

# EKSTRAKCJA OLEJU Z MAKUCHÓW DWUTLENKIEM WĘGLA W STANIE NADKRYTYCZNYM

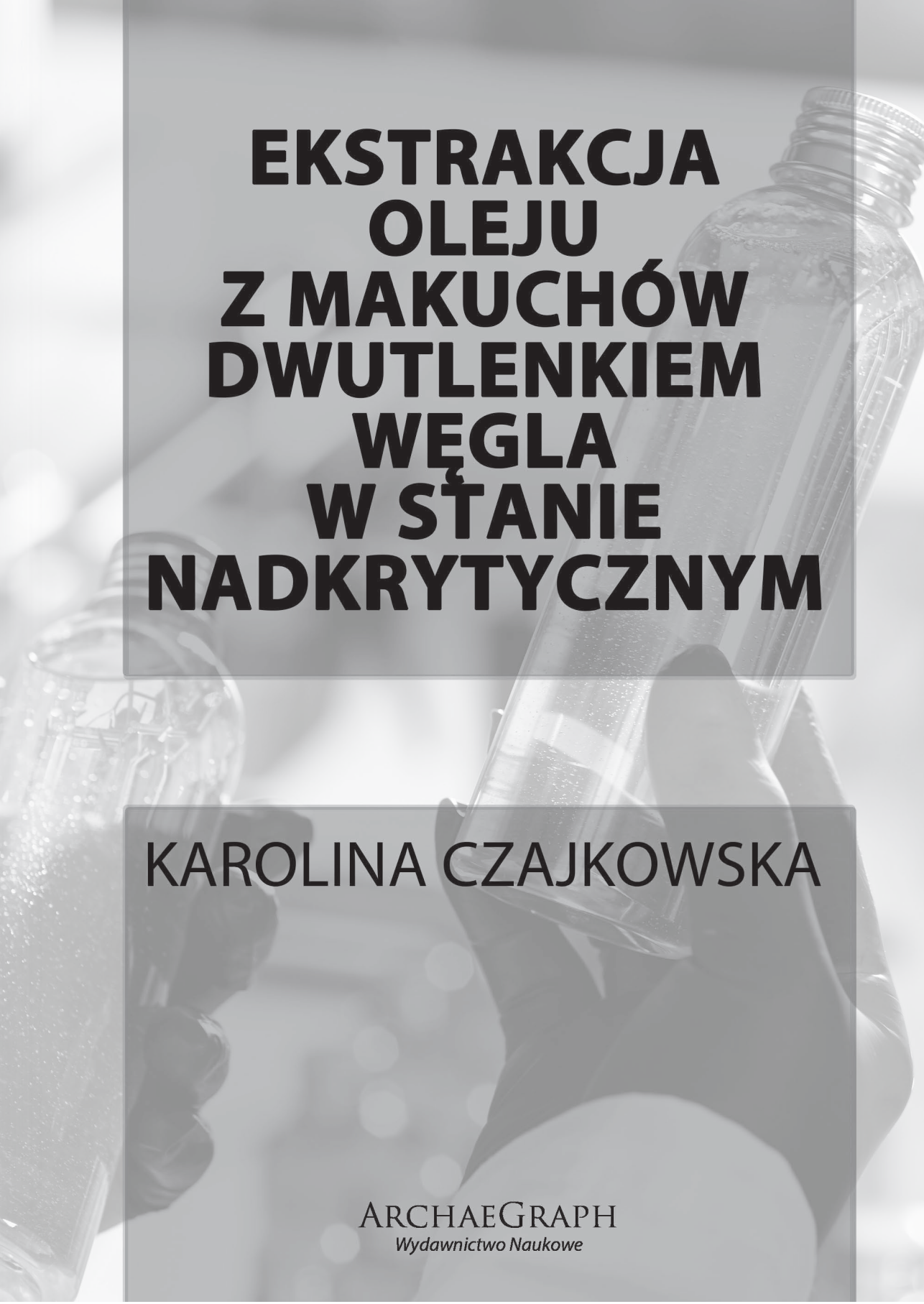
KAROLINA CZAJKOWSKA

ARCHAEGRAPH  
*Wydawnictwo Naukowe*

EKSTRAKCJA OLEJU Z MAKUCHÓW  
DWUTLENKIEM WĘGLA  
W STANIE NADKRYTYCZNYM

KAROLINA CZAJKOWSKA





**EKSTRAKCYJA  
OLEJU  
Z MAKUCHÓW  
DWUTLENKIEM  
WĘGLA  
W STANIE  
NADKRYTYCZNYM**

**KAROLINA CZAJKOWSKA**

ARCHAEGRAPH  
*Wydawnictwo Naukowe*

AUTORKI

KAROLINA CZAJKOWSKA

POLITECHNIKA BYDGOSKA IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH

REDAKCJA

MGR MAŁGORZATA BUDNIK-MINIERSKA

RECENZJA

DR INŻ. RAFAŁ ŚPIEWAK

SKŁAD I PROJEKT OKŁADKI

KAROL ŁUKOMIAK

© COPYRIGHT BY AUTHORS & ARCHAEGRAPH

ISBN: 978-83-67959-00-1

WERSJA ELEKTRONICZNA DOSTĘPNA NA STRONIE INTERNETOWEJ WYDAWCY:

[www.archaeograph.pl](http://www.archaeograph.pl)

