

### **Sposób ekstrakcji substancji polarnych pochodzenia roślinnego**

Przedmiotem wynalazku jest sposób ekstrakcji substancji polarnych pochodzenia roślinnego, przy użyciu czystego CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym, z wstępnie przygotowanego surowca.

Rośliny są źródłem substancji biologicznie aktywnych o charakterze niepolarnym i/lub polarnym. Czysty CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym jest powszechnie używany do ekstrakcji substancji niepolarnych lub o niewielkiej polarności.

Do ekstrakcji związków o charakterze polarnym używa się głównie metod cieczowych, w których rozpuszczalnikami są substancje polarne, np. woda, alkohol etylowy, alkohol metylowy, mieszaniny wodne tych alkoholi lub inne rozpuszczalniki polarne naturalne lub syntetyczne. Wadą tych metod jest niska wydajność ekstrakcji oraz konieczność usunięcia rozpuszczalnika cieczowego z ekstraktu po zakończeniu ekstrakcji.

Z patentu EP 2539032 znany jest Sposób ekstrakcji substancji roślinnych do uzyskania ekstraktu końcowego, który jest pasteryzowany i konserwowany, zgodnie z którym mieszanka substancji roślinnych jest cyklicznie ekstrahowana w cyklach ekstrakcji, składających się z pierwszej fazy, w której mieszanka substancji roślinnych jest w pierwszym worku filtracyjnym częściowo ekstrahowana wodą do uzyskania częściowego ekstraktu oraz z drugiej fazy, w której mieszanka substancji roślinnych jest w drugim worku filtracyjnym ekstrahowana częściowym ekstraktem pierwszej fazy do uzyskania ekstraktu końcowego, przy czym w drugim worku filtracyjnym ekstrahowana jest we wszystkich cyklach ekstrakcji nowa mieszanka substancji roślinnych, a w pierwszym worku filtracyjnym w początkowym cyklu ekstrakcji ekstrahowana jest nowa mieszanka substancji roślinnych, a w kolejnych

cyklach produkcyjnych ekstrakcji ekstrahowana jest częściowo wyekstrahowana mieszanka substancji roślinnych drugiej fazy poprzedniego cyklu ekstrakcji, który charakteryzuje się tym, że przed ekstrakcją, w nowej mieszance substancji roślinnych narusza się wewnętrzną część łodyg lub korzeni lub liści substancji roślinnych poprzez działanie pary wodnej w zamkniętym zbiorniku pod ciśnieniem 1 do 10 bar, korzystnie 3 25 do 6 bar, przez okres 0,5 do 10 minut, korzystnie 3 do 5 minut, po upływie wybranego okresu para jest wypuszczana ze zbiornika.

Znany jest z patentu PL229514 sposób ekstrakcji surowców stałych lub ciekłych nadkrytycznym ditlenkiem węgla, który charakteryzuje się tym, że płyn stanowiący CO<sub>2</sub> poddaje się kolejno co najmniej następującym operacjom: zasysanie gazu ze zbiornika buforowego lub ze źródła zewnętrznego przez bezsmarowy kompresor, napełnianie instalacji ekstrakcji i sprężanie aż do osiągnięcia ciśnienia nadkrytycznego, odpowiedniego dla ekstrahowanych substancji, korzystnie 20-50 MPa, ewentualne schładzanie do temperatury odpowiedniej dla ekstrahowanych substancji, korzystnie 40-90°C, następnie przepuszczanie CO<sub>2</sub> przez jedną lub kilka warstw ekstrahowanego surowca, w jednym lub kilku ekstraktorach, w których następuje ekstrahowanie pożądanych substancji, z kolei jedno- lub dwu- lub kilkustopniowe redukowanie ciśnienia, podgrzewanie, wytrącanie i separowanie wyekstrahowanych substancji, po czym z ostatniego separatora następuje przepływ CO<sub>2</sub> bezpośrednio na ssanie kompresora lub do zbiornika buforowego lub dalsze redukowanie ciśnienia i wypływ do atmosfery.

