

**Országos Tudományos Diákköri Konferencia (OTDK)- Szeged,
2015. április 8-10**

Az extrakciós módszer hatása a vadkömény illóolaj kihozatalára és összetételére

Készítették: Barabás Imola és Dobri Emőke

Szak: Fenntartható Biotechnológia magiszteri hallgatói, II.év.

Sapientia Erdélyi Magyar Tudomány Egyetem, Műszaki és Társadalomtudományi Kar,
Élelmiszer-tudományi Tanszék, Csíkszereda

Vezető tanárok:

Dr. Szép Alexandru egyetemi tanár,

Dr. Salamon Rozália Veronika egyetemi docens,

András Csaba-Dezső tanársegéd.

Sapientia Erdélyi Magyar Tudomány Egyetem, Műszaki és Társadalomtudományi Kar,
Élelmiszer-tudományi Tanszék, Csíkszereda

Tartalomjegyzék

Kivonat	3
1. Bevezetés	4
1.1. Az illóolaj fogalma	6
2. A kutatás célja	7
3. Anyag és módszer	7
3.1. Az illóolaj kinyerési módszereinek rövid leírása	8
3.2. Az illóolaj komponensek minőségi és mennyiségi meghatározása	16
4 . Eredmények és értékelésük	17
4.1. Az extrakciós módszer befolyása az illóolaj kihozatal időbeli változására	17
4.2. A kezelési körülmények hatása az illóolaj összetételre	21
5. Következtetések	27
6. Irodalmi jegyzék	28
Mellékletek	31

Kivonat

A Hargita hegység (Csíkmadaras, Hargitafürdő) havasi kaszálójáról, különböző vegetációs periódusban begyűjtött vadkömény mintákat (*Carum carvi* L.), kévébe kötve meleg helyen, szabad térben, illetve, sötét zárt helységben szárítottuk. A kézzel leszedett szemeket szitálással és szélfúvással tisztítottuk. Az illóolaj kivonást három féleképpen végeztük el:

- Laboratóriumi 1,5 mL gyűjtőtérfogató, 0,01 mL beosztású Clevenger-gyűjtővel ellátott, elektromosan fűtött, 125 W teljesítményű vízgőz-desztillációs készülékkel, ahol 10 g szárított, szobahőmérsékleten őrlött köményt 200 mL desztillált vízben szuszpendáltunk, majd két órán keresztül desztilláltunk.
- Ugyanazzal a Clevenger típusú vízgőz-desztillációs készülékre csatlakoztattuk a mintát tartalmazó lombikot, melyet most egy módosított Hynari Microwave S 110 típusú kemencében fűtöttük 60 percig.
- Szuperkritikus széndioxid extrakciós berendezésben (Supercritical Fluid Technology SFT 100 System), ahol a 10 mL hasznos térfogatú cső-extraktorban 40 °C hőmérsékleten és 100 atm feletti nyomáson dolgoztunk, szakaszos üzemben. A mintavételt a 42 °C hőmérsékletre felfűtött izotermikus szelep nyitásával végeztük, a kondenzált illóolajat mintagyűjtőbe fogva fel.

A gázkromatográfiás elemzésig a mintákat csavarmenetes alufóliával borított szilikongumi tömítésű zárt fiolában +4 °C-on tároltuk. A méréseket Varian CP-3380 típusú gázkromatográf, CP-Sil 88 (FAME) állófázisú 100×0,25 mm kvarc-kapilláris kolonnán, FID típusú detektorral (270 °C) végeztük. A vivőgáz $p=235$ kPa nyomású hidrogén, hőmérséklet-program: 50 °C, 1 percig, majd 5 °C/perc gradiens 210 °C-ig, a minta térfogata 1 µL, 1/16 arányban hexánnal hígított olaj.

A vadkömény minták mellett elvégeztük a kereskedelemben forgalmazott, Retsch Grindomix GM 200 laboratóriumi malomban őrlött illetve öröletlen termesztett kömény minták extrakcióját is.

Az illóolaj-komponensek minőségi meghatározására Kubeczka és Formacek standard kromatogramjait használtuk.

Megállapítottuk, hogy bár a klasszikus vízgőz-desztilláció a leglassúbb folyamat, a másik két módszerhez képest nagyobb kihozatalt biztosít. A vadkömény kihozatala több mint kétszeresen túlszárnyalta a kereskedelemben forgalmazott kömény illóolaj tartalmát. A kromatogramokból megállapítható, hogy az illóolaj több mint 87%-át a két főkomponens, a limonén és a karvon teszi ki.

A mikrohullámú extrakció, bár egy kissé növeli a kinyerés sebességét alig volt befolyással a szárított köményből kinyert illóolaj összetételére.

A szén-dioxiddal végzett szuperkritikus fluid extrakció szelektívebb, mint a vízgőz desztilláció és jelentősen megnő az α -terpineol mennyiség az extraktumban. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy vízgőz-desztilláció során az α -terpineol jelentős hányada a vizes fázisban marad.

1. Bevezetés

A kömény (*Carum carvi* L.) vadon termő és termesztett formában is közismert fűszernövény, valamint élelmiszeripari aroma- és gyógyszeripari alapanyag¹.

A növény az *Araliales* (arália virágúak) renden belül, az *Apiaceae* (ernyősök) családjába tartozik. A faj két változata ismert, mégpedig kétéves és egyéves változat. A két éves változat a *Carum carvi* var. *biennis*, mely a mérsékelt égövön alakult ki. Második évben érleli a termését.

A második fajon belüli változat a *Carum carvi* var. *annuum*. Ez a változat már az első évben termést hoz. Az egyéves kömény botanikai jellemzője közé tartozik az allorhizás gyökérzet. A főgyökér a mélyebb talajrétegek felé haladva fokozatosan elvékonyodik, az oldalgyökerek gyéren elágazva hálózák be a talajt. A gyökér színe belül fehér, kívül vörösesbarna. Levelei világoszöldek, laza elhelyezkedésűek, szárlevelei szálasak, szórt állásúak, hüvelyben kapcsolódnak a hajtáshoz. Szára 80-100 cm magas. Hajtásrendszere bogas elágazódás, a csúcsa összetett ernyővirágzatban zár. A szirmok színe fehér, olykor rózsaszínes. Ikerkaszat termései 2-3 évig csírázó képesek.

A növény drogját a termés és a termésből kinyerhető illóolaj szolgáltatja. Az ikerkaszat termése a *Carvi fructus* a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben hivatalos, amelyben szintén szerepel az illóolaj *Aetheroleum carvi*.

A kömény illóolaja színtelen vagy sárga. Illóolájának legfőbb illókomponensei a limonén és a karvon, amelyek több mint 90%-át teszik ki az illóolajnak.

A bioszintézis során a d-limonénből alakul ki a karveol, majd abból a d-karvon⁴.

A magyar konyha főleg három területen alkalmazza, egyedüli vagy keverék formában, a húskészítmények, péksütemények és szeszes italok aromaanyagaként. A húsiparban jelentős mennyiségben alkalmazzák a kömény illóolaját tartósítás, ízesítés céljából. A sütőipar díszítésre, ízesítésre használja, valamint a szeszipar előszeretettel alkalmazza az illóolajat ízesítésként¹⁻⁴.



1. kép. A Madaras patak melletti rétről begyűjtött vadkömény.

A gyógyászatba is elterjedt illóolaj hatóanyagainak következtében. Kivonatát emésztésserkentőként és görcsoldóként⁵ alkalmazzák. Antiszeptikus hatású, a vastagbél alsó szakaszában élő *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* szaporodását gátolja illetve a vastagbélből a tápcsatorna felsőbb szakaszaiba húzódt baktériumokat viaszorítja a vastagbélbe⁶. Antioxidáns tulajdonságú mivel szabadgyök-fogó képessége négyszerese a C vitaminénak⁷, csökkenti a vércukorszintet⁸, asztmaellenes hatású⁹, tejtermelést serkentő hatása is bizonyított¹⁰, valamint egyes megfigyelések szerint a spontán abortuszt is gátolja azzal, hogy megelőzi a méhizomzat összehúzódását¹¹. A kömény-extraktumok és főleg azon belül egyes komponensek alkalmasak a növényvédelemben és terméktárolásban. A d-karvon burgonya-csírázás gátlására¹², az illóolaj *Agrobacterium tumefaciens* (gyökérgolyva) növekedésének gátlására alkalmas¹³. Rovarölő hatása is bizonyított, az illóolaj úgy a talajban lévő, mint a raktári rovarokkal szemben alkalmazható. A raktári kártevők, mint például a

Sitophilus granarius (gabona zsizsi) ellen akár 60-100%-os mortlitás érhető el, ha a tömény illóolajat a légtérbe permetezzük⁴.

Az illóolaj-tartalom változó értéket mutat a vad, illetve a termesztett éves vagy kétéves konyhakömény esetében. Termesztett köménynél az egyéves termés illóolaj-tartalma 2,5 % körüli⁴, a kétéves esetén eléri, sőt túlhaladja a 7%-ot¹⁻³. A vadkömény esetén az illóolaj-tartalom 6,5-7,5 mL/100 g szárazanyag mennyiség körüli³. Az illóolaj-tartalmat és az összetevők arányát befolyásoló tényezők: a talaj jellege és megmunkálása, az éves csapadék és tápanyagpótlás mennyiség, a nemesítés, érési, betakarítási, szárítási és kinyerési technológiák⁴. Ami a vadkömény illóolaj hozamát és összetételét illeti, a legfontosabb tényezők közé tartoznak az élőhely, a betakarítás időszaka, a szárítási technológia és természetesen a kinyerési módszer³.

1.1. Az illóolaj fogalma

Az illóolajok a növényekben előforduló vegyületcsoport, az elnevezésük hasonló fizikai tulajdonságaik alapján történt. A keverék olajos állaga (sűrűség, viszkozitás) valamint alacsony vízzoldékonysága miatt kapta az olaj elnevezést.