ARCHAEGRAPH  
*Wydawnictwo Naukowe*

ŁÓDŹ, WRZESIEŃ 2023

# SPIS TREŚCI

PRZEDMOWA.....	6
ROZDZIAŁ 1	
EKSTRAKCYJA NADKRYTYCZNA DWUTLENKIEM WĘGLA.....	6
1.1. CHARAKTERYSTYKA.....	8
1.2. WADY I ZALETY PROCESU EKSTRAKCYJI NADKRYTYCZNEJ.....	10
1.3. ZASTOSOWANIE EKSTRAKCYJI NADKRYTYCZNYM CO <sub>2</sub> W PRZEMYSŁE.....	11
ROZDZIAŁ 2	
MAKUCHY – POZYSKIWANIE, WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIE.....	13
2.1. POZYSKIWANIE MAKUCHÓW.....	13
2.2. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I ZDROWOTNE WYBRANYCH MAKUCHÓW.....	14
2.3. ZASTOSOWANIE I ZAGOSPODAROWANIE WYBRANYCH MAKUCHÓW.....	19
ROZDZIAŁ 3	
RÓŻNE SPOSOBY ROZDZIELANIA MIESZANIN OBOK EKSTRAKCYJI.....	22
3.1. SĄCZENIE.....	22
3.2. DESTYLACJA.....	23
3.3. KRYSTALIZACJA.....	24
3.4. SUBLIMACJA.....	25
3.5. CHROMATOGRAFIA.....	26
ROZDZIAŁ 4	
KLASYCZNE I WSPÓŁCZESNE METODY EKSTRAKCYJI W UKŁADZIE CIAŁO STAŁE-CIECZ.....	29
4.1. KLASYCZNE METODY EKSTRAKCYJI.....	29
4.2. WSPÓŁCZESNE METODY EKSTRAKCYJI.....	32
4.3. CEL PRACY.....	37

ROZDZIAŁ 5	
STOSOWANA APARATURA BADAWCZA I ODCZYNNIKI.....	42
5.1. APARATURA.....	42
5.2. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY.....	42
5.3. MATERIAŁ BADAWCZY.....	43
ROZDZIAŁ 6	
METODYKA BADAŃ.....	44
6.1. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI SUCHEJ MASY.....	44
6.2. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU ZA POMOCĄ APARATU SOXTECA.....	44
6.3. EKSTRAKCJA SFE OLEJU Z MAKUCHU SEZAMOWEGO.....	44
6.4. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI BIAŁKA W MAKUCHU SEZAMOWYM.....	45
ROZDZIAŁ 7	
WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE.....	47
7.1. EKSTRAKCJA OLEJU Z MAKUCHU SEZAMOWEGO METODĄ SFE.....	51
WNIOSKI.....	54
LITERATURA.....	55

# PRZEDMOWA

W części literaturowej pracy opisanych jest wiele zalet techniki ekstrakcji SFE nadkrytycznym dwutlenkiem węgla. Przedstawiono właściwości fizykochemiczne i zdrowotne makuchów oraz sposoby ich zagospodarowania. Celem pracy było zbadanie wydajności ekstrakcji oleju nadkrytycznym dwutlenkiem węgla z makuchu sezamowego. Odpad ten to inaczej produkt uboczny tłoczenia oleju roślinnego na zimno, czyli metody, zapewniającej, że wartości odżywcze zarówno w wytłoczonym oleju jak i pozostałym wytloku nie uległy termicznej degradacji. W części badawczej skupiono się na wykazaniu skuteczności ekstrakcji SFE jako techniki wydajnej do pozyskania oleju z makuchu. Przeprowadzono proces ekstrakcji SFE i oznaczono całkowitą zawartość białka metodą Kjeldahla dla makuchu sezamowego przed i po procesie ekstrakcji. Zastosowanie procesu SFE do usunięcia tłuszczu z makuchu spowodował podwyższenie jakości makuchu przez zwiększenie ilości w nim białka.

Pragnę podziękować wszystkim osobom, które były zaangażowane w tworzenia przedmiotowej monografii, tj. Wydawnictwu oraz recenzentowi.

Pokładam nadzieję, że powstała monografia naukowa, będąca efektem wnikliwej analizy poruszanego zagadnienia będzie stanowić przyczynę do dalszej dyskusji, jak również do badań naukowych w tym przedmiocie.



## EKSTRAKCYJA NADKRYTYCZNA DWUTLENKIEM WĘGLA

### 1.1. CHARAKTERYSTYKA

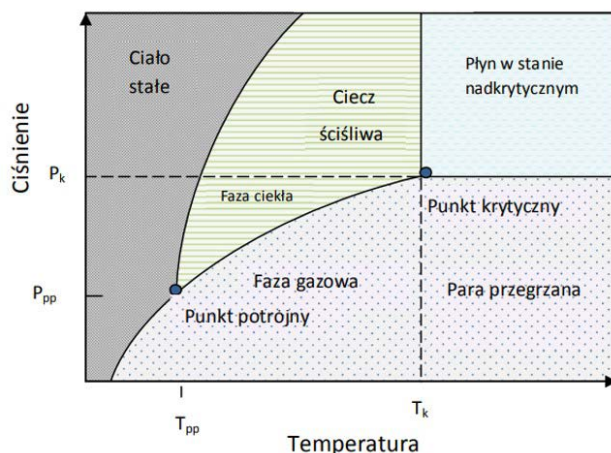
Odkrycia stanu nadkrytycznego pierwszy raz dokonano w 1822 r. przez C. Cagniard de la Tour. Badania nad stanem nadkrytycznym rozpoczęto w latach 70. XIX w. przez Andrewsa. Cechy rozpuszczające płynów w stanie nadkrytycznym potwierdzono w 1879 r. przez Hannay i Hogharth [1,2].

Wiek później płyny nadkrytyczne zaczęły być bardziej wykorzystywane. Na przykład w przemyśle paliwowym w latach 20. XX w. [3].

Już w latach 60. XX i 70. XX w. doskonalono ekstrakcję nadkrytycznym dwutlenkiem węgla z naturalnych substratów takich jak kawa. W latach 80. i 90 XX w. w Europie, USA i Australii nastąpił rozwój technik stosujących ekstrakcję nadkrytyczną na skalę przemysłową [2].