Znany jest też sposób ekstrakcji substancji polarnych z użyciem niepolarnego CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym polegający na tym, że do strumienia CO<sub>2</sub> dodaje się strumień współrozpuszczalnika polarnego. Celem takiego działania jest zmiana polarności utworzonego rozpuszczalnika, który jest mieszaniną obydwu substancji. Wadą tego sposobu jest konieczność użycia kosztownego ciśnieniowego systemu dozowania współrozpuszczalnika, gdyż pompa musi wprowadzić współrozpuszczalnik do przestrzeni ekstrakcyjnej, w której panuje wysokie ciśnienie robocze takie, jakie wytwarza pompa cyrkulacyjna CO<sub>2</sub>. W praktyce pompa do podawania współrozpuszczalnika do instalacji ciśnieniowej musi być zaprojektowana na takie samo ciśnienie robocze, na jakie została zaprojektowana pompa cyrkulacyjna dla instalacji do ekstrakcji.

Ponadto wytworzony rozpuszczalnik, który jest mieszaniną CO<sub>2</sub> i współrozpuszczalnika polarnego, może zawierać nawet do 20 % molowych tego współrozpuszczalnika. To oznacza, że uzyskany rozpuszczalnik będzie posiadał wyższe parametry krytyczne niż czysty CO<sub>2</sub>, gdy użyty zostanie współrozpuszczalnik polarny o wysokich parametrach krytycznych. Ten przypadek będzie miał miejsce, gdy jako współrozpuszczalnik użyta zostanie woda lub alkohole etylowy lub metylowy albo ich mieszaniny z wodą. Jest to niekorzystne zjawisko ze względu na konieczność podniesienia temperatury i ciśnienia ekstrakcji powyżej wartości ich parametrów krytycznych dla powstałego rozpuszczalnika, co wpłynie na wzrost zużycia energii, a także może mieć negatywny wpływ na aktywność biologiczną wytworzonego ekstraktu.

Dla przykładu, jeśli do ekstrakcji zostanie użyty CO<sub>2</sub> i woda jako współrozpuszczalnik, to otrzymamy mieszaninę o podwyższonych parametrach krytycznych zależnych od udziału wody w strumieniu CO<sub>2</sub>.

Biorąc pod uwagę parametry krytyczne CO<sub>2</sub>, które wynoszą: temperatura krytyczna T<sub>c</sub>=31,1 °C, ciśnienie krytyczne P<sub>c</sub>=73,8 bar oraz wody, której parametry wynoszą: T<sub>c</sub>=374 °C, P<sub>c</sub>=220,5 bar, można obliczyć temperaturę krytyczną i ciśnienie krytyczne tej mieszaniny przy ustalonym udziale współrozpuszczalnika.

Przybliżone parametry krytyczne mieszaniny, o wystarczającej dokładności dla zastosowań technicznych, można obliczyć jako sumę iloczynów udziałów molowych i parametrów krytycznych składników mieszaniny. Dla mieszaniny CO<sub>2</sub> z wodą o zawartości wody w strumieniu CO<sub>2</sub> wynoszącej 10 % mol temperatura krytyczna wynosi:  $T_{cm}=0,9T_c(\text{CO}_2)+0,1T_c(\text{H}_2\text{O})=55,39$  °C, co stanowi wzrost o 24 °C w stosunku do temperatury krytycznej ditlenku węgla. Analogicznie ciśnienie krytyczne mieszaniny wynosi:  $P_{cm}=0,9P_c(\text{CO}_2)+0,1P_c(\text{H}_2\text{O})=88,47$  bar, co również powoduje jego wzrost o 14,7 bara w stosunku do ciśnienia krytycznego ditlenku węgla.