Az elnevezés részben félrevezető, mert illékonyságuk (gőznyomásuk) alacsony, de a levegőben nagyon kis mennyiségű illóolaj jelenléte is érzékelhető, mivel alacsony koncentrációban is nagy szagingert váltanak ki. Kémiai szempontból nem egységes vegyületek, hanem vegyületkeverékek (főleg terpenoid struktúrájú vegyületek).

Az illóolaj elnevezés a hatóanyagok kimondottan gyakorlati technológiai fogalmát fedi. Azokat a növényi hatóanyagokat sorolják ebbe a fogalomkörbe, amelyek általában vízgőzzel lepárolhatók, vízben nem vagy csak nagyon rosszul oldódnak, szobahőmérsékleten maradéktalanul elpárolognak, gyakran jellegzetes, intenzív illatúak és ízűek, sűrűségük legtöbb esetben a víz sűrűségénél kisebb, ritkán nagyobb. Illóolaj tartalmú növényekből leggyakrabban vízgőz-desztillációval előállított jellegzetes, szobahőmérsékleten (a zsíros olajokkal ellentétben) maradék nélkül elillanó folyadékok.

A növények kellemes illatukat leggyakrabban az illóolajoktól, ritkábban más kristályos anyagoktól, pl. kumarintól, vanilintól nyerik. Az illóolajok a növények különböző részeiben (virágokban, levelekben, gyökerekben, termésekben, magvakban), illóolajtartókban, illóolaj járatokban, sejtekben, vagy mirigyszőreikben, folyékony halmazállapotban raktározódnak¹⁶.

Az illóolajak jellemző alkotói a 10 szénatomot tartalmazó monoterpének és a 15 szénatomos szeszkviterpének. A terpének mellett a nem terpén jellegű, tehát 10 szénatomnál kevesebb vagy valamivel többet tartalmazó vegyületek is találhatóak, nagy részük fenilpropán-származék. Egyes alkotóik, főleg az oxigént is tartalmazók, az előállítás során a vizes fázisban maradnak. Az illóolaj glikozid alakjában is előfordulhat (keserűmandula, mustár), amelyből víz jelenlétében a növényekben levő glükozidáz vagy hőhatására hasadnak le¹⁷.

2. A kutatás célja

Jelen kutatás célja, főleg a betakarítást követő, különböző módon szárított vadkömény (Hargitafürdő, Csíkmadaras terméshelyű) és a termesztett kömény (különböző kereskedelmi név alatt forgalmazott), illóolaj kihozatalának vizsgálata az extrakciós módszerek függvényében, illetve az extrakciós módszer és az összetétel közti kapcsolat feltérképezése.

3. Anyag és módszer

A vadkömény mintákat a Hargita hegység hegyi kaszálóiról gyűjtöttük. Az első mintákat Csíkmadaras határában, a Madaras patak melletti rétről szedtük, ahol aránylag kis területen csoportos vadkömény populációk gazdagon borítják a tisztást.

A begyűjtést 2012. július hónap elején és augusztus hónap közepén végeztük. A másik termőhely Hargitafürdő, ahol a begyűjtést 2013. július hónap közepén (2013.07.16) és végén (2013.07.28) végeztük. A szárástól begyűjtött növényt először osztályoztuk, különválasztva a zöld és az érett hajtásokat, majd szárítottuk. Ezt négy módszerrel végeztük el:

- ✓ szárán, nyílt térben,
- ✓ szárán, hűs, napfénymentes térben,
- ✓ leszemelve, szabad laboratóriumi körülményeken,
- ✓ laboratóriumi egyszeri légátáramlós konvekciós szárítóban.

3.1. Az illóolaj kinyerési módszereinek rövid leírása

Az illóolaj kinyerési módszerek közül a legfontosabb a vízgőz illetve a hidrodesztilláció, amelyek lehetnek hagyományos illetve mikrohullám fűtésűek, valamint a szuperkritikus (közel-kritikus) állapotú fluidummal (CO_2 , C_3H_8) végzett extrakció. A vízgőz-desztilláció és hidrodesztilláció során az illóolajak azon tulajdonságát használjuk fel, hogy vízzel heteroazeotrop elegyet képeznek. Ez azt jelenti, hogy a víz-illóolaj elegy elpárologtatáskor a két komponens gőznyomása összeadódik, így az elegy forráspontja alacsonyabb lesz bármelyik összetevő forráspontjánál. A képződött gőzök kondenzálása során a kondenzátum két fázisra válik, és így könnyen szétválasztható az illóolaj a víztől. Általában az illóolaj sűrűsége a víznél kisebb, ezért a felső fázis az illóolajas fázis, de léteznek kivételek is (pl. kamilla).

A vízgőz-desztilláció illetve a hidrodesztilláció abban különbözik, hogy a hidrodesztilláció esetén a kihajtó vízgőz insitu fejlődik a forraló edényben, amiben az őrölt/vagy őröletlen növényi részek vizes szuszpenzióját forraljuk, míg vízgőz-desztillációkor a vízgőz egy külön gőzfejlesztőben képződik, általában nagyobb nyomáson, majd a porózus növényi töltet ágyon áthaladva párologtatja el és ragadja magával az illóolaj komponenseket.

A mikrohullámú és hagyományos fűtés esetén nemcsak a fűtési mód különbözik, hanem részben az illóolajok növényi mátrixból való felszabadulása is, mivel a mikrohullámú fűtés azáltal, hogy részlegesen roncsolja a víztartalmú növényi sejteket, meggyorsítja az illóolajok bekerülését a vizes fázisba. Ezáltal megnő a folyamat sebessége, mivel a növényi mátrixból történő kinyerési folyamatok sebesség meghatározó lépése a gátolt diffúzió. Az illóolaj kinyerés mikrohullámos vízgőz-desztilláció segítségével jelentős költség és idő megtakarítással jár pl.: levendula illóolaj esetén a kinyerési idő 40 percről 10 percre csökken, az energia szükséglet 300 kWh/kg illóolajról 120 kWh/kg illóolajra, míg a keletkezett szennyvíz mennyiség 290 l/kg illóolajról 85 l/kg illóolajra csökken¹⁸.

A mikrohullám laboratóriumi alkalmazására a házi felhasználású mikrohullámú készülékek megjelenésével közel egy időben történt. Analitikai minták előkészítésére, a mérendő komponensek különféle (talaj, mag, élelmiszer, takarmány) mintából történő feldúsítására először magyar kutatók alkalmazták a Budapesti Műszaki Egyetemen¹⁹.

Illó komponensek kinyerése először nitrogén gáz átbuborékoltatásával a verbénafélék családjába tartozó *Lippia sidoides* L. növényből, ekkor 5 perc alatt 40 g mintából nyerték ki az illóolajat. A hagyományos módon és mikrohullámmal nyert minták mennyisége közel megegyezett, de az összetételben jelentős különbségek mutatkoztak²⁰.

A nagyhatékonyságú analitikai műszerek és módszerek meghonosodásával egyre inkább szükségessé vált a minta előkészítés gyorsítása, vagyis nagy igény mutatkozott a könnyen automatizálható, jól reprodukálható és gyorsabb kinyerési laboratóriumi technikák iránt.

A kezdetek óta a mikrohullám fűtésű kinyerési módszereknek sok változata fejlődött ki^{18,21}. A mikrohullám-fűtésű módszerek legfontosabb előnyei az egyszerű szabályozhatóság, energiahatékonyság és gyorsaság. Az energiahatékonyság növekedése három tényezővel magyarázható. Elsősorban, a mikrohullámú fűtés az egész térfogatban történik, a vízmolekulák dipólusai a $\nu=2,54$ GHz frekvenciával optimálisan gerjeszthetők. Másfelől a fűtés zárt térben történik (a mikrohullámú berendezés fűtőterében) és a hőveszteség csökken, így a hatásfok növekszik. A harmadik ok a folyamat idejének nagyfokú csökkenése. A kereskedelmi forgalmú mikrohullámú berendezések méretéből adódóan a felfűthető minta térfogata 250-1000 ml, szokásos teljesítményük 600-2500 W tartományban változik, míg a fajlagos teljesítmény $1-3 \text{ W} \cdot \text{g}^{-1}$ tartományban változik^{18,22,23}.

Gőz- és vízgőz desztilláció során az illóolaj tartalmú növény a gőzzel vagy a forrásban lévő vízzel kerül érintkezésbe, az illóolaj a vízgőzzel együtt elpárolog, közel 100 °C hőmérsékleten. Az illóolaj-komponensek forráspontja általában 200-300 °C között található, de mivel csak alig oldódnak vízben, az elegy a minimális forráspontú komponens hőmérsékletén forr. A gőzök kondenzálnak és két fázisra válnak (heteroazeotrópia).

A kinyert illóolaj mennyisége nagymértékben függ a növénytől, 0,005-10% tartományban változik. Az illóolaj kinyerés több elemi lépésben játszódik le: az illóolaj deszorpciója a felületről és/vagy diffúzió a belső struktúrákból, részleges beoldódás a vízbe, elpárolgás a gőzbe, valamint a fázis-szétválás az azeotróp desztillációt követően.

Leggyakrabban a leglassúbb (sebesség meghatározó) lépés a belső diffúzió, de abban az esetben, ha az olajtároló struktúrák nagymértékben roncsolódtak (örlés vagy a mikrohullám okozta sejtrobbanás során) akkor az oldódás lesz a sebesség meghatározó.

Az vízdékonyság szerepére a vízgőz-desztillációban von Rechenberg hívta fel először a

figyelmet²⁵ megmagyarázva azt az anomáliát, hogy a magasabb forrpontú terpenoidok gyorsabban desztillálódnak, mint a kisebb molekulatömegű, illékonyabb terpének. Első lépésben a forró víz behatol a növényi szövetbe és feloldja az illóolaj összetevőit, ezt követően az oldat kidiffundál a szilárd mátrixból (hidrodifúzió). Az oxigént tartalmazó, nagyobb molekulatömegű terpenoidok vízzoldékonysága nagyobb, mint a kisebb molekulatömegű, de apoláris terpéneké. Ezenkívül az apolárisabb molekulák jobban kötődnek a növényben található zsíros komponensekhez²⁶.