Ekstrakcja jest to popularna metoda rozdzielania (przy użyciu odpowiedniego ekstrahenta inaczej rozpuszczalnika wtórnego) jednego lub kilku składników z mieszaniny ciekłej lub stałej. Odbywa się to za pomocą procesu dyfuzji. Natomiast ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym - SFE (Supercritical Fluid Extraction) to rodzaj ekstrakcji, która wykorzystuje stan nadkrytyczny określonych gazów lub cieczy. Stan nadkrytyczny to taki stan danej substancji, w którym jej temperatura i ciśnienie są większe od ciśnienia i temperatury punktu krytycznego. Dla dwutlenku węgla te graniczne zakresy wynoszą powyżej 31°C i 73,8 Bar [4]. Po przekroczeniu tych granic omawiany gaz wchodzi w czwarty stan skupienia pomiędzy cieczą, a gazem, zachowując te pozytywne właściwości każdego z nich, które pozwalają być idealnym ekstrahentem. Nadkrytyczny dwutlenek węgla tak jak gaz posiada zdolność do mieszania się z innymi gazami, ma bardzo małe napięcie powierzchniowe,

niską lepkość i niski współczynnik dyfuzji. Jego gęstość jest zbliżona do gęstości cieczy i może być modyfikowana zmianą parametrów temperatury i ciśnienia co powoduje, że można go, jako rozpuszczalnik, dostosować do konkretnych surowców. Łatwo jest uzyskać punkt krytyczny  $\text{CO}_2$ , co sprawia, że przeprowadzenie procesu może odbyć się w niskich temperaturach, bo już w około  $31^\circ\text{C}$ .



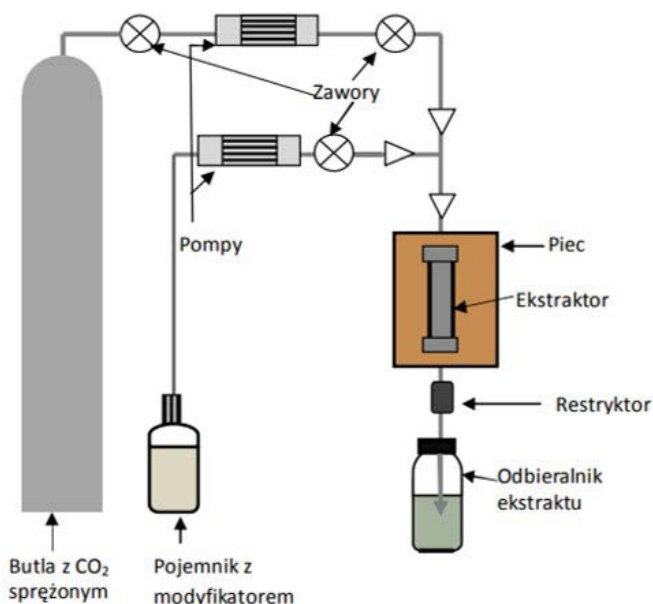
**Rysunek 1.** Schemat typowego diagramu przemian fazowych w układzie ciśnienia i temperatury dla czystej substancji [71].

Podczas samego procesu skompresowany  $\text{CO}_2$  pod wysokim ciśnieniem do 300 Bar przy niskiej temperaturze około  $31^\circ\text{C}$  zwiększa wnikanie do naszego badanego materiału, a cały proces zachodzi bez dostępu powietrza. Dzięki temu nasz wyrób nie utleni się, zachowa swoje cenne właściwości aktywne, organoleptyczne i zdrowotne, a przy tym nie będzie zanieczyszczony metalami, których dwutlenek węgla nie jest w stanie wyodrębnić [5]. Po zrealizowanym procesie dwutlenek węgla zmienia się w gaz i ucieka z mieszaniny bez śladu. Ze względu na to, że jest dodatkowo niepalny ani nietoksyczny i możliwy do recykulacji to nie szkodzi środowisku ani negatywnie nie wpływa na zdrowie człowieka [4]. Cały proces SFE odbywa się w specjalnej aparaturze.

Proces SFE może być wykonany na 3 sposoby:

- dynamiczny, polegający na ciągłym przepuszczaniu płynu nadkrytycznego za pomocą ekstraktora z próbką i zebraniu powstałego ekstraktu w odbieralniku. Efektywność procesu zależy od dobrania odpowiednich analitów, gdyż styczność płynu ze składnikami próbki jest krótka [6];

- statyczny, używany dla słabo rozpuszczalnych analitów i próbek mających zwartą i trudno dostępną matrycę. Polega na umieszczeniu próbki w płynie, gdzie następnie płyn ten z rozpuszczonymi analitami przepływa do odbieralnika [6];
- przez recyrkulację płynu w stanie nadkrytycznym, polegającą na wielokrotnym ponownym powracaniu, a potem przepuszczaniu płynu nadkrytycznego za pomocą ekstraktora przed wypłynięciem do odbieralnika [7].



**Rysunek 2:** Schemat zestawu do ekstrakcji płynem ( $\text{CO}_2$ ) w stanie nadkrytycznym [71].

## 1.2. WADY I ZALETY PROCESU EKSTRAKCJI NADKRYTYCZNEJ

Ekstrakcja nadkrytyczna  $\text{CO}_2$  jest całkiem nową techniką, która staje się coraz bardziej popularna [8]. Obecnie w porównaniu do innych ekstrakcji, jest to metoda najbardziej efektywna, aby uzyskać ekstrakty bez utraty ich cennych wartości. Metoda ta bowiem używa nietoksycznego, niepalnego, przyjaznego środowiska rozpuszczalnika, jakim jest dwutlenek węgla, który wydobywa z rośliny najcenniejsze związki [9].

Wady SFE:

- CO<sub>2</sub> jest skutecznym rozpuszczalnikiem tylko dla związków o budowie niepolarnej, dlatego ma ograniczony zakres używalności;
- aparatura SFE (wysokociśnieniowa) jest kosztowna.