Prowadzenie procesu ekstrakcji w stanie nadkrytycznym wymagać więc będzie w tym przypadku podniesienia temperatury do wartości wyższej od obliczonej temperatury krytycznej, czyli do poziomu powyżej 55,39 °C. Ponadto otrzymany ekstrakt będzie mieszaniną ekstraktu niepolarnego pochodzącego od CO<sub>2</sub> i współrozpuszczalnika polarnego. W zależności od stężenia współrozpuszczalnika w CO<sub>2</sub>, np. 1 %, 5 % lub 10 %, co jest często stosowane w praktyce oraz przy krotności cyrkulacji ditlenku węgla - K<sub>c</sub>, która wynosi od K<sub>c</sub>= 20-200 kg CO<sub>2</sub>/kg wsadu, w

ekstrakcie może pojawić się do 0,8 lub do 4,3 lub do 9 kg ciekłego współrozpuszczalnika na kilogram suchego wsadu, co nie stanowi problemu w skali laboratoryjnej, ale może być kłopotliwe w skali przemysłowej. Rozpuszczalnik ciekły należy usunąć np. metodą odparowania lub liofilizacji. Podsumowując, operacja wprowadzenia współrozpuszczalnika w klasyczny sposób związana jest z koniecznością podniesienia temperatury ekstrakcji powyżej obliczonego punktu krytycznego dla wytworzonego rozpuszczalnika będącego mieszaniną CO<sub>2</sub> i współrozpuszczalnika oraz z koniecznością usunięcia współrozpuszczalnika z ekstraktu po zakończeniu procesu ekstrakcji. Sposób ten znacznie podnosi koszty procesu ekstrakcji.

Według wynalazku sposób ekstrakcji substancji polarnych pochodzenia roślinnego, przy użyciu CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym charakteryzuje się tym, że suchy surowiec przed ekstrakcją poddaje się nawilżeniu współrozpuszczalnikiem polarnym do 20-45 % wilgotności masowej, pozostawia się na czas co najmniej 5 godzin w zamkniętym zbiorniku, po czym ekstrahuje po podniesieniu temperatury do 35-90 °C.

Korzystna wartość wilgotności masowej wsadu wynosi 40%.

Korzystna wartość temperatury ekstrakcji ze względu na zawartość polifenoli wynosi 85 °C.

Nieoczekiwanie okazało się, że nawilżenie wsadu współrozpuszczalnikiem polarnym do poziomu 20-45 % wilgotności masowej, korzystnie 40 %, oraz pozostawienie go w zbiorniku zamkniętym przez czas minimum 5 godzin przed ekstrakcją w celu ustabilizowania zawartości wilgoci w całej objętości wsadu, niezależnie od składu współrozpuszczalnika, pozwala na ekstrakcję substancji polarnych w warunkach ciśnienia i temperatury właściwej dla parametrów krytycznych CO<sub>2</sub>, ale niekoniecznie dla mieszaniny CO<sub>2</sub>+współrozpuszczalnik, jak w przypadku współrozpuszczalnika podawanego przy pomocy pompy. Dla mieszaniny CO<sub>2</sub>+współrozpuszczalnik oznacza to temperaturę ekstrakcji powyżej 31,1 °C, a ciśnienie powyżej 73.8 bar. W praktycznych rozwiązaniach oznacza to możliwość pracy w przedziale temperatury 35-90 °C oraz ciśnienia 250-400 bar.

Wynika to ze zdolności CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym do rozpuszczania niewielkiej, określonej ilości współrozpuszczalników, wynikającej ze stanu równowagi takich

układów w określonych warunkach, co prowadzi do zmiany polarności układu CO<sub>2</sub>+współrozpuszczalnik, ale ma niewielki wpływ na wartości parametrów krytycznych.

Przeprowadzone badania optymalizacyjne ze względu na wydajność ekstrakcji według proponowanego sposobu pokazały, że przy ekstrakcji związków polarnych z grupy polifenoli, flawonoidów, katechin oraz cukrów, parametry optymalne, które zapewniają maksymalną wydajność wynoszą: temperatura ekstrakcji to 85 °C, a ciśnienie to 330 bar. Te parametry pozwoliły także skrócić czas ekstrakcji. Wyniki badań analitycznych zawartości polifenoli w ekstraktach pokazały, że zawartość ich jest o około 71 % wyższa przy temperaturze ekstrakcji wynoszącej 85 °C, w porównaniu do średniej zawartości polifenoli przy innej temperaturze. Jednocześnie ilość współrozpuszczalnika ciekłego w ekstrakcie jest w tym przypadku niższa niż przy klasycznym podawaniu współrozpuszczalnika przy pomocy pompy.