Mivel a mikrohullám részben a polárisabb molekulákat is jobban gerjeszti (dipoláris fűtés), így növeli ezek diffúzióját az apolárosokkal szemben^{18,21,24}. Ez egyes esetekben akár hasznos is lehet, mivel a terpenoidok feldúsulhatnak, növelve a kinyert illóolaj értékét²⁷.

Abban az esetben, ha az illóolaj a növényben illóolaj csatornában helyezkedik el, vagy viszonylag keményebb, alacsonyabb víztartalmú struktúrákban (pl. mag), mikrohullámú fűtés a kinyerési sebességet nem növeli²², mivel a növényi struktúrát nem roncsolja. Ennek ellenére a mikrohullámú kinyerés ideje így is jelentősen csökkenhet, mivel a forráspont eléréséhez szükséges felfűtési idő - akár harmadára is – csökkenhet^{22,23}.

A mikrohullámú vízgőz desztillációval abban az esetben érhető el a legjobb eredmény, ha a növényi rész nagy víz- és illóolaj tartalmú, valamint lágy szerkezetű, mint például a citrusfélék héjja²³. Itt sok esetben nincs is szükség víz adagolására oldószerként és desztillációs közegként²⁴.

Az oldószermentes mikrohullámos vízgőz desztilláció sebességnövekedésének magyarázata a mikrohullám szövetroncsoló hatásának következménye. A bioaktív anyagok növényekből történő kinyerésének sebesség meghatározó lépése a gátolt diffúzió a kivonási módtól függetlenül. Ez a szilárd növényi szövet jelenlétének és szerkezetének következménye.

A friss, nem szárított növényi részek nagy víztartalommal rendelkeznek, ami főleg a sejtekben és mirigyekben található. A 2,54 GHz frekvenciájú mikrohullám szelektíven a sejtekben található vizet melegíti, majd gőzzé alakítja és a megnövekedett nyomás a sejteket kitérít majd szétrobbantja. A roncsolt szövetekből az illóolajok könnyebben szabadulnak ki, mert a diffúzió gátlása lecsökken, az illóolaj a vízréteggel kiáramlik és elpárolog²¹.

A rövidebb kinyerési idő és a jobb fűtési hatásfok eredményeként elmondható, hogy a mikrohullámú vízgőz-desztilláció (MHVD) és változatai környezetbarát, úgy nevezett „zöld” kinyerési módszer, különösen, hogy víz oldószert alkalmaz, ami ipari méretben könnyen

visszavezethető a technológiába. Az egyik változat, az oldószermentes mikrohullámú vízgőz-desztilláció, melyben az azeotróp desztilláció vivőközege a friss növényi mátrixban található saját nedvesség, nem szükséges technológiai víz hozzáadása. Ebben az esetben, pl. 500 g narancshéjből történő illóolaj kinyeréshez az energiaszükséglet 0,25 kWh, hagyományos vízgőz-desztilláció esetén 4,5 kWh, vagyis tizenhatszoros energiamegtakarítás érhető el²⁴. Igaz azonban, hogy az oldószermentes mikrohullámú vízgőz-desztilláció csak olyan esetekben alkalmazható, ahol a növény magas nedvesség és illóolaj tartalmú és az illóolaj lágy szövetrészekben (héjpórusok, illetve olajtartó mirigyek, mirigyszőrök) található.

A szuperkritikus fluid extrakcióval a növényekből értékes anyagokat vonhatunk ki szuperkritikus állapotban lévő oldószer segítségével, mely legtöbb esetben szén-dioxid. Ez a technológia számos előnnyel rendelkezik, mivel a szén-dioxid nem tűzveszélyes, nem mérgező, nem korrozív és viszonylag olcsó. Nagy mennyiségben és nagy tisztaságban állítható elő pl. biotechnológiák melléktermékeként (sör egyéb alkohol gyártás során melléktermékként keletkezik). A széndioxid egyike a kevés élelmiszeriparban alkalmazható oldószereknek, amelyet általánosan biztonságosnak elismert (Generally Recognized as Safe-GRAS) kategóriába sorolunk az amerikai élelmiszer és gyógyszer hivatal (Food and Drug Administration-FDA) besorolása szerint. Ezenkívül a technológia alacsony hőmérsékleten megvalósítható így nem károsodnak az értékes komponensek. A szuperkritikus fluidum (SCF) akkor jön létre, amikor a nyomás és a hőmérséklet meghaladja az anyagra jellemző kritikus értéket (széndioxid esetén $T=31.1^{\circ}\text{C}$ és 73,8 bar). Ebben az állapotban ugrásszerűen megnő a fluidum oldóképessége¹⁶. Viszonylag alacsony kritikus értékeknek köszönhetően főleg az alacsony kritikus hőmérséklet miatt az extrakció kíméletes körülmények között mehet végbe, a növényben található hatóanyagok nincsenek nagy hőterhelésnek kitéve és mivel oxigén sincs jelen a rendszerben az oxidációs folyamatok sem mennek végbe. Ezáltal az extraktumban átalakulás nélkül kerülnek be a növényben található értékes összetevők. A nem illó komponensek esetén egyetlen egy kivonási módszer létezik, amely kíméletesebb a szuperkritikus extrakciónál ez a hideg préselés viszont ez a módszer egyáltalán nem szelektív. Az illóolajak esetén a vákuum alkalmazása lenne a legkíméletesebb de ez a módszer iparilag gazdaságtalan, mivel a vákuum előállítása nagy energia igényvel jár, másrészt az illóolaj leválasztása nagy hűtési teljesítményt igényelne. A növényekből történő illóolajak elválasztása szuperkritikus extrakcióval két technológiai változatban lehetséges. Az első módszer szerint kritikushoz közeli (szub vagy szuperkritikus) oldószer alkalmazásával első

lépésben az illóolajak, majd ezt követően a második lépésben a nyomást és hőmérsékletet megnövelve további értékes komponensek nyerhetők ki. A másik módszer szerint nagy nyomással és (500-700 bar) és viszonylag magas hőmérsékleten pl. 50°C, kivonjuk a növényben található legtöbb értékes komponenst, majd több szeparátorban, (a szeparátorokban más nyomás és hőmérséklet kombinációkat alkalmazva) frakcionált szeparáció érhető el a nyomás fokozatos csökkentésével. A frakcionált szeparálás esetén az illóolaj komponensek a legutolsó szeparátorban válnak le a széndioxid gázból. Az első módszer a laboratóriumi a második főként ipari berendezésekben alkalmazott.

Mivel az oldódási sebesség szempontjából legfontosabb jellemzők (diffúziós állandó, dinamikus viszkozitás) értékei nagyságrenddel lecsökkennek a folyadék értékeihez képest, a szuperkritikus fluidum hatékonyabb oldószer. A szuperkritikus tartományban a sűrűség folytonosan változtatható a műveleti paraméterek segítségével (nyomás és hőmérséklet), ezáltal könnyen hangolható az oldószer szelektivitása. A nyomás és hőmérséklet növelésével a polaritás is nő.

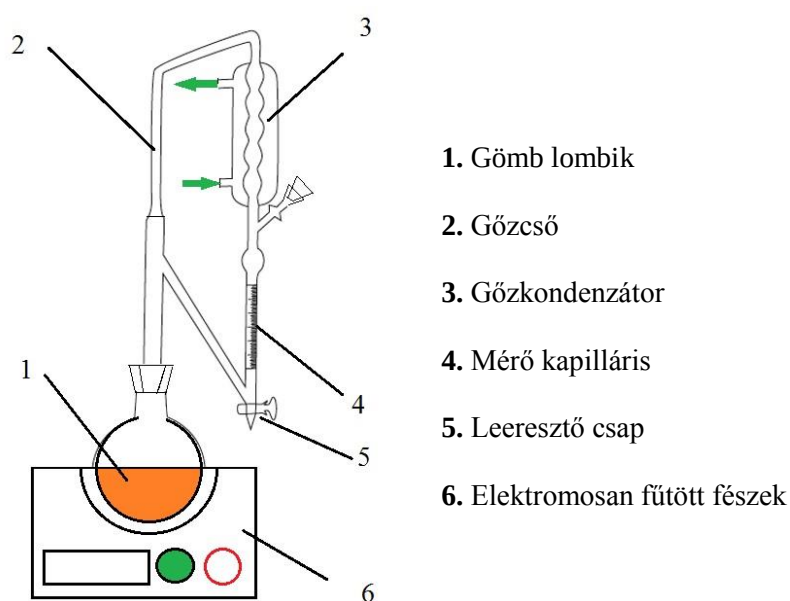
A szuperkritikus állapotú szén-dioxid 40 °C hőmérsékleten és 250 bar nyomáson azonos az n-hexán oldóképességével. Illóolajak kinyerésére a kritikushoz közeli tartományban dolgozunk ez által szelektíven kinyerhetők a viszonylag kis molekula tömegű apoláros komponensek.

A szuperkritikus állapotú szén-dioxid előnye a hangolható oldóképesség, az alacsony hőterhelés, valamint a könnyű elválaszthatóság. Illóolaj komponensek kinyerésére alkalmazott módszer még az oldószeres extrakció, de ebben az esetben az oldószer elválasztása nagyon nehéz, alkoholos oldószer alkalmazása esetén az illóolaj tartalmú oldatot tinktúraként alkalmazzák az oldószer elválasztása nélkül. Az általunk alkalmazott kinyerési módszerekben a közös, hogy a kinyerési művelet végén az alkalmazott segédanyag (vízgőz vagy széndioxid) a művelet végén teljesen szétválasztható az illóolajtól, így az illóolaj szennyezés mentesen kinyerhető.