Zalety SFE:

- stosunkowo niskie temperatury procesu pozwalają na zachowanie jak największej ilości cennych składników w oleju;
- toksyczne, palne rozpuszczalniki są zastąpione nietoksycznym i niepalnym rozpuszczalnikiem - CO<sub>2</sub> (przy odpowiednio małym stężeniu tego gazu jest nietoksyczny), który zachowuje chemiczną czystość powstałego ekstraktu;
- CO<sub>2</sub> można ponownie zawrócić do obiegu, co zmniejsza koszty produkcyjne;
- po procesie CO<sub>2</sub> jako gaz ulatnia się do atmosfery, nie zostawiając po sobie żadnych niepotrzebnych odpadów;
- technika odbywa się bez dostępu powietrza, zwiększając ochronę substancji przed procesami oksydacyjnymi;
- metoda ta jest najbardziej wydajna co do związków niepolarnych w porównaniu do innych metod wydobywania cennych właściwości z olejów roślinnych;
- rozpuszczalnik CO<sub>2</sub> dzięki swoim selektywnym właściwościom potrafi dobrze oczyścić substrat, tak by wydobyć z niego najcenniejsze wartości;
- dzięki dwutlenkowi węgla, można łatwo kierować rozpuszczalnością wielu substancji przez zmianę parametrów procesu oraz samymi właściwościami rozpuszczalnika.

### 1.3. ZASTOSOWANIE EKSTRAKCYJ NADKRYTYCZNYM CO<sub>2</sub> W PRZEMYSŁE

Zastosowanie SFE w przemyśle jest duże. Proces ten stosuje się najczęściej w przemyśle spożywczym, ale i również w kosmetycznym, farmaceutycznym, perfumeryjnym czy paliwowym [10].

Warto podkreślić, że SFE zalicza się do koncepcji tzw. zielonej chemii, sprzyjając środowisku i zdrowiu człowieka przez m.in. nie używanie szkodliwych rozpuszczalników. Również niska temperatura użytkowania

nie sprzyja takim procesom jak: izomeryzacja, polimeryzacja czy oksydacja, oraz zapobiega degradacji termicznej składników ekstraktu [11]. W instalacji SFE znajduje się obojętny chemicznie dwutlenek węgla, który umożliwia to, że nawet przy podwyższeniu temperatury np.: procesy utlenienia, nie zachodzą. Gaz ten krąży w obiegu zamkniętym, co sprawia, że może być on recykulowany, a jego zużycie zmniejszone do minimum [12].

Metoda SFE używana jest głównie do: ekstrakcji naturalnych barwników, chmielu, smaków i aromatów, olejów roślinnych, estrów kwasów tłuszczowych, dezodoryzacji oleju i tłuszczu, usuwaniu tłuszczu zwierzęcego, dekofeinacji kawy [10].

Dekofeinacja to pierwsze przemysłowe zastosowanie SFE, które miało miejsce w Niemczech w roku 1978 [13].

Proces polega na usunięciu kofeiny, która jest w tym procesie odpadem. Parametry procesu to: temperatura między 40-80°C, ciśnienie 120-180 atmosfer, a czas 5-30 h [14].

Ziarna kawy należy zwilżyć wodą przed umieszczeniem ich w ekstraktorze ciśnieniowym, gdyż zbyt niewydajna jest ekstrakcja suchych ziaren kawy [1].

Proces ekstrakcji SFE stosowany także do przebiegu procesów: krystalizacji, impregnacji, mikronizacji oraz w chromatografii SFC [15].

Ekstrakcja z szyszek chmielowych do produkcji piwa jest wydajna, a w procesie można wyekstrahować również tłuszcze, olejki eteryczne i gorzkie kwasy, które nie tracą swoich cennych właściwości przez długi czas. Proces SFE zastąpił klasyczne metody ekstrakcji toksycznymi rozpuszczalnikami, takimi jak np. chlorek metylenu. Użycie w jego miejscu czystego dwutlenku węgla znacznie poprawiło skład powstałego olejku chmielowego [1,16].

Również do otrzymywania napojów bezalkoholowych wysokiej jakości stosuje się SFE, w połączeniu z destylacją. Można najpierw rozdzielić aromat z wina i etanolu metodą destylacji lub SFE. Najlepsze efekty otrzymamy przez dodanie do napoju bezalkoholowego powstałych w ten sposób aromatów [16].

SFE jest również dobrym sposobem do wydobywania cennych olejków eterycznych [17], czyli pozyskiwania ze związków najbardziej lotnych substancji np. aromatu z cytryny [18].

# MAKUCHY – POZYSKIWANIE, WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIE

### 2.1. POZYSKIWANIE MAKUCHÓW

Makuchy to inaczej wytloki, które są odpadami produkcyjnymi. Zaliczyć je można do produktów ubocznych. Otrzymuje się je podczas procesu tłoczenia oleju z różnych nasion. Nasiona te najczęściej uzyskiwane z roślin: konopi; wiesiołka, czarnuszki, sezamu, rzepaku, słonecznika, lnu, orzechów. Proces tłoczenia stosuje siłę nacisku lub siłę ścinającą, co powoduje mechaniczne wyodrębnienie oleju z rośliny [19].

Można wyróżnić tłoczenie na zimno i na gorąco za pomocą prasy ślimakowej oraz ekstrakcję tłuszczu z użyciem rozpuszczalnika organicznego. Za pomocą tych procesów możemy uzyskać z roślin olej oraz produkt uboczny: makuchy.

Charakterystyczną cechą tłoczenia na zimno jest pozyskanie oleju o wysokiej jakości bez stosowania rafinacji. Zachowane są wtedy cenne wartości składników aktywnych i występuje niewielka ilość zanieczyszczeń nietriacyloglicerolowych [20,21]. Ten typ tłoczenia zachodzi w stosunkowo niskich temperaturach nieprzekraczających 50°C [19]. Wytłok powstały po tym procesie na pewno może być użyty jako pasza dla zwierząt [22]. Tłoczenie na gorąco, jak sama nazwa wskazuje, dopuszcza już wyższe temperatury, zazwyczaj powyżej 80°C [19]. W tej metodzie wytwarzana jest większa ilość oleju i zazwyczaj dwuetapowo, czyli olej powstały po tłoczeniu na zimno, poddawany jest tłoczeniu na gorąco w taki sposób, by jeszcze bardziej zminimalizować ilość pozostałego oleju w makuchach [23]. W celu zwiększenia wydajności procesu tłoczenia można zastosować tzw. procesy wstępne np.: płatkowanie, prażenie,

rozdrabnianie, obróbkę termiczną. Zwiększają one wydobyte wraz z olejem związków (takich jak chlorofile, fosfolipidy, tokoferole, sterole, karotenoidy) które wpływają na stabilność utleniającą jak i dobrą jakość mikrobiologiczną i organoleptyczną oleju [24].

Sama ekstrakcja rozpuszczalnikiem organicznym jest rzadko stosowana ze względów ekonomicznych i ekologicznych. Z reguły stosuje się łączenie tej ekstrakcji ze wstępnym tłoczeniem. Oleje rafinowane powstają przez pierwsze tłoczenie na gorąco, a potem używana jest klasyczna metoda ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika organicznego [25]. Te tradycyjne metody ekstrakcji ciekłymi rozpuszczalnikami potrzebują dużej ilości energii, przy czym rozpuszczalniki ciekłe są szkodliwe dla środowiska. Alternatywą jest metoda ekstrakcji z użyciem dwutlenku węgla-SFE.

Ekstrakcja rozpuszczalnikiem organicznym jest mniej skuteczna w porównaniu do ekstrakcji SFE. Po tym procesie rozpuszczalnik trzeba usunąć zarówno z misceli, czyli inaczej z oleju w rozpuszczalniku i ze śruty, czyli inaczej z makuchu po jednorazowym rozdrobnieniu. W SFE stosowany jest CO<sub>2</sub> jako rozpuszczalnik, który ulatnia się samoistnie po zakończonym procesie [26].

Na przykładzie badania składu wolnych kwasów tłuszczowych w ekstraktach z pyłku rzepaku można porównać skuteczność i jakość uzyskanych esencji. W badaniu zastosowano ekstrakcję SFE i ekstrakcję eterem naftowym, gdzie co do jakości, ilość otrzymanych nienasyconych kwasów tłuszczowych jest większa w metodzie SFE. Zdecydowanie mają na to wpływ parametry procesu tj. czas i temperatura. W ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym temperatura wynosi 70°C, a czas ekstrakcji to 12 godzin. Za to w ekstrakcji CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym zarówno temperatura jest niższa, 45°C, jak i czas procesu, wynoszący tylko 90 minut. Niska temperatura jest tu kluczem, by zachować jak najwięcej cennych wartości odżywczych oleju, by nie uległy one degradacji [27].

## 2.2. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I ZDROWOTNE WYBRANYCH MAKUCHÓW

Wilgotność, zawartość białka, tłuszczu, mikroelementów i makroelementów to są jedne z podstawowych właściwości fizykochemicznych makuchów. Te produkty uboczne, wbrew pozorom mają dużo odżywczych składników, są bogate w białka, zdrowe kwasy tłuszczowe, błonnik pokarmowy. Przeciętnie to makuchy sezamowe, z orzechów włoskich czy konopne mają najwięcej

białka. Białka zbudowane są z aminokwasów lub też zawierające grupę prostetyczną [28]. Ogólnie można je podzielić na proste i złożone. Chociaż do składu białka zaliczamy również azotowe związki niebiałkowe [29].

Pozostałości po produkcji olejów – tzw. makuchy, mają dużo większą trwałość w stosunku do wyłoków owocowo-warzywnych. Na przykład makuchy mają dość dużą trwałość mikrobiologiczną. Wynika to z ich niskiej wilgotności w zakresie zazwyczaj od 4-8% [30]. Również dodatkową zaletą wyłoków oleistych np.: kokosowych, rzepakowych jest wysoka zawartość w nich błonnika pokarmowego [31]. To co może poróżniać makuchy to zawartość tłuszczów. W zależności od przebiegu procesu i jego parametrów ilość tłuszczu w poszczególnych makuchach może się znacznie różnić od siebie [32].

Możemy znaleźć w nich kwasy tłuszczowe jednonienasycone, wielonienasycone i nasycone. Najwięcej kwasów tłuszczowych jednonienasyconych występuje w makuchach rzepakowych i oliwnych, a kwasów tłuszczowych wielonienasyconych najwięcej jest w makuchach np.: konopnych, słonecznikowych, lnianych.

Mniej więcej 40-45% kwasów nienasyconych, w stosunku do całości pozostałego oleju występuje w wyłokach sezamowych [32,33]. Jeśli chodzi o mikroelementy i makroelementy w wyłokach roślin oleistych to jest ich dość dużo. Wymienić można m.in. wapń, mangan, cynk, potas, magnez, sód. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach nie występują w dużej ilości. Więcej można znaleźć witamin rozpuszczalnych w wodzie np.: witamina B [34].

Związki takie jak tokoferole i karotenoidy występują w roślinach oleistych, za to cechą charakterystyczną jest to, że wyłoki po produkcji olejów zawierają jedynie związki fenolowe [33]. Nadmiar związków fenolowych nie jest wskazany, gdyż może to pogarszać działanie enzymów trawiennych, zakłócając tym odpowiedni metabolizm. Jednak odpowiednia ich ilość działa pozytywnie np.: przeciwzapalnie, przeciwstarzeniowo [32].