Po zakończeniu procesu ekstrakcji współrozpuszczalnik należy usunąć najlepiej z użyciem wyparki próżniowej oraz dodatkowo liofilizatora, gdyby była taka potrzeba. Wytworzony ekstrakt zawiera związki polarne i może występować w postaci suchej stałej masy lub pasty.

Przedmiot wynalazku zostanie pokazany w przykładach wykonania

#### Przykład 1

Poddano ekstrakcji wsad biomasy z wierzby wiciowej o masie 4,5 kg według proponowanego sposobu. Suchy wsad nawilżono wodą destylowaną do poziomu 40 % masowych uwzględniając wodę zawartą we wsadzie. Następnie pozostawia się mieszaninę na co najmniej 5 godzin w zamkniętym zbiorniku, po czym prowadzi ekstrakcję w temperaturze 50 °C przy ciśnieniu 330 bar przez 4 godziny. W wyniku procesu ekstrakcji wyprodukowano 3,154 kg ekstraktu. Po poddaniu tego ekstraktu destylacji na wyparce próżniowej odzyskano 0,068 kg stałego ekstraktu. Resztę, czyli 3,086 kg stanowiła woda.

#### Przykład 2

Poddano ekstrakcji wsad biomasy z wierzby wiciowej o masie 5 kg według proponowanego sposobu. Suchy wsad nawilżono 60 % wodnym roztworem etanolu do poziomu 40 % masowych uwzględniając wodę zawartą we wsadzie. Mieszaninę

biomasy z wodą pozostawia się na 10 godzin w zamkniętym zbiorniku, a następnie prowadzi się ekstrakcję w temperaturze 85 °C przy ciśnieniu 400 bar przez 2,5 godziny. W wyniku procesu ekstrakcji wyprodukowano 3,420 kg ekstraktu. Po poddaniu tego ekstraktu destylacji na wyparce próżniowej odzyskano 0,087 kg stałego ekstraktu. Resztę, czyli 3,333 kg stanowił wodny roztwór etanolu.

#### Przykład 3

Poddano ekstrakcji wsad biomasy z topoli o masie 3,5 kg według proponowanego sposobu. Suchy wsad nawilżono etanolem 96 % do poziomu 20 % w odniesieniu do suchej masy i taką mieszaninę przetrzymywano przez 14 godzin w zamkniętym zbiorniku. Ekstrakcję prowadzono w temperaturze 40 °C przy ciśnieniu 400 bar przez 3 godziny. W wyniku procesu ekstrakcji wyprodukowano 0,875 kg ekstraktu. Po poddaniu tego ekstraktu destylacji na wyparce próżniowej odzyskano 0,051 kg stałego ekstraktu. Resztę, czyli 0,824 kg stanowił etanol.

#### Przykład 4

Poddano ekstrakcji wsad biomasy ze słonecznika wierzbolistnego o masie 4 kg według proponowanego sposobu. Suchy wsad nawilżono 40 % wodnym roztworem etanolu do poziomu 30 % w odniesieniu do suchej masy i przetrzymywano w czasie 20 godzin w zamkniętym zbiorniku. Ekstrakcję prowadzono w temperaturze 90 °C przy ciśnieniu 250 bar przez 2 godziny. W wyniku procesu ekstrakcji wyprodukowano 1,714 kg ekstraktu. Po poddaniu tego ekstraktu destylacji na wyparce próżniowej odzyskano 0,096 kg stałego ekstraktu. Resztę, czyli 1,618 kg stanowił wodny ekstrakt etanolu.