Az egyensúlyi nedvességig szárított köménymag illóolaj kivonását többféleképpen végeztük el:

a) *Hidro-desztillációs módszer:*

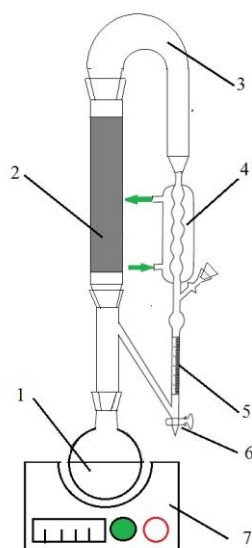
A laboratóriumi 1,5 mL gyűjtőtérfogatú, 0,01 mL beosztású Clevenger - gyűjtővel ellátott, elektromosan fűtött, 125 W teljesítményű vízgőz desztillációs készülékkel dolgoztunk (lásd az 1. ábrát), ahol minden próba 10 g szárított, őrölt vagy őröletlen 200 mL desztillált vízben szuszpendált mintát tartalmazott.



1. ábra. A hidro-desztilláció berendezés vázlata.

b) *Vízgőz-desztillációs módszer:*

Elektromosan fűtött fészekben helyezett üveglombikban előállított nedves gőzt vezettünk át 10 g őrleményt tartalmazó üveg oszlopban elhelyezett tölteten. Az oszlopot elhagyó gőzök a kilépő ágra csatlakoztatott hőcserélőben kondenzáltak és a kondenzátumot Clevenger gyűjtőben fogtuk fel (2. ábra).



1. Gőzfejlesztő lombik
2. Növényi mintával töltött oszlop
3. Csatlakozó cső
4. Gőzkondenzátor
5. Mérő kapilláris
6. Leeresztő csap
7. Elektromosan fűtött fészek

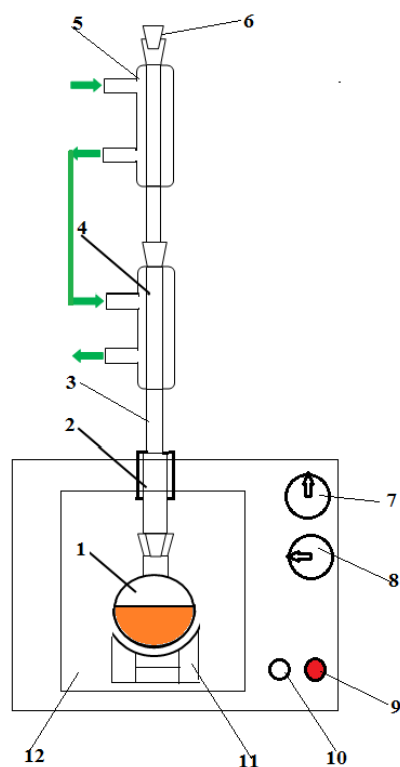
2. ábra. A Vízgőz-desztillációs berendezés vázlata.

c) *Mikrohullámú előkezelést követő hidrodesztilláció:*

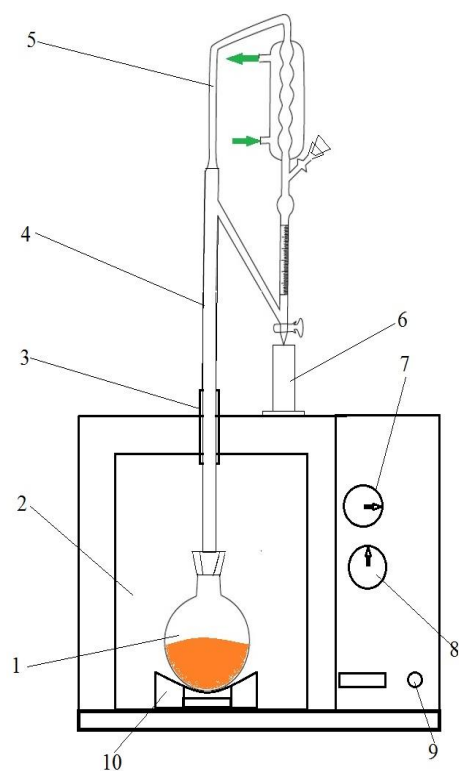
Elektromos fűtésű fészekben elhelyezett, mintát tartalmazó lombikot a Clevenger – vízgőz-desztillációs gyűjtőhöz csatlakoztattuk. Előzetesen a lombikban lévő 200 mL desztillált vízben szuszpendáltuk a 10 g őrölt mintát, majd mikrohullámú készülékben (módosított Hynari Microwave S 110) reflux alatt 5, 15 és 30 percig kezeltük (3. ábra).

d) *Szuperkritikus széndioxid extrakció:*

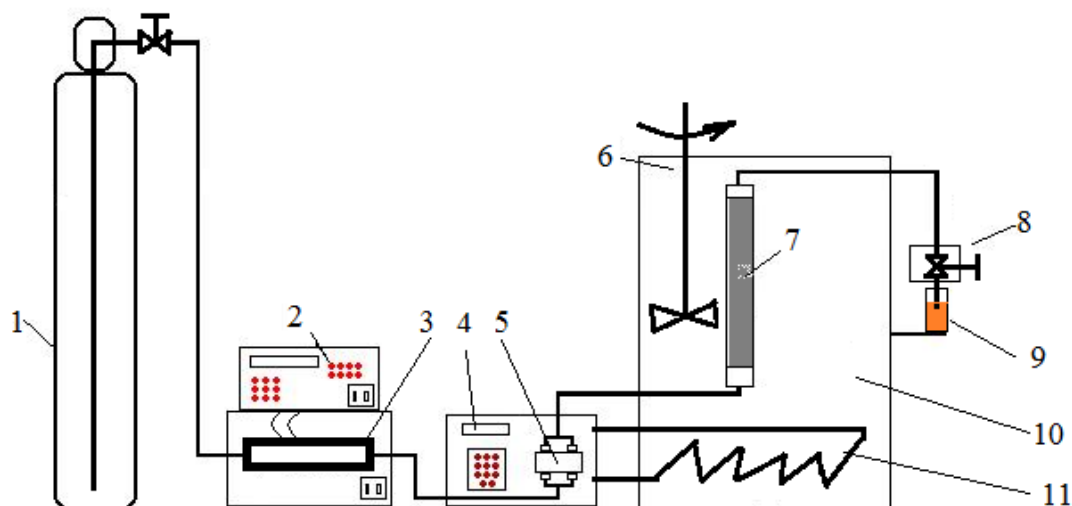
Supercritical Fluid Technology SFT 100 System típusú készülékkel (5. ábra) dolgoztunk, ahol a 10 mL hasznos térfogatú cső-extraktorban, 40 °C hőmérsékleten és több nyomás értéken, szuperkritikus szén-dioxiddal, szakaszos üzemben vontuk ki a szobahőmérsékleten, laboratóriumi Retsch Grindomix GM 200 malomban őrölt minta illóolaját. A mintavételt a 42 °C hőmérsékletre felfűtött izotermikus szelep nyitásával végeztük, a kondenzált illóolajat mintagyűjtőbe fogva fel.



3. ábra. A mikrohullámú előkezelésű berendezés vázlata: 1. Gömb lombik, 2. Árnyékoló cső, 3. Gőzkivezető cső, 4,5 Hőcserélő, 6. Dugó, 7. Időzítő szabályzó, 8. Teljesítmény-szabályzó, 9, 10 Indító/megállító gomb, 11- Teflon gömblombik tartó, 12. Mikrohullámú kemence.



4. ábra. A mikrohullámú hidrodessztillációs berendezés vázlata: 1. Gömb lombik, 2. Mikrohullámú készülékfűtő tere, 3. Árnyékoló cső, 4. Gőzkivezető cső, 5. Clevenger, 6. Mintavevő, 7. Időzítő szabályzó, 8. Teljesítmény szabályzó, 9. Indító / megállító gomb, 10. Teflon gömblombik tartó



5. ábra. A szuperkritikus extraktor berendezés vázlata:

1. Merülő csöves széndioxid palack, 2. Vezérlő egység, 3. Peltier hűtő, 4. Szivattyú és kemencevezénylő egység, 5. Nagynyomású szivattyú, 6. Ventilátor, 7. Cső extraktor, 8. Izoterm szelep, 9. Mintagyűjtő, 10. Termosztatált kemence, 11. Fűtő ellenállás.

3.2. Az illóolaj komponensek minőségi és mennyiségi meghatározása

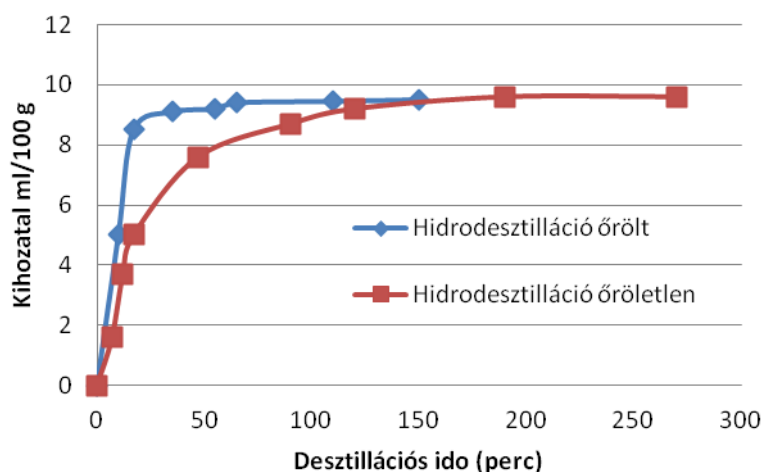
Az illóolaj komponensek minőségi és mennyiségi meghatározására gázkromatográfiás módszert alkalmaztunk. Az elemzésig minden mintát csavarmentes alufóliával borított szilikon-kaucsuktömítésű zárt fiolában tároltuk +4 °C-on. A gázkromatográfiás (GC-FID) körülmények minden minta esetében ugyanazok voltak, és pedig Varian CP-3380 típusú készülék, 100×0,25 mm kvarc-kapilláris CP-Sil 88 (FAME) állófázissal feltöltött kolonna, FID, 270 °C-os detektor és injektor, 235 kPa nyomású hidrogén vivőgáz. A hőmérséklet-program: felfűtés 50 °C-ra 1 percig, majd 5 °C/perc gradiensen való fűtés a meghatározott hőmérsékletig (210...270 °C). A gyűjtött minták vízmaradványának eltávolítására vízmentes nátriumszulfát kristályokat alkalmaztunk. Az 1 µL injektált keverék összetétele 1 rész illóolaj 15 rész kromatográfiás tisztaságú hexán.

A vadkömény minták mellett elvégeztük a kereskedelemben forgalmazott őrölt és őröletlen termesztett kömény illóolaj extrakcióját. Ugyanakkor extrakciós kísérleteket végeztünk a Retsch Grindomix GM 200 laboratóriumi malomban őrölt szárított köményszárral is.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Az extrakciós módszer befolyása az illóolaj kihozatal időbeli változására

A Clevenger gyűjtővel felszerelt laboratóriumi berendezések alkalmasak a kivonat mennyiség időbeli változásának mérésére is. Igaz, hogy sok esetben a fűtési és hűtési kapacitás közötti különbség zavaróhatású lehet, hisz a Clevengerben történő olaj-víz szétválását akadályozhatja. Mivel az emulzióbontás hőmérsékletfüggő, nagykapacitású fűtésekor lehetséges, hogy a mért mennyiség valójában emulzió, ami idő teltével szét váll, s így a kinetikai görbén megjelenhet a maximum. A mérési adatokat ml illóolaj/100 g mintára vonatkoztatva fejeztük ki.

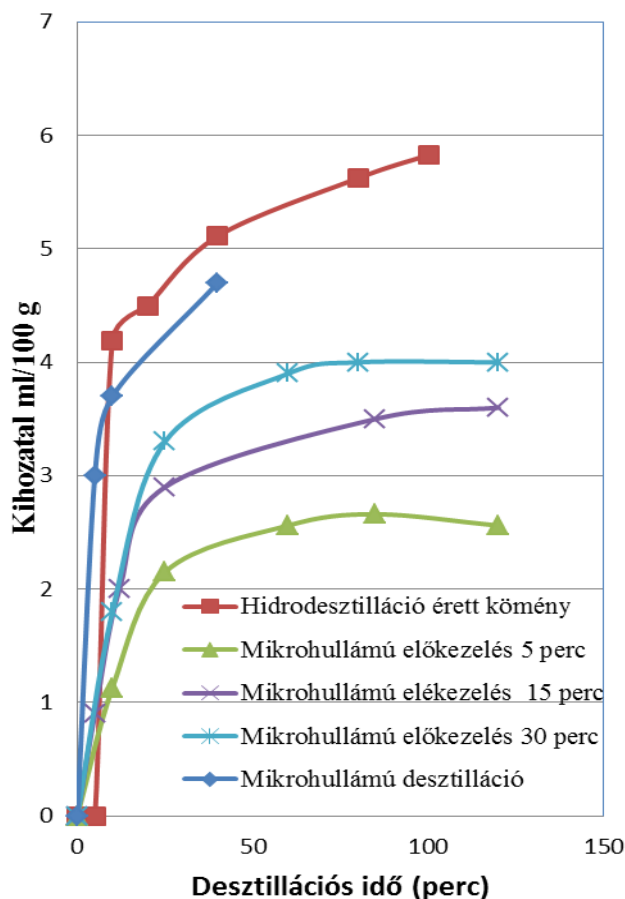


6. ábra. Őrölt illetve őröletlen zöldkömény illóolaj kihozatalának időbeli változása.

Összehasonlítva a különböző módszerekkel végzett kvantitatív extrakciós méréseket az állapítható meg, hogy míg a klasszikus és mikrohullámú előkezelésű és fűtésű extrakciónál meghatározható az illóolaj mennyiség időbeli változása, a vízgőz-desztillációs és szuperkritikus technikáknál már ez nem eredményez egy elfogadható eredményt. Ennek fő oka a kivont illóolaj leválasztásakor fellépő veszteség.

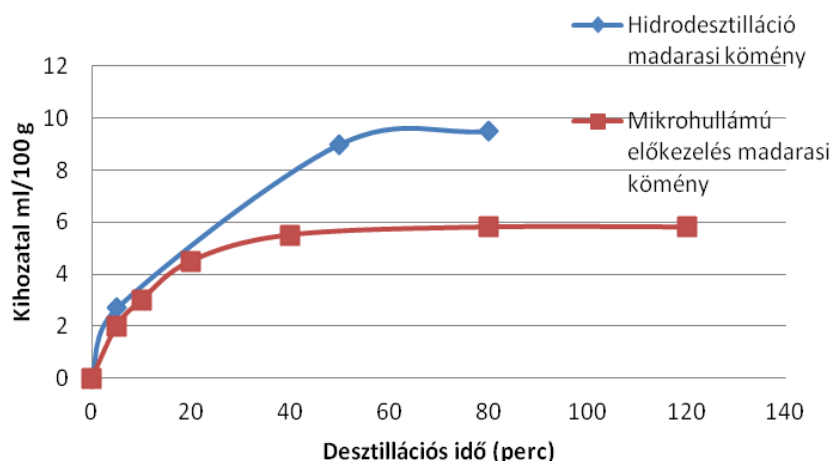
Mint, ahogy az 6. ábra is tükrözi, az őrlés csak a kivonás sebességét változtatja, az illóolaj kihozatal hosszas hidro-desztillációs kezelés után majdnem megegyezik. Ami a mikrohullámú előkezelést illeti a 7. ábrán feltüntetett görbékből megállapítható, hogy a reflux alatti kezelési időtartalom pozitívan befolyásolja a kihozatal sebességét és mennyiségét. Az is kivehető az ábráról, hogy az előkezelés bár kiszabadítja az illóolajat a természetes mátrixból,

az egyenlőtlen fűtésnek köszönhetően a teljes folyamat – előkezelés és hidro-desztilláció – elég nagy veszteséggel számol. Megállapítható az is, hogy a szárítási körülmények maguk is kihozatal csökkentő hatásúak lehetnek, hisz az érett kömény kihozatal jóval kisebbnek bizonyult, mint az 6. ábrán feltüntetett minták esetében mért adatok. Épp ezért a mikrohullámú fűtés hatása a zöld szárítatlan kömény esetében járhat nagyobb előnnyel, mint ahogy Navarette és msai. is javasolják.

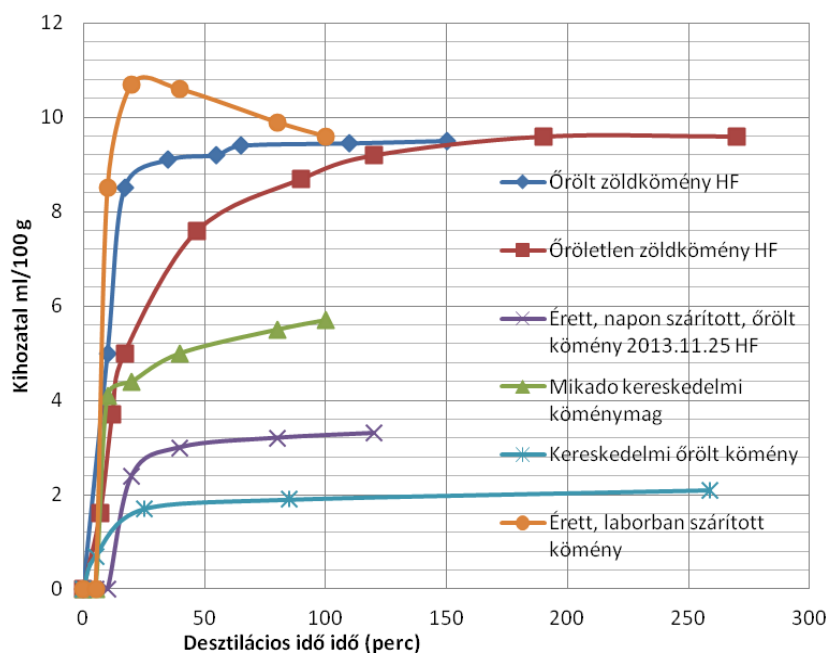


7. ábra. Az érett, napon szárított kömény mikrohullámú előkezelésének hatása a kihozatal időbeli változására.

A mikrohullámú előkezelés nem járt nagyobb sikerrel a csíkmadarasi szárított kömény esetében sem. Ahogy a 8. Ábrából is látható, a mikrohullámú előkezelés itt is kevesebb kihozatalt eredményezett, mint a klasszikus hidro-desztillációs, amit most is csak a veszteség számlájára írhatunk. Itt azonban a kihozatal jóval túlhaladta az előbbi minták kihozatalát.



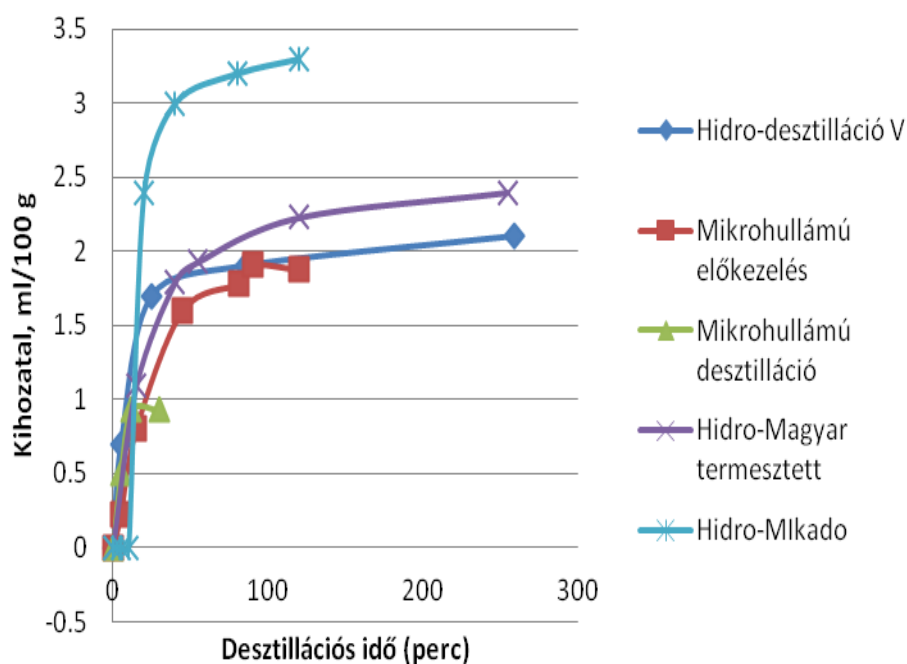
8. ábra. A csíkmadarasi laboratóriumi körülményeken szárított kömény hidro-desztillációs kihozatalának időbeli változása mikrohullámú előkezeléssel vagy anélkül.



9. ábra. A hargitafürdői érett és zöldkömény hidrodesztillációs kihozatala két termesztett köménnyel szemben.

A 9. ábrán a hargitafürdői kömény hidrodesztillációs kihozatala látható két kereskedelemben kapható termesztett köménymintákkal összehasonlítva. Látható, hogy a nagy illóolaj tartalom kissé megnehezíti az emulzió szétválását, s így a térfogatolvasást is

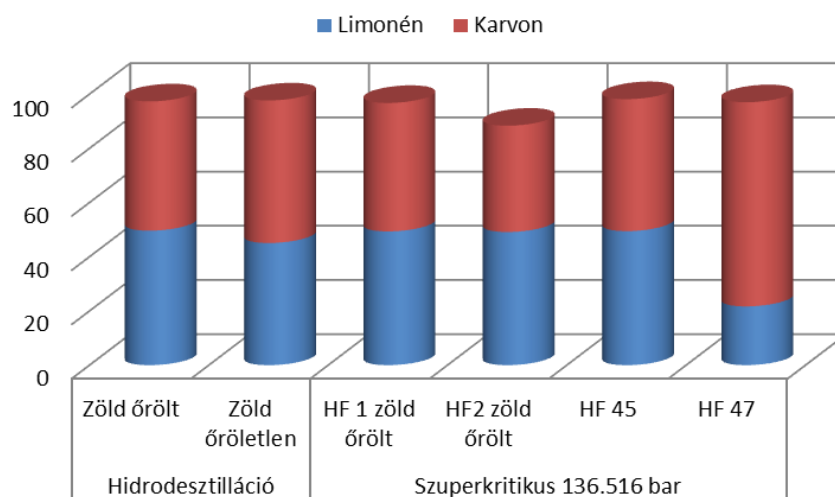
(maximum jelenik meg a görbén a desztillálás kezdetén). Az idő elteltével azonban megtörténik a víz-olaj emulzió szétválása, a három hargitafürdői kömény kihozatal majdnem ugyanarra a szintre kerül. Az is látható, hogy a gyors szárítással csökken az illóolaj kihozatal, de még mindig nagyobb lesz, mint a kereskedelmi kömény esetében. A kereskedelmi köménykülönböző módon való desztillációjának kihozatalát elemezve (10. ábra), azt tapasztaljuk, hogy a legnagyobb sebességet a mikrohullámú desztilláció, míg a legkisebbet a mikrohullámú előkezelés eredményez.



10. ábra. A különböző desztillációs módszerrel kivont illóolaj kihozatal a kereskedelmi kömény esetében.

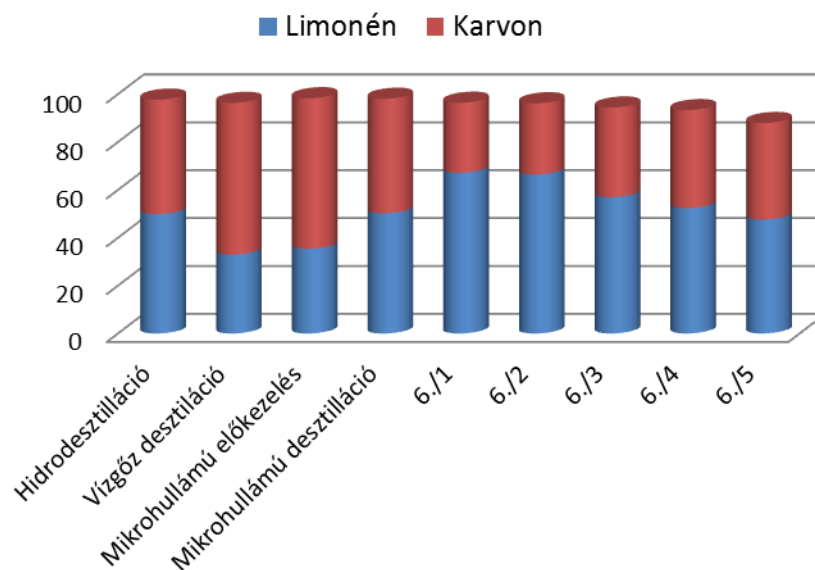
4.2. A kezelési körülmények hatása az illóolaj összetételre

Az illóolaj-komponensek minőségi meghatározására Kubeczka és Formacek standard kromatogramjait¹⁵ használtuk. A kromatogramokból (17. ábra) megállapítható, hogy az illóolaj-mennyiség több mint 87%-át a két főkomponens, a limonén és a karvon összmenyisége adja.



11. ábra. A különböző technikákkal kivont illóolaj két fő komponensének relatív tömegszázalékos összetétele a zöldkömény esetében.

A 11. ábrán látható, hogy a különböző technikával kivont zöld vadkömény illóolaj összetétel (hidrodessztilláció és szuperkritikus extrakció) csak a végső csapolásnál mutat különbséget a két főkomponens arányban.

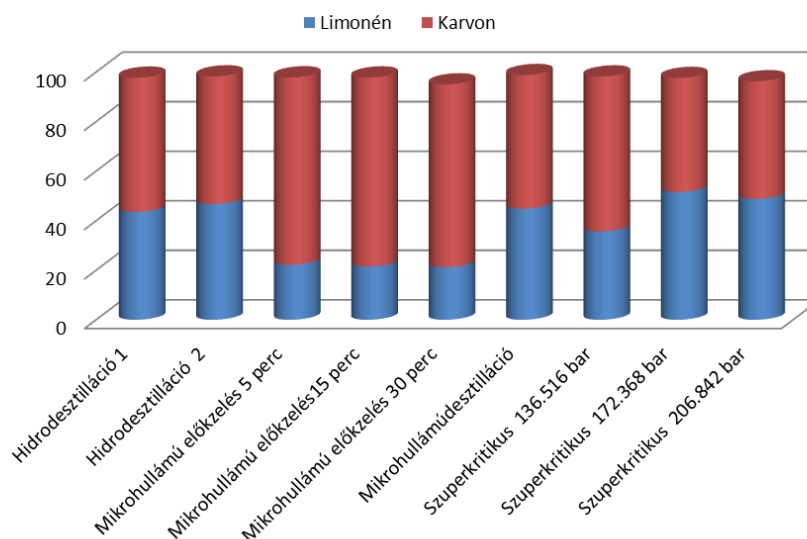


12. ábra. A két főkomponens relatív tömegszázalékos változása a csíkmadarasi kömény esetében a desztillációs módszer függvényében.

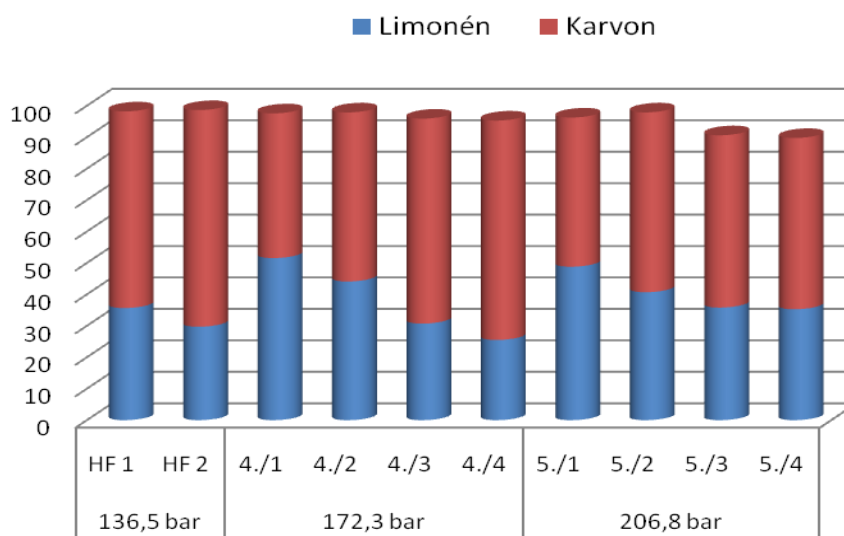
A csíkmadarasi érett kömény esetében (lásd a 12. ábrát) a két fő komponens aránya megegyező értéket mutat a hidro-desztilláció és a mikrohullámú desztilláció esetében, a szuperkritikus extrakció esetében az első csapolásnál a legnagyobb az illékony komponens aránya, míg a karvon részesedése az utolsó csapolásnál a legnagyobb. A mikrohullámú előkezelés és a vízgőz desztilláció módszereknél az említett veszteség az illékonyabb komponensben nyilvánul meg.

Ami a hargitafürdői érett köményt illeti, a 8. ábra szerint a hidro-, mikrohullámú desztilláció és a magas nyomáson végzett szuperkritikus extrakció hasonló arányokat mutat. A mikrohullámú előkezelés itt is az illékonyabb komponens veszteségre utal. A szuperkritikus extrakció illóolaj összetétele változó tendenciát mutat a csapolás függvényében. Mint a 13. ábrán is látható, az alkalmazott nyomástól függetlenül, a csapolási idő növekedésével az illóbb komponens aránya csökken.

Ami a termesztett kömény két fő komponensére gyakorolt kivonási módszer hatását illeti, megállapítható, hogy a különbségek most elenyészőek. Ez érvényes, úgy a különböző néven forgalmazott kömény hidrodesztillációs kivonatára, mint a hidro-, mikrohullámú előkezelés és mikrohullámú desztillációs olaj összetételére. Ami a szuperkritikus extrakció első csapolását illeti az tapasztalható, hogy a nyomás növelése a karvon arányát emeli.



13. ábra. A két főkomponens relatív tömegszázalékos változása a hargitafürdői kömény esetében a desztillációs módszer függvényében.

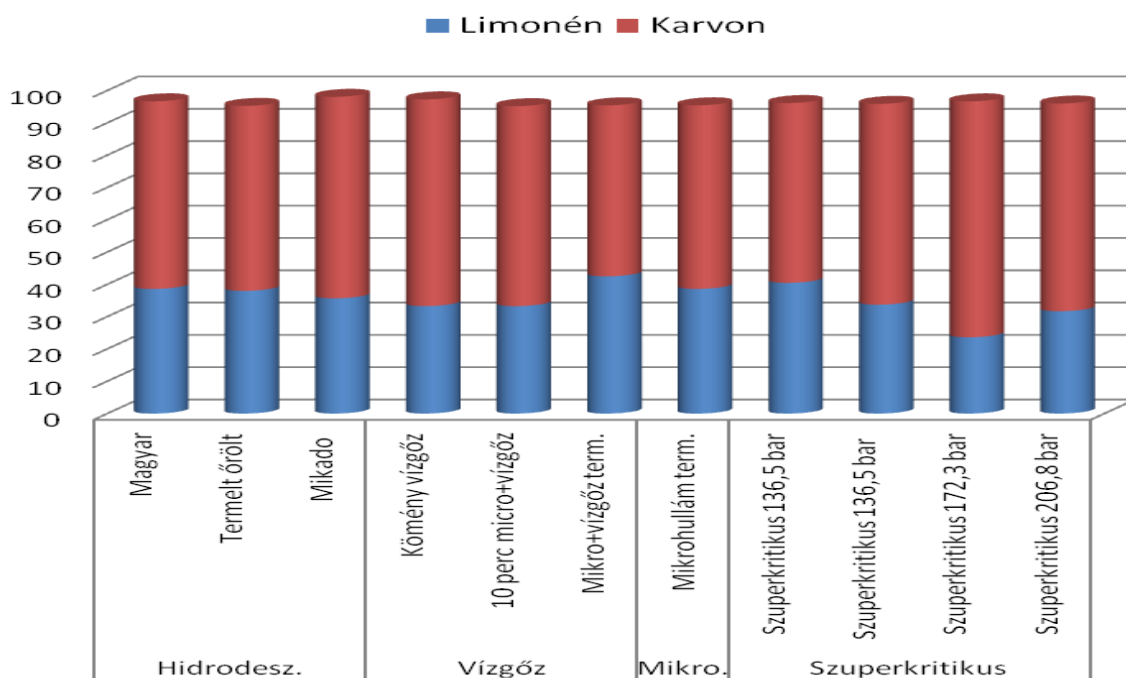


14. ábra. A csapolás és a nyomás befolyása a két fő összetevő relatív tömegszázalékos alakulására a szuperkritikus extrakciókor a hargitafürdői kömény esetében.

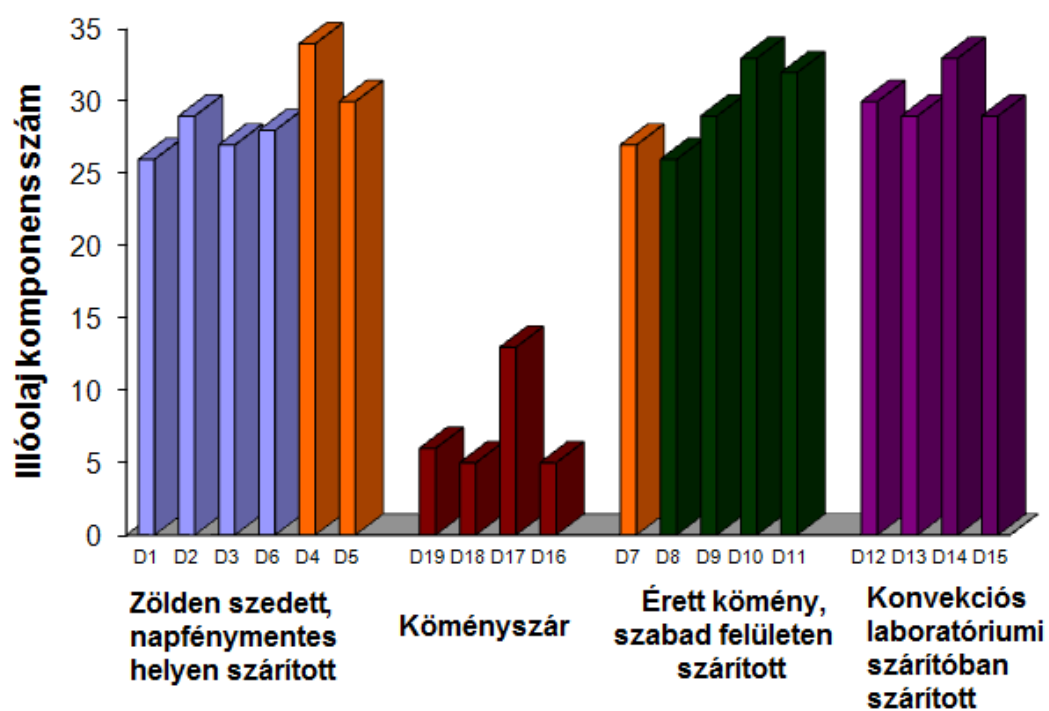
A legnagyobb különbséget a komponensek számában találtuk (lásd a 16. ábrát) bár itt is a kontrollokhoz képest még nem beszélhetünk szignifikanciáról. Az azonban kijelenthető, hogy a legtöbb komponenst mutató érett kömény se éri el az irodalomban jelzett 42-43

komponenst. Ezt természetesen azzal is magyarázhatjuk, hogy a szárítás, de főleg az őrlési körülmények kedvezőek a nagyon illékony komponensek veszteségére.

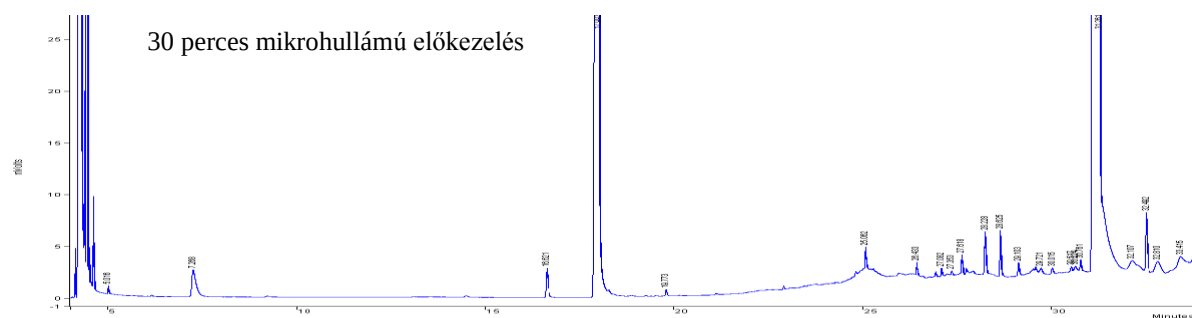
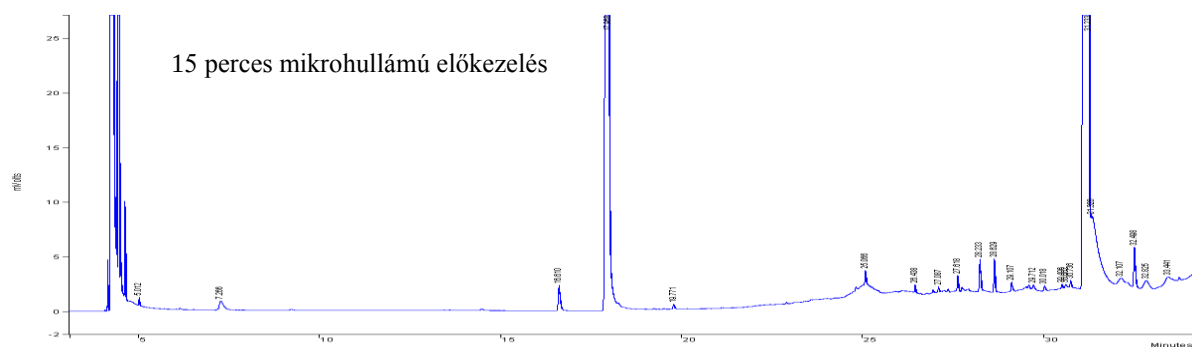
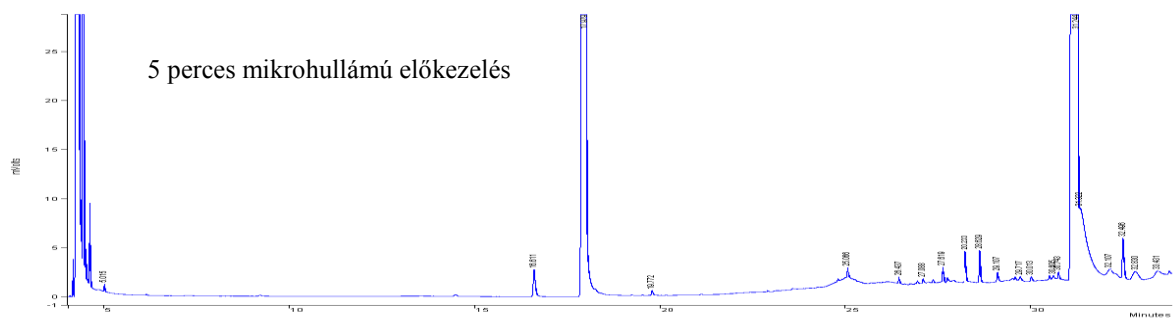
A mikrohullámú előkezelésnél látható, hogy bár veszteséggel számolhatunk, a kezelési idő növelése nem hoz érdembeli változást. Így a 30 perces kezelés megfelel a 15 percesnek, amelynek esetében a cisz- és a transz-dihidrokarvon mennyiség megnő az 5 perces kezeléshez képest (17. ábra). Megállapítható, hogy a szén-dioxiddal végzett szuperkritikus fluid extrakció szelektívebb, mint a vízgőz- desztilláció és jelentősen megnő az α -terpineol mennyiség az extraktumban. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy vízgőz-desztilláció során az α -terpineol jelentős hányada a vizes fázisban marad.



15. ábra. A két főkomponens relatív tömegszázalékos változása a termesztett kömény esetében a desztillációs módszer függvényében.



16. *ábra.* Az előkezelési módszer hatása a kromatogramból meghatározható komponensek számára.



17. ábra. A mikrohullámú előkezelés befolyása az illóolaj összetételre.

5. Következtetések

- A kihozatal változását befolyásoló tényezők közé sorolhatjuk a desztillációs módszert is. Mint, ahogy látható a vadkömény esetében a klasszikus hidrodesztilláció biztosította a legnagyobb kihozatalt, míg a termesztett köménynél a mikrohullámú desztillációval értünk el jobb kihozatalt. Míg a kis illóolaj tartalmú termesztett kömény esetében az egyenlőtlen mikrohullámú fűtés nem okozott számottevő veszteséget, addig a nagy illóanyag tartalmú zöld és érett kömény kihozatalát a mikrohullámú kezelés negatívan befolyásolta.
- A főkomponensek minden esetben a limonén és karvon. A minták összes illókomponenseinek száma kevesebbnek bizonyult, mint amit a termesztett és alacsony hőmérsékleten szárított és őrölt kömény esetében mértek;
- A mikrohullámú előkezelés, bár kissé növeli a kinyerés sebességét, a nagy veszteségen túlmenően (mint ahogy várható is volt) alig volt befolyással a szárított köményből kinyert illóolaj összetételére;
- Az összetétel nagyon kis mértékben függ az előkezelés módjától: mikrohullámos előkezelésnél a cisz- és a transz-dihidrokarvon mennyisége növekszik;
- Szén-dioxiddal végzett szuperkritikus fluid extrakció szelektívebb, mint a vízgőz desztilláció és jelentősen megnő az α -terpineol mennyiség az extraktumban. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy vízgőz-desztilláció során az α -terpineol jelentős hányada a vizes fázisban marad.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk Dr. Wolf Irina docens asszonynak, a Jászvásári „Gh. Asachi” Műszaki Egyetem Vegyészmérnök kar oktatójának a szuperkritikus extrakciós mérésekben nyújtott segítségért, valamint a Sapientia oktatóinak András Csaba Dezső, Dr. Salamon Rozália Veronika és Dr. Szép Alexandru Professzor úrnak a kutatásban nyújtott önzetlen segítségükért.

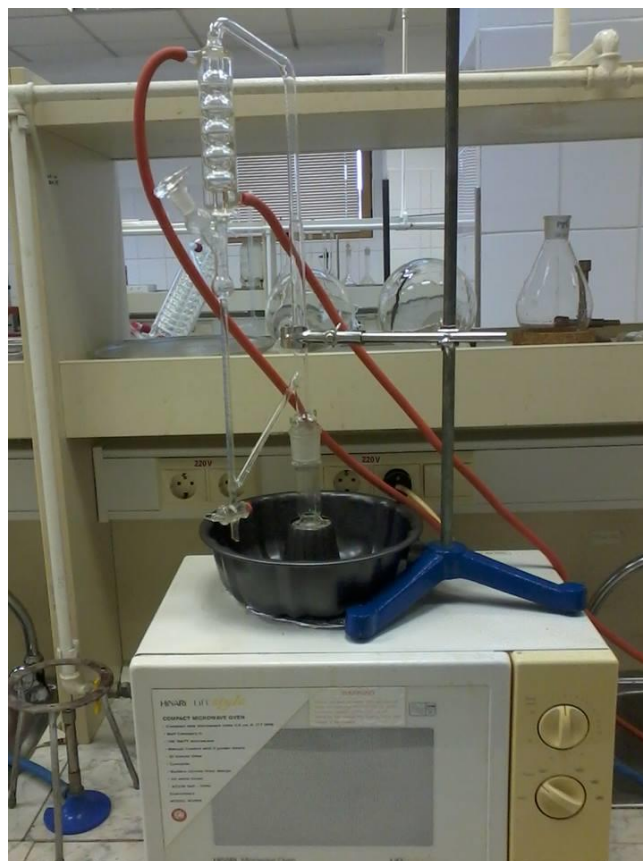
6. Irodalmi jegyzék

1. Bernáth J.: *Gyógy- és aromanövények*, 3. kiadás, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2000, 230-235 o.
2. Szabó L.Gy.: *Gyógynövény-ismereti tájékoztató*, Schmidt und Co.-Méliusz Alapítvány, Pécs, 2005, 109 o.
3. Csedő K. (szerk.): *Plantele medicinale și condimentare din județul Harghita - Hargita megye gyógy- és fűszernövényei*, UJCOOP, Tipografia Tg. Mureș-Marosvásárhely, 1980.
4. Valkovszki N.J.: *Az egyéves konyhakömény (Carum carvi L. var. annuum) termesztéstechnológiai feltételeinek optimalizálása csernozjom réti talajon*, Doktori disszertáció, Corvinus Egyetem, Budapest, 2011.
5. Madisch A., Holtmann G., Mayr G., Vinson B., Hotz J.: Treatment of functional dyspepsia with a herbal preparation, *Digestion*. 2004, **69**(1), 45-52. o.
6. Bonyadian M., Karim G.: Study of the effects of some volatile oils of herbs (pennyroyal, peppermint, tarragon, caraway seed and thyme) against *E. coli* and *S. aureus* in broth media, *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, University of Teheran. 2002, **57**(4), 81-83. o.
7. Satyanarayana S.: Antioxidant activity of the aqueous extracts of spicy food additives - evaluation and comparison with ascorbic acid in in-vitro systems. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 2004, **4**(2), 1-10. o.
8. Eddouks M., Lemhardi A., Michel J.B.: Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats, *Journal-of-Ethnopharmacology*, 2004, **94**(1), 143-148. o.

9. Haggat E.G., Abou-Moustafa M.A., Boucher W., Theoharides T.C.: The effect of a herbal water extract on histamine release from mast cells and on allergic asthma, *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 2003, **3**(4), 41-54. o.
10. Kholif A. M., El-Shewy A.A.: Response of lactating goats to rations supplemented with the medicinal seeds, *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 2004, **12**(2), 559-567. o.
11. Sadraei H., Ghannadi A., Takei-Bavani M.: Effects of *Zataria multiflora* and *Carum carvi* essential oils and hydroalcoholic extracts of *Passiflora incarnata*, *Berberis integerrima* and *Crocus sativus* on rat isolated uterus contractions, *International Journal of Aromatherapy*, 2003, **13**(2/3), 121-127. o.
12. Toxopeus H., Bouwmeester H.J.: Improvement of caraway essential oil and carvone production in The Netherlands, *Industrial Crops and Products*, 1993, **1**, 295-301. o.
13. El-Zemity, K.: Antibacterial screening of some essential oils, monoterpenoids and novel N-methyl carbamates based on monoterpenoids against *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia carotovora*, *Archives of Phytopatology and Plant Protection*, 2008, **41**(6) 451-461 o.
14. Navarrete A., Wallraf, S., Mato, R.B., Cocero, M.J., Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011, **50**, 4667-4671 o.
15. Kubeczka K.H., Formacek V.: *Essential Oil Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester, 2002, 37-40. o.
16. Hornok L.: *Gyógynövények termesztése és feldolgozása*, Mezőgazda kiadó, Budapest, 1990.
17. Paré, J. R. J., and J. M. R. Bélanger, eds. *Instrumental methods in food analysis*. Elsevier, 1997.
18. Chemat F, Abert-Vian M. , Fernandez X.: Microwave-assisted extraction of essential oils and aromas In: Chemat F, Cravotto, G. (Eds.): *Microwave extraction for bioactive compounds. Theory and practice*, Springer Science+Business Media, New York-Heidelberg, 2013.
19. Ganzler K., Salgó A., Valkó K.: Microwave extraction. A novel sample preparation methods for chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1986, 371, 299-306.

20. Craveiro A.A, Matos F.J.A., Alencar J.W., Plumel M.M.: Microwave oven extraction of an essential oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 1989, 4, 43-44.
21. Chemat F., Lucchesi E.M.: Microwave-assisted Extraction of Essential Oils In: Loupy A. (ed.): *Microwaves in Organic Synthesis*, 2nd ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006.
22. Kapás A., András C.D., Dobre T.G., Vass E., Székely G., Stroescu M., Lányi S., Ábrahám B.: The kinetic of essential oil separation from fennel by microwave assisted hydrodistillation (MWHD), *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*, 2011, 73(4), 113-120.
23. Ferhat M.A., Meklati B.Y., Smajda J. Chemat F.: An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *Journal of Chromatography A*, 2006, 1112, 121-126.
24. Lucchesi M.E., Chemat F., Smajda J.: Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation, *Journal of Chromatography A*, 2004, 1043, 323-327.
25. Koedam A.: The influence of some distillation conditions on essential oil composition In: Margaris N., Koedam A., Vokou D. (Eds.): *Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects*, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, 1982.
26. Sovová H., Stateva R.P., Galushko A.A.: Essential oils from seeds: solubility of limonene in supercritical CO₂ and how it is affected by fatty oil, *Journal of Supercritical Fluids*, 2001, 20, 113-129.
27. Sedláková J., Kocourková B., Lojková L., Kubáň V.: Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction, *Plant, Soil and Environment*, 2003, 49(6), 277-282.

Mellékletek



2. kép. Mikrohullámú desztilláló berendezés Clevengerrel.



3. kép. Vízgőz-desztilláció.



3. *kép.* Clevenger hidro-desztillációs berendezés.



5. kép. A szuperkritikus extraktor.