A gyógynövény pontos hatásmechanizmusa ugyan még nem ismert, ennek ellenére terápiás alkalmazása során kedvező eredmények születtek, így mára fokozatosan beépült a jóindulatú prosztatata megnagyobbodás (JPH) kezelésébe. Számos nagy gyógyszercég alkalmazza termékeiben, közismert termék pl. a Prostamol Uno, Saballo, Prostazyn. Ezek 200-320 mg fűrészpálma termés kivonatát tartalmazzák kapszulánként.

2.1.6.1 Anti-androgénikus hatás

A prosztatata növekedése, a strukturális mintázat felépítése, a funkciók integritása az androgének folyamatos ellátottságától függ. Az androgének főleg a herékből jönnek, a fő keringő androgén a tesztoszteron, ami dihidroxi-tesztoszteronná (DHT) alakul intracelluláris 4,3-ketosteroid (5α -reduktáz, 5α -R) enzim segítségével. Az enzimnek két fajtája ismert: I. és II.-típusú 5α -R. A két enzim között szöveti eloszlásban van különbség. Az I. típus

előfordulási helyei a fejbőr, faggyúmirigyek, mellkas, hátbőr, máj, mellékvese és vese. A II. típus a prosztatában (*prostate*), herében (*testis*), mellékherében (*epididymis*), fitymában (*praeputium*), herezacskóban (*scrotum*), vezikula magban (*vesikula seminalis*), májban és mellkasban fordul elő. A II. 5α -R felelős a DHT szint nagyobb részéért, a DHT pedig a prosztata növekedéséért. A dihidro-tesztoszteron molekuláris szintű hatása az androgén receptor aktiválása a ligandkötő doménhez való kötődés útján. Ezután az androgén receptor/DHT dimerek a DNS androgénérzékeny területéhez (ARE, Androgene Response Element) kapcsolódnak. Az androgén-DHT dimerek az apoptózisban (programozott sejthalál) és a sejtprolifерáció (szaporodás) szabályozásában résztvevő gének expresszióját szabályozzák. Egészséges egyed esetén a prosztata sejteinek proliferációja és apoptózisa közötti egyensúlyt a növekedést gátló és serkentő faktorok közötti összetett kölcsönhatások tartják fenn. Bár a prosztata hiperpláziát kiváltó ok még nem tisztázott molekuláris szinten, a DHT szerepe a folyamatban valószínűsíthető (Országos Gyógyszerészeti Intézet, 2007).

- *5 α -R inhibíció:*

A fűrészpálma kivonat mindkét enzimtípust gátolni tudja (nem-kompetitív inhibítor). Ez jelentős 5α -R aktivitás kontrollt biztosít a prosztatában, csökkentve a DHT szintjét a mirigyben (Lowe and Fagelman, 2004; Ross, 2005). Di Silverio tanulmányában közölte, hogy a fitoterápia jelentősen hozzájárul a prosztata DHT koncentráció csökkentéséhez már 3 hónap kezelés után is (Di Silverio et al., 1998).

Ha összevetjük a növényi kivonatot a finaszteriddel, ami ma egy igen elterjedt, jóindulatú prosztata megnagyobbodás kezelésére szolgáló mesterséges vegyület, láthatjuk, hogy a növény a finaszteriddel ellentétben úgy fejt ki inhibítor hatását, hogy közben nem zavarja a prosztata specifikus antigén (PSA) működését. A PSA nem más, mint a prosztatában termelődő fehérje, aminek a feladata, hogy az ondóváladékot folyékony állapotban tartsa. Szintje emelkedik mind jóindulatú prosztata megnagyobbodás, mind prosztatarák esetén (Habib, 2009).

- *egyéb anti-androgén hatás:*

A kivonat antiandrogén hatása nemcsak az 5α -R enzim gátlására korlátozódik, hanem az androgén útvonal más szakaszaira is hatással van. Gátolja a DHT kötődést a citoszol androgén receptorához a prosztatában, valamint az androgén receptorokat alulszabályozza (Habib, 2009; Maccagnano et al., 2006).

2.1.6.2 Gyulladásgátló hatás

Gyulladást okozó sejtek, mint pl. makrofágok, limfociták beszivároghatnak a prosztatába és ott gyulladásos reakciót válthatnak ki. Hozzájárulnak különböző kemotaktikus ágensek keletkezéséhez, amik szerepet játszanak a JPH kialakulásában. Ilyen ágensek lehetnek pl. az interleukin-1 β vagy a tumor nekrozis α -faktor, amiknek mennyiségét a növényi kivonat jelentősen csökkenti (Habib, 2009; Maccagnano et al., 2006; Ross, 2005; Lowe and Fagelman, 2004).

2.1.6.3 Apoptózisra gyakorolt hatás

A növényi kivonat segítségével végzett kezelés különféle morfológiai elváltozásokat eredményez, beleértve a sejtmag polarizációját, illetve a kromatin kondenzációját, melyek nagy szerepet játszanak az apoptózis előidézésében (Habib, 2009). Az apoptózis indexe a sztrómában 35 %-al emelkedett, a kötőszöveti sejtekben pedig 12 %-kal (Lowe and Fagelman, 2004). Lowe és Ross, illetve munkatársaik arról is beszámoltak, hogy csak a prosztata sejtekben okozott változást a kivonat, egyéb helyeken (pl. vese, tüdő, bőr) inaktív maradt (Lowe and Fagelman, 2004; Ross, 2005).

2.1.6.4 Növekedési faktorok működésének gátlása a prosztataszövetekben, illetve egyéb hatások

Az EGR (epidermális növekedési faktor, Epidermal Growth Factor), az FGF (fibroblaszt növekedési faktor, Fibroblast Growth Factor) és a TGF- α (transzformáló növekedési faktor- α , Transforming Growth Factor – α) nagy koncentrációban található a JPH-ban; az EGF, illetve az FGF 30 %-ról 200 %-ra emelkedhet a prosztatasejtben. Ezek a peptidek vagy függetlenül az androgénektől vagy pedig szinergikus hatással velük, hozzájárulnak a JPH kialakulásához. A fűrészpálma kivonat gátolja ezeket a növekedési faktorokat. A kivonat hatása általában függ attól, hogy milyen mennyiségben adagoljuk, de mindig hatásos a mirigyes laphámában (Di Silverio et al., 1998; Maccagnano et al., 2006).

A teljesség igénye nélkül, a kivonatnak továbbá antioxidáns, hajnövekedést serkentő, hormonális, prosztataaglandin inhibíció hatást is tulajdonítanak, amiket klinikai tanulmányok alá is támasztanak (Ross, 2005).

2.1.7 Kémiai összetétel

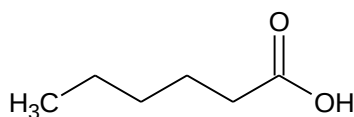
A szárított drog és a kivonat fő komponenseit a zsírsavak és a fitoszterinek alkotják. A porrá zúzott bogyó 8-9 %-ban tartalmaz szabad zsírsavat és 0,015 %-ban fitoszterint (Saw

Palmetto Harvesting Company, 2011), az extrakt csaknem 90 %-a zsírsav és 2 %-a fitoszterin (Scholtysek et al., 2009). Előfordulnak telített, telítetlen zsírsavak, ezek etil-, metilészterei, illetve triacilgliceridek (trigliceridek). A triacilgliceridek szénlánc hosszai általában rövidebbek, mint 14 C-atom (Diamond, 2011). A fő fitoszterinek a β -szitoszterin, a kampeszterin és a sztigmaszterin. Ezeken kívül találhatók még flavonoidok, terpenoidok és poliszacharidok (pl. cukrok, mannit, nagy molekulatömegű poliszacharidok galaktózzal, arabinózzal és uronsavval (Native American Botanics, 2004)) az extraktban. A gyümölcs tartalmaz lipázokat, ezek az érés és szárítás során az avas szagot, ízt kölcsönzik a gyümölcsnek (Diamond, 2011), illetve pigmenteket (a por és a kivonatok vöröses színe ennek köszönhető) (Native American Botanics, 2004). Kiemelném azonban, hogy bár számos cég gyárt világszerte kivonatokat a drogból (pl. Franciaország, Olaszország, Spanyolország, Svájc, Egyesült Királyság), a kivonatok kémiai összetétele még azonos származás esetén is eltérést mutathat a különböző alkotórészek mennyiségében (Habib and Wyllie, 2004).

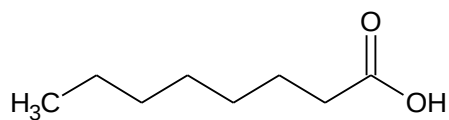
2.1.7.1 Zsírsavak és észterek

Az irodalomban legtöbb helyen szereplő, telített és telítetlen szabad zsírsavak a kapronsav, kaprilsav, kaprinsav, laurinsav, mirisztinsav, palmitinsav, palmitoleinsav, olajsav, sztearinsav, linolsav, és a linolénsav (Országos Gyógyszerészeti Intézet, 2003; Saw Palmetto Harvesting Company, 2011). Képleteiket a 3.-13. ábrák mutatják. Mivel a kivonatok összetétele változik a kivonások során, az analitika megkönnyítése érdekében kifejlesztettek két referencia anyagot: SRM 3250, illetve SRM 3251. Az első a gyümölcsre, a második a kivonatra készült (Schantz et al., 2008; Standard Reference Material 3251, 2009). Ezekben a következő zsírsavakat definiálták még a fentiekén kívül: undekánsav (C11:0), tridekánsav (C13:0), mirisztilsav (C14:1), pentadekánsav (C15:0), cisz-pentadekánsav (C15:1), heptadekánsav (C17:0), heptadecénsav (C17:1), petrezselyemsav (C18:1), arachinsav (C20:0), gadolénsav (C20:1), behénsav (C22:0), trikozanonsav (C23:0), lignocerin-sav (C24:0) és hexakozánsav (C26:0).

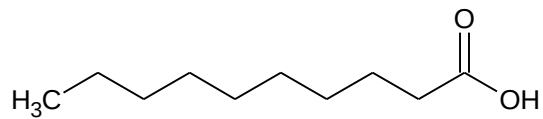
A zsírsavak nemcsak szabad formában vannak jelen az extraktumban. Egy részük észter formájában kötött (főleg metil- és etilészterek). A szabad és a kötött zsírsav aránya 2:1.



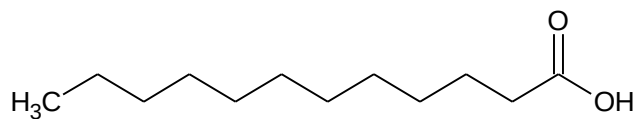
3. ábra: Kapronsav (C6:0)



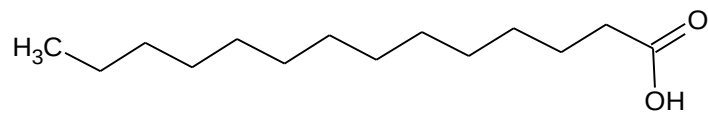
4. ábra: Kaprilsav (C8:0)



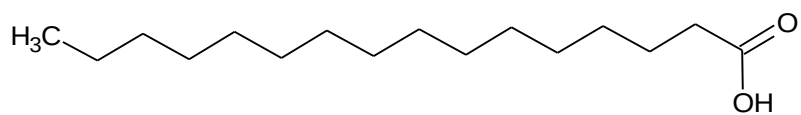
5. ábra: Kaprinsav (C10:0)



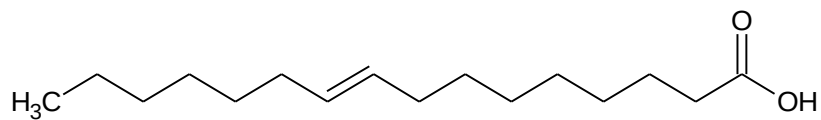
6. ábra: Laurinsav (C12:0)



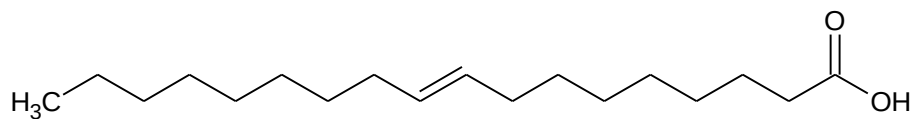
7. ábra: Mirisztinsav (C14:0)



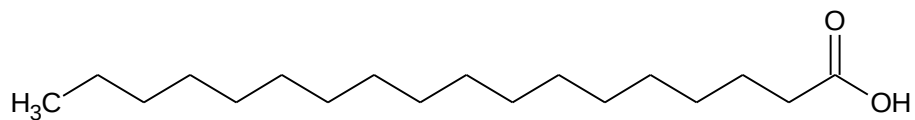
8. ábra: Palmitinsav (C16:0)



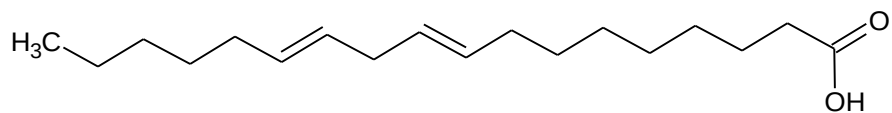
9. ábra: Palmitoleinsav (C16:1)



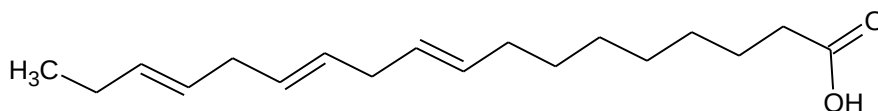
10. ábra: Olajsav (C18:1)



11. ábra: Sztearinsav (C18:0)

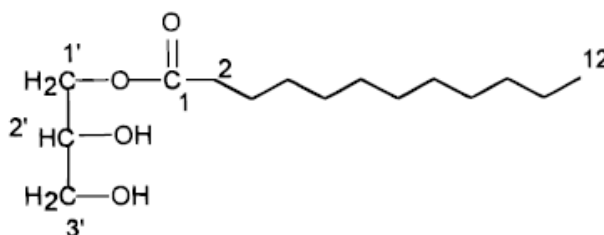


12. ábra: Linolsav (C18:2)

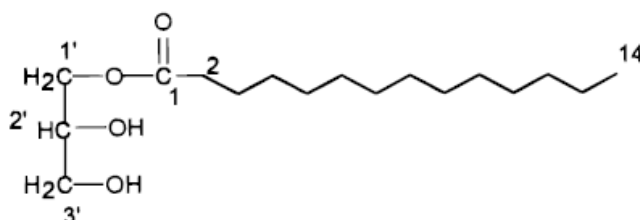


13. ábra: Linolénsav (C18:3)

A fő zsírsavak a laurin- és az olajsav (65 %-ban fordulnak elő), illetve a mirisztin és a linolénsav (15 %-ban fordulnak elő) (Raynaud et al., 2002). Számos kutató, mint pl. Shimada, Raynaud tanulmánya szerint, a zsírsavaknak köszönhető a prosztatára való jótékony hatás. Shimada és munkatársai a porrá zúzott bogró 96 %-os etanolos kivonatát frakcionálták és végezték el a BST tesztet (brine shrimp lethality test, sós tengeri rák letális teszt). Két acilgliceridet azonosítottak, név szerint az 1-monolaurint, illetve az 1-monomirisztint (14.-15. ábra), melyek két metilén csoportban különböznek egymástól a szabad zsírsav oldalláncukban (Shimada et al., 1997).



14. ábra: 1-monolaurin



15. ábra: 1-monomirisztin

Raynaud és munkatársai (Raynaud et al., 2002) kiindulva Weisser és munkatársai munkájából (Weisser et al., 1996), miszerint a szappanosítható zsírsavak felelősek az 5 α -reduktáz inhibícióért, megvizsgálták a liposzterános kivonat összetevőinek viselkedését mindkét izoenzimre (5 α -R I. és II.). A tanulmány célja az volt, hogy megfigyeljék a növényi kivonat különböző komponenseinek szelektivitását és specifitását a reduktáz enzimre, baculovírus irányított rovar sejtek Sf9 expressziós rendszerének felhasználásával. Kísérleteiket a Permixon (Pierre Fabre, France) márkájú kivonattal végezték. Attól függően hogy milyen hosszú a szénlánc és milyen a telítettségi állapota, jelentős különbségek vannak:

- laurinsav (rövid, telített, C12 lánc): jó inhibítora mindkét enzimtípusnak;

- mirisztinsav (telített, C14 lánc): 5 α -II.-t erősen inhibálta (5 α -I.-et nem mértek);
- palmitinsav (telített, C16), sztearinsav (telített, C18) inaktív maradt;
- telítetlen olajsav (C18, Δ 9) és linolsav (C18, Δ 9,12) esetén szelektív inhibíció lépett fel, csak az egyes típusnak voltak jó inhibítorai;
- észterezett formáknál nem volt inhibíció;
- egyéb komponensek, mint pl. a β -szitoszterin inaktívak maradtak.

Szintén a laurin- és mirisztinsav ilyen jellegű működését támasztja alá Veeresh Babu és munkatársai munkája (Veeresh et al., 2009). Ők nem a növény részeként vizsgálták a két telített zsírsavat, hanem külön vegyületként vitték be patkányokba (melyeknél JPH-t idéztek elő) és végezték el a kísérletet. A laurin- és mirisztinsav 5 α -reduktáz inhibitor voltak miatt hatásosak a JPH kezelésére.

Nemcsak az előbb említett zsírsavaknak tulajdonítottak már hasonló hatást. Liang és munkatársa által felállított teória szerint az olaj- és palmitinsav felelős a gátlásért (Liang and Liao, 1992), de ezt a nézetet gyorsan megdöntötték a fentebb említett tanulmányok.

2.1.7.2 Fitoszterinek

A fitoszterinek a növényekben előforduló triterpének, melyek koleszterincsökkentő hatásukról ismeretesek. Mind szerkezetükben, mind funkciójukban hasonlítanak a koleszterinhez, a szerkezeti különbséget az eltérő oldallánc okozza (Bihari, 2006; Kritchevsky and Chen, 2005). Hatásukat annak köszönhetik, hogy képesek a bélcsatornában megakadályozni az endogén koleszterin felszívódását, ezáltal kisebb a koszorúér betegségek, érelmeszesedések kialakulásának kockázata (Bihari, 2006). Ling és munkatársa számos jótékony hatását közölték a fitoszterineknek, ezek közül is kiemelném a β -szitoszterin és a kampeszterin tumorsejtekre gyakorolt hatását. Egy állatkísérletben megállapították, hogy ezek a fitoszterinek képesek a PC-3 humán prosztatatarákos sejtek növekedését gátolni (Ling and Jones, 1995). Ami a fitoszterinnel való kezelés mellékhatásait illeti, nem mutattak a kezelések semmi komoly káros hatást (Kritchevsky and Chen, 2005).

A fűrészpálma ugyan kisebb mennyiségben tartalmazza ezt a vegyületcsoportot, mint a zsírsavakat, de a növényvilághoz képest a kivonat 2 %-os fitoszterin tartalma kiemelkedőnek tűnik és a zsírsavak mellett ez a másik vitatott hatóanyagcsoport. Awad és munkatársai arról számoltak be, hogy a fitoszterinek azok, amik gátolják a prosztatatarák növekedését és migrációját, illetve lelassítják a prosztatata tumorok növekedését egerekben (Awad et al., 2001). Scholtysek és munkatársai DU-145, humán prosztatatarák-sejteket használtak annak bemutatására, hogy a *Serenoa* kivonat, illetve annak szterin komponensei

(β -szitoszterin és sztigmaszterin) a p53 fehérje expresszió növelésével gátolják a prosztataraák, illetve a p23 és p21 fehérje expresszió és a karcinóma növekedést. (Az aktív hatóanyagok behatolnak a prosztata adenóma sejtjeibe és lecsökkentik azok aktivitását) (Scholtysek et al., 2009).

p53 gén: A p53 számos tumor ellenes mechanizmussal bír. DNS károsodást helyreállító fehérjét aktiválhat, képes blokkolni a sejtciklust a G1/S átmenetben és apoptózist, azaz sejthalált is kiválthat.

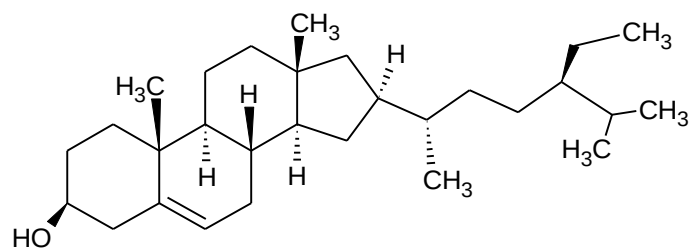
p21 gén: egyfajta "fékberendezésként" működik, amely megállítja a sejtek örökítő anyagának (DNS-állományának) megkettőződését, így a sejtek osztódását, amikor azok valamilyen külső hatásra károsodnak, időt biztosítva regenerálódásukra. A p21 gén ugyancsak szerepet játszik abban, hogy az előregedett sejtek ne osztódjanak tovább és olyan folyamatok induljanak meg, amelyek a természetes sejthalálhoz vezetnek.

p27 gén: a sejtnövekedés mikéntjét kontrollálja.

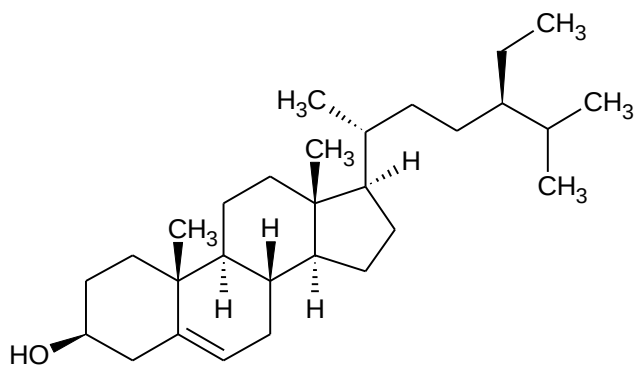
A fitoszterinek más gyógynövényekben is gyakran előforduló komponensek. Ha megnézzük más, prosztata gondok kezelésében használt gyógynövényeket, mint pl. csalángyökér (*Urticae radix*), tök (*Cucurbitae semen*), füzikefű (*Epilobium parviflorum*), láthatjuk, hogy ezek aktív összetevői szintén a szterinek (legfőképpen a β -szitoszterin). Általánosságban elmondható, hogy ha egy „prostatadoktor” növényről van szó, nagy valószínűséggel ezek a fitoszterinek ott lesznek a hatóanyagok között (Banai, 2005). Természetesen durva következtetés lenne ebből az, hogy akkor biztosan a mi esetünkben is a fitoszterinek a hatásért felelős vegyületek, hiszen egy olyan összetett rendszerről beszélünk, ahol a vegyületcsoportok egymásra gyakorolt hatása ismeretlen (Lowe, 2001).

Az irodalom szerint a fűrészpálmában előforduló fitoszterinek közé tartozik a β -szitoszterin, a kampeszterin, a sztigmaszterin és a cikloartenol. Képleteiket a 16.-19. ábra mutatja. Ezek közül az első hármat mérik a leggyakrabban mind a kivonatban, mind pedig a gyümölcsben, mert ezek koncentrációja a többihez képest viszonylag nagy (Bedner et al., 2008).

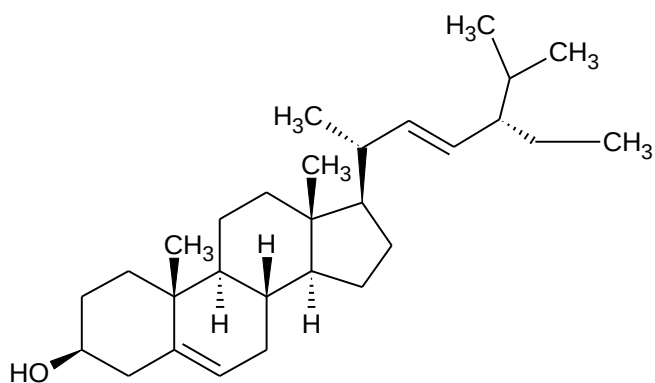
A szabad fitoszterineken kívül, azok glikozidjai és zsírsavészterei is előfordulnak, mint pl.: β -szitosterin-D-glikozid (Bedner et al., 2008).



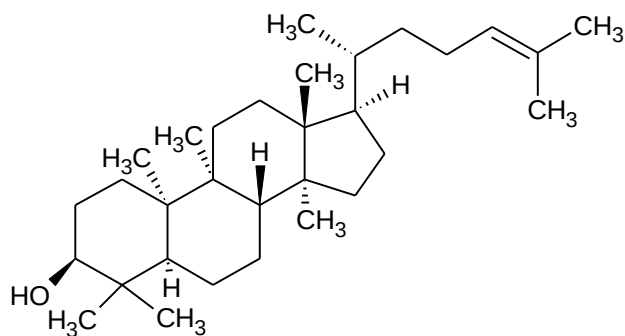
16. ábra: Béta-szitoszterin



17. ábra: Kampeszterin



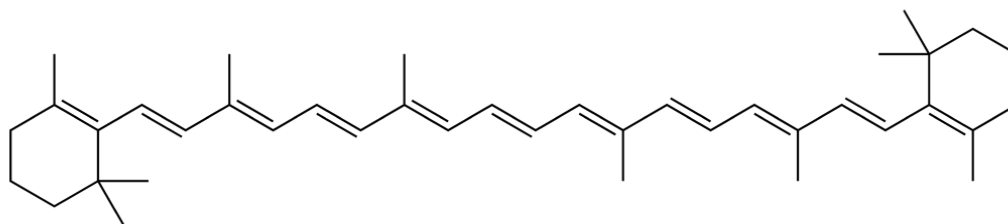
18. ábra: Sztigmaszterin



19. ábra: Cikloartenol

2.1.7.3 Karotinoidok

A kivonatok vörös színét a karotinoidok, ezen belül is a karotinok okozzák (Chatterjee et al., 2003, Standard Reference Material 3251, 2009). Ma már több mint 600 karotinoid-vegyületet ismerünk, pl. β -karotin, likopin, lutein, zeaxantin. A fűrészpálma növényben a β -karotin (20. ábra) fordul elő a legnagyobb mennyiségben (Schantz et al., 2008;). A karotinoknak is számtalan jótékony hatása van az emberi szervezetre. Bebizonyították, hogy a karotin tartalmú növények fogyasztása daganatmegelőző hatású, ráadásul teljesen ártalmatlanok (Csupor és Szendrei, 2006). Dulinska és munkatársai arról számoltak be, hogy a β -karotin szerepet játszik a prosztatara káros sejtek proliferációjában, tehát csökkenti a rákos sejtek szaporodását. Azonban nemcsak a prosztatában szabályozza a rákos sejtek szaporodását, jótékony hatását a mell, tüdő, vastagbél rák, valamint leukémiánál is bizonyították. Emellett antioxidánsok, tehát képesek kivédeni a szervezet oxidatív károsodásait is (Dulinska et al., 2005).



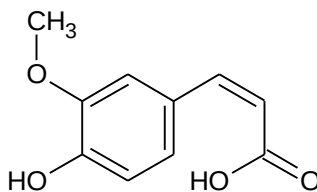
20. ábra: β -karotin

2.1.7.4 Egyéb összetevők

- Polifenolok (Diamond, 2011):

Antioxidáns anyagok, csökkentik a gyulladást pl. az érrendszerben.

- feruliksav (21. ábra)



21. ábra: Feruliksav

- tanninok, csersavak
- flavonoidok (Saw Palmetto Harvesting Company, 2011):

Hatásuk sokrétű: antioxidáns, immunrendszert módosító, antikarcinogén (rák megelőző), gyulladáscsökkentő, vírusellenes és baktériumellenes, májvédő.

- *szaponinok:*

A szaponinok kémiaiag glikozidok, erős habképzők. Citotoxikus és növekedés gátló hatással bírnak. Az epesavakhoz kötődnek és gátolják azok recirkulációját. Állatkísérletben tumor gátló hatásúak (Rodler, 2005).

- *alifás alkoholok, illóolaj (1,5 %-os illóolaj-tartalom) (Diamond, 2011)*

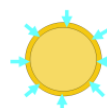
2.2 Sovová- modell

A szuperkritikus extrakció modellezésére a Sovová-modellt használtam fel. A modell az oldható anyag-tartalomtól függetlenül használható az extrakciós hozamgörbék, illetve az extraktorban kialakuló koncentrácioprofil meghatározására, ugyanakkor a felhasznált dimenziómentes modellparaméterek visszavezethetők az extrakció körülményeitől vagy a töltet jellemzőitől függő fizikai paraméterekre.

A Sovová-modell szerint aprításkor a külső felületen levő sejtek felszakadnak, így a hatóanyag egy része (q hányada) a részecskék külső felületén (szabadon) van és egyszerű oldással extrahálható. A hatóanyag másik része ($1-q$) a szemcsék belsejében marad, ahonnan csak diffúzióval jut a szemcse felületére (Nagy, 2010).

Az extrakció az alábbi részfolyamatokból áll:

Az oldószer diffúziója a szilárd szemcse körül kialakult filmen keresztül;



Az oldószer behatolása a szemcse pórusaiba;



A komponensek oldódása;



Az oldat diffúziója a szemcse felületéhez;



Anyagátadás a külső felületről a fluid fázis belsejébe.



A részfolyamatok közül bármelyik lehet a sebesség meghatározó lépés, ami az egész extrakció sebességét meghatározza.

A modell a következő feltételezésekkel él:

- töltet homogén és izotróp, a vázanyagban egyenletesen oszlik el az oldható anyag;
- az oszlop teljes hosszában a szemcseméret-eloszlás, a hőmérséklet és a nyomás állandó, a nyomáscsökkenés elhanyagolható, a belépő oldószer oldott anyag mentes.

2.2.1 Sovová-modell, az Excel Makro által használt összefüggések (Nagy, 2010)

A töltet egy dV térfogatú elemében átadott anyagmennyiség a következő mérlegegyenletekkel írható le):

$$-\rho_s(1-\varepsilon)dV\frac{\partial x}{\partial t}=J(x,y)dV \quad 1.$$

$$\rho_f\varepsilon\cdot dV\frac{\partial y}{\partial t}+\rho_f u_s dV\frac{\partial y}{\partial h}=J(x,y)dV \quad 2.$$

Ahol:

- J fajlagos extrakciós sebesség ($\text{kg}/(\text{m}^3\text{s})$);
- x az oldható anyag koncentrációja a szilárd vázanyagban (kg/kg);
- y az oldható anyag koncentrációja a szuperkritikus fluidumban (kg/kg);
- ρ_f a szuperkritikus fluidum sűrűsége (kg/m^3);
- ρ_s szilárd vázanyag sűrűsége (kg/m^3);
- h hossz koordináta (m);
- t idő (s);
- u_s az üres oszlopra vonatkozó oldószer áramlási sebessége (m/s);
- ε a töltet fajlagos hézagtérfogata (m^3/m^3).

A második egyenlet első tagja jelzi, hogy a fluid fázisban a koncentráció időben is változik. Az extrakció szakaszos művelet, ezért lesz a fluid fázis egyre hígabb. A megoldásnál ezt a tagot rendszerint elhanyagolják, mivel lényegesen kisebb a második tagnál (az oldószer által elvitt anyagmennyiségnél).

A modell szerint az oldószer áramlása a tölteten keresztül dugattyúszerű.

Az egyenletrendszer a $J(x, y)$ fajlagos extrakciós sebesség behelyettesítésével integrálható és x, y koncentrációk az extraktor hossza függvényében számíthatók. A kezdeti feltételek szerint a szilárd vázanyag kezdeti koncentrációja a töltet mentén azonos (x_0), továbbá a belépő oldószer oldott anyag mentes:

$$x(h, t = 0) = x_0 \quad 3.$$

$$y(h = 0, t) = 0 \quad 4.$$

Ahol:

x_0 az oldható komponensek kezdeti koncentrációja a növényi vázaanyagban (kg/kg).

Az extrakciós hozamgörbe az anyagmérlegből számolható:

$$Y_E(t) = x_0 - \frac{1}{H_t} \int_0^{H_t} x(h,t) dh \quad 5.$$

$$Y_E(t) = \frac{\dot{m}_f}{m_s} \int_0^t y(H_t, t) dt \quad 6.$$

Ahol:

$Y_E(t)$ az extrakciós hozam (kg extrakt/ kg vázanyag);

H_t a töltet magassága az extraktorban (m);

$\dot{m}_f$ az oldószer tömegárama (kg/s);

m_s a szilárdanyag tömege (kg).

2.2.1.1 Lineáris modell

A szuperkritikus extrakció lineáris modellje szerint a szemcsék felületén lévő, oldható anyag az oldószer számára könnyen hozzáférhető, továbbá a vázanyag belső szerkezetének nincs szerepe az anyagátadásban (a töltet lehetne teljesen pórusmentes). Ebben az esetben a sebesség-meghatározó lépés az anyagátadás, a külső felületről a fluid fázis belsejébe. Az extrakció kezdetén, a felületen lévő anyag oldódik:

$$J(x, y) = k_f a_t \rho_f (y^* - y) \text{ ha } x > (1-q)x_0 \quad 7.$$

Ahol:

k_f az anyagátadási tényező a fluid fázisban (m/s);

a_t a töltet fajlagos felülete (m²/m³);

y^* az adott nyomáshoz és hőmérsékletéhez tartozó telítési koncentráció (kg/kg);

q a felületen lévő könnyen oldható anyaghányad (kg/kg).

Az extrakció második szakasza akkor kezdődik, amikor a felületen lévő könnyen oldható anyaghányad már elfogyott, így a vázanyag belsejéből kell eljutnia az oldható komponenseknek a fluid fázis belsejébe. Ebben az esetben feltételezhető, hogy a belső diffúzió a sebesség-meghatározó lépés:

$$J(x, y) = k_s a_t \rho_s (x - x_f) \text{ ha } x \leq (1-q)x_0 \quad 8.$$

Ahol:

k_s anyagátadási tényező a szilárd fázisban (m/s);

x_f az oldható anyag koncentrációja a szilárd szemcsék felületén (kg/kg).

Mivel a felületen lévő oldható anyaghányad már az I. szakasz ideje alatt elfogyott, az előző egyenlet az $x_f \ll x$ feltételezéssel tovább egyszerűsíthető.

$$J(x, y) = k_s a_t \rho_s x \text{ ha } x \leq (1-q)x_0 \quad 9.$$

Az exponenciális függvény formájában megadott korrekciós faktor egységnyi, ha $x=x_0$ és folyamatosan csökken az extrakció előrehaladásával.

Sovová az analitikus megoldáshoz a második szakaszra a következő közelítést javasolta (Sovová, 1994):

$$J(x, y) = k_s a_t \rho_s x \left(1 - \frac{y}{y^*}\right) \text{ ha } x \leq (1-q)x_0 \quad 10.$$

Az extrakció előrehaladásával y egyre csökken és így a korrekciós tényező egyhez közelít. A megoldáshoz alakítsuk át a mérleg egyenleteket dimenziómentes formára.

Amennyiben, az itt leírt egyenletek közül az 1. egyenlet mindkét oldalát elosztjuk a fluid fázisra jellemző maximális extrakciós sebességgel a következő összefüggésekhez jutunk.

$$J_{\max}(x, y) = k_f a_t \rho_f y^* \quad 11.$$

Az első egyenlet bal oldalát szorozzuk és osztjuk $\dot{m}_f m_s x_0$ szorzattal:

$$-\frac{\rho_s (1-\varepsilon) \dot{m}_f m_s x_0}{k_f a_t \rho_f y^* \dot{m}_f m_s x_0} \frac{\partial x}{\partial t} = \frac{J(x, y)}{J_{\max}(x, y)} \quad 12.$$

Majd bevezetve a következő dimenziómentes paramétereket:

$$X = \frac{x}{x_0} \text{ dimenziómentes koncentráció,} \quad 13.$$

$$\mathcal{G} = \frac{t}{\tau} = t \frac{\dot{m}_f y^*}{m_s x_0} \text{ dimenziómentes idő.} \quad 14.$$

Ahol:

$$\tau = \frac{m_s x_0}{\dot{m}_f y^*} \text{ a minimális extrakciós idő (akkor kapnánk, ha végig telített oldat távozna az} \quad 15.$$

extraktorból) (s),

$$J^*(X, Y) = \frac{J(x, y)}{J_{\max}(x, y)} \text{ dimenziómentes extrakciós sebesség,} \quad 16.$$

$$Q = \frac{m_s k_f a_t \rho_f}{\dot{m}_f (1 - \varepsilon) \rho_s} \text{ dimenziómentes modellparaméter.} \quad 17.$$

A második egyenletből elhanyagoljuk az elemi fluid térfogatban az anyagmennyiség változását. Először végezzük el a következő átalakítást:

$$\frac{\rho_f u_s A_E m_s}{m_s A_E} \frac{\partial y}{\partial h} = \frac{\dot{m}_f \rho_s (1 - \varepsilon) H_t A_E}{m_s A_E} \frac{\partial y}{\partial h} = \frac{\dot{m}_f \rho_s (1 - \varepsilon) H_t}{m_s} \frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y) \quad 18.$$

Mindkét oldalt osztva a szilárd fázisra számított $J_{\max}(x, y)$ értékkel, továbbá a számlálót és a nevezőt is megszorozzuk a telítési koncentrációval (y^*) a következő dimenziómentes formához jutunk:

$$J_{\max}(x, y) = k_s a_t \rho_s x_0 \quad 19.$$

$$\frac{\rho_s (1 - \varepsilon) H_t \dot{m}_f y^*}{k_s a_t \rho_s x_0 m_s y^*} \frac{\partial y}{\partial h} = J^*(X, Y) \quad 20.$$

Ahol a következő dimenziómentes csoportokat kapjuk:

$$Y = \frac{y}{y^*} \text{ dimenziómentes koncentráció,} \quad 21.$$

$$Z = \frac{h}{H_t} \text{ dimenziómentes hosszkoordináta,} \quad 22.$$

$$S = \frac{m_s k_s a_t x_0}{\dot{m}_f (1 - \varepsilon) y^*} \text{ dimenziómentes modellparaméter.} \quad 23.$$

A dimenziómentes egyenletrendszer tehát a következő formában írható:

$$\frac{1}{Q} \frac{\partial X}{\partial \vartheta} = J^*(X, Y) \quad 24.$$

$$\frac{1}{S} \frac{\partial Y}{\partial Z} = J^*(X, Y) \quad 25.$$

A hozzátartozó kezdeti feltételek dimenziómentes formában:

$$X(\vartheta = 0, Z) = X_0 \quad 26.$$

$$Y(\vartheta, Z = 0) = 0 \quad 27.$$

A megoldásnál figyelembe kell venni, hogy az oldószer az oszlop aljától felfelé halad. Az alsó szakaszon már nincs oldható anyag a külső felületen és a belső diffúzió a sebesség-meghatározó, míg a felső rész még majdnem a kezdeti állapotban van. Feltételezve egy éles határt a két állapot között, ez a határ felfelé vándorol az oszlop hossza mentén. A hozzátartozó dimenziómentes hosszkoordináta:

$$Z_k = \frac{1}{S} \ln \left[1 + \frac{1}{q} \left\{ \exp \left[S \left(\vartheta - \frac{q}{Q} \right) \right] - 1 \right\} \right] \quad 28.$$

Az oszlop teljes hosszában ϑ_k idő elteltével fogy el a külső felületről az oldható anyag.

$$\vartheta_k = \frac{q}{Q} + \frac{1}{S} \ln \{ 1 - q[1 - \exp(S)] \} \quad 29.$$

Az extrakciós görbe az alábbi egyenletekkel számolható:

$$\frac{Y_E}{x_0} = \vartheta [1 - \exp(-Q)] \text{ ha } \vartheta < \frac{q}{Q} \quad 30.$$

$$\frac{Y_E}{x_0} = \vartheta - \frac{q}{Q} \exp[Q(Z_k - 1)] \text{ ha } \frac{q}{Q} \leq \vartheta < \vartheta_k \quad 31.$$

$$\frac{Y_E}{x_0} = 1 - \frac{1}{S} \ln \left\{ 1 + [\exp(S) - 1] \exp \left[S \left(\frac{q}{Q} - \vartheta \right) \right] (1 - q) \right\} \text{ ha } \vartheta \geq \vartheta_k \quad 32.$$

A Sovová-modell tovább egyszerűsíthető, ha a $q=0$ (nincs oldható anyag a felületen) vagy a $q=1$ (az oldható anyag teljes mennyisége a felületen van) határfeltételeket vizsgáljuk. Abban az esetben, ha $q=1$, úgy tekinthető a rendszer mintha egy pórusmentes szemcsés anyag felületéről extrahálnánk.

$$Z_k = \left[\vartheta - \frac{1}{Q} \right] \quad 33.$$

$$\vartheta_k = \left[1 + \frac{1}{Q} \right] \quad 34.$$

Az extrakciós hozam az idő függvényében tehát a következő egyenletekkel számítható:

$$\frac{Y_E}{x_0} = \vartheta \cdot [1 - \exp(-Q)], \text{ lineáris } \vartheta < \frac{1}{Q} \quad 35.$$

$$\frac{Y_E}{x_0} = \vartheta - \frac{1}{Q} \cdot \exp \left[Q \cdot \left(\vartheta - \frac{1}{Q} - 1 \right) \right], \text{ lineáris-exponenciális } \frac{1}{Q} \leq \vartheta < 1 + \frac{1}{Q} \quad 36.$$

$$\frac{Y_E}{x_0} = 1, \text{ Konstans } \vartheta \geq 1 + \frac{1}{Q} \quad 37.$$

2.2.2 Modellparaméterek összefoglalása

1. Q , dimenziómentes modellparaméter:

$$Q = \frac{m_s k_f a_t \rho_f}{\dot{m}_f (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad 38.$$

Ahol:

m_s	a szilárdanyag tömeg (kg);
k_f	az anyagátadási tényező a fluid fázisban (m/s);
a_t	a töltet fajlagos felülete (m^2/m^3);
ρ_f, ρ_s	a szuperkritikus fluidum és a szilárd vázanyag sűrűsége (kg/m^3);
ε	a töltet fajlagos hézagterfoglata (m^3/m^3);
$\dot{m}_f$	az oldószer tömegárama (kg/s).

2. τ , minimális extrakciós idő (s), amit akkor kapnánk, ha végig telített oldat távozna az extraktorból.

$$\tau = \frac{m_s x_0}{\dot{m}_f y^*} \quad 39.$$

Ahol:

x_0	az oldható komponensek kezdeti koncentrációja a növényi vázanyagban (kg/kg);
y^*	az oldhatóság (kg/kg).

3. S , dimenziómentes modellparaméter:

$$S = \frac{m_s k_s a_t x_0}{\dot{m}_f (1 - \varepsilon) y^*} \quad 40.$$

Ahol:

k_s	az anyagátadási tényező a szilárd fázisban (m/s).
-------	---

4. A q felületen lévő, könnyen oldható anyaghányad (kg/kg). Ez határozza meg, hogy az oldható komponensek mekkora hányada extrahálható gyorsan (az oldhatósággal arányosan), és mekkora lassan (a belső diffúzióval arányosan).

2.3 Korábbi főbb munkálatok

2.3.1 Fűrészpálma hatóanyagainak kinyerése

A fűrészpálma hatóanyagainak kinyerésére hagyományos (oldószeres) és szuperkritikus fluidum extrakció felhasználásával történt. Korábbi munkálataimat szakdolgozatomban közöltem részletesen.

Oldószeres extrakciók

Soxhlet-extrakcióval a kezdeti koncentrációt határoztam meg. Felhasznált oldószer az n-pentán és a 96 %-os etanol volt. Az extrakciót addig végeztem, amíg az extraktor feltétjében összegyűlt oldószer színe arra nem engedett következtetni, hogy gyakorlatilag nincs több kioldható anyag a mintában. A kivonás az oldószer forráspontjának megfelelő hőmérsékleten történt, 26 órán át. Az n-pentánnal nyert kivonat sötétvörös színű, nagy viszkozitású anyag volt, míg az etanollal kinyert minta szintén vörös volt, de nyúlós, ragadós állagú. A kísérletek hozamait az 1. táblázat foglalja össze. A hozamot a kivonat és a bemért szárazanyag arányából számoltam (m/m %). Míg az n-pentán, a szén-dioxidhoz hasonlóan csak az apoláris komponenseket oldja ki, az etanol képes a polárisakat is, ez magyarázza a hozambeli különbségeket. Megfigyelhető, hogy a háromszor egy órán át végzett keveréses extrakció az etanollal kioldható komponensek csaknem 80 %-át kioldotta.

1. táblázat: Hagományos extrakcióval kapott hozamok

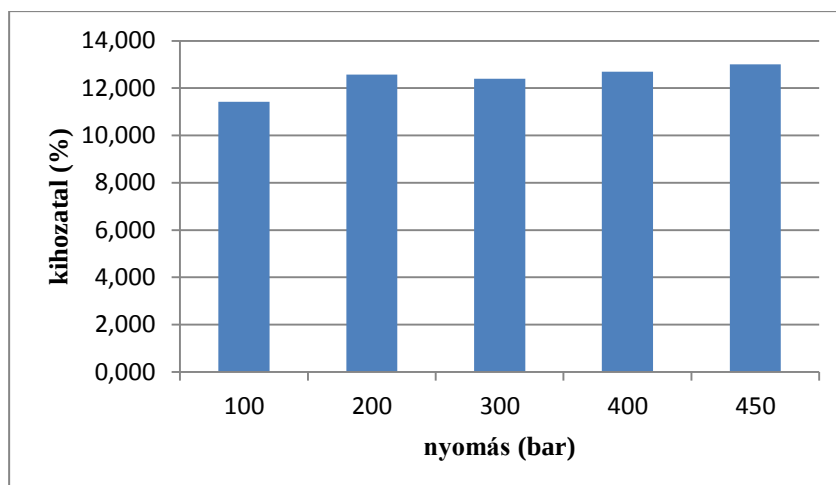
	Átlagos kihozatal (%)
etanolos Soxhlet-extrakció	32,85±0,29
n-pentános Soxhlet-extrakció	14,14±0,12
keveréses extrakció	26,34±0,87

Szuperkritikus fluidum extrakció

A *szuperkritikus fluidum extrakciót* a BME Vegyipari Műveletek Laboratóriumban található félüzemi szuperkritikus extraktorral végeztem el. A szén-dioxid tömegáramát és a hőmérsékletet állandó értéken tartottuk (7 kg/h, 40 °C). Az egyszeparátoros méréseknél a nyomást változtattuk 100, 200, 300, 400, illetve 450 bar-ra, ennek hatását vizsgáltuk a hozamra, illetve a pigmentek kioldódására. Emellett 300 bar-on csináltunk még kétszeparátoros extrakciót, ahol az első szeparátor nyomása 80 bar, a másodiké 20 bar volt. A kétszeparátoros mérések célja az olajtartalom és az illóanyag-tartalom szétválasztása.

A különböző nyomáson kapott hozamokat az 1. diagram mutatja. A 100 bar-on végzett extrakció volt a leglassabb és a kihozatal is itt a legrosszabb, 200 bar-tól azonban a hozam nem mutatott jelentős függést a nyomástól. A 100 bar közel esik a CO₂ kritikus nyomásához

(73,8 bar), így az oldószer oldóképessége bár nagyobb a folyadék állapotú szén-dioxidhoz képest, de nyomás emelésével még tovább növelhető.



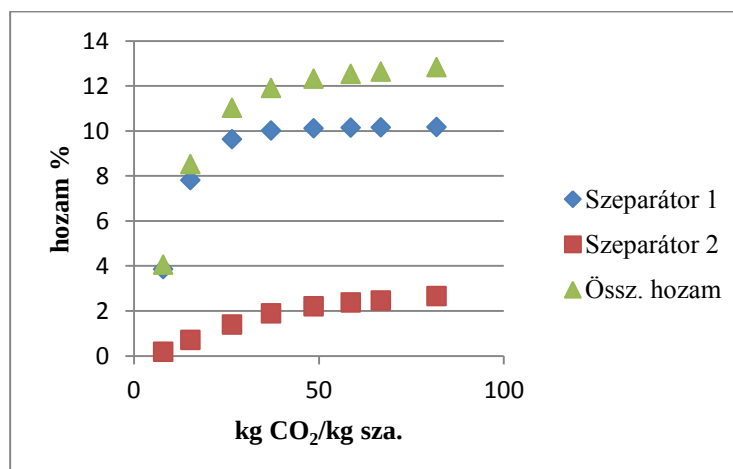
1. diagram: Az extrakciós nyomás (bar) és a kihozatal (%) közötti kapcsolat (T=40 °C)

A pigmentek kioldódását az 22. ábra szemlélteti. Balról jobbra jól látható az extraktumok sötétedése a nyomás növelésével, tehát a pigmentek koncentrációjának növekedése.



22. ábra: Balról jobbra haladva: a 100, 200, 300, 400, 450 bar-on kapott extraktumok színekülönbségei

Frakcionált szeparáció



2. diagram: Frakcionált szeparáció – A kihozatalok a szárazanyagon áthaladt CO₂ függvényében

Az extraktum frakcionálásakor az első szeparátorban halmozódott fel az olajos kivonat, a második szeparátorban az illóanyag, illetve a víz jelentős része. Az extraktorokban levő hozamokat a 2. diagram mutatja.

2.3.2 Szuperkritikus fluidum extrakció modellezése, modellezéshez szükséges paraméterek megállapítása

Sűrűségmérés

Modellezéshez szükségünk van mind a kezdeti, olajos növény sűrűségére, mind a extrakció utáni maradék sűrűségére. Ezek megállapítása Hofsäss-féle légpiknométerrel történt. Az eredmények átlagát a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat: Kezdeti, olajos drog, illetve extrakciós maradékok átlagos sűrűsége

	Sűrűség (kg/m ³)
Kezdeti, olajos drog	1432±2
Extrakciós maradékok	1436±22

Szemcseméret-eloszlás meghatározása

A szemcseméret-eloszlás meghatározását szitaanalízissel végeztem. Két fontos paramétert kellett meghatározni, a d_0 jellemző szemcseméretet (mm), illetve az n egyenletességi tényezőt (-). A felépített rendszer 7 szitából (lyukátmérőik: 0,05; 0,1; 0,315;

0,5; 0,63; 0,8; 1,0 és 1,25 mm), illetve a gyűjtőedényből állt. A rázatást állandó amplitúdójú rezgés mellett 25 percig végeztem, az eredmény kiértékeléséhez pedig a Rosin-Rammler-Bennett (RRB) eloszlást alkalmaztam. E szerint a szitamaradványt a következő képlet szerint számolhatjuk (Fonyó and Fábry, 1998):

$$L = 100 \exp \left[- \left(\frac{d}{d_0} \right)^n \right] \quad 41.$$

Ahol:

- L a szitamaradvány-összeg (%), amely a szitálási eredményekből számítható;
- d szita lyukméret (mm);
- d_0 a jellemző szemcseméret (mm), amelyhez $L=36,8$ % szitamaradék tartozik;
- n az egyenletességi tényező (-), a szemcsehalmaz szóródását adja meg.

A jellemző szemcseméret (d_0) 0,78 mm-nek, az egyenletességi tényező (n) $1,69 \pm 0,01$ -nek adódott.

Fajlagos hézagterfogat

A fajlagos hézagterfogat a töltet egyik fontos jellemzője. Számításához a következő összefüggést használtam:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\delta}{\rho_s} \quad 42.$$

Ahol:

- ε a fajlagos hézagterfogat (m^3/m^3);
- δ a halomsűrűség (kg/m^3);
- ρ_s a drog sűrűsége (kg/m^3).

Szuperkritikus szén-dioxid sűrűsége

A szuperkritikus szén-dioxid sűrűségét az Excel munkalap Solver segítségével a Bender állapotegyenlet ($F1-1$) felhasználásával számolja az adott hőmérsékleten és nyomáson.

A szén-dioxid viszkozitását a Reynolds- és Schmidt-szám ($F1-2$) meghatározása után, sűrűség ismeretében a Vesovic és munkatársai által javasolt egyenlettel számoltam ($F1-3$).

Diffúzió számítása szuperkritikus szén-dioxidban

A diffúziós együtthatót az oldott anyag fő komponensének ismeretében az Eaton és Akerman által javasolt egyenlettel becsültem (F1-4). Az oldott anyag molekula tömegének és molekula átmérőjének a főkomponensek molekulatömegét, valamint a molekulákat gömbnek feltételezve a molekulatömeg és sűrűség ismeretében egy molekula térfogatából számítható átmérőt használtam. A fő komponenseknek a laurin- és olajsavat tekintettem, ezek 60 %-ban fordulnak elő együtt a kivonatban (hexános kivonat), 40 %-ban olajsav, 20 %-ban laurinsav. Az egyes zsírsavak %-os előfordulását korábbi munkámban határoztam meg.

Külső anyagátadási tényező becslése

A külső anyagátadási tényezőt (k_f , m/s) a Scherwood-szám segítségével számoltam (F1-2).

$$k_f = \frac{D_{12} Sh}{d_{sv}} \quad 43.$$

Ahol:

- d_{sv} a kiindulási anyag felületi-térfogati szemcsemérete (m);
 D_{12} az oldható komponensek diffúziós tényezője az oldószerben (m^2/s);
 Sh Sherwood-szám (-).

Halomsűrűség meghatározása

A minta halomsűrűségét (kg/m^3) a bemért anyag tömege, a töltetmagasság, illetve az extraktor keresztmetszet alapján számítottam.

$$\rho = \frac{m_s 4 \pi}{h d_e^2} \quad 44.$$

Ahol:

- m_s a szilárd anyag tömege (kg);
 h a töltetmagasság (m);
 d_e az extraktor betétcső átmérője (m).

Fajlagos felület

A fajlagos felületet a szitaanalízis két paraméterének ismeretében (d_0 , n) könnyen kiszámolhatjuk a következő képlettel:

$$d_{sv} = \frac{1}{\frac{1}{d_0} \Gamma\left(1 - \frac{1}{n}\right)} \quad 45.$$

Ahol:

Γ az ún. gammafüggvény.

Ennek természetes alapú logaritmusát számolja az Excel.

Ebből tudjuk kiszámolni a szilárd anyag térfogatára vonatkoztatott fajlagos felületet (a_p), illetve a töltettérfogatra vonatkoztatott fajlagos felületet (a_t).

$$a_p = \frac{6}{d_{sv}} \qquad a_t = \frac{6}{d_{sv}}(1 - \varepsilon) \qquad 46.$$

Oldhatóság becslése

A del Valle és Aguilera a növényi olajok oldhatóságának számítására szuperkritikus szén-dioxidban a következő konstansokat javasolták (Del Valle and Aguilera, 1988):

$$\ln \frac{y^*}{\rho_f} = 40,361 - \frac{18708}{T} + 10,724 \cdot \ln \frac{\rho_f}{1000} + \frac{2186840}{T^2} \qquad 47.$$

Ahol:

y^* oldhatóság (kg/kg);

ρ_f a szén-dioxid sűrűsége (kg/m³);

T hőmérséklet (K).

Azonban előfordulhat, hogy a fenti képlettel kapott oldhatóság adatok nem megfelelőek, tehát irreális modellezési eredmények jönnek ki. Ezért lehetőség van arra, hogy az oldhatóságot az extrakciós görbe I. szakaszának meredeksége alapján becsüljük. Modellezésem során az utóbbi megoldást választottam.

3. Anyagok és módszerek

3.1 Felhasznált anyagok

3.1.1 Fűrészpálma

A Rózsavölgyi Kft. közreműködésével jutottunk hozzá a gyógynövényhez.

3.1.1 Szén-dioxid

Szuperkritikus extrakcióhoz felhasznált palackos szén-dioxidot a Linde Gáz Magyarország Zrt.-től (Budapest) szereztük be. Tisztasága minimum 99,5 (m/m)%-os volt.

3.1.2 Oldószerek

A keveréses, illetve a Soxhlet-extrakcióhoz felhasznált 96 %-os etanol és n-pentán oldószereket a Molar Chemical Kft.-től (Budapest) rendeltük.

A fitoszterin, illetve a karotinoid-tartalom mérésekhez szükséges oldószereket a Sigma-Aldrich-től, illetve a Reanal Finomvegyszergyár Zrt.-től szereztük be. Az analízisekhez használt n-hexánt, betulint a Sigma Aldrich (Budapest) szállította, a NaSO₄-et, az etanolt, a fenolftalein indikátort és a KOH-ot a Reanal Finomvegyszergyár Zrt. (Budapest).

A gázkromatográfiás vizsgálathoz használt Plant sterol mix-et a Larodan Fine Chemicals AB. (Svédország) cégtől rendeltük.

3.2 Felhasznált módszerek

3.2.1 Karotinoid-tartalom mérés

A karotinoid-tartalom mérése MSZ 3649-85 szabvány szerint történt. A mérés elve, hogy az olajminta n-hexánnal készült oldatának a fényelnyelését (abszorbanciáját) spektrofotométerrel mérjük. A karotinoid-tartalom a 450 nm hullámhosszon mért abszorbanciával arányos.

A mintát 100 ml-es főzőpohárban 25 ml-hexánban feloldottam, majd a főzőpohár tartalmát 50 ml-es mérőlombikba n-hexánnal átmostam. Nagyon fontos, hogy a minta ne legyen zavaros, ezért ha szükségesnek láttam, átszűrtem az egyes oldatokat. A lombikot jelig töltöttem, majd 1 cm-es küvettában 450 nm-en megmértem a karotinoid-tartalmat. A vak minta n-hexán volt.

A minták karotinoid-tartalmát $\mu\text{g/g}$ -ban a következő képlettel számoltam ki:

$$K = \frac{E \cdot V}{0,2505 \cdot d \cdot e} \quad 48.$$

Ahol:

E – az abszorbanciaérték (-);

V – a zsiradékminta n-hexános oldatának végtérfogata (jelen esetben 1 ml);

d – a kuvetta vastagsága (1 cm);

e – a bemért minta tömege (g);

2505 – a karotin abszorbanciakoefficiense 1 %-os oldatban, 1 cm-es kuvettában, 450 nm-en n-hexánnal szemben mérve.

3.2.2 Fitoszterin-tartalom

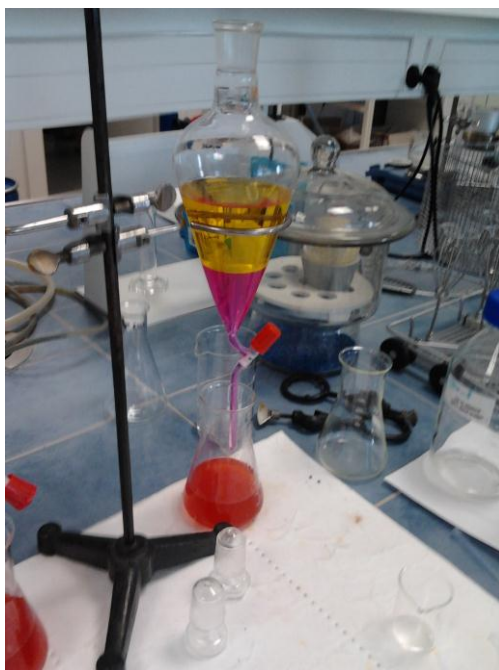
A mintaelőkészítés az ISO 3596-2 szabvány szerint történt.

3.2.2.1 Elszappanosítás

Közel 5 g mintát bemértem 250 ml-es gömblombikba, hozzáadtam 50 ml 1 M –os kálium hidroxid oldatot, forrkövet és összeszereltem a rendszer. Ezt követően hűtőn keresztül 50 ml desztillált vizet adtam hozzá és 1 órán át, nitrogén alatt forraltam. A rendszer tulajdonképpen egy visszafolyó hűtőből, egy nitrogént bevezető csonkból, fűtőtestből, illetve a gömblombikból állt.

3.2.2.2 Extrakció

Miután lehűtöttem az elszappanosított mintát, 250 ml-es elválasztó tölcserbe öntöttem és 50 ml hexánt adtam hozzá. Erőteljes rázás után, megvártam amíg a két fázis elválik egymástól, majd az alsó fázist legalább háromszor, 50 ml hexánnal extraháltam. A felső fázist egybe gyűjtöttem és 25 ml etanolos oldattal mostam addig, amíg a fenolftalein rózsaszín színe el nem tűnt. A rózsaszín szín lúg jelenlétére utal (23. ábra).



24. ábra: El nem szappanosodott rész lúgmentesítése

Végül a fitoszterin-tartalmú részt nátrium-szulfát hozzáadásával vízmentesítettem, szűrtem és rotációs vákuumbepárló segítségével eltávolítottam róla az oldószert.

3.2.2.3 Gázkromatográfiás vizsgálat

A vizsgálat a Bunge Zrt. BEI/31, házi módszere alapján történt. A belső standard piridinben feloldott koleszterin volt. A csúcsok beazonosításához referencia anyagként Plant sterol mixet használtunk.

Az el nem szappanosodott részt 10 ml kloroformban oldottam, majd 0,5 ml-hez 500 µl belső standardet adtam hozzá és 1 ampulla (120 µl szililező szert). A vial 20 percen keresztül tartó melegítése alatt a szililezés teljesen végbement. Hűlés után be lehetett tenni a készülékbe.

Készülék típusa: HP 6890 GC System

Kolonna típusa: HP1 (19091Z-002) (25 m×0,2 mm×0,11 µm)

Vivőgáz: hidrogén, áramlási sebessége 0,6 ml/perc.

Az injektált minta mennyisége 1 µl, ennek 1/50-ed része jut el a detektorhoz (split arány: 50:1). Az injektálás 300 °C-on történt. A gázkromatográfiás vizsgálatához lángionizációs (FID) detektort használtunk. E detektortípus előnye, hogy széleskörűen alkalmazható, így az egyik legáltalánosabban használt detektorfajta.

El nem szappanosodott rész szterin-tartalma (NSP, mg /10 ml):

$$NSP = \frac{m_{kol} \cdot A_{szterin}}{A_{kol} \cdot V_{szterin}} \cdot 10 \quad 49.$$

Ahol:

m_{kol} – a mintához adott koleszterin belső standard mennyisége (mg);

A_{kol} - a belső standardként használt koleszterincsúcs területértéke;

$A_{szterin}$ – az összes szterincsúcs területösszege;

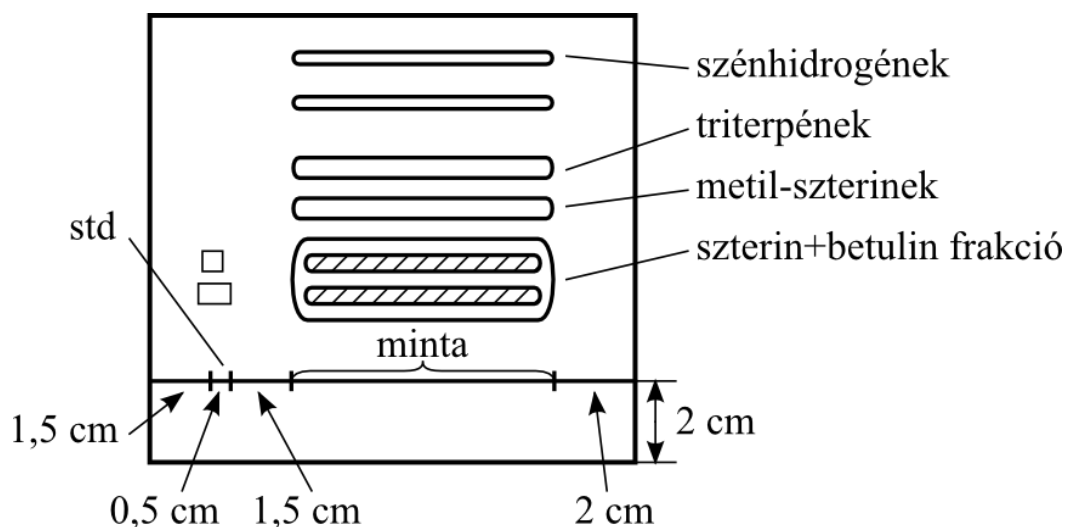
$V_{szterin}$ – a szililezéshez összemért minta mennyisége.

Az olaj szterin-tartalmának meghatározása:

$$\frac{mg}{kg}, ppm = \frac{az\ el\ nem\ szappanosodott\ rész\ szterin-tartalma\ [mg]}{olaj\ tömege\ [g]} \cdot 1000 \quad 50.$$

3.2.2.4 Vékonyréteg kromatográfia (VRK)

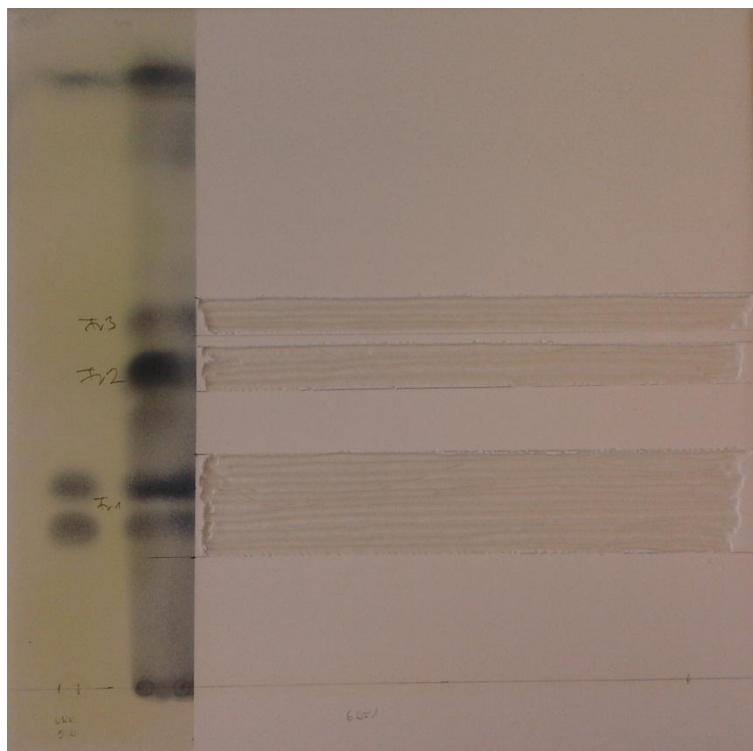
A vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatra több okból is szükség volt. Egyrészt a kloroformos oldat kromatogramján megjelent egy jelentős területű, ismeretlen csúcs, valamint számos kisebb, feltételezhetően szennyezőanyagoktól származó csúcs. Másrészt ugyan irodalmi adatok alapján tudtuk, hogy kell lenni a mintákban cikloartenolnak, de referencia anyag hiányában nem tudtuk beazonosítani. A VRK jelentősége abban áll, hogy a különböző frakciók kémiai összetétel, illetve molekulatömeg szerint elválaszthatók, így lehetőség van a szennyezőanyagok kiküszöbölésére, valamint a fitoszterinek és a metil-szterinek külön vizsgálatára. A lap paramétereit, illetve a megvizsgálható komponensek futási magasságait a 24. ábra mutatja.



24. ábra: A VRK lap megajzolósi paramétere, az egyes frakciók futási magasságai

Első lépésként az eredetileg GC-re előkészített mintám 1 ml-hez, 1 ml betulint adtam, majd nitrogén alatt bepároltam. A betulin belső standardként szolgált (gázkromatográfiás vizsgálathoz kell), töménysége 1 mg/ml. A bepárolt anyaghoz 1 ml dietil-étert került és az egészet felvittem a VRK lapra. Ugyancsak felvittem a VRK standardet, ami koleszterin és betulin etanolos oldata volt (koleszterin: 1 mg/ml; betulin: 5 mg/ml). A futtatás n-hexán-dietil-éter 1:1 arányú elegyében történt, kb. 1,5 órán keresztül.

Miután felfutott az oldószer, foszformolibdénsavval hívtuk elő a foltokat. Ezután a megfelelő frakciókat lekapartam a lapról (25. ábra), a lekapart frakciót 2 ml absz. etanolban oldottam és 3*10 ml dietil-éterrel extraháltam a szterineket. Minden lépés között 50 ml-es körtelombikba szűrtem az oldószert. A következő lépésként bepároltam, majd bepárolt mintát GC csavaros kis üvegbe pipettáztam 2*1,5 ml éteres mosás közben. Ezután előkészítettük a gázkromatográfiás mérésre. A szárazra párolt mintához 200 µl szililezőszert tettünk és 110°C-os szárítószekrényben 20 perc alatt megtörtént a szililezés. Ha kihűlt 500 µl hexánban oldottuk és betettük a GC készülékbe.



25. ábra: Szterin frakciók lekaparása a szilika rétegről

3.2.3 Modellezés, felhasznált Sherwood-egyenletek

A Sovová-modell egy nagyon fontos paramétere a fluid fázisra jellemző anyagátadási tényező (k_f) értéke, amit leginkább a Sherwood-összefüggésből számolnak ki. Az egyenlet a Sherwood-, a Reynolds- és a Schmidt-szám között teremt kapcsolatot. Azonban nincs általánosan elfogadott összefüggés a három dimenziómentes szám között. A legtöbb irodalomban szereplő Sherwood-egyenlet csak arra a növényre alkalmazható jól, amelyre illesztették, viszont univerzálisan nem. Céлом a növényemre legjobban illeszkedő összefüggés megtalálása. A legjobb egyenlet az lenne, amelyet pórusmentes anyag extrakciós kísérleteire illesztettek, így megfelelően szétválasztódna már a külső és a belső anyagátadási tényező, és a legtöbb növényre alkalmazható lenne.

Az irodalomban számtalan Sherwood-összefüggés ismeretes, általános alakjuk:

$$Sh = b Re^a Sc^{0,33}$$

Munkám során a következő összefüggéseket tanulmányoztam:

$$Sh = 0,0041 Re^{0,81} Sc^{0,33}$$

(Csépany, 2011)

$$Sh = 0,82 Re^{0,66} Sc^{0,3333}$$

(Catchpole, 1993)

$Sh = 0,38 Re^{0,83} Sc^{0,3333}$	(Tan et al., 1988)
$Sh = 0,206 Re^{0,8} Sc^{0,3333}$	(Puiggene et al., 1997)
$Sh = 0,2548 Re^{0,5} Sc^{0,3333}$	(King et al., 1997)
$Sh = 2 + 1,1 Re^{0,6} Sc^{0,3333}$	(Wakao et al., 1978)
$Sh = 0,206 Re^{0,6} Sc^{0,3333}$	(Boutin et al., 2011)
$Sh = 1,309 - 0,258 Re^{-0,023} Sc^{0,463}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)
$Sh = 1,661 - 0,517 Re^{-0,014} Sc^{0,333}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)
$Sh = 0,541 - 0,133 Re^{0,5} Sc^{0,3333}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)
$Sh = 3,173 Re^{-0,06} Sc^{-0,85}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)
$Sh = 0,085 Re^{-0,298} Sc^{0,333}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)
$Sh = 0,135 Re^{0,5} Sc^{0,33}$	(Mongkholkhajornsilp et al., 2005)

Ahol:

$$Sh = \frac{k_f d_{sv}}{D_{12}} \quad \text{Sherwood-szám (-),}$$

$$Re = \frac{d_{sv} \rho_f u_s}{\eta} \quad \text{Reynolds-szám (-),}$$

$$Sc = \frac{\eta}{\rho_f D_{12}} \quad \text{Schmidt-szám (-),}$$

u_s az üres oszlopra vonatkozó áramlási sebesség (m/s),

k_f anyagátadási tényező a fluid fázisban (m/s),

d_{sv} a kiindulási anyag felületi-térfogati szemcsemérete (m),

ρ_f a szuperkritikus fluidum sűrűsége (kg/m³),

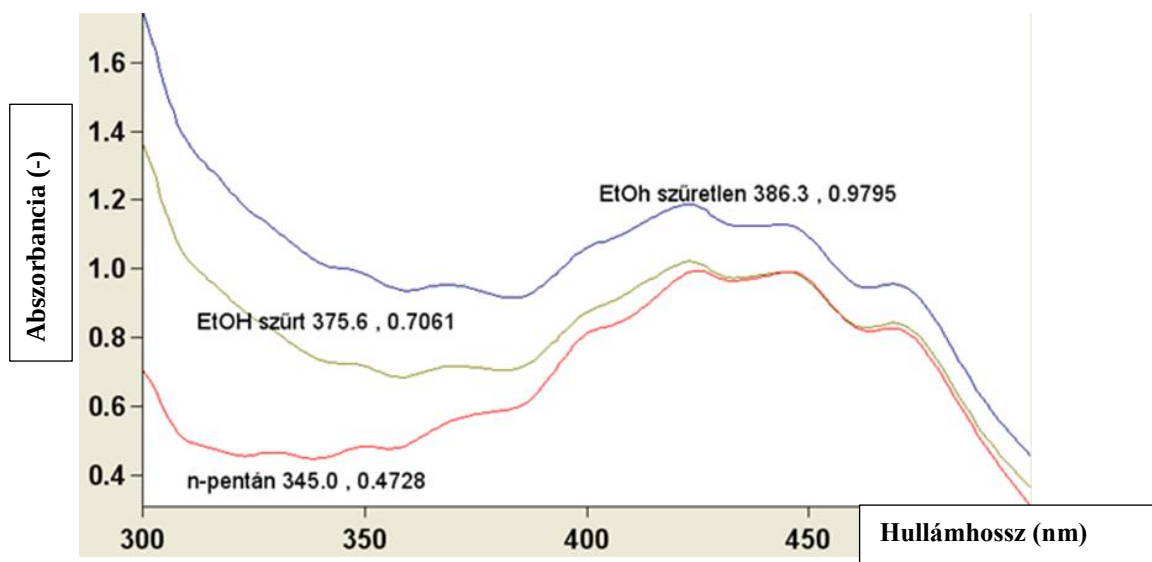
D_{12} az oldható komponensek diffúziós tényezője az oldószerben (m²/s),

η viszkozitás (Pa s).

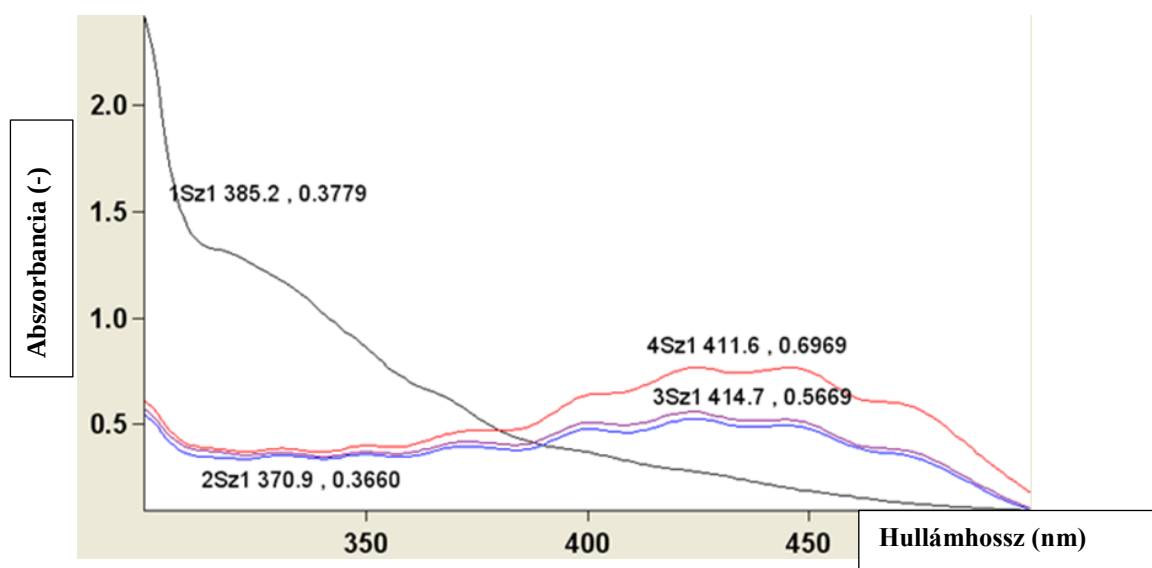
4. Kísérletek és kiértékelésük

4.1 Karotinoid-tartalom

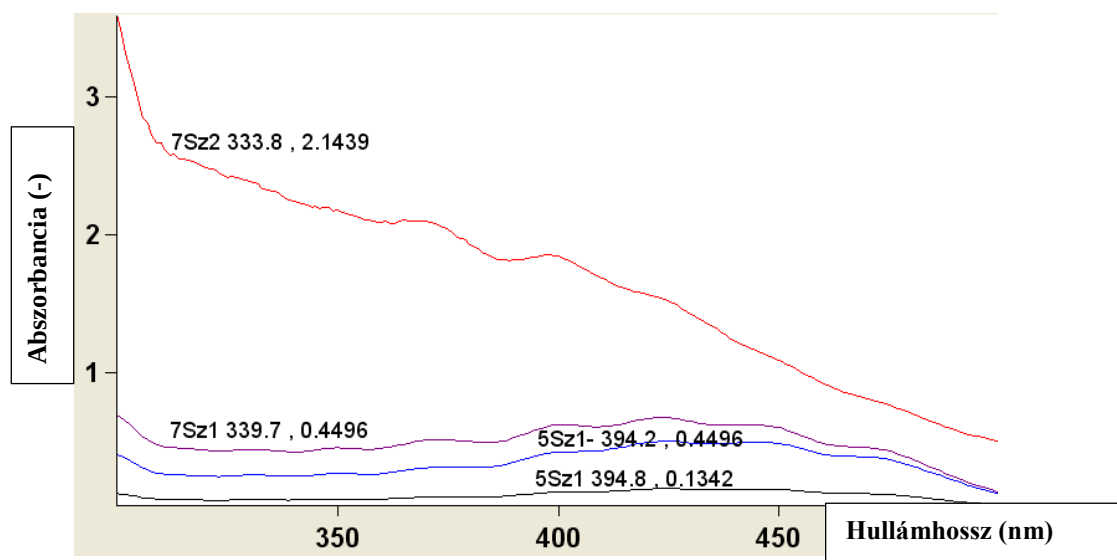
A kivonatokban előforduló karotinoidok abszorbanciáját pásztázó üzemmódban 300 nm-től 500 nm-ig spektrofotometriásan mértem. A kromatogramokat a 26.-28. ábra mutatja.



26. ábra: Hagymányos módon kinyert kivatok karotinoid-tartalma



27. ábra: 100 (1Sz1), 200 (2Sz1), 300 (3Sz1), 400 (4Sz1) bar-on kinyert minták karotinoid-tartalma



28. ábra: 450 (5Sz1) baron kinyert kivonat, illetve frakcionált szeparációnál az első (7Sz1) és a második (7Sz2) szeparátorban felgyűlt kivonatok karotinoid-tartalma

Fontos megjegyezni, hogy a különböző minták abszorbanciáját a kromatogramok alapján nem lehet összehasonlítani, hiszen vonala függ a bemért minta tömegétől. A bemért tömegeket, a mért abszorbancia értékeket, illetve a pontos karotinoid-tartalmat $\mu\text{g/g}$ -ban a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: A minták karotinoid-tartalma 450 nm-en $\mu\text{g/g}$ -ban

	Bemért tömeg (g)	Mért abszorbanciaérték (-)	Karotinoid-tartalom ($\mu\text{g/g}$)
100 bar	1,0754	0,1859	17,25
200 bar	0,1757	0,4792	272,04
300 bar	0,1570	0,5047	320,82
400 bar	0,1694	0,7493	441,44
450 bar (1)	0,0373	0,1526	408,29
450 bar (2)	0,1171	0,4847	413,09
300 bar I. Szeparátor	0,1974	0,5987	302,68
300 bar II. szeparátor	0,4659	1,2817	274,55
Soxhlet _{szűrt} (EtOH)	0,1298	0,9611	738,97
Soxhlet _{szűretlen} (EtOH)	0,1298	1,0939	841,08
Soxhlet (n-pentán)	0,1665	0,9677	580,04

Az eredményeket összehasonlítva legkisebb mennyiségben a 100 bar-on kinyert minta tartalmaz karotinoidokat (17 $\mu\text{g/g}$), majd a kinyerési nyomás növelésével egyre több színanyag gyűlik össze. Ez összhangban van a korábbi munkám során tapasztaltakkal, hogy a nyomás növelésével egyre sötétebb extraktumokat kaptam (22. ábra). A kétszeparátoros extrakcióval kinyert minták közül az első szeparátorban gyűlt össze több karotinoid, de a második szeparátorban kinyert 275 $\mu\text{g/g}$ érték is figyelemre méltó.

A hagyományos extrakciókat tekintve, az etanol sokkal több színanyagot oldott ki (739 µg/g), sőt az egész kísérleti rendszerben ez a legmagasabb érték. Ennek az az oka, hogy apoláris komponenseken kívül, poláris komponenseket is kioldott az oldószer. Az n-pentán polaritása bár megegyezik a szén-dioxid polaritásával, a CO₂ maximális kihozatalához képest (413 µg/g) is közel 170 µg/g-mal több színanyagot oldott ki.

A 450 bar-on kinyert mintából két bemérési tömeggel határoztam meg az abszorbanciát, szemléltetve a tömeg-abszorbancia közötti összefüggést. A különböző tömegű anyagok abszorbancia értéke jelentősen eltér, de a végeredmény hasonló (408-413 µg/g).

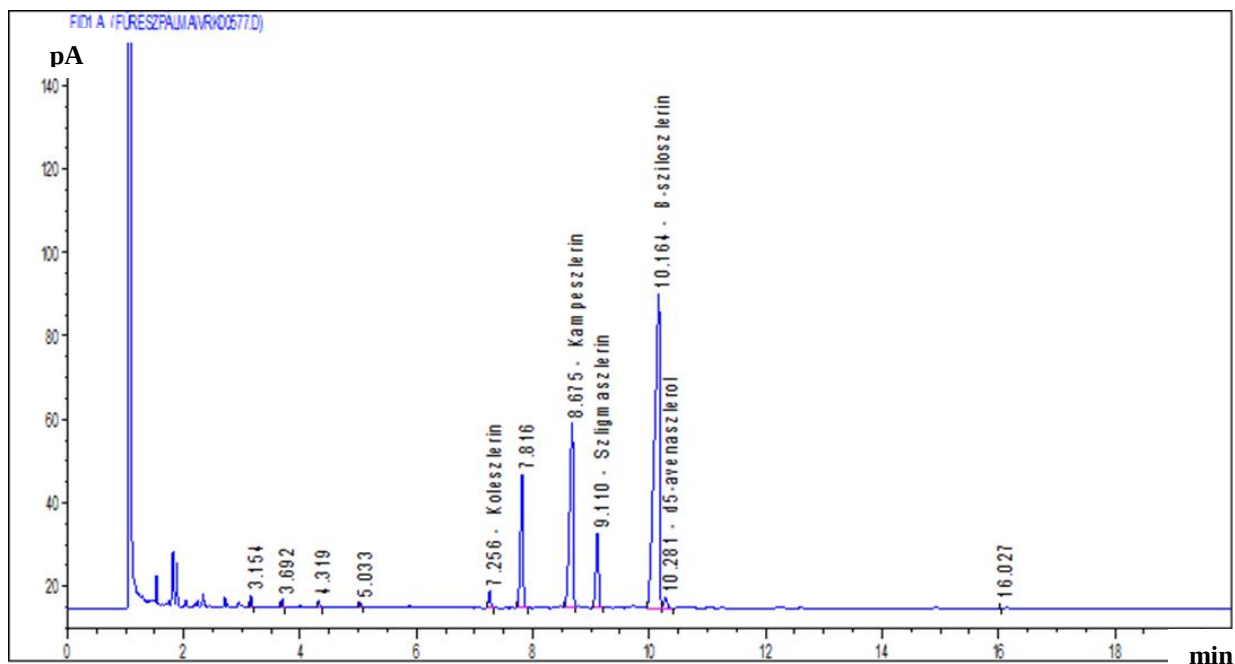
A Soxhlet-extrakcióval kinyert minták fényelnyelését megvizsgáltam szűrt és szűretlen minta esetén is. Természetesen szűrt mintánál kevésbé volt opális az oldat, így kisebb abszorbanciát kaptam.

A fűrészpálma pontos karotinoid összetételének meghatározására, vagyis, hogy melyek azok a karotinoidok, melyek előfordulnak a növényben, sajnos nem volt lehetőség. Irodalmi adatok alapján azonban tudjuk, hogy a fő karotinoid a β-karotin (Standard Reference Material 3251, 2009).

4.2 Fitoszterin-tartalom

A fitoszterin-tartalom mérésénél a Bunge Zrt. belső módszere szerint jártunk el. Kezdetben a gázkromatográfiás vizsgálatra előkészített kloroformos oldat analízisét végeztük el (Módszer-1). Az így kapott kromatogramon azonban a cikloartenol nem tudtuk beazonosítani, mivel a referencia anyagként használt Plant szterol mixben nem volt jelen (29. ábra). Irodalmi adatok alapján viszont tudtuk, hogy ez is fő fitoszterin komponensek közé tartozik. Ugyanakkor egy ismeretlen, nagy területértéket felvevő csúcs jelent meg a kromatogramon, amit szintén nem tudtunk beazonosítani. Ezért a különböző frakciók szétválasztása érdekében a mintákon vékonyréteg kromatográfiát végeztünk (Módszer-2). Az ismeretlen csúcs a metil-szterinek frakcióban jelent meg. Mivel tudtuk, hogy a cikloartenol szerkezetében 2 metil csoport is van és a fűrészpálma elméletileg nagy arányban tartalmazza, sikerült a cikloartenolhoz rendelni a csúcsot és sokkal tisztább kromatogramokat kapni. A két módszerrel kapott mennyiségi eredmények azonban jelentőst eltérést mutattak, ezért megpróbáltuk a második módszert finomítani. Az eredményeket az alábbiakban tárgyalom.

A kiértékelést már úgy végeztem, hogy minden beazonosított komponenst figyelembe vettem. A kapott kromatogramokat a függelékben tüntettem fel (F2-5; 6.1), de néhányat itt is bemutatok.



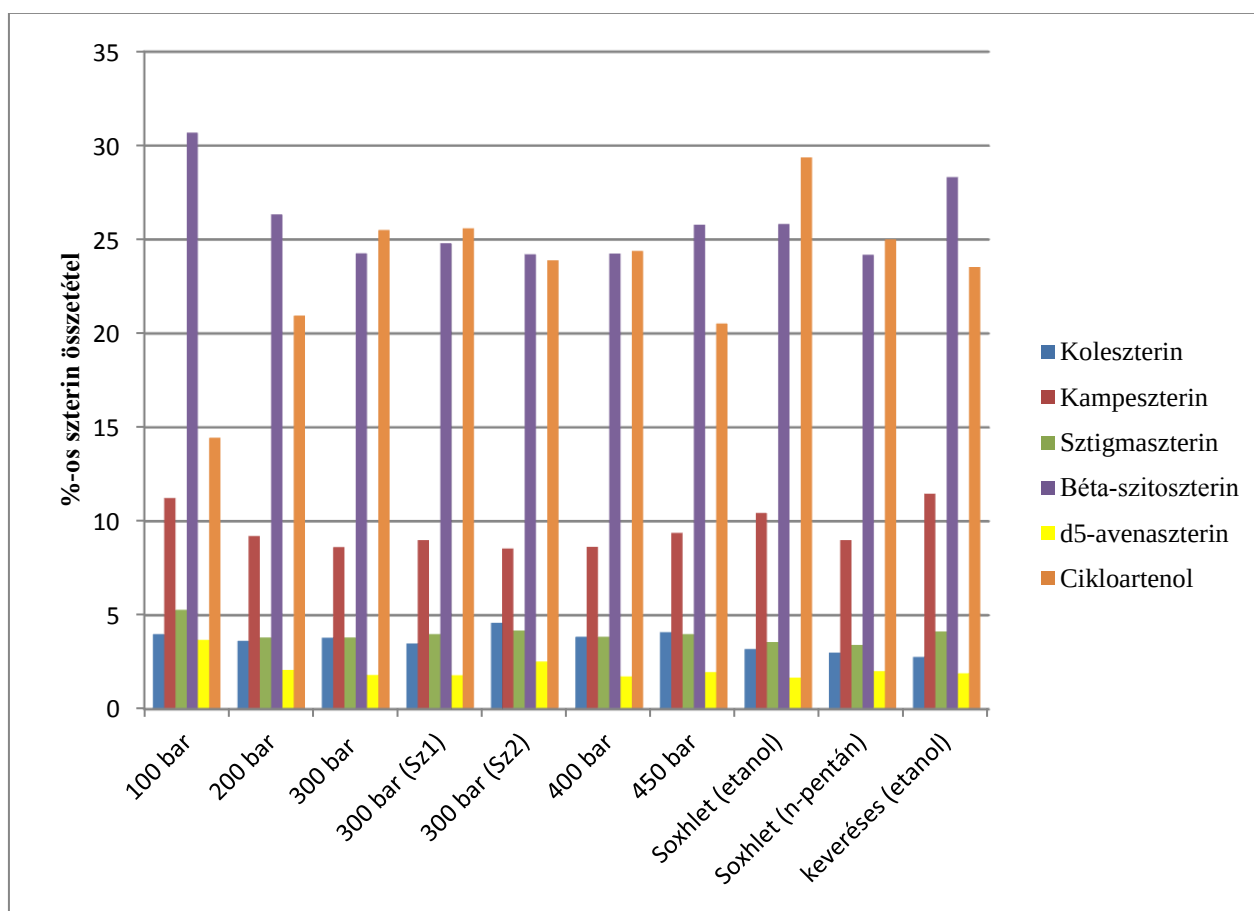
29. ábra: Plant szterol mix kromatogramja

A kivonatok a Módszer-1-gyel kapott össz-szterin tartalmát mg/kg mértékegységben a 4. táblázatban összegeztem. Ugyancsak itt található a növény szárazanyag-tartalmára vonatkozó fitoszterin-tartalom. A kihozatalokat azért tartalmazza a táblázat, mert ezek segítségével számoltam vissza a növény fitoszterin-tartalmára. Az egyes extrakciós módok kihozatalait korábbi munkámban határoztam meg. Természetesen maga a növény kevesebb szterin-tartalommal bír, de az adatok alapján el lehet dönteni, mely oldószerrel nyerek ki a legnagyobb hányadban a szterineket. Jelen esetben az n-pentános kivonat bizonyult a legjobbnak. A megfelelő hozam elsősorban iparban fontos.

4. táblázat: A kivonatok fitoszterin-tartalma, illetve a növény szárazanyag-tartalmára vonatkoztatott fitoszterin-tartalom

	Kihozatal [g/100 g szárazanyag]	Szterin-tartalom (olaj) [mg/kg]	Szterin-tartalom (növény, szá.-tart.) [mg/kg]
100 bar	11,426	1294	148
200 bar	12,573	2341	294
300 bar	12,403	2423	301
300 bar (Sz1)	10,171	2558	260
300 bar (Sz2)	2,665	2744	73
400 bar	12,700	2275	289
450 bar	13,018	2272	296
etanol	32,850	721	237
n-pentán	14,140	2988	423
keveréses	26,340	1401	369

Ami a kivonatokat illeti, legnagyobb mennyiségben természetesen szintén a pentános kivonat tartalmazza a fitoszterineket, legkisebb mennyiségben az etanolos Soxhlet kivonat. Figyelemreméltó, hogy több fitoszterint oldott ki a háromszor 1 órán át végzett keveréses extrakció (1401 mg/kg) (az oldószer ugyanaz), mint a hosszabb ideig, magasabb hőmérsékleten végzett Soxhlet-extrakció (721 mg/kg). A különbség azzal magyarázható, hogy keveréses extrakciónál mágneses keverőt alkalmaztam, így nagyobb mechanikai hatás érte az őrölt drogot, tehát több fitoszterin szabadulhatott fel. A kivonatok %-os összetételét a 3. diagram mutatja. A diagram alapját adó számértékek a függelékben találhatóak (F2-7).



3. diagram: Kivonatok %-os összetétele a Módszer-1 alapján

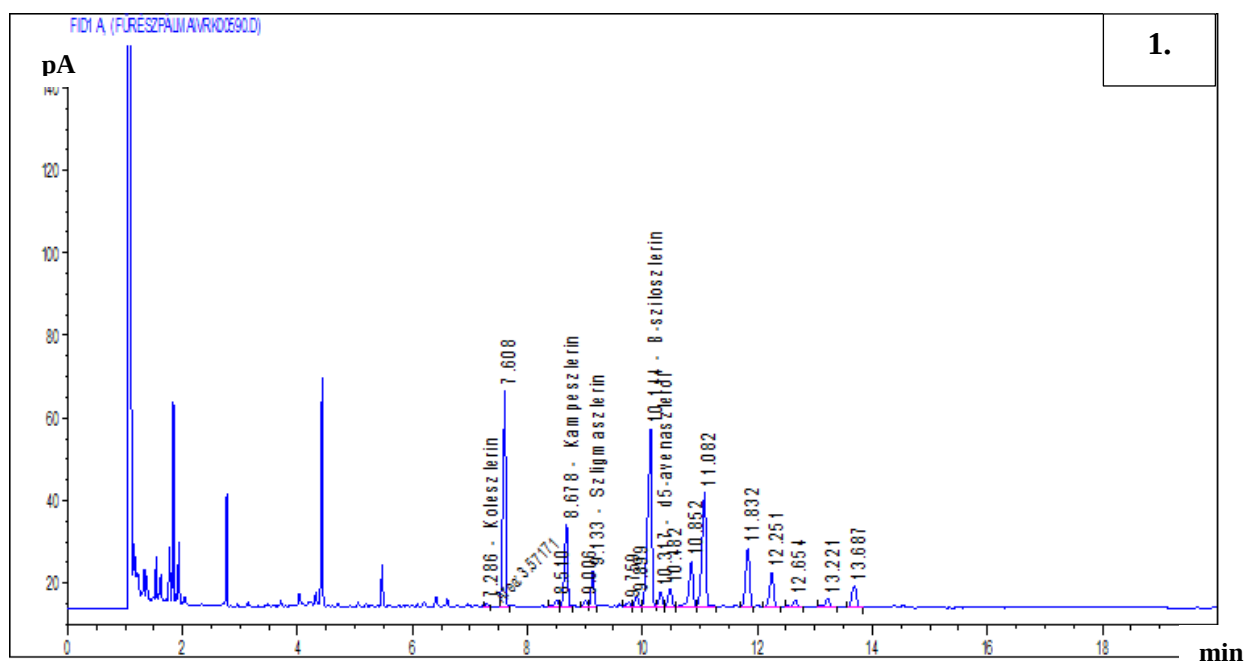
Az extraktumok, függetlenül attól, hogy milyen módszerrel nyertük ki, kvalitatív különbséget nem mutatnak. Kvantitatívan szemlélve, legnagyobb mennyiségben a kivonatok β -szitoszterint tartalmaznak, közülük is a 100 bar-on kinyert mintában van a legtöbb. Kivételt képez ezalól az etanolos Soxhlet-extrakcióval nyert minta, bár ez is nagy hányadban tartalmazza a β -szitoszterint, de nem ez a legfőbb komponense. Legnagyobb szórást a

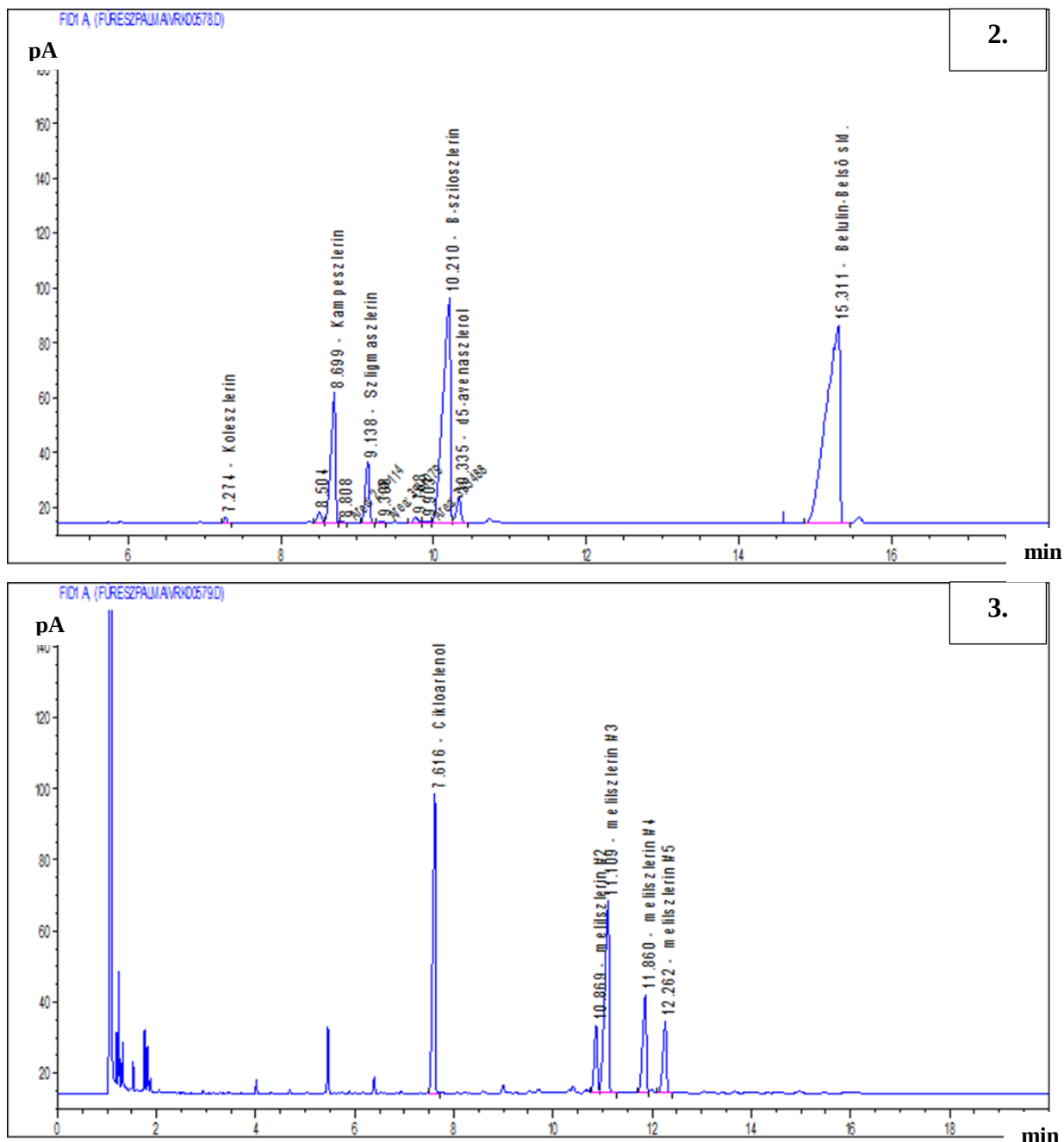
vegyületek között a cikloartenol mutatja. Legnagyobb mennyiségben (29,4%) az etanolos Soxhlet-extrakcióval kinyert mintában, legkisebb mennyiségben (14,4%) a 100 bar-on kinyert mintában fordul elő.

Korábbi munkámban 300 bar-on frakcionált szeparációt is végrehajtottam. Míg zsírasavanalízis során jelentős különbséget találtam az olajsav mennyisége között a két szeparátorban, itt egy fitoszterin esetében sincs jelentős mennyiségi különbség.

Végül érdemes pár szót említeni a növények koleszterin tartalmáról. Annak ellenére, hogy a szteránvázis vegyületeken belül a koleszterin az, ami az állati szervezetben fordul elő, a fitoszterin pedig inkább növényi szervezetben, minden mintám tartalmazott koleszterint. Ez nem egyedülálló a növényvilágban, a fűrészpálmán kívül más növény minor részét is képezik a koleszterinek.

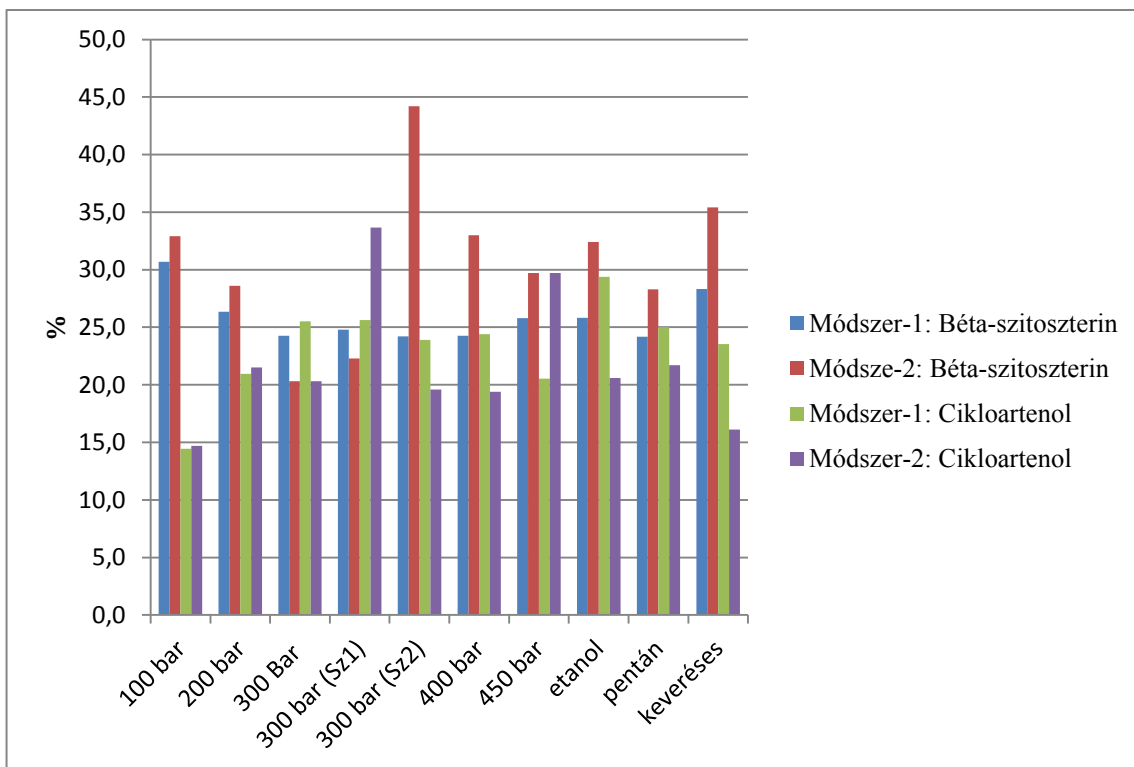
Második lépésben, az analízist elvégeztük úgy is, hogy gázkromatográfiás módszer előtt elválasztottuk a különböző frakciókat. Mivel így külön kromatogramon vizsgáltuk meg a szabad fitoszterineket, illetve a metil-szterineket, sokkal tisztább képet kaptunk. Ezt szemlélteti a 30. ábra.



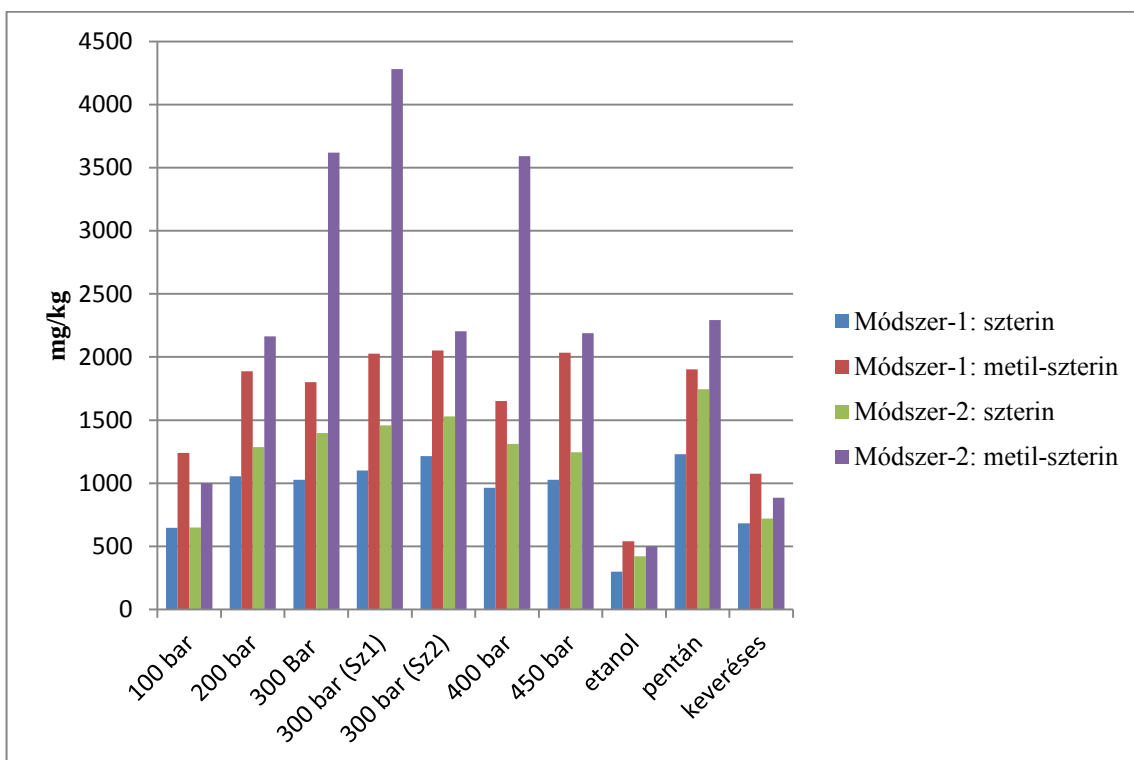


30. ábra: 1. Kromatogram frakcionálás előtt; 2. Szabad szterin frakció kromatogramja; 3. Metil-szterin frakció kromatogramja

A Módszer-2-vel kapott kromatogram kiértékelésénél azonban azt tapasztaltam, hogy míg százalékosan csak a β -szitoszterin, illetve a cikloartenol esetében van jelentős eltérés (4. diagram), addig mennyiségi oldalon jelentős különbség volt, amit a 5. diagram mutat. (Megjegyezném, hogy a koleszterin-tartalom is jelentősen lecsökkent, de mivel kis részét képezi a kivonatoknak, nem tárgyalom).



4. diagram: Kivonatok %-os β -szitoszterin és cikloartenol előfordulása a Módszer-2 alapján



5. diagram: Kivonatok szterin és metil-szterin frakcióinak összehasonlítása Módszer-1 és Módszer-2 alapján

A legnagyobb különbség a metil-szterin frakciónál vehető észre. Ennek egyik oka lehet, hogy a frakciók szétválasztásánál a belső standard az egyes frakcióval (szabad

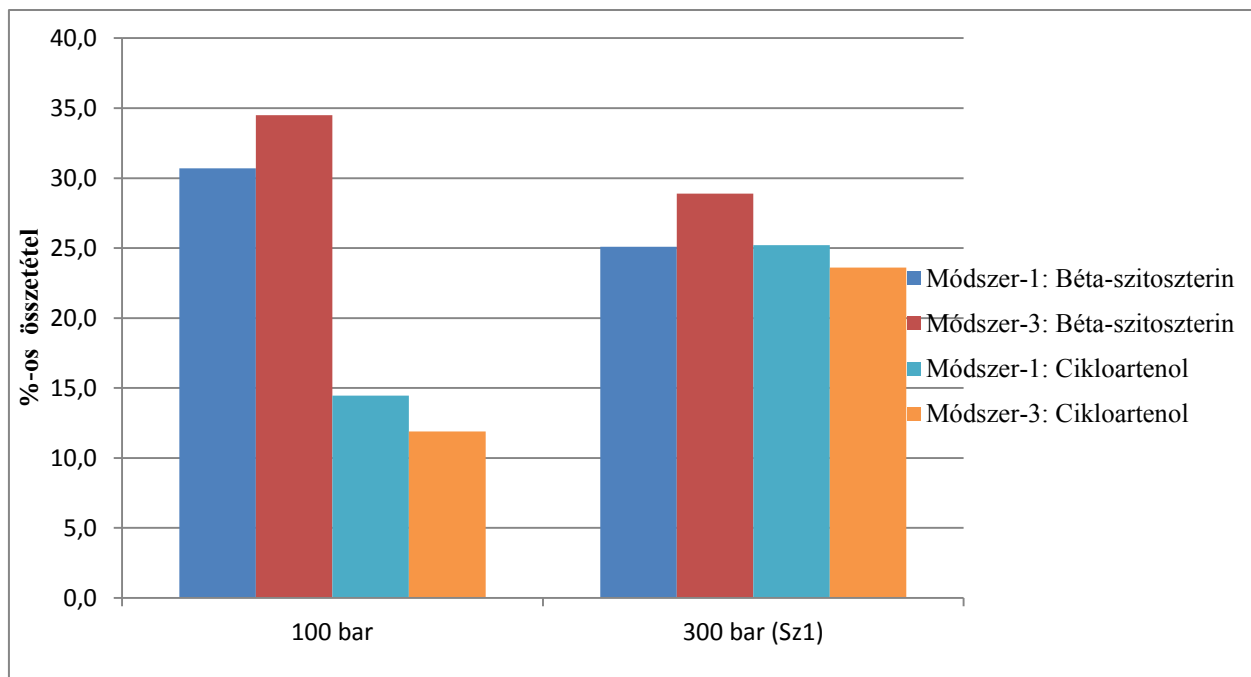
fitoszterin frakció) futott, tehát a metil-szterinek mellett nem volt belső standard, így nem valós eredmények születtek. Másik oka lehet, hogy míg az eredeti kromatogramon az összes frakció szerepel, addig az elválasztott frakciók közül nem foglalkoztunk a szénhidrogénekkal és a triterpénekkal, vagyis vesztettünk komponenseket, ezzel területet, így nagyobb hányad jön ki minden alkotóra. Azonban a második lehetőséget leellenőriztem, és elhanyagolható a veszteség. Az első okból kiindulva megpróbáltuk úgy felvenni a kromatogramot, hogy VRK után nem külön készítettük elő a frakciókat, hanem egybe. Nem vezetett eredményre, további finomítás kellett.

Hogy meggyőződjünk, melyik módszer ad helyes eredményt, a 2. módszert finomítottuk. Két minta (100 bar-on kinyert minta, illetve a frakcionált szeparációnál az első szeparátor tartalma) esetén megvizsgáltuk mit kapunk, ha kirázás helyett oszlopkromatográfiával választjuk el a fitoszterineket tartalmazó részt (Módszer-3, ISO-12228 szabvány szerint). Az oszlopkromatográfia előnye, hogy csak a fitoszterineket engedi át, a festékanyagot és minden más, fitoszterin analízis szempontjából nem lényeges komponenst nem. Ennek alapja, hogy a kálium-hidroxiddal elszappanosított részt kirázás helyett, etanolos alumínium-oxidot tartalmazó oszlopon engedjük át, így a hasznos rész átsurol az alumínium-oxid rétegen, míg az egyéb anyagokat megköti az oszlop. A lefolyt anyaghoz etanolt, majd dietil-étert adtunk, rotációs vákuumbepárlóval eltávolítottuk az oldószert és így következett a VRK és a GC. A kromatogramokat a függelék tartalmazza (F2-6.2).

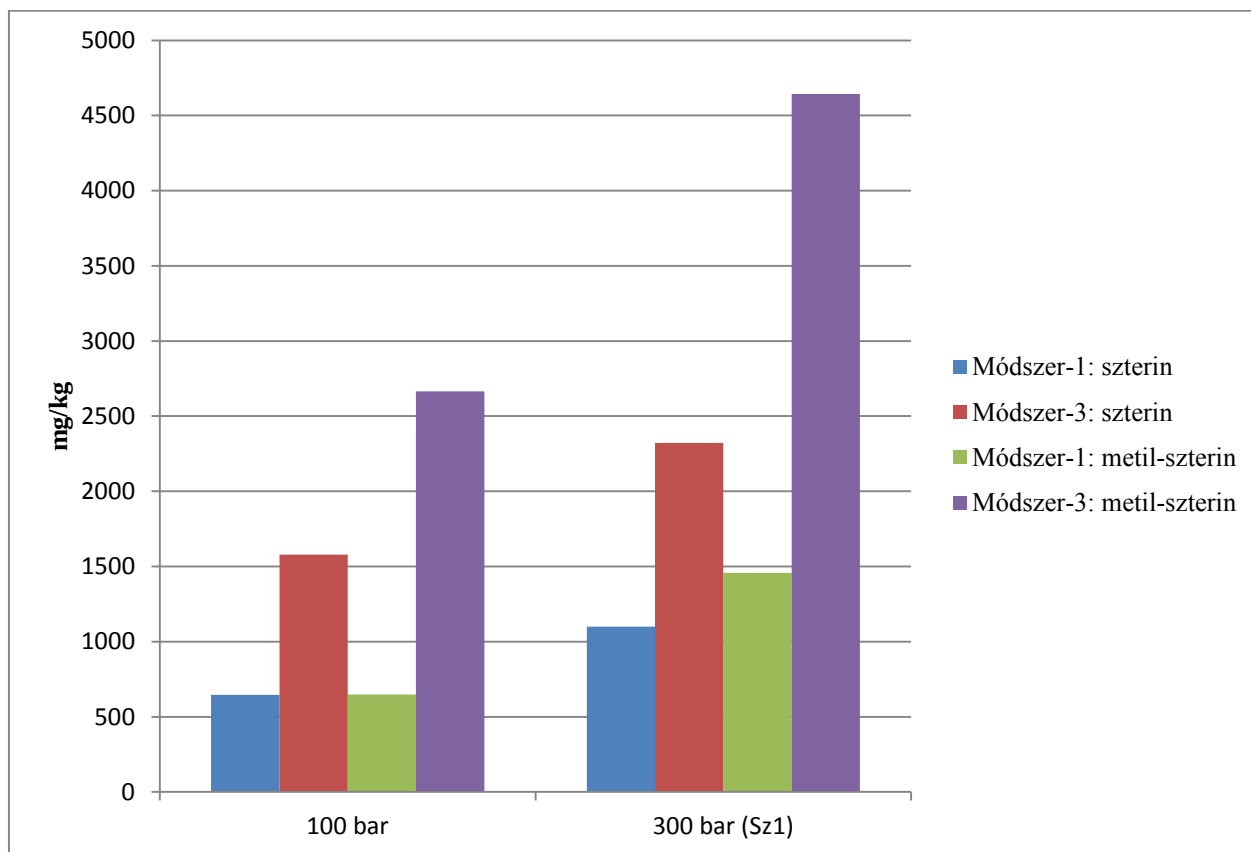
A mennyiségi eltérés a metil-szterin frakciónál csökkent, de továbbra is nagy különbség van köztük. Ami viszont megnyugtató, hogy a kivonatok %-os összetétele közel megegyezik a két módszerrel. A két frakció mennyiségi, illetve a β -szitoszterin, cikloartenol %-os összehasonlítását 6. és 7. diagramon szemléltetem. A β -szitoszterin és a cikloartenol %-os megoszlását számszerűen az 5. táblázat tartalmazza.

5. táblázat: Kivonatok β -szitoszterin és a cikloartenol %-os megoszlása a Módszer-1 és Módszer-3 alapján

	β-szitoszterin [%]		Cikloartenol [%]	
	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3
100 bar	30,7	34,5	14,4	11,9
300 bar (Sz1)	25,1	28,9	25,2	23,6



6. diagram: Kivonatok β -szitoszterin és a cikloartenol %-os megoszlása a Módszer-1 és Módszer-3 alapján



7. diagram: Kivonatok Módszer-1 és Módszer-3 alapján kinyert szterin-tartalmának mennyiségi összehasonlítása

4.3 Modellezés

A Sovová-modell illesztését Nagy Bence által kidolgozott Excel Makró programmal végeztem el (Nagy, 2010). Korábbi munkámban már készítettem illesztést, amivel a hozamgörbéket vizsgáltam, de kisebb nagyobb hibákkal, így első feladatomban, az akkori illesztés hibáinak kijavítása volt.

Miután megtörtént az adatok javítása, első körben megvizsgáltam, hogy a karunkon dolgozó Csépany Péter hallgató által felállított Sherwood-összefüggés alkalmazható-e az én növényemre (Csépany, 2011). Csépany elmélete az volt, hogy annál jobb egy becslés, minél kisebb a fluidum oldali anyagátadási tényező. Az összefüggés jelentősége, hogy pórusmentes anyaggal végezte el a szuperkritikus extrakciót, majd erre a rendszerre illesztett egy Sherwood-egyenletet. A pórusos anyagokra felállított Sherwood-összefüggések hibája, hogy a kiindulási anyagok pórusos jellege miatt leginkább csak azokra az anyagok extrakciójára ad pontos becslést, amikre illesztették őket, ráadásul a külső és belső anyagátadási tényezők sem választódnak szét rendesen.

Az illesztés eredményeképpen, ahogy várható volt, jelentősen csökkent k_f értékem és így a Q paraméter is (6. táblázat), de probléma adódott az S és q értékek becslésénél. Annyira lecsökkent ugyanis a Q értéke, hogy $S=0$ -nak, $q=1$ -nek adódott. Ha viszont $q=1$, az azt jelenti, mintha egy pórusmentes szemcsés anyag felületéről extrahálnánk, ami a fűrészpálma esetében lehetetlen, hiszen minden növény egy pórusos rendszert alkot.

6. táblázat: Új Sherwood-összefüggés eredménye a kísérleti rendszeremre

	Sh (-)	k_f (m/s)	Q (-)
100 bar	0,01552	2,95293E-07	0,42588
200 bar	0,01108	1,88893E-07	0,36905
300 bar	0,00997	1,64693E-07	0,35004
400 bar	0,00942	1,52515E-07	0,33763
450 bar	0,00962	1,54418E-07	0,33204

A kezdeti „kudarc” után, 12, az irodalomban található Sherwood-összefüggést, illetve a belőlük kapott k_f értékeket vizsgáltam meg. A Sh-szám értékeit a 7. táblázat, a belőlük következtetett k_f értékeket a 8. táblázat foglalja össze.

7. táblázat: Különböző Sherwood-értékek

	Sh ₁	Sh ₂	Sh ₃	Sh ₄	Sh ₅	Sh ₆	Sh ₇	Sh ₈	Sh ₉	Sh ₁₀	Sh ₁₁	Sh ₁₂
100 bar	5,66707	1,46930	0,51792	0,50175	0,12530	0,37977	0,15870	0,41855	0,78126	0,68121	2,84167	0,79639
200 bar	4,94548	1,03846	0,36948	0,35097	0,18800	0,29315	0,21003	0,35501	0,56146	0,54654	2,20760	0,67627
300 bar	4,75632	0,93164	0,30654	0,28907	0,20456	0,26518	0,23171	0,33822	0,50649	0,51122	2,04324	0,64455
400 bar	4,66471	0,87860	0,25992	0,24387	0,21221	0,24665	0,24680	0,33042	0,47920	0,49408	1,96259	0,62988
450 bar	4,71454	0,89691	0,24095	0,22545	0,20637	0,23845	0,24936	0,33625	0,48905	0,48115	2,00038	0,64108

8. táblázat: Különböző fluidum oldali anyagátadási tényező értékek

	kf ₍₁₎ (m/s)	kf ₍₂₎ (m/s)	kf ₍₃₎ (m/s)	kf ₍₄₎ (m/s)	kf ₍₅₎ (m/s)	kf ₍₆₎ (m/s)	kf ₍₇₎ (m/s)	kf ₍₈₎ (m/s)	kf ₍₉₎ (m/s)	kf ₍₁₀₎ (m/s)	kf ₍₁₁₎ (m/s)	kf ₍₁₂₎ (m/s)
100 bar	0,000107799	2,7949E-05	9,85189E-06	9,54434E-06	2,38348E-06	7,22398E-06	3,0188E-06	7,96162E-06	1,48611E-05	1,29579E-05	5,4054E-05	1,51489E-05
200 bar	8,42966E-05	1,7701E-05	6,29777E-06	5,98243E-06	3,20457E-06	4,99687E-06	3,5801E-06	6,05127E-06	9,57023E-06	9,3159E-06	3,7629E-05	1,15271E-05
300 bar	7,85355E-05	1,5383E-05	5,06148E-06	4,77314E-06	3,37766E-06	4,37858E-06	3,826E-06	5,58457E-06	8,36303E-06	8,44122E-06	3,3738E-05	1,06426E-05
400 bar	7,54936E-05	1,4219E-05	4,20651E-06	3,94679E-06	3,43446E-06	3,99183E-06	3,9942E-06	5,34752E-06	7,75537E-06	7,99618E-06	3,1762E-05	1,0194E-05
450 bar	7,56987E-05	1,4401E-05	3,86874E-06	3,61995E-06	3,31359E-06	3,82861E-06	4,0038E-06	5,39897E-06	7,85245E-06	7,72549E-06	3,2119E-05	1,02934E-05

1. $Sh = 2 + 1.1 \cdot Re^{0.6} \cdot Sc^{0.33}$
2. $Sh = 0.38 \cdot Re^{0.83} \cdot Sc^{0.33}$
3. $Sh = 1.309 - 0.258 \cdot Re^{-0.023} \cdot Sc^{0.463}$
4. $Sh = 1.661 - 0.517 \cdot Re^{-0.014} \cdot Sc^{0.33}$
5. $Sh = 0.541 - 0.133 \cdot Re^{0.5} \cdot Sh^{0.33}$
6. $Sh = 3.173 \cdot Re^{-0.06} \cdot Sc^{-0.85}$
7. $Sh = 0.085 \cdot Re^{-0.298} \cdot Sc^{0.33}$
8. $Sh = 0.135 \cdot Re^{0.5} \cdot Sc^{0.33}$
9. $Sh = 0.206 \cdot Re^{0.8} \cdot Sc^{0.33}$
10. $Sh = 0.206 \cdot Re^{0.6} \cdot Sc^{0.3074}$
11. $Sh = 0.82 \cdot Re^{0.66} \cdot Sc^{0.33}$
12. $Sh = 0.2548 \cdot Re^{0.5} \cdot Sc^{0.33}$

Látható, hogy a Mongkholkhajornsilp és munkatársai által felállított Sherwood-összefüggések adták a legkisebb külső anyagátadási tényezőket (k_{f5} , k_{f7} , k_{f6} , k_{f8} , k_{f4} , k_{f3}). Azonban ezek közül csak az egyiknek, a 8-as összefüggésnek van reális értelme. A 6. és a 7. esetén az a gond, hogy a képletben szereplő Re szám kitevője negatív, ami ellentmond annak, hogy a Re szám pozitívan hat a tömegátadási tényezőre. A 3-as, 4-es, 5-ös összefüggés szintén nem helytálló, mert a második tag előjelének pozitívnak kell lennie, tükrözve azt, hogy növekvő Re és Sc szám esetén a Sh szám értéke is nő (Mongkholkhajornsilp et al., 2004). Megvizsgálva a többi fluidum oldali tömegátadási tényezőt nagyságban a következő k_f értéket Puiggene (9), illetve Del Valle-Aguilera összefüggése (10) adta.

$$8.Sh = 0,135 \cdot Re^{0.5} \cdot Sc^{0.33}$$

$$9.Sh = 0.206 \cdot Re^{0.8} \cdot Sc^{0.33}$$

$$10.Sh = 0.206 \cdot Re^{0.6} \cdot Sc^{0.33}$$

Végigcsinálva a modellezést (S, q paraméterek megállapítása), összehasonlítottam a 3 modell által adott paramétereket. Ezeket a 9. táblázat foglalja össze. Az egyéb, modellezéshez szükséges paramétereket a függelékben tüntettem fel (F3-8).

9. táblázat: Modellparaméterek-a² a mért és a számított pontok közti eltérés négyzetösszege

	100 bar	200 bar	300 bar	400 bar	450 bar
Q₈	11,482522	11,822744	11,869584	11,838008	11,609161
Q₉	21,260427	18,526243	17,604158	16,998129	16,715207
Q₁₀	18,688359	18,201071	17,941182	17,701433	17,375078
S₈	0,3862742	1,1847546	0,8551746	0,846266	1,1309709
S₉	0,3601961	1,1646569	0,8423832	0,8326977	1,1023443
S₁₀	0,3808589	1,1655406	0,8419284	0,8309342	1,1182896
q₈	0,7014636	0,6711513	0,718488	0,746532	0,7014636
q₉	0,7066204	0,6697826	0,7181227	0,7470355	0,7066204
q₁₀	0,7003124	0,6697355	0,7180986	0,7472701	0,7003124
τ₈	11584,174	5356,2655	4804,997	4227,0587	4282,2193
τ₉	11584,174	5356,2655	4804,997	4227,0587	4282,2193
τ₁₀	11584,174	5356,2655	4804,997	4227,0587	4282,2193
a₈²	0,0607204	0,0014544	0,0026381	0,0015456	0,0107331
a₉²	0,0652314	0,0016682	0,0027881	0,0017402	0,0115133
a₁₀²	0,0634265	0,0016628	0,0027918	0,001755	0,0114412
k_{f8}	7,962E-06	6,051E-06	5,585E-06	5,348E-06	5,201E-06
k_{f9}	1,474E-05	9,482E-06	8,283E-06	7,678E-06	7,322E-06
k_{f10}	1,296E-05	9,316E-06	8,441E-06	7,996E-06	7,725E-06
k_{s8}	1,882E-09	1,249E-08	1,005E-08	1,13E-08	1,383E-08
k_{s9}	1,755E-09	1,227E-08	9,896E-09	1,112E-08	1,348E-08
k_{s10}	1,856E-09	1,228E-08	9,891E-09	1,11E-08	1,368E-08

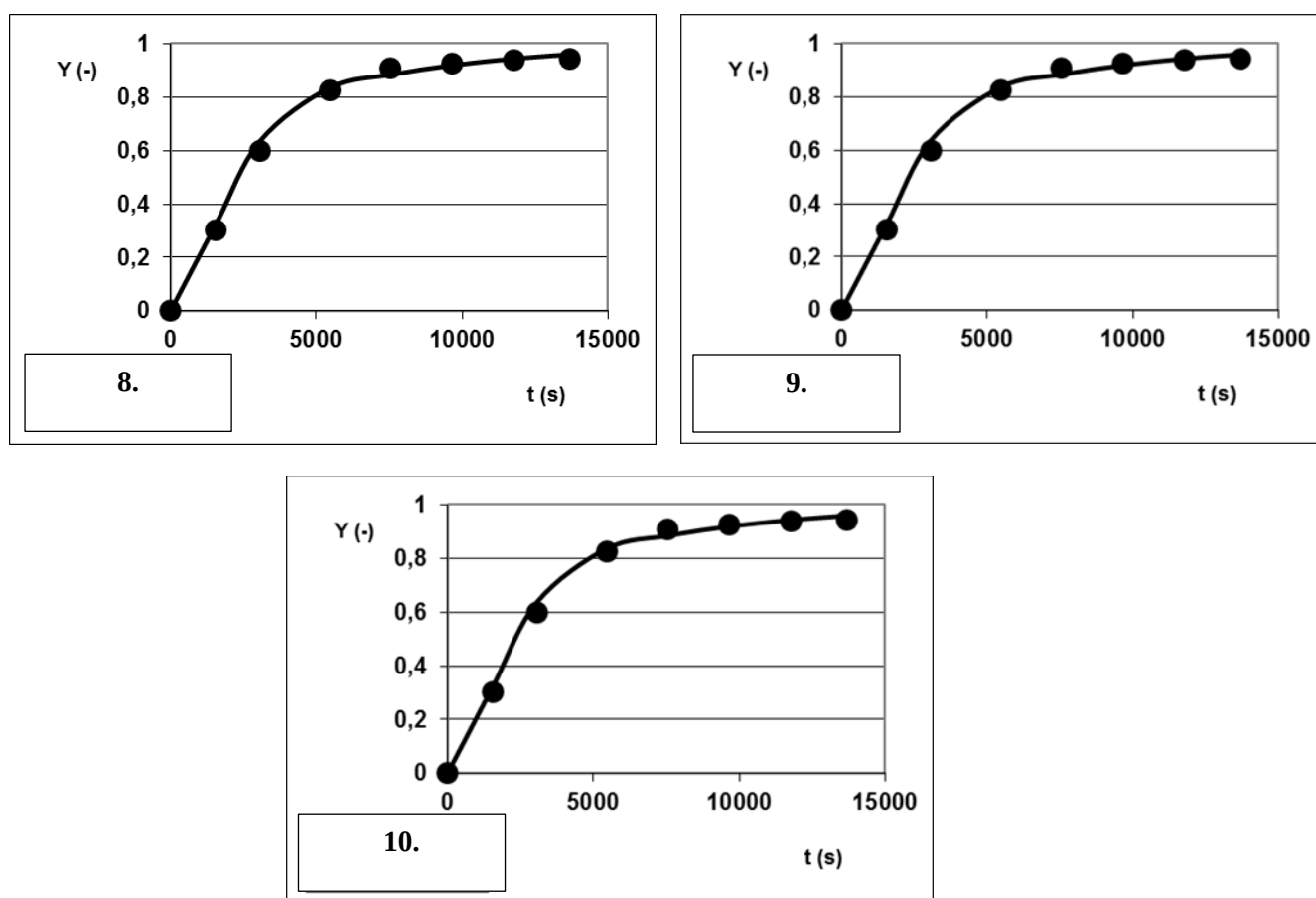
Látható, hogy a minimális extrakciós idő (τ) mindenhol ugyanakkora. Ez nem meglepő, hiszen ennek értéke csak a szén-dioxid-tömegáramától, kezdeti koncentrációtól, bemért tömegtől, illetve az oldékonyságtól függ, és nincs köze az általam változtatott paraméterekhez. Nagysága annál kisebb, minél nagyobb nyomáson végezzük az extrakciót.

A Q paraméter a nyolcas összefüggés felhasználásával adódott a legkisebbnek, a másik kettő közel azonos értékű (hiszen csak a Re szám kitevőjében különböznek). Ami viszont érdekes, hogy a három k_f 100 bar kivételével azonos nagyságrendű. Minimális eltérés van az S , és az abból következtethető k_s értékek között is.

Ha a mért és a program által számított eltérések négyzetösszegét hasonlítjuk össze, a legjobb eredmény a Mongkholkhajornsilp egyenlettel értük el, ami azt jelenti, hogy ez adja a legjobb becslést, bár a másik két összefüggés hatékonysága se sokkal rosszabb.

A belső (k_s) és a külső (k_f) anyagátadási tényezőket összehasonlítva, megfigyelhetjük, hogy mind a három esetben a részecskén kívüli anyagátadás a nagyobb, de a két érték jól különvlik egymástól, tehát a részecskéken belül a k_s a meghatározó.

Mivel egyik paraméter értéke se tér el nagyon egymástól, az extrakciót leíró hozamgörbék sem mutatnak jelentős eltérést. Kiemelve egyet, a 300 bar-hoz tartozó extrakciós görbét a 31. ábra mutatja.

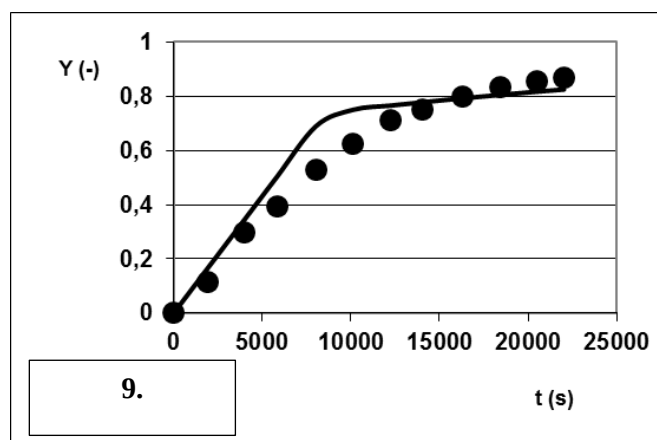
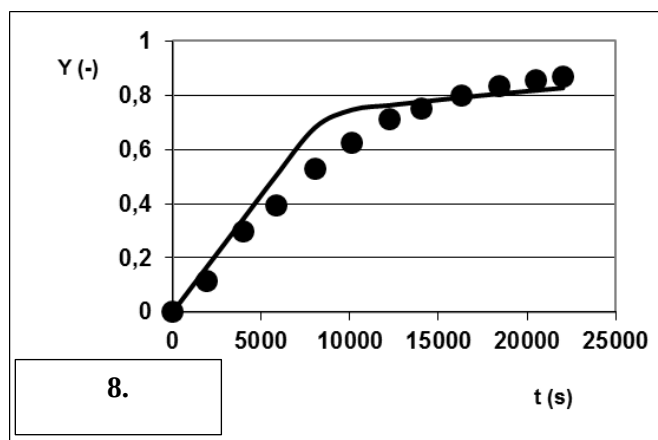


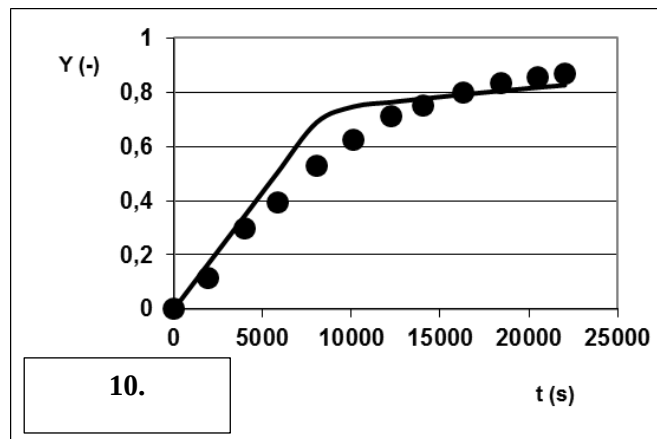
31. ábra: 300 bar-hoz kapott hozamgörbék

A diagramokon a pontok mutatják a mért kihozatalokat, a vonal pedig a program által számoltakat jelöli. Az ordinátán a maximális kihozatalhoz viszonyított hozam szerepel. Maximális hozamnak az n-pentános Soxhlet-extrakcióval kinyert értéket vettem.

A hozamgörbék három szakaszból állnak. Van egy kezdeti, közelítőleg lineáris, emelkedő szakasz, egy a végső hozam által meghatározott, vízszintes vonal, illetve a két vonalat összekötő aszimptotikusan görbülő szakasz. Az első lineáris rész meredeksége az oldékonysággal arányos és az extrakció körülményei között fennálló kvázi-egyensúlyi állapotot mutatja.

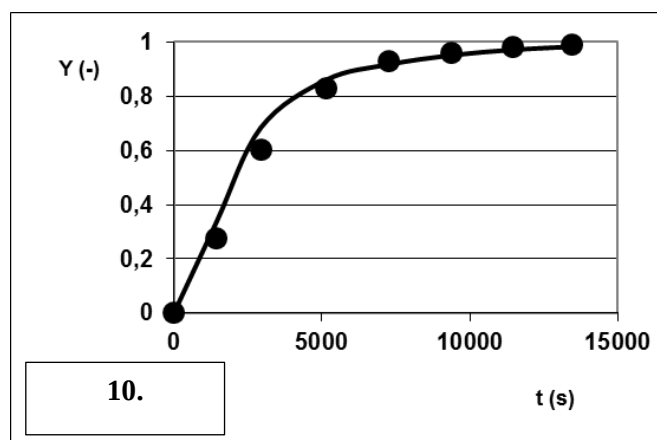
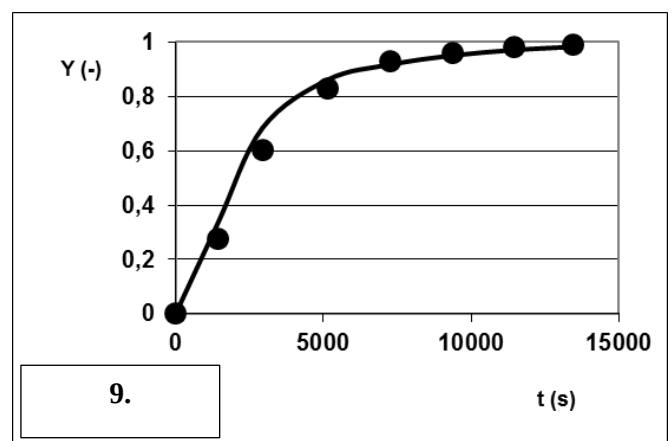
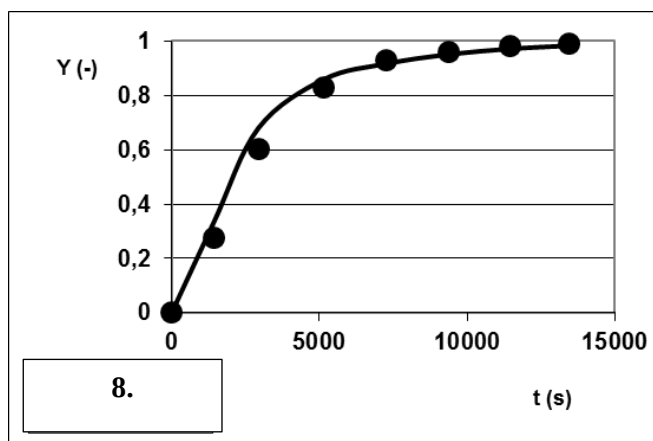
A 100 baron kapott extrakciós görbéket azonban érdemes közelebbről szemügyre venni (32. ábra). Itt tapasztalható a legnagyobb eltérés ugyanis a mért és a számított értékek között, ami a q érték miatt alakul így. Ugyanis a modell által illesztett q értékek 0,4 körül ingadoztak, holott lehetetlen az, hogy a felületen levő oldható anyaghányad függ a nyomástól. Így rögzítettem q értékét, és csak S -t becsültem. A rögzített értéket átlagolással kaptam. Ugyan Boutin és munkatársai beszámolnak arról, hogy a modellezéssel kapott görbék a második szakaszban térnek el a legjobban a mérttől (Boutin et al, 2011), de az ekkora mértékű eltérést nem magyarázza. Ennek oka lehet, hogy a 100 bar közel van a CO_2 kritikus nyomásához (73,8 bar), így az oldószer oldhatóképessége bár nagyobb a nem fluid állapotú szén-dioxidhoz képest, de maximális oldóképességét még nem érte el. Másrészt kereshetjük a hibát az adott nyomáshoz és hőmérsékletéhez tartozó telítési koncentrációban (y^*) is. Mivel én ezt eleve az első szakasz meredekségéből határoztam meg, megbizonyosodni erről csak az oldhatóság megmérésével lehetne.





32. ábra: 100 bar-hoz tartozó extrakciós görbék

Fontos megemlíteni azt is, hogy ugyancsak rögzítettem q értékét 450 bar-nál (itt is sokkal kisebb q értéket rögzített a program), de itt nem okozott akkora eltérést, mint 100 bar esetén, sőt ezt Boutin érvelésével magyarázni is lehet. A hozamgörbét 33. ábra mutatja. A többi hozamgörbét a függelékben tüntettem fel (F3-9).



33. ábra: 450 bar-hoz tartozó extrakciós görbék

Összefoglalva tehát a legjobb illesztés Mongkholkhajornsilp és munkatársai Sherwood-összefüggésének felhasználásával kaptam, amit az ún. neem-fa szuperkritikus extrakciójára illesztettek. Puiggené Sherwood-egyenletének érdekessége, hogy nem-porózus töltetre lett megállapítva, mégpedig úgy, hogy a töltetet 1,2-diklorobenzollal és 1,2,3-triklorobenzollal vonták be, majd így végezték el a szuperkritikus extrakciót szén-dioxiddal (Puiggené and Recasens, 1996). A Del Valle-Aguilera összefüggés jelentősége, hogy a repce, illetve a napraforgó modellezésénél ez adta a legjobb becslést, tehát elvileg kitűnően működik nagy zsírtartalmú kivonatokra (Boutin et al., 2011). Ami az egész modellezés érdekessége, hogy mind a három kifejezés eltérő Re és Sc tartományban alkalmazható. Az én kísérleti körülményeim között a Mongkholkhajornsilp és munkatársai által illesztett Sh számot lehetne ez alapján alkalmazni, ennek ellenére, mint láttuk a modellparamétereket, a többi összefüggés sem adott sokkal eltérőbb eredményeket.

5. Összegzés

A munkám során egy Amerikában őshonos gyógynövénnyel, a fűrészpálmával (*Serenoa repens*) végeztem kísérleteket. Korábbi munkám során már megtörtént a drog kinyerése mind hagyományos (Soxhlet-, keveréses extrakció), mind szuperkritikus fluidum extrakcióval, illetve a kivonatokban előforduló egyik legfőbb komponenscsalád, a zsírsavak analízise is.

Jelen munkámban tovább kutattam a lehetséges hatóanyag csoportok között. Miért fontos ez? Mai napig nincs összefüggő tanulmány, amely be tudná bizonyítani, mely komponens/komponensek felelős(ek) azért a rengeteg jótékony hatásért, mely az egyik legfontosabb, fitoterápiában ma is alkalmazott növény, a fűrészpálma hatásmechanizmusát biztosítja. Nehéz kérdés, hiszen minden gyógynövény egy összetett rendszer, de hiszem, hogy lépésről lépésre közelebb kerülök ahhoz, hogy egy átfogó képet alkossak a növényről.

A fitoszterinek, illetve a karotinoidok analízisét a Bunge Zrt. laboratóriumában végeztem el. A fitoszterin analízishez gázkromatográfiás vizsgálatot alkalmaztunk. Miután több módszert is végigjártunk, megállapítottam, hogy a kivonatok kvalitatív különbséget nem mutatnak, legnagyobb mennyiségben a β -szitoszterin, kampeszterin, sztigmaszterin, és a cikloartenol fordul elő a mintámban. Egy olyan komponenst sikerült beazonosítanunk, ami az irodalomban nem szerepel, a Δ^5 -avenaszterint. Ennek mennyisége a kivonatokban átlagosan $2,1 \pm 0,56$ %.

A karotinoid vizsgálat spektrofotometriásan végeztem el. Feltehetőleg a kivonatok ennek a vegyület csoportnak köszönhetik a vörös színt. Köztudott, hogy 450 nm-en történik a fényelnyelés ennél a vegyületcsoportnál, ezért ezen a hullámhosszon mértem. Sajnos arra nem volt lehetőség, hogy a pontos, %-os összetételről is információt nyerjek, de megállapítottam, hogy az etanollal végzett Soxhlet-extrakció kivonata tartalmazza ezeket a legnagyobb mennyiségben (739 $\mu\text{g/g}$), a szuperkritikus extrakció során pedig a nyomás növelésével egyre több karotinoid oldódott ki.

Munkám másik fontos részét a szuperkritikus extrakció modellezése tette ki, ezen belül is az irodalomban található, különböző Sherwood-összefüggések összehasonlítása. Ebben az egyik legfontosabb tényező a fluidum oldali tömegátadási tényező (k_f). Ugyanis minél kisebb k_f értéke, annál jobb illesztést tudunk végrehajtani. 12 db Sherwood-egyenletből először kiválasztottam hármat, majd ezt leszűkítettem a Mongkholkhajornsilp és munkatársai által felállított egyenletre, tehát az általuk használt Sherwood-összefüggés alkalmazható leginkább a fűrészpálma növényre. Annak ellenére azonban, hogy a legtöbb összefüggéssel az

a gond, hogy nem választódik szét rendesen a külső és a belső anyagátadási tényező, az általam kiválasztott három modell egyikénél sem jelentett problémát ez.

Az extrakciós görbék illesztésénél azonban felfigyeltem arra, hogy 100 bar-on kinyert mintánál, jelentős különbség van mind a 3 modell esetén, a mért és a számított értékek között. A probléma forrásának kiderítéséhez az oldhatóságot kellene egy külső módszerrel megmérni, ezt a jövőben mindenképp elvégzem.

Ugyancsak jövőbeli célom egy olyan Sherwood-egyenlet felállítása, ami a fűrészpálma növényre specifikus. Ezt olyan szuperkritikus extrakciós kísérlet sorozatban lehetne felállítani, ahol a változó paraméter nem a nyomás, hanem a szén-dioxid tömegárama.

6. Irodalmi hivatkozások

- Avins, A.L., Bent, S., Staccone, S., Badua, E., Padula, A., Goldberg, H., Neuhaus, J., Hudes, E., Shinohara, K., Kane, C. 2008. A detailed safety assessment of a saw palmetto extract. *Complementary Therapies in Medicine*. 16:147-154.
- Awad, A.B., Fink, C. S., Williams, H., Kim, U. 2001. In vitro and in vivo (SCID mice) effects of phytosterols on the growth and dissemination of human prostate cancer PC-3 cells. *Eur. J. Cancer Prev.* 10:507-513.
- Banai V. 2005. Gyógynövény és drogismeret. *Műszaki Könyvkiadó Kft., Budapest*. 120-125.
- Bedner, M., Schantz, M. M., Sander, L. C., Sharpless, K. E. 2008. Development of liquid chromatographic methods for the determination of phytosterols in Standard Reference Materials containing saw palmetto. *Journal of Chromatography A*. 1192:74-80.
- Bennett, B., and Hicklin, H. 1998. Uses of saw palmetto (*Serenoa repens*, Arecaceae) in Florida. *Economic Botany*. 52:381-393.
- Bihari E. 2007. Fitoszterolok (fitoszterinek), mint új élelmiszerösszetevők. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. 53:174-181.
- Boutin O., Nadai A., Perez A. G., Ferrasse J-H., Beltran M., Badens E. 2011. Experimental and modelling of supercritical oil extraction from rapeseeds and sunflower seeds. *Chemical Engineering Research and Design*. 89:2477-2484.
- Carraro, J. C., Raynaud, J. P., Koch, G., Chisholm, G. D., Di Silverio, F., Teillac, P., Da Silva, F.C., Cauquil, J., Chopin, D. K., Hamdy, F. C., Hanus, M., Hauri, D., Kalinteris, A., Marencak, J., Perier, A., Perrin, P. 1996. Comparison of phytotherapy (Permixon) with finasteride in the treatment of benign prostate hyperplasia: a randomized international study of 1,098 patients. *Prostate*. 4:231-240.
- Carrington, M. E., Mullahey, J. J. 2006. Effects of burning season and frequency on saw palmetto (*Serenoa repens*) flowering and fruiting. *Forest Ecology and Management*. 230:69-78.
- Catchpole O. J. 1993. Supercritical Packed Bed Extraction: A Review, Process Industries Power the Pacific Rim: Sixth Conference of the Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering. *Twenty-first Australasian Chemical Engineering Conference, Official Proceedings of Combined Conference, Barton, ACT: Institution of Engineers, Australia*. 233-236.

- Chatterjee S., Agrawala S. K. 2003. Saw palmetto (*Serenoa repens*) in androgenic alopecia, An effective phytotherapy. *Natural Product Radiance*. 2:302-304
- Csépány P. 2011. A szuperkritikus fluidum extrakció kísérleti és matematikai modellezése. *TDK dolgozat. BME*. 48-60.
- Csupor D., Szendrei K. 2006. Növényi színanyagok, amelyeknek terápiás jelentőségük is van: a karotionidok. *Fővárosi Fórum*. 7: 40-43.
- Del Valle J. M., Aguilera J. M. 1988. An improved equation for predicting the solubility of vegetable oils in supercritical CO₂. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 27:1551-1553.
- Di Silverio, F., Monti, S., Sciarra, A., Varasano, P. A., Martini, C., Lanzara, S., D'Eramo, G., Di Nicola, S., Toscano, V. 1998. Effects of long-term treatment with *Serenoa repens* (Permixon) on the concentrations and regional distribution of androgens and epidermal growth factor in benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 37:77-83.
- Diamond, S. Saw Palmetto Berries. Herb & Supplement Encyclopedia. 2011.12.02:
http://www.florahealth.com/herbal_encyclopedia.cfm?appSession=69584398205513.
- Dulinska J., Gil. D., Zagajewski J., Hartwich J., Bodzioch M., Dembinska-Kiec A., Langmann G., Schmitz G., Laidler P. 2005. *Biochimica et Biophysica Acta* 1750:189-201.
- Fonyó Zs., Fábry G. 1998. Vegyipari Művelettani alapismeretek. *Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest*. 245-251.
- Habib, F. K. 2009. *Serenoa repens*: The Scientific Basis for the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia. *European Urology Supplements*. 8:887-893.
- Habib F. K., Wyllie, M. 2004. Not all brands are created equal: a comparison of selected components of different brands of *Serenoa repens* extract. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 7:195-200.
- King J. W., Cygnarowicz-Provost M., Favati F. 1997 Supercritical fluid extraction of evening primrose oil kinetic and mass transfer effects. *Italian Journal of Food Science*. 9:193-204.
- Kritchevsky D., Chen Sh. C. 2005. Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*. 25:413-428.
- Liang, T., Liao, S. 1992. Inhibition of steroid 5 α -reductase by specific aliphatic unsaturated fatty acid. *The Biochemical Journal*. 285:557-562.

- Ling W. H., Jones P. J. H. 1995. Minireview. Dietary phytosterols: A review of metabolism, Benefits and side effects. *Life Science*. 57:195-206.
- Lowe, F., Fagelman, E. 2004. Permixon: A review. *Current Prostate Reports*. 2:133-137.
- Lowe F. C. 2001. Phytotherapy in the management of benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 58:71-76.
- Maccagnano, C., Salonia, A., Briganti, A., Teillac, P., Schulman, C., Montorsi, F., Rigatti, P. 2006. A critical analysis of Permixon (TM) in the treatment of lower urinary tract symptoms due to benign prostatic enlargement. *European Urology Supplements*. 5:430-440.
- Marks, L. S., Tyler, V. E. 1999. Saw palmetto extract: newest (and oldest) treatment alternative for man with symptomatic benign hyperplasia. *Urology*. 53:457-461.
- Mongkholkhajornsilp D., Douglas S., Douglas P. L., Elkamel A., Teppaitoon W., Pongamphai S., 2005. Supercritical CO₂ extraction of nimbin from neem seeds- a modelling study. *Journal of Food Engineering*. 71:331-340.
- Nagy B. 2010. A szuperkritikus extrakció modellezése. *Ph. D Értekezés, Budapest. BME*. 13-57.
- National Institute of Standards and Technology, 2009. Certificate of Analysis, Standard Reference Material 3151.
- Native American Botanics. 2004. Saw Palmetto - Traditional Tonic of the Southeast, Arizona.
- Országos Gyógyszerszereti Intézet. 2007. Gyógyszer kompendium. *CMPMedica Információs Kft.* 1614-1615.
- Országos Gyógyszerészeti Intézet. 2003. Magyar Gyógyszerkönyv VIII. *Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest*. 2343-2345
- Puiggené J., Larrayoz M. A., Recasens F. 1997 Free liquid-to-supercritical fluid mass transfer in packed beds. *Chemical Engineering Science*. 52:195-212.
- Raynaud, J. P., Cousse, H., Martin, P. M. 2002. Inhibition of type 1 and type 2 5 α -reductase activity by free fatty acids, active ingredients of Permixon. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 82:233-239.
- Rodler I. 2005. Táplálkozás és élelmiszerbiztonság Magyarországon különös tekintettel a daganatos megbetegedésekre. *Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar*. 49-52.
- Ross, I. A. 2005. Medical Plants of the World. *Humana Press, New Jersey*. 461-478.

- Rösler, T. W., Matusch, R., Weber, B., Schwarze, B. 2009. Analysis of the Hydrodistillate from the Fruits of *Serenoa repens*. *Planta Medica*. 75:184-186.
- Saw Palmetto Harvesting Company. 2011.11.03:
<http://www.sawpalmetto.com/>
<http://www.sawpalmetto.com/lib/index.html>.
- Schantz, M., Bedner, M., Long, S., Molloy, J., Murphy, K., Porter, B., Putzbach, K., Rimmer, C., Sander, L., Sharpless, K., Thomas, J., Wise, S., Wood, L., Yen, J., Yarita, T., NguyenPho, A., Sorenson, W., Betz, J. 2008. Development of saw palmetto (*Serenoa repens*) fruit and extract standard reference materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 392:427-438.
- Scholtyssek, C., Krukiewicz, A. A., Alonso, J. L., Sharma, K. P., Sharma, P.C., Goldmann, W.H. 2009. Characterizing components of the Saw Palmetto Berry Extract (SPBE) on prostate cancer cell growth and traction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 379:795-798.
- Shimada, H., Tyler, V. E., McLaughlin, J. L. 1997. Biologically active acylglycerides from the berries of saw-palmetto (*Serenoa repens*). *Journal of Natural Products*. 60:417-418.
- Sovová, H. 1994. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂- I. Modelling of extraction curves. *Chemical Engineering Science*. 49:409-414.
- Tan Ch-S., Liang Sh-K., Liou D-Ch. 1988. Fluid-Solid Transfer in a Supercritical Fluid Extractor. *The Chemical Engineering Journal*. 38:17-22
- Veeresh, B., Veeresh, S. V., Patil, B., Warke, A. A. 2009. Lauric acid and myristic acid prevent testosterone induced prostatic hyperplasia in rats. *European Journal of Pharmacology*. 626:262-265.
- Wakao N., Funazkri T. 1978. Effect of fluid dispersion coefficients on particle-to-fluid mass transfer coefficients in packed beds : Correlation of sherwood numbers. *Chemical Engineering Science*. 33:1375-1384.
- Weisser, H., Tunn, H., Behnke, B., Krieg, M. 1996. Effects of the Sabal serrulata extract IDS 89 and its subfractions on 5 alpha-reductase activity in human benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 28:300-306.

7. Jelölésjegyzék

A_E	az extraktor keresztmetszete (m^2)
d^2	mért és számított értékek közötti eltérés négyzetösszege (-)
a_p	szilárd anyag térfogatra vonatkoztatott fajlagos felület (m^2/m^3)
a_t	töltettérfogatra vonatkoztatott fajlagos felület (m^2/m^3)
d	szita lyukméret (mm)
d_0	a jellemző szemcseméret (mm)
D_{12}	az oldható komponensek diffúziós tényezője az oldószerben (m^2/s)
d_{sv}	felületi-térfogati átmérő (mm)
e	bemért minta tömege (g)
E	abszorbanciaérték (-)
h	az extraktor magasság koordináta (m)
H_t	töltetmagasság az extraktorban (m)
J	fajlagos extrakciós sebesség ($kg/(m^3s)$)
J^*	dimenziómentes extrakciós sebesség (-)
k_f	az anyagátadási tényező a fluid fázisban (m/s)
k_s	anyagátadási tényező a szilárd fázisban (m/s)
L	a szitamaradvány-összeg (%) ami a szitálási eredményekből számítható
$\dot{m}_f$	a szén-dioxid tömegárama (kg/s)
m_s	a bemért extrakciós töltet tömeg (kg)
n	az egyenletességi tényező (-), az RRB szemcseméret-eloszlás paramétere
q	a felületen lévő könnyen oldható anyaghányad (kg/kg)
Q	Sovová modell dimenziómentes modellparamétere (-)
Re	Reynolds szám (-)
S	Sovová modell dimenziómentes modellparamétere (-)
Sc	Schmidt szám (-)
Sh	Sherwood szám (-)
t	idő (s)
T	hőmérséklet ($^{\circ}C$)
u_s	az üres oszlopra vonatkozó áramlási sebesség (m/s)
x	az oldható anyag koncentrációja a szilárd vázanyagban (kg/kg)
x_0	a kezdeti koncentráció a növényi vázanyagban (kg/kg)
x_f	az oldható anyag koncentrációja a szilárd szemcsék felületén (kg/kg)
y	az oldható anyag koncentrációja a szuperkritikus fluidumban (kg/kg)
y^*	az adott nyomáshoz és hőmérséklethez tartozó telítési koncentráció (kg/kg)
Y	dimenziómentes extrakciós hozam (-)
Y_E	extrakciós hozam (%)
Z	dimenziómentes hosszkoordináta (-)
Z_k	dimenziómentes hossz koordináta feltételhez(-)

Görög betűk

Γ	az ún. gammafüggvény
ε	a töltet fajlagos hézagterfoglata (m^3/m^3)
η	viszkozitás ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)
ρ_f	a szuperkritikus fluidum sűrűsége (kg/m^3)
ρ_s	a szilárd vázanyag sűrűsége (kg/m^3)
τ	minimális extrakciós idő (s)
ϑ	dimenziómentes idő (-)
ϑ_k	dimenziómentes idő feltételhez(-)

Rövidítések

<i>DHT</i>	dihidroxi-tesztoszteron
<i>NSP</i>	el nem szappanosodott rész szterin-tartalma (mg/10 ml)
<i>5α-R</i>	5 α -reduktáz enzim
<i>VRK</i>	vékonyréteg kromatográfia

8. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Simándi Béla tanár úrnak, belém vetett bizalmáért, támogatásáért, ösztönzéséért, továbbá hogy lehetőséget biztosított munkámhoz a Szuperkritikus Extrakciós Kutatócsoportnál.

Meg szeretném köszönni Pländer Szabina doktorandusz hallgatónak, hogy tanácsaival segítette dolgozatom megírását.

Köszönettel tartozok a Bunge Zrt. munkatársainak, akik rengeteg technikai segítséggel láttak el a karotinoid, illetve fitoszterin analízis során. Külön kiemelném Cossuta Dánielt, aki lehetővé tette, hogy méréseimet a Bunge Zrt. Kutatólaborjában végezzem el, Dianóczki Csillát és Zatykó Katalint, akiknek az önzetlen segítségük és tanácsaik nélkül nem készülhetett volna el ez a dolgozat.

FÜGGELÉK

F1-Képletek

1. Bender állapotegyenlet¹

$$Z_c = \frac{pM_2}{RT\rho_f} = 1 + \frac{A_1\rho_f}{R} + \frac{A_2\rho_f^2}{R} + \frac{A_3\rho_f^3}{R} + \frac{A_4\rho_f^4}{R} + \frac{A_5\rho_f^5}{R} + (A_6 + A_7\rho_f^2) \frac{\rho_f^2}{R} \cdot e^{\frac{-\rho_f^2}{a_{20}}}$$

$$A_1 = a_1 + \frac{a_2}{T} + \frac{a_3}{T^2} + \frac{a_4}{T^3} + \frac{a_5}{T^4}$$

$$A_2 = a_6 + \frac{a_7}{T} + \frac{a_8}{T^2}$$

$$A_3 = a_9 + \frac{a_{10}}{T}$$

$$A_4 = a_{11} + \frac{a_{12}}{T}$$

$$A_5 = \frac{a_{13}}{T}$$

$$A_6 = \frac{a_{14}}{T^3} + \frac{a_{15}}{T^4} + \frac{a_{16}}{T^5}$$

$$A_7 = \frac{a_{17}}{T^3} + \frac{a_{18}}{T^4} + \frac{a_{19}}{T^5}$$

Ahol:

$$\begin{aligned} a_1 &= 9,2695 \cdot 10^{-3}; & a_2 &= -5,6387; & a_3 &= -3,7608 \cdot 10^2; & a_4 &= -2,9838 \cdot 10^5; & a_5 &= 1,4837 \cdot 10^7; \\ a_6 &= 4,1742 \cdot 10^{-6}; & a_7 &= 1,5959 \cdot 10^{-3}; & a_8 &= 1,1767; & a_9 &= 1,1034 \cdot 10^{-8}; & a_{10} &= -8,3435 \cdot 10^{-6}; \\ a_{11} &= 4,9083 \cdot 10^{-12}; & a_{12} &= -9,2096 \cdot 10^{-10}; & a_{13} &= 3,7029 \cdot 10^{-12}; & a_{14} &= -1,7365 \cdot 10^3; \\ a_{15} &= 1,1409 \cdot 10^6; & a_{16} &= -1,8758 \cdot 10^8; & a_{17} &= -2,0563 \cdot 10^{-4}; & a_{18} &= -1,2645; & a_{19} &= 5,3148 \cdot 10^2; \\ a_{20} &= 4,676 \cdot 10^2; \end{aligned}$$

a_1 - a_{20}	a Bender állapotegyenlet konstansai szén-dioxid esetén;
Z_c	kompresszibilitás (-);
A_1 - A_7	a Bender állapotegyenletben szereplő hőmérséklettől függő tagok;
p	nyomás (bar);
M_2	a szén-dioxid molekulatömege (g/mol);
R	8,314 (J/(mol K));
T	hőmérséklet (°C);
ρ_f	a szuperkritikus fluidum sűrűsége (kg/m ³).

¹Ghazouani J., Chouaieb O., Bellagi A. 2005..Evaluation of the parameters of the Bender equation of state for low acentric factor fluids and carbon dioxide. *Thermochimica Acta* 432:10-19.

2. Reynolds-szám (Re), Schmidt-szám (Sc) és Sherwood-szám (Sh)

$$Re = \frac{d_{sv} \rho_f u_s}{\eta} \quad Sc = \frac{\eta}{\rho_f D_{12}} \quad Sh = \frac{k_f d_{sv}}{D_{12}}$$

Ahol:

u_s	az üres oszlopra vonatkozó áramlási sebesség (m/s);
k_f	anyagátadási tényező a fluid fázisban (m/s);
d_{sv}	a kiindulási anyag felületi-térfogati szemcsemérete (m);
ρ_f	a szuperkritikus fluidum sűrűsége (kg/m ³);
D_{12}	az oldható komponensek diffúziós tényezője az oldószerben (m ² /s);
η	viszkozitás (Pa · s).

3. Viszkozitás számítására használt egyenlet²

$$\eta = \left[(18,56 + 0,014 \cdot T) \cdot \left(\left(\frac{1}{\rho_f} \right) - 7,41 \cdot 10^{-4} + 3,3 \cdot 10^{-7} \cdot T \right) \right]^{-1}$$

Ahol:

η	a viszkozitás (μPa · s);
T	a hőmérséklet (K);
ρ_f	a szén-dioxid sűrűsége (kg/m ³).

4. Diffúzió számítására használt egyenlet³

$$D_{12} = a_{47} \sqrt{T} \left(\frac{\sigma_1}{\sigma_2} \right)^{a_{48}} \left[\frac{(M_1 + M_2)}{M_1 M_2} \right]^{\frac{1}{2}} \left(\frac{V_{mg}}{\sigma_{12}^2} \right) \left[\left(\frac{V_m}{V_{mg}} \right)^\alpha - A_{12} \right]$$

$$V_{mg} = N_A \frac{\sigma_2^3}{2} \quad a_{47} = 4,486599 \cdot 10^{-29} \left(\frac{m}{s} \sqrt{\frac{g \cdot g \cdot mol}{K}} \right)$$

$$\sigma_{12} = \frac{\sigma_1}{2} \left(1 + \frac{\sigma_2}{\sigma_1} \right) \quad a_{48} = 1,7538$$

$$\alpha = \frac{\sigma_2}{\sigma_1} - \frac{1}{3}$$

Ahol:

D_{12}	a diffúziós tényező (m ² /s);
σ_1	az oldott anyag molekula átmérője (m);
σ_2	a szén-dioxid molekula átmérője (m);
N_A	az Avogadro-szám;
M_1	az oldott anyag molekulatömege (kg/mol);
M_2	a szén-dioxid molekulatömege (kg/mol);
V_{mg}	a gömbnek feltételezett molekulák moláris térfogata.

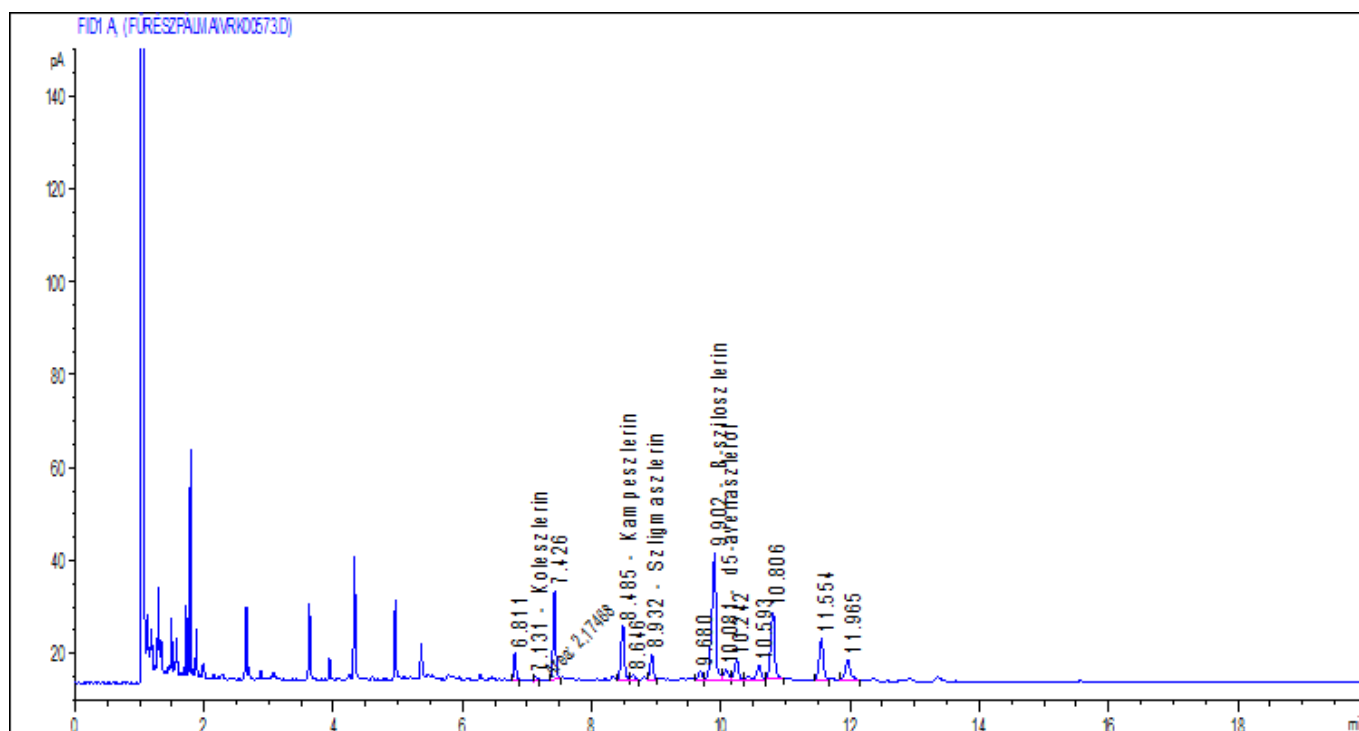
²Vesovic V., Wakeham W. A., Olchoway G. A., Sengers J. V., Watson J. T. R., Millat J. 1986. The transport properties of carbon dioxide. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 267:1038-1043.

³Eaton A. P., Akgerman A. 1997. Infinite-Dilution Diffusion Coefficients in Supercritical Fluids, *Industrial and Engineering Chemistry Research* 36:923-931.

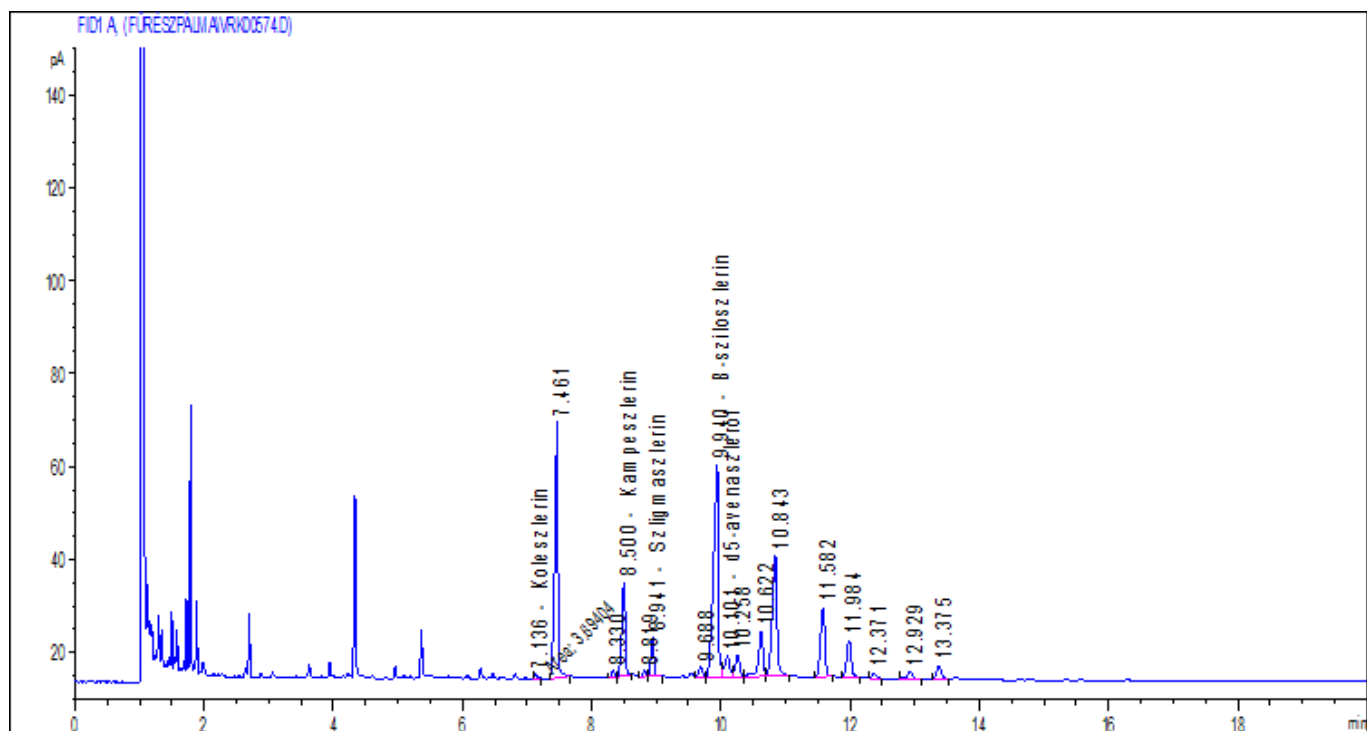
F2-Fitoszterin analízis

5. Kloroformos oldatok kromatogramjai (VRK nélkül)

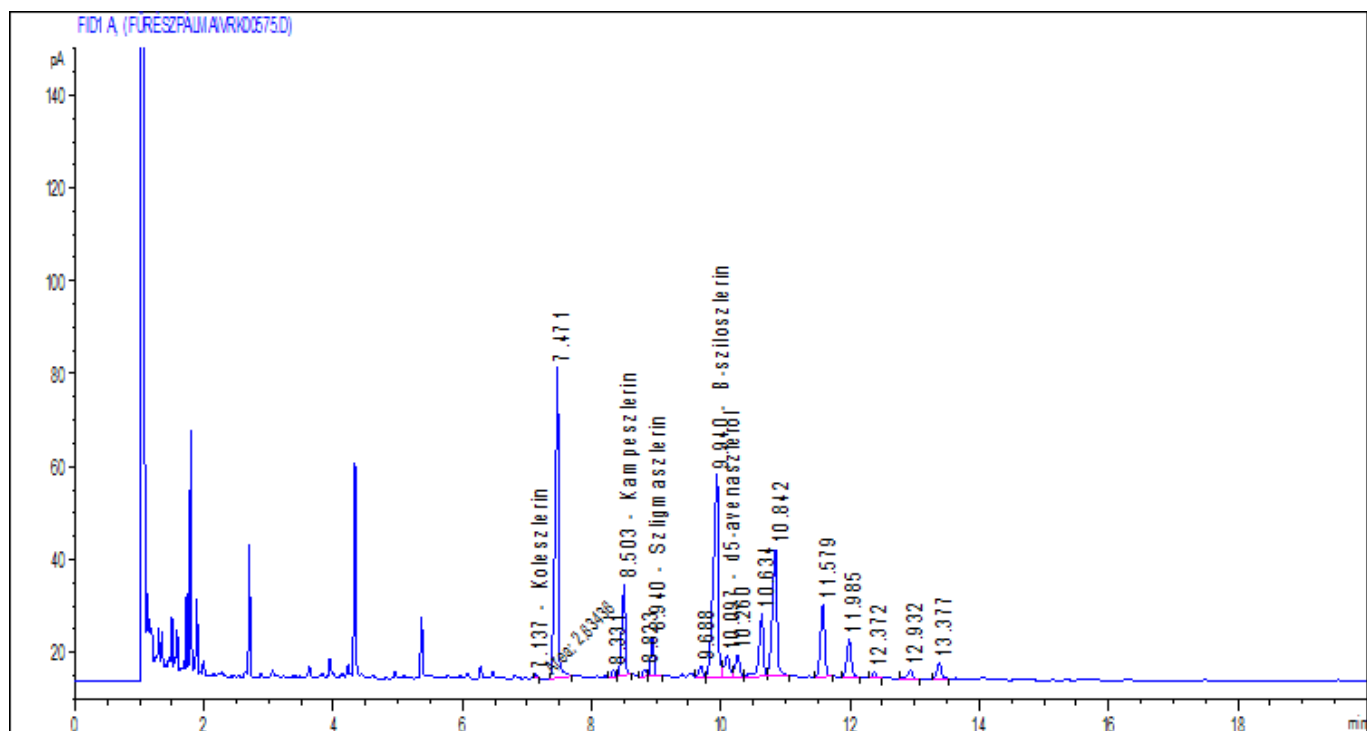
5.1 100 bar-on kinyert minta



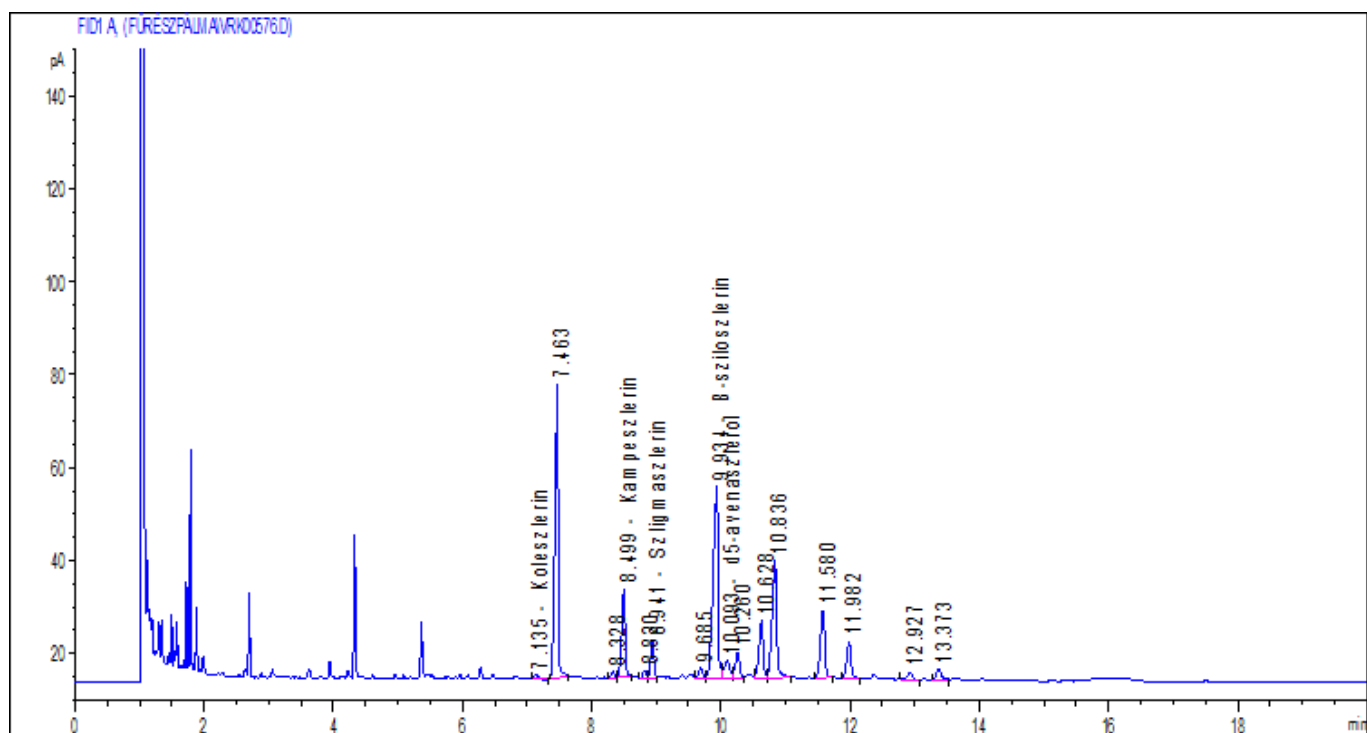
5.2 200 bar-on kinyert minta



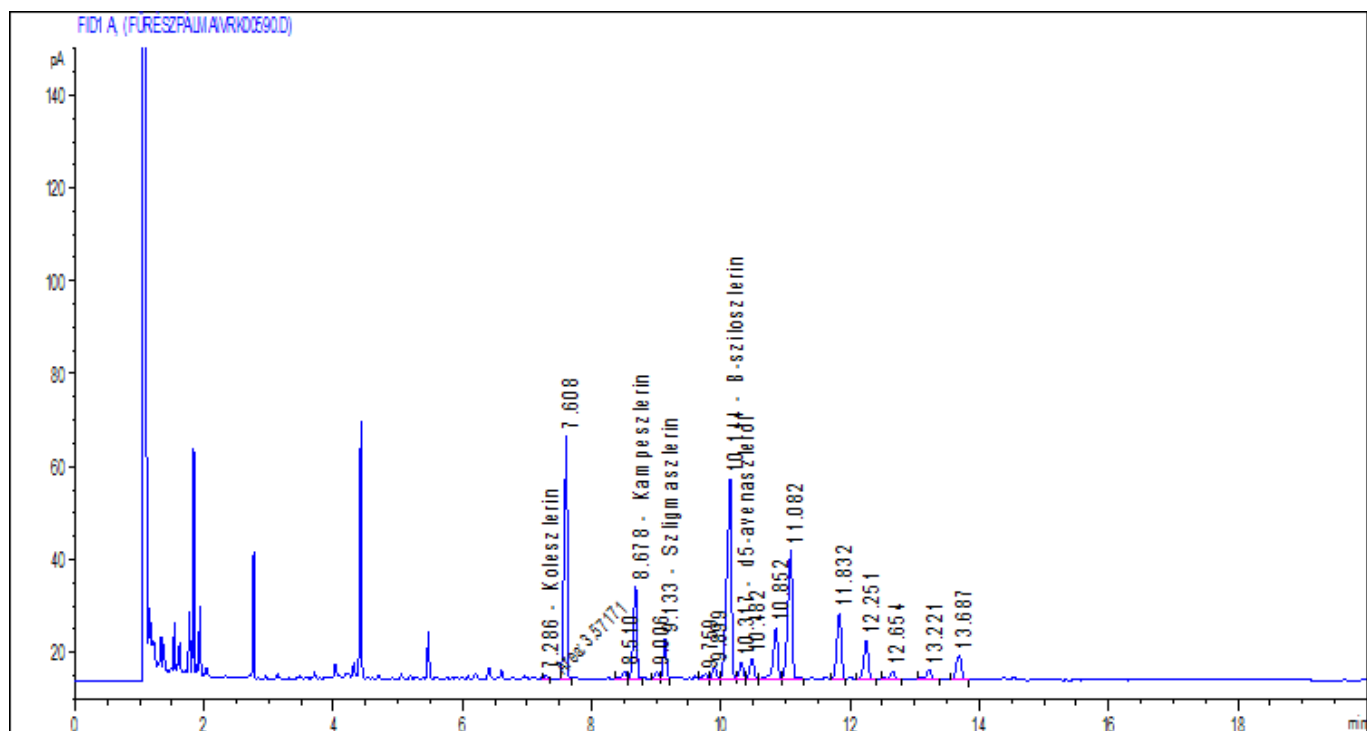
5.3 300 bar-on kinyert minta



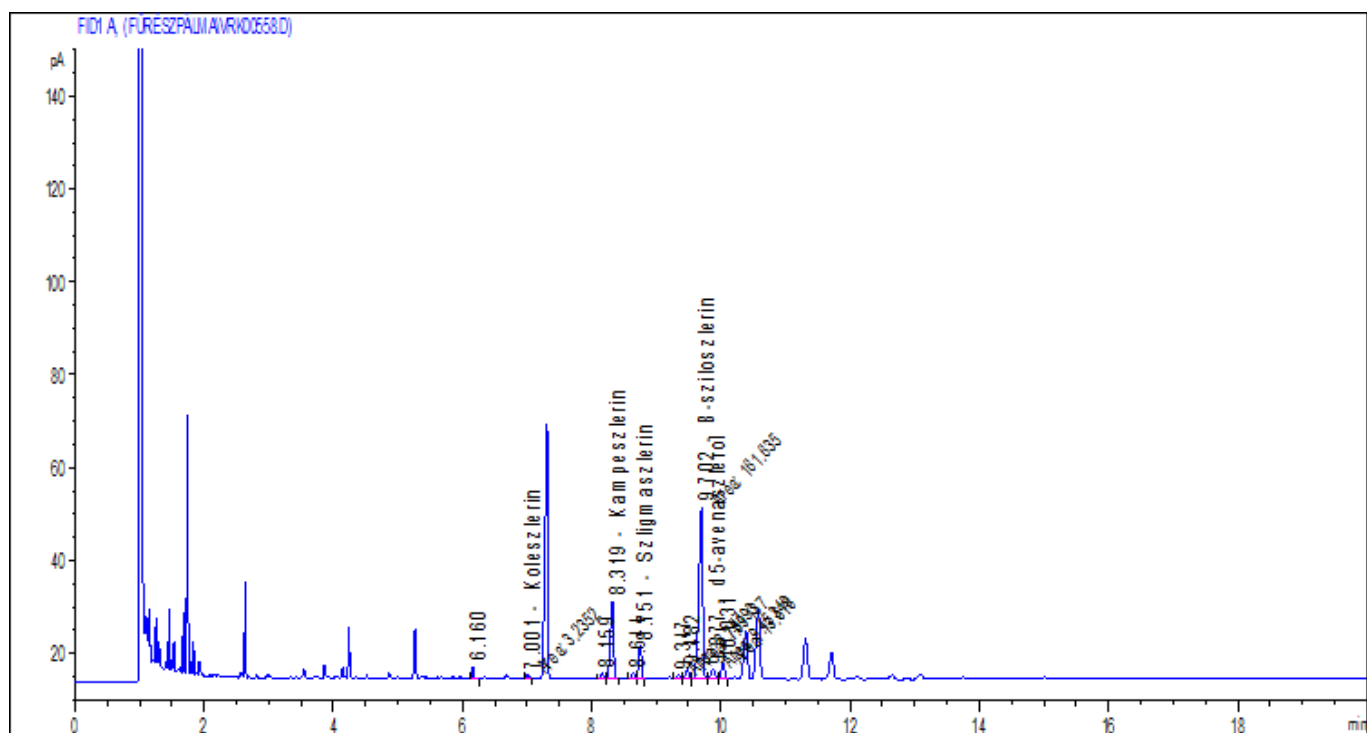
5.4 400 bar-on kinyert minta



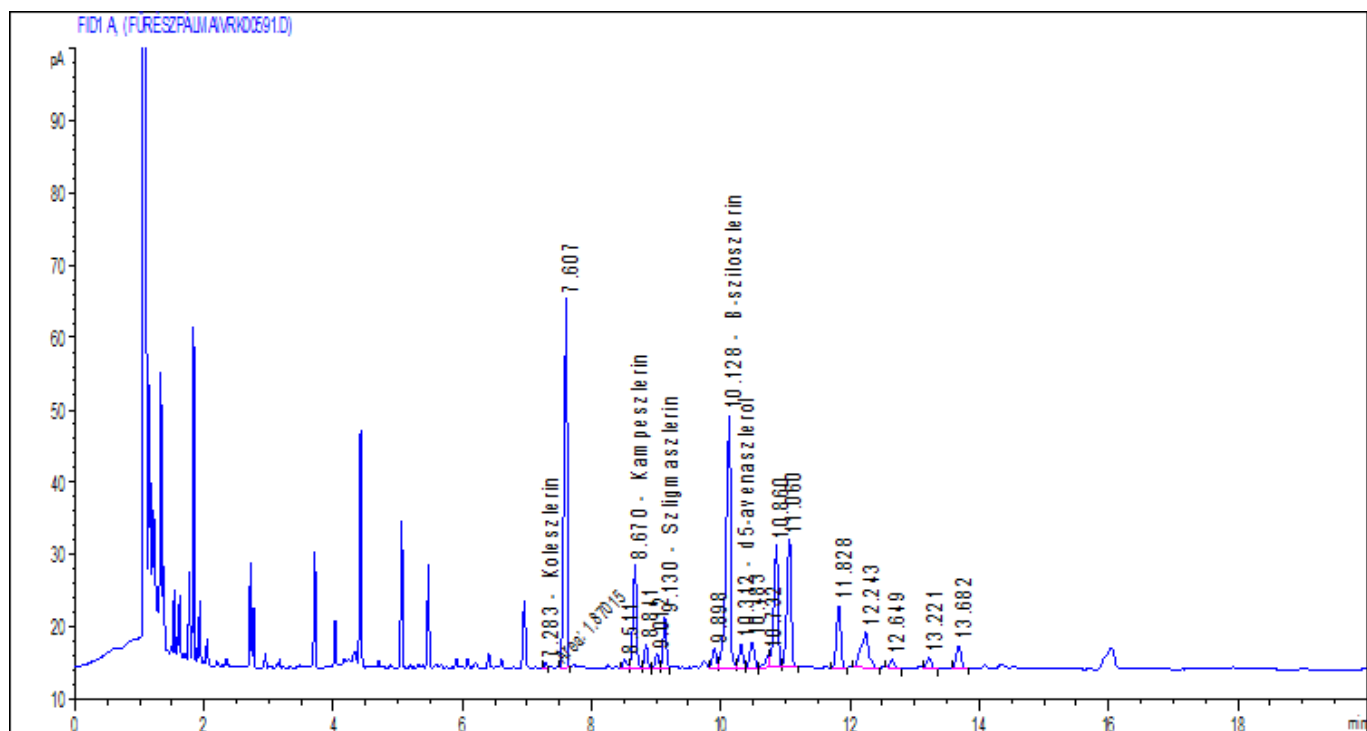
5.5 450 bar-on kinyert minta



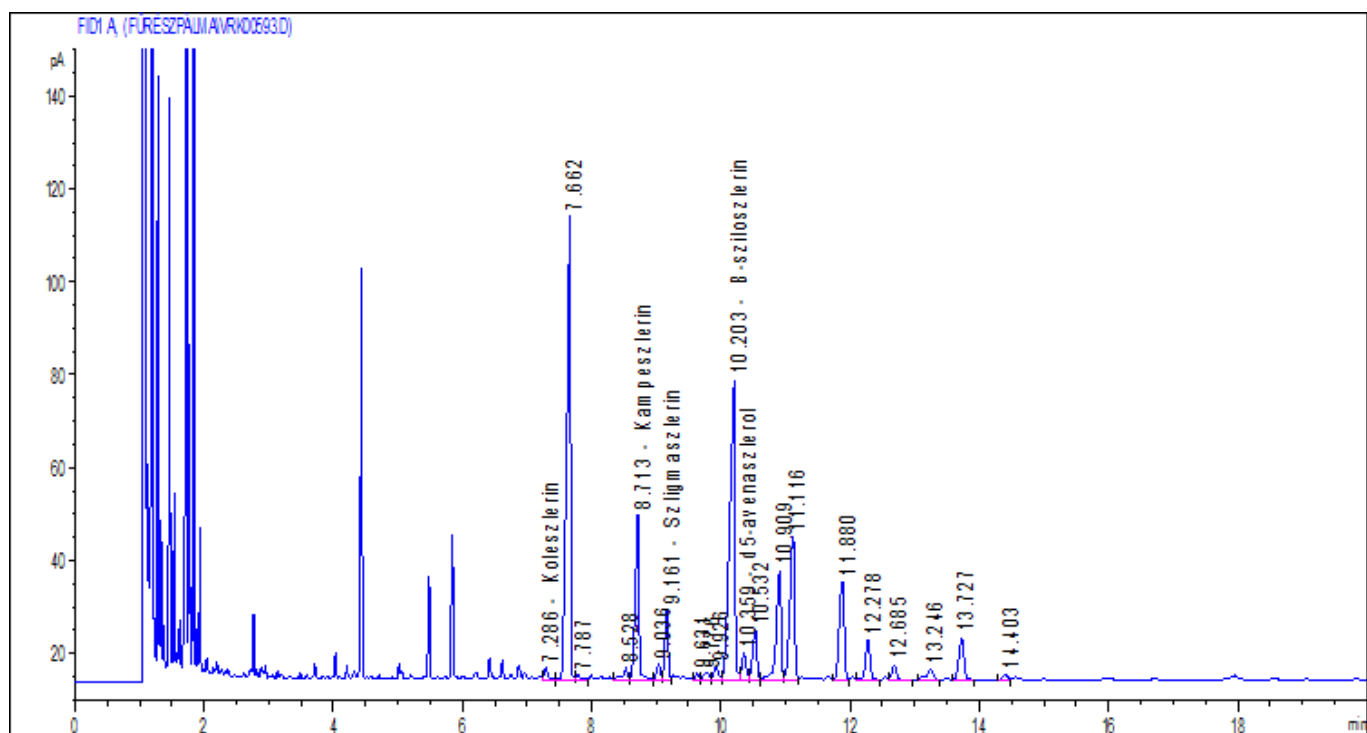
5.6 Frakcionált szeparáció (300 bar) első szeparátor



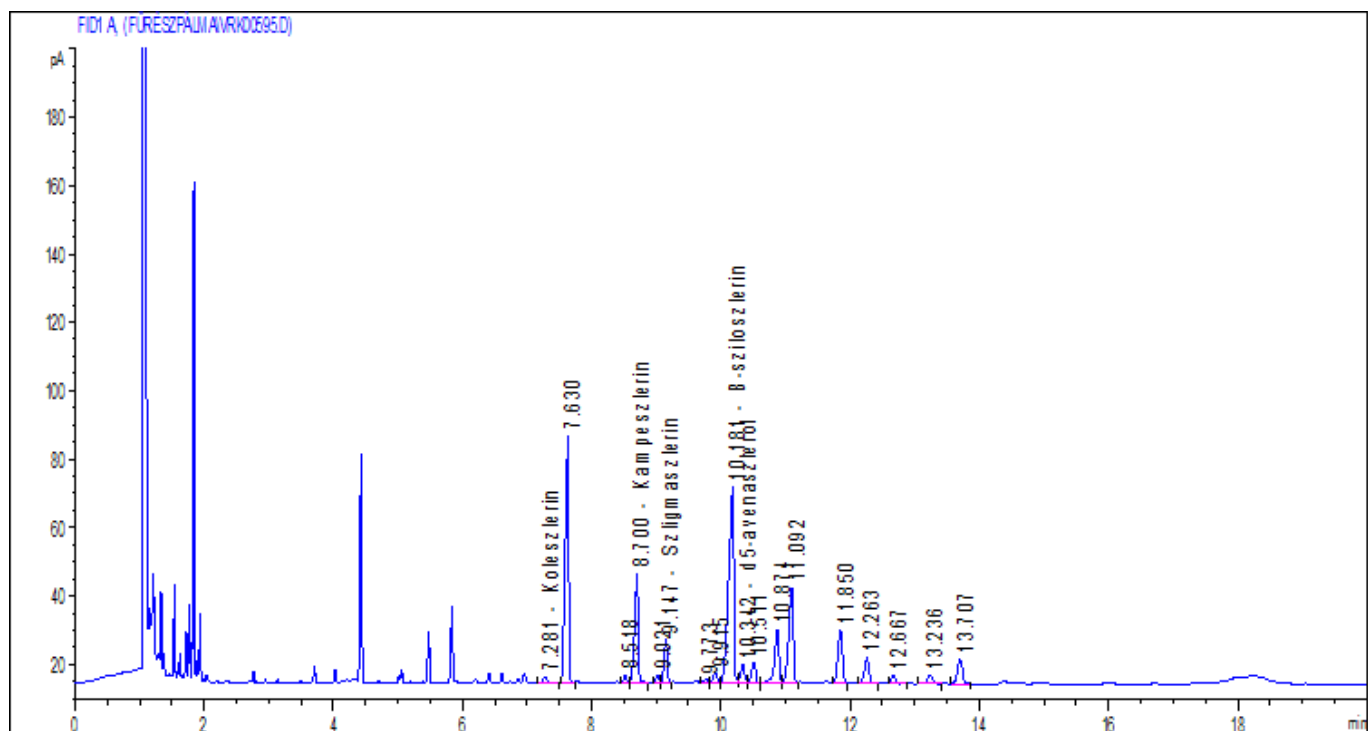
5.7 Frakcionált szeparáció (300 bar) második szeparátor



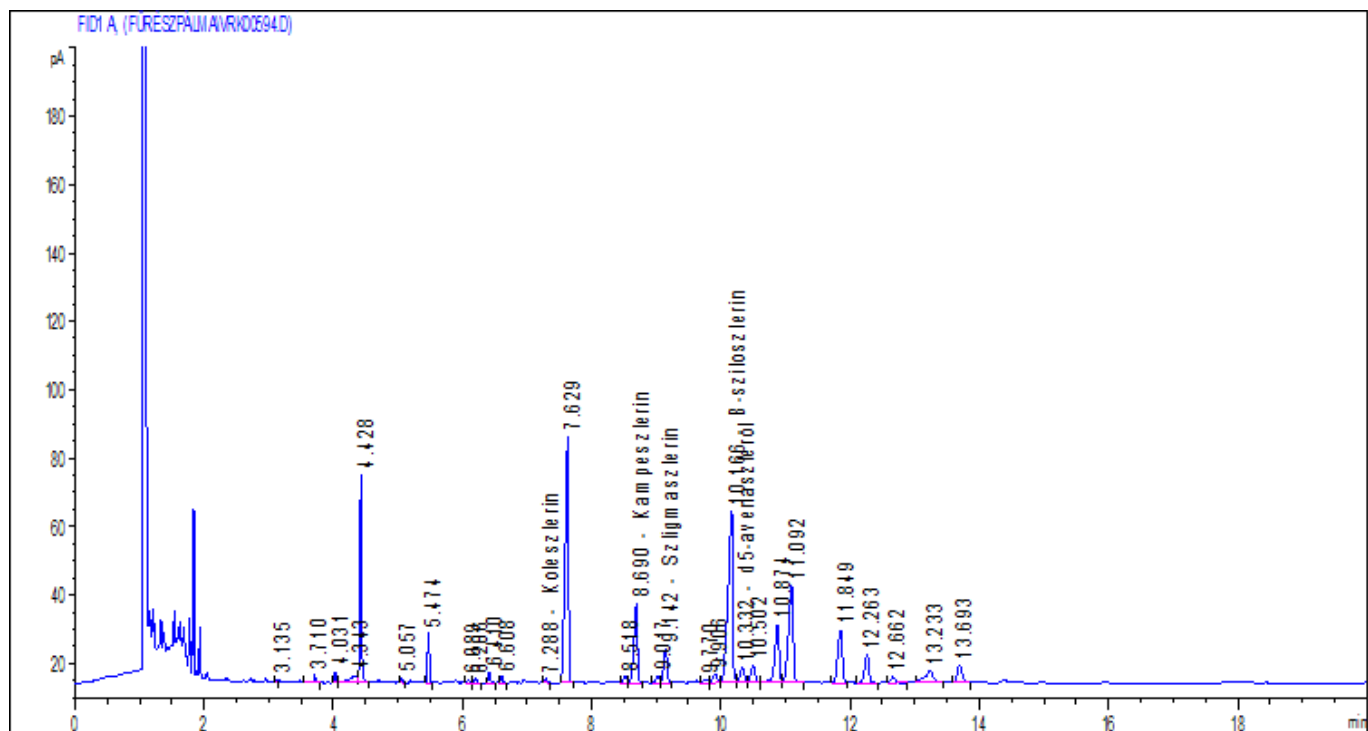
5.8 Soxhlet-extrakció 96 %-os etanollal



5.9 Keveréses extrakció 96%-os etanollal



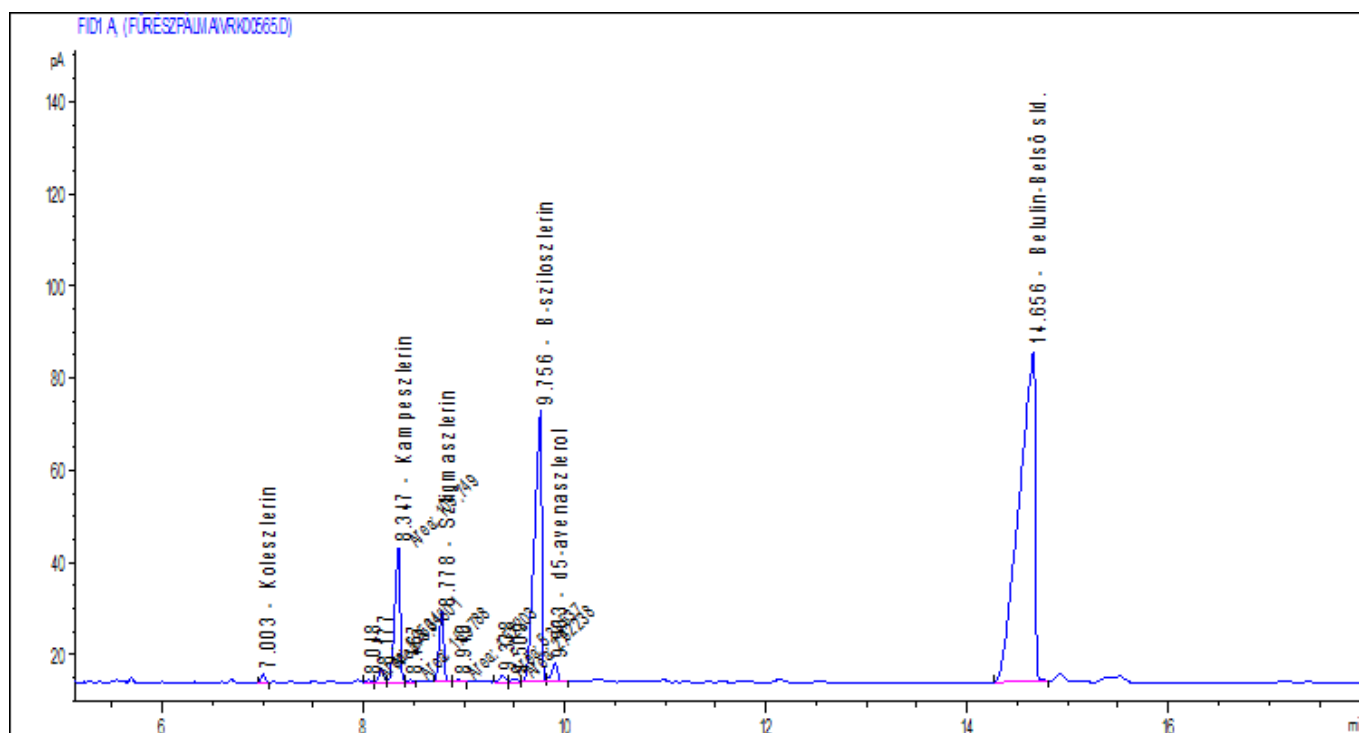
5.10 Soxhlet-extrakció n-pentánnal



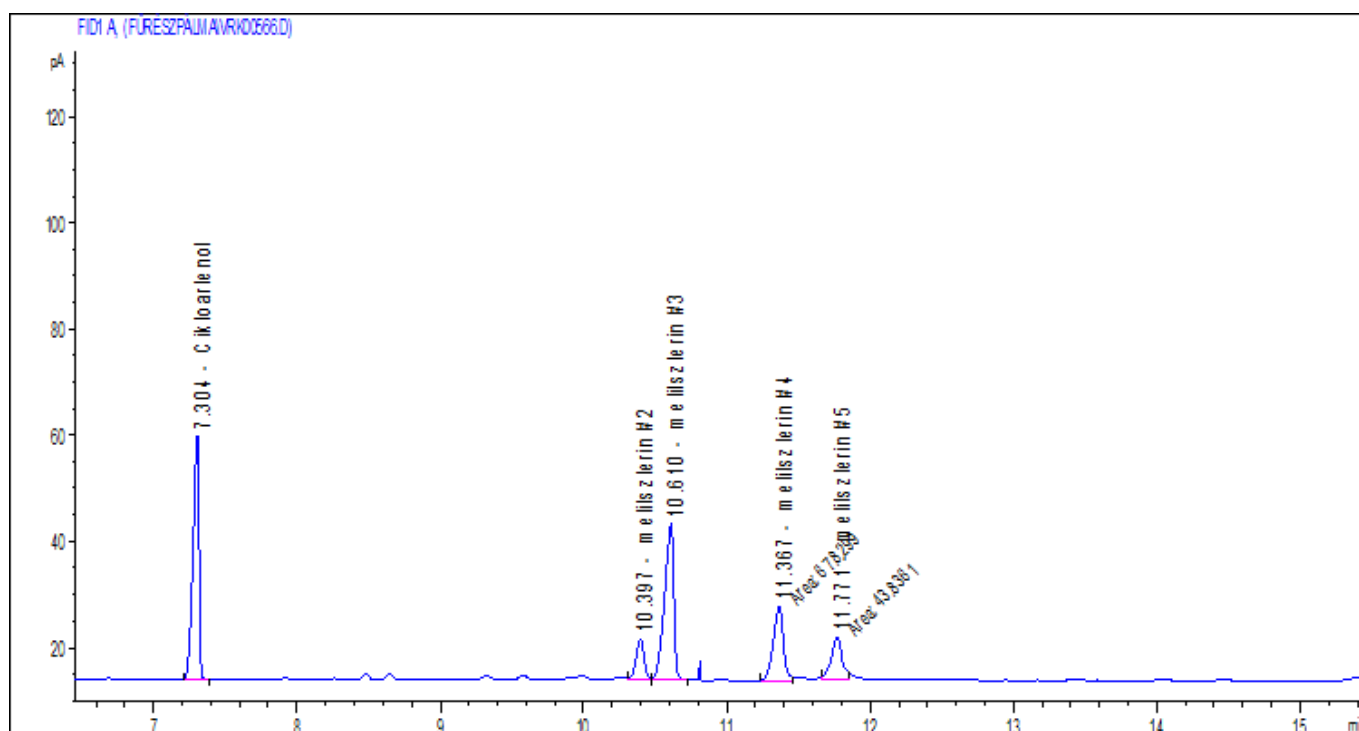
6. Módszer finomítások

6.1 VRK-zott minták kromatogramja (példa: 100 bar)

100 bar-on kinyert minta, frakció 1



100 bar-on kinyert minta, frakció 2



7. A GC vizsgálathoz használt 3 módszer táblázatos összehasonlítása

1. táblázat: Három módszer mennyiségi összevetése

	Szerin-tartalom [mg/kg]		Metil szerinek [mg/kg]	
	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2
100 bar	646	1240	648	1000
200 bar	1056	1887	1285	2162
300 Bar	1026	1800	1397	3618
300 bar (Sz1)	1101	2027	1457	4281
300 bar (Sz2)	1215	2053	1530	2204
400 bar	963	1650	1312	3592
450 bar	1028	2033	1244	2188
etanol	299	541	422	500
pentán	1230	1902	1744	2292
keveréses	681	1076	720	884
	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3
100 bar	646	1578	648	2664
300 bar (Sz1)	1101	2322	1457	4643

2. táblázat: Három módszer %-os összevetése

	Koleszterin [%]		Kampezterin [%]		Sztigmaszterin [%]		β-szitoszterin [%]		d5-avenaszterin [%]		Cikloartenol [%]		Metil-szterinek [%]	
	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-2
100 bar	3,0	0,5	11,2	12,2	5,3	5,6	30,7	32,9	3,7	1,8	14,4	14,7	34,6	30,0
200 bar	3,6	0,3	9,2	10,0	3,8	4,1	26,3	28,6	2,1	1,8	20,9	21,5	34,0	31,9
300 Bar	3,8	0,3	8,6	7,1	3,8	2,9	24,3	20,3	1,8	1,3	25,5	20,3	32,2	36,9
300 bar (Sz1)	3,5	0,3	9,0	3,9	4,0	3,3	24,8	22,3	1,8	1,3	25,6	33,7	30,7	39,2
300 bar (Sz2)	4,6	0,4	8,6	10,4	4,2	4,5	24,2	44,2	2,5	2,1	23,9	19,6	32,0	32,2
400 bar	3,9	0,2	8,6	6,8	3,9	2,8	24,3	33,0	1,7	1,1	24,4	19,4	33,3	38,5
450 bar	4,1	0,3	9,4	10,5	4,0	4,3	25,8	29,7	2,0	1,9	20,5	29,7	34,2	34,8
etanol	0,0	0,5	10,4	11,0	3,6	4,7	25,8	32,4	1,7	1,9	29,4	20,6	29,1	27,5
pentán	3,0	0,4	9,0	9,7	3,4	3,9	24,2	28,3	2,0	1,9	25,0	21,7	30,8	32,9
keveréses	2,8	0,4	11,5	12,2	4,1	5,1	28,3	35,4	1,9	2,3	23,5	16,1	27,8	26,4
	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-3	Módszer-2	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3	Módszer-1	Módszer-3
100 bar	3,0	0,5	11,2	12,9	5,3	5,8	30,7	34,5	3,7	2,1	14,4	11,9	34,6	28,9
300 bar (Sz1)	3,5	0,36	9,1	10,5	4,1	4,2	25,1	28,9	1,8	1,9	25,2	23,6	30	26,4

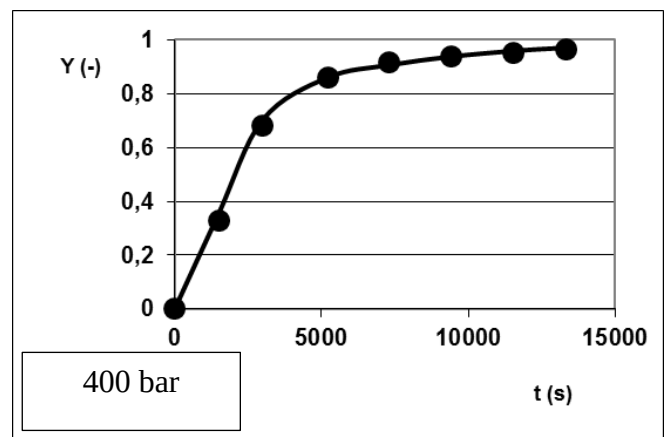
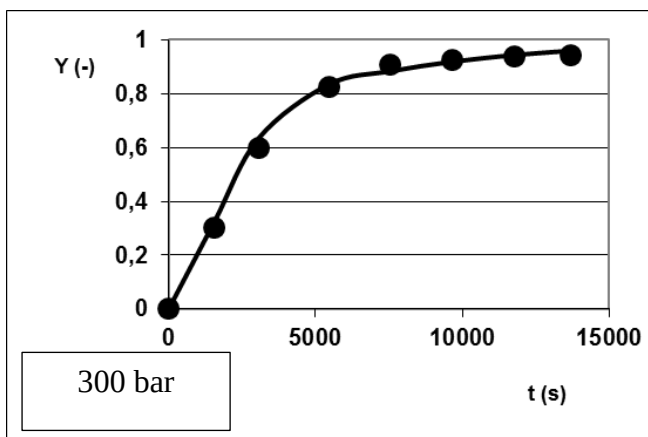
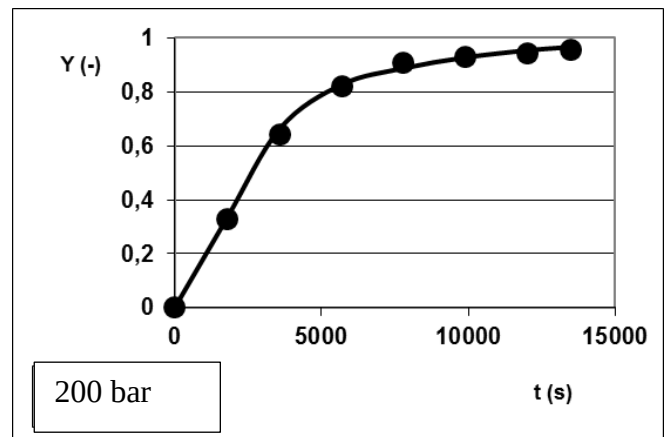
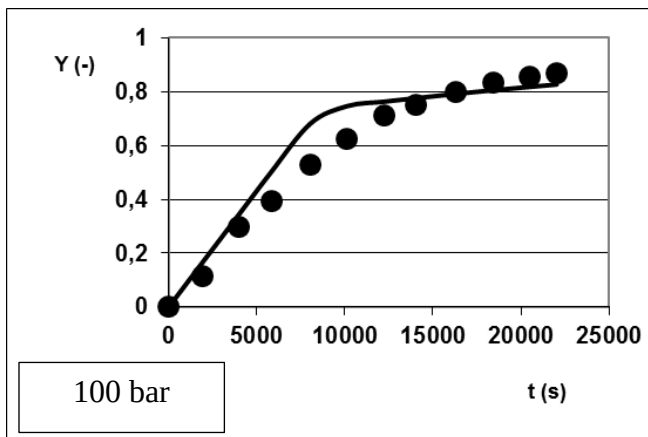
F3-Modellezés

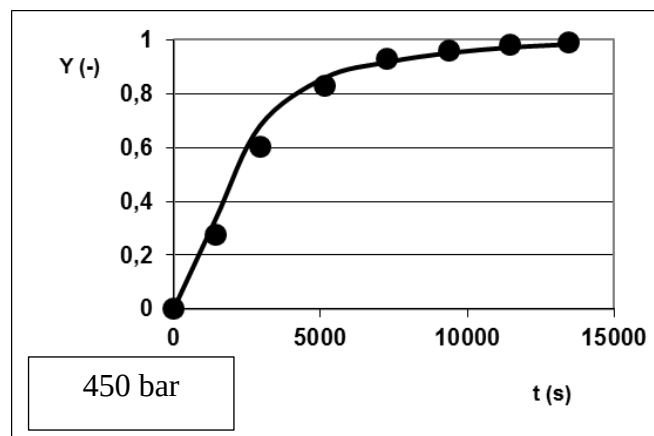
8. Modellezéshez szükséges bemért tömeg (g), szén-dioxid sűrűsége (kg/dm³), szén-dioxid tömegárama (kg/h), viszkozitása (Pa*s) és az oldhatóság (-)

	m_s (g)	ρ_f (kg/dm ³)	m_f (kg/h)	$y^*(-)$	η (Pa*s)
100 bar	401,92	0,631	7,032	0,00185	4,6E-05
200 bar	402,96	0,842	6,944	0,00447	7,9E-05
300 bar	403,43	0,912	6,916	0,00494	9,5E-05
400 bar	405,40	0,957	7,007	0,0057	0,00011
450 bar	409,73	0,976	6,895	0,0055	0,00011

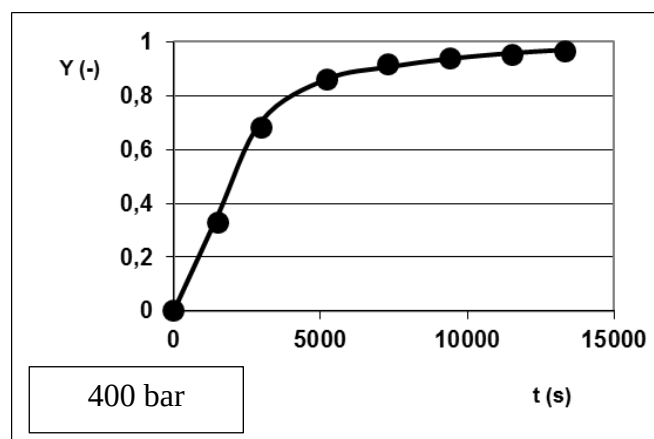
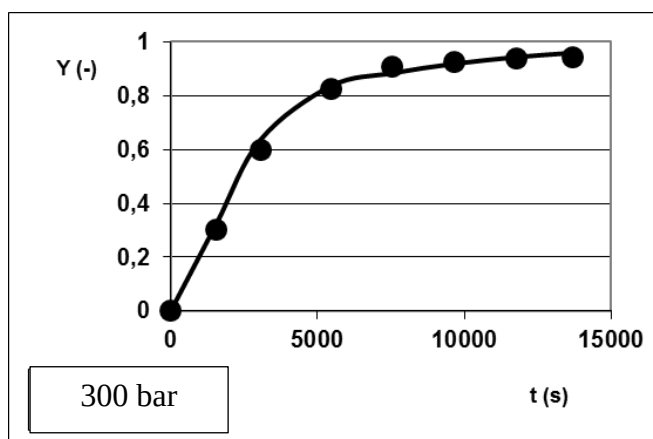
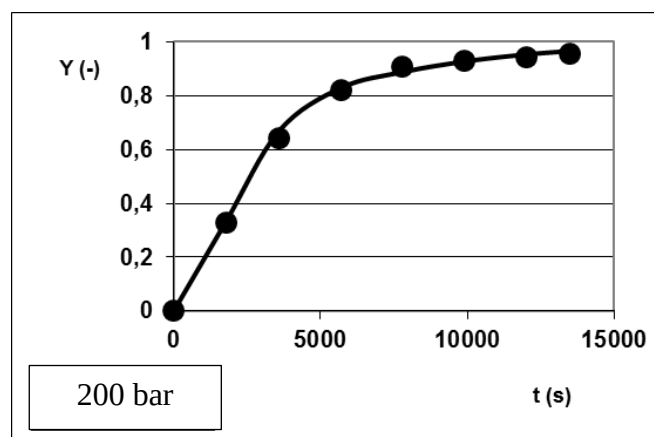
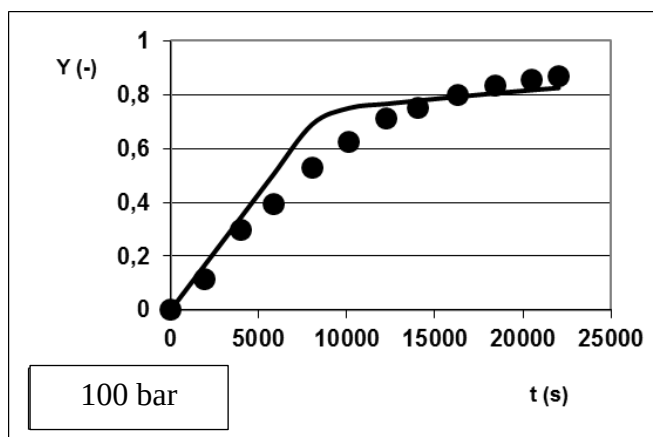
9. Modellezéssel kapott hozamgörbék

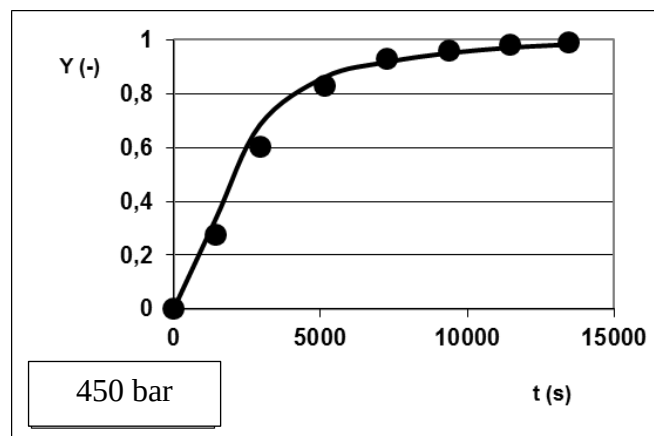
9.1 Mongkholkhajornslip-összefüggése alapján





9.2 Puiggené-összefüggése alapján





9.3 Del Valle-Aguilera-összefüggése alapján