Wyłoki sezamowe mają wiele wartości korzystnych dla zdrowia, np.: działanie przeciwutleniające, działanie obniżające poziom cholesterolu we krwi. Bogate są w witaminę B<sub>1</sub>, miedź, fosfor, magnez, cynk [35]. W swoim składzie zawierają głównie sezamol i sezaminol, a także glikozydy i lignany [36]. Makuchy z amarantusa zawierają takie aminokwasy jak lizyna, metionina, cysteina. Zawarte w nich białka obniżają poziom „złego” cholesterolu we krwi [37]. Makuchy z wiesiołka bogate są w kwasy tj. kwas gamma-linolenowy i kwas linolowy w większym procencie oraz np.: w witaminę E, selen, magnez, cynk. Wyłoki mają działanie pozytywne w zapewnieniu odpowiedniego przepływu krwi w organizmie, w regeneracji skóry [38,39]. Makuchy



z konopi składają się ze zdrowych kwasów tj. kwasu linolowego,  $\gamma$ -linolenowego i  $\alpha$ -linolenowego oraz z tokoferoli, wapnia, cynku, fosforu, witamin K i E, z kannabinoidów. Znalazły zastosowanie głównie w medycynie [40]. Makuch z czarnuszki zawiera w swoim składzie substancję - tymochinon. Bardzo pozytywnie ona wpływa na organizm, m.in. ma działanie przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwnowotworowe [41]. Makuchy ze słonecznika zawierają fitosterole, duże ilości witaminy E i B oraz są bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe. Ich działanie pozytywne polega na obniżaniu cholesterolu LDL, na wzmacnianiu układu krwionośnego, nerwowego i działaniu przeciwnowotworowym [42].



**Rysunek 3.** makuch z amarantusa [43]



**Rysunek 4.** makuch z wiesiołka [43]



**Rysunek 5.** makuch z sezamu [43]



**Rysunek 6.** makuch z konopii [43]



**Rysunek 7.** makuch ze słonecznikiem [43]



**Rysunek 8.** makuch z czarnuszki [43]



**Rysunek 9.** makuch z rzepaku [43]



**Rysunek 10.** makuch lniany [43]



**Rysunek 11.** makuch z lnianki [43]

### 2.3. ZASTOSOWANIE I ZAGOSPODAROWANIE WYBRANYCH MAKUCHÓW

W zależności od parametrów procesu, metody pozyskiwania wytlóków, ich rodzaju, właściwości fizykochemicznych to można w różnoraki sposób je wykorzystać. Możemy to zbadać, analizując ich wartości odżywcze w laboratorium [44].

To, jak możemy zagospodarować wytlóki z roślin oleistych podane jest poniżej:

- produkcyjne biotechnologiczne procesy

Produkcyjne biotechnologiczne procesy to np.: produkcja enzymów z pożywek hodowlanych. Enzymy są potrzebne do prawidłowego funkcjonowania układu trawiennego u organizmów żywych [45]. Możemy otrzymać takie enzymy jak fitaza, glutaminaza, czy lipaza, która wyprodukowana została w 50 latach XX wieku i obecnie wytwarzana jest z wytlóków palmowych, bawełnianych, sezamowych i kokosowych [46].

- wytwarzanie nawozów i środków ochrony roślin – naturalnych

Polega na wytwarzaniu np.: z wytlóków organicznych nawozów azotowych. Ich zadaniem jest ochrona roślin przed szkodnikami i czynnikami zewnętrznymi. Nawozy te ułatwiają roślinom absorpcję azotu, który jest kluczowy w dalszym pozytywnym ich rozwoju [47].

- przemysł żywności i pozyskiwanie cennych substancji

Między innymi stosuje się do produkcji mąk wyłokowych, zdrowych dodatków do np.: chleba bezglutenowego. Przeprowadza się wiele badań w celu odkrywania coraz to lepszych właściwości i lepszego użycia makuchów [48]. Dodanie do zwykłej mąki makuchów już ją wzbogaca o cenne aminokwasy i witaminy [49]. Sam dodatek mąk wyłokowych do żywności, zmniejsza poziom niezdrowych substancji np.: cukrów prostych w nowo powstałym produkcie [50]. Wzrasta za to zawartość mikroelementów i makroelementów, związków fenolowych i białka [48]. Wyłoki sezamowe mają wiele wartości zdrowotnych np.: działanie przeciwutleniające, działanie obniżające poziom cholesterolu we krwi. Wzbogacone są w witaminę B<sub>1</sub>, miedź, fosfor, magnez, cynk [36]. W swoim składzie zawierają glikozydy i lignany, ale głównie sesamol i sesaminol. Składniki takie jak: nienasycone kwasy tłuszczowe, białka, błonnik pokarmowy, związki mineralne i witaminy zawarte w wyłokach, zwiększają jakość produktów spożywczych i tym samym możliwości zastosowania makuchów. Stanowią one też alternatywę naturalną dla sztucznych związków [51].

Na przykład wyłoki z orzecha włoskiego zawierają wiele cennych substancji, takich jak: tokoferole, błonnik pokarmowy, mikroelementy i makroelementy [52].

Zawierają też cenne polifenole, które dodane do żywności przedłużają ich termin przydatności do spożycia [53]. Obecnie wiele wyłoków np.: kokosowych, lnianych, konopnych, możemy zastosować do produkcji odżywek białkowych [54,55]. Wzbogacają one właściwości odżywcze produktów żywnościowych, stosowanych najczęściej dla sportowców, małych dzieci i dla niemowląt [56,57]. W celu uzyskania jak najlepszej jakości białek z wyłoków firma Napiferyn Biotech, stosuje opatentowane przez siebie procesy: fluidyzację i filtrację, pozwalające pozyskać bez białko obciążania środowiska [58]. Dzięki dodatkom wyłoków do kosmetyków i żywności zwiększa się ich przydatność lub trwałość. Powstrzymują one procesy utleniania związków, nie zmieniając ich walorów smakowych. Na przykład dodanie wyłoków oliwnych do jagnięcego pasztecika, przedłużyło ich przydatność o 3 dni [59,60].

- produkcja pasz

Makuchy są produktem ubocznym, co oznacza, że mogą stać się tanim źródłem żywienia dla zwierząt hodowlanych w zamian za często drogą, kupowaną w sklepach karmę. Wyłoki są uznanym oficjalnie przez Komisję Europejską dodatkiem, do produktów paszowych w celu poprawienia ich

właściwości odżywczych [61]. Makuchy mogą znacznie zmienić skład pasz, dzięki zawartości wysokiej ilości białka, niskiej zawartości skrobi. Najczęściej stosowane do pasz są makuchy rzepakowe, słonecznikowe, bawełniane i sojowe dla zwierząt gospodarskich [62]. Powinny być one jedynie dodatkiem do pasz, gdyż użyte bezpośrednio dla zwierząt, mogłyby ograniczyć ich rozwój i aktywność fizyczną. Jest to spowodowane dużą ilością błonnika pokarmowego, który nie jest łatwo przyswajalny przez zwierzęta oraz obecnością substancji chemicznych w surowych makuchach. Również przyczynia się do tego niska zawartość energetyczna wyłoków [63,64]. Jest jednak możliwość przeprowadzenia wyłoków przez wstępne procesy ekstruzji, prażenia czy częściowej hydrolizy, w celu usunięcia z nich niepotrzebnych zanieczyszczeń i podwyższenia wartości spożywczej [62]. Dodatkowo obniżenie niewielkich ilości nasyconych kwasów tłuszczowych z wyłoków dodawanych do pasz dla zwierząt hodowlanych poprawia jakość powstających produktów, wzbogaca hodowlę finansowo [65,66].

- produkcja bioenergii

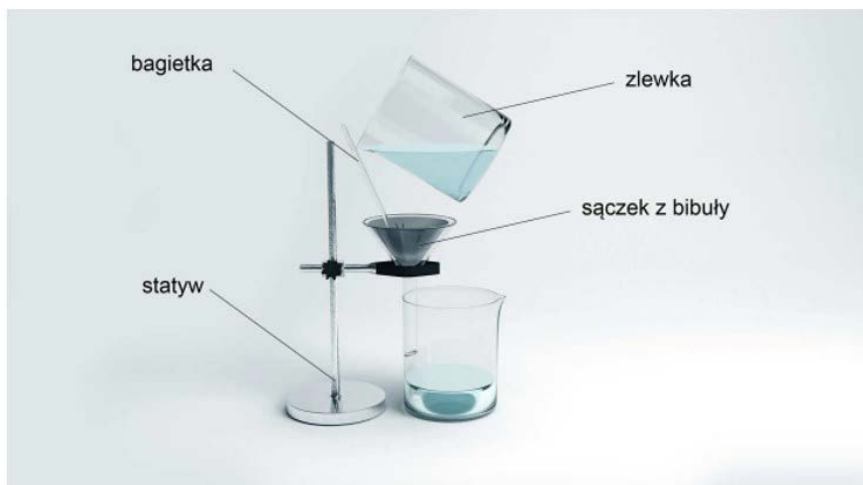
Jeśli chodzi o produkcję bioenergii z wykorzystaniem odpadów roślin oleistych to jest to możliwe, ale na mniejszą skalę. Przeszkodą w celu zwiększenia produkcji jest wysoka zawartość związków organicznych i siarki w wyłokach, która może zanieczyszczać środowisko [67]. Na mniejszą skalę wyłoki są skutecznym zamiennikiem surowców opałowych np.: węgla kamiennego. Przykładowo makuch sezamowy ma wyższą wartość opałową, równą 27,8 [MJ·kg<sup>-1</sup>] niż węgiel kamienny równy 26 [MJ·kg<sup>-1</sup>]. Również koszty finansowe są niższe, jeśli chodzi o transport wyłoków i ich przechowywanie w porównaniu do węgla kamiennego [68].



## RÓŻNE SPOSOBY ROZDZIELANIA MIESZANIN OBOK EKSTRAKCJI

### 3.1. SĄCZENIE

Sączenie (zwane też filtracją) to dosłownie przepuszczanie danego roztworu przez filtr, którym najczęściej jest sączonek. Podstawowy asortyment do sączenia to: bibułowy sączonek, szklany lejek, bagietka, statyw, zlewka, metalowe kółko.



**Rysunek 12.** Zestaw do sączenia [69]

Możemy użyć sączoneka gładkiego, który filtruje małe i czyste ilości cieczy.

Sączoneki fałdowane o dużej powierzchni czynnej filtrują duży procent cieczy, która nie jest idealnie czysta, gdyż ma zanieczyszczenia.

W celu filtracji stężonych zasad, czy kwasów stosuje się szklane płytki porowate ze szkła spiekanego jako sączki. Jedną z najczęściej używanych metod sączenia jest sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem. Kolba ssawkowa (inaczej Büchnera) odbiera przesącz przez wytwarzanie podciśnienia. Dzięki temu osad znajdujący się na lejku Büchnera jest szybciej filtrowany w porównaniu do zwykłego (grawitacyjnego) sączenia. [70]



Rysunek 13. Zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem [69]

### 3.2. DESTYLACJA

Destylacja to kolejna metoda rozdzielania mieszanin. Stosowana głównie do podziału lub oczyszczenia ciekłych mieszanin różniących się od siebie lotnością. Ma na celu ogrzać substancję do wrzenia, a potem skondensować i odebrać powstały destylat.

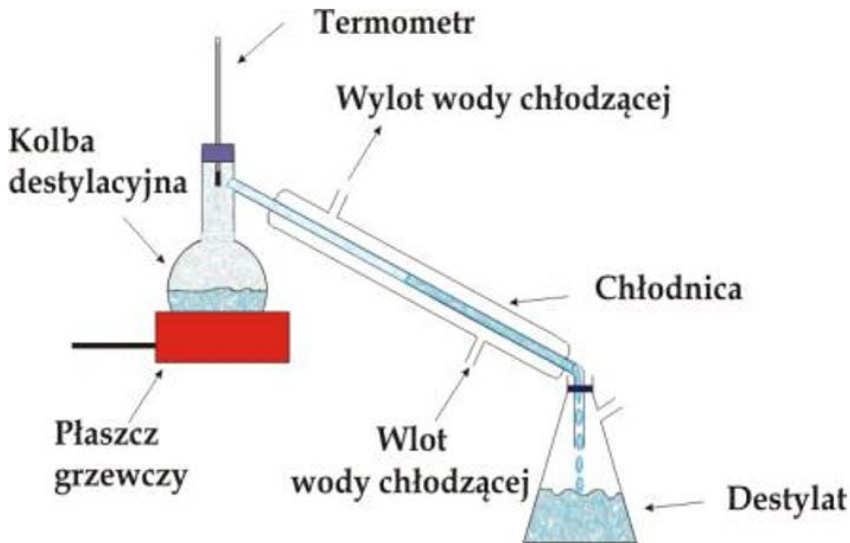
Wyróżniamy różne rodzaje destylacji. Najprostszą i najczęściej wykonywaną jest destylacja zwykła (tzw. jednokrotna, jednorazowa destylacja), która zachodzi pod ciśnieniem atmosferycznym. Stosuje się ją do roztworów o małych cząsteczkach, gdy jeden składnik jest nielotny lub gdy lotność między jedną substancją, a drugą różni się o 150°C co najmniej.

Aparatura do destylacji zwykłej składa się z:

- kolby okrągłodennej
- chłodnicy
- odbieralnika



- termometru
- płaszcz grzewczy



Rysunek 14. Podstawowa aparatura do destylacji [71]

Kolejną destylacją jest destylacja z parą wodną stosowana dla substancji, które całkowicie lub w ograniczonym stopniu nie mieszają się z wodą, a które ulegają rozkładowi w temperaturze lotności.

Przy rozdzielaniu wielu składników stosujemy destylację frakcyjną, która w przeciwieństwie do destylacji zwykłej polega na wielokrotnym przeprowadzeniu substancji ciekłej w gazową.

W przypadku mieszanin wybuchowych w warunkach normalnych, czy substancji mieszających się z wodą i ulegających rozkładowi w temperaturze lotności używamy destylację próżniową (pod zmniejszonym ciśnieniem)[72].

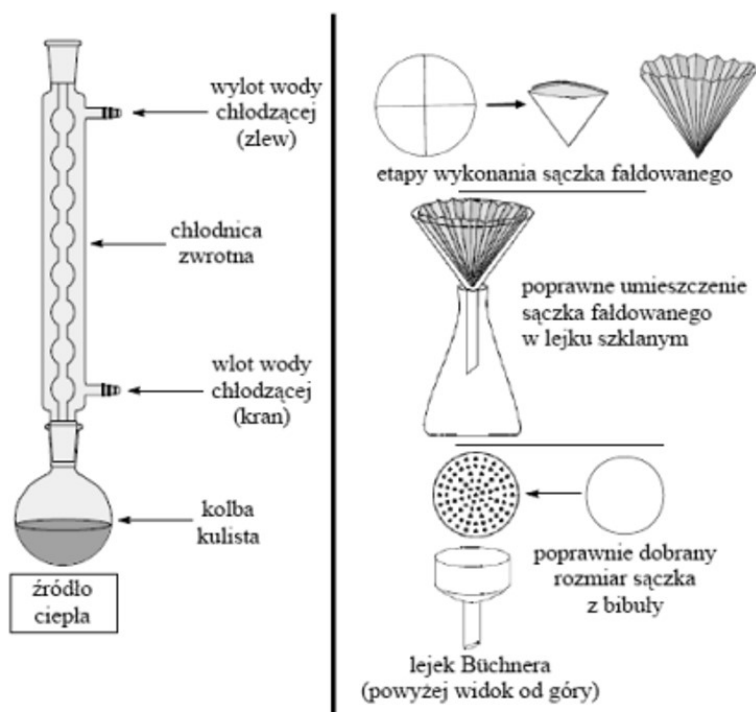
### 3.3. KRYSTALIZACJA

Kryształizacja to sposób, w którym następuje rozdział mieszaniny przez wydzielenie kryształków z ciekłego roztworu czy roztopionego materiału. Jest to metoda oczyszczania, w której substancja i zawarte w niej zanieczyszczenia oczyszczane i rozdzielane są na podstawie ich różnej rozpuszczalności. Rozpuszczalnik przede wszystkim nie może wchodzić w reakcję z substancją

rozpuszczaną, nie może być toksyczny, łatwopalny, ale powinien łatwo rozpuszczać na gorąco roztwór poddawany krystalizacji, a słabo rozpuszczać go w temperaturze pokojowej.

Główne etapy krystalizacji to:

- rozpuszczona substancja w odpowiednim rozpuszczalniku jest zlewana z nad osadu lub przesączana w wysokiej temperaturze.
- następnie przesącz jest ochładzany do postaci kryształków,
- powstałą substancję oddzieloną od kryształków należy przemyć i wysuszyć [73].



Rysunek 15. Schemat aparatury i podstawowego sprzętu w krystalizacji [74]

### 3.4. SUBLIMACJA

Sublimacja to kolejna metoda rozdzielania mieszanin. Jest prostszą metodą od krystalizacji i mniej pracochłonną. Ogólnie jest procesem fizycznym bezpośredniego przechodzenia ciała stałego w gaz, dzięki czemu można

uzyskać substancje o wysokiej czystości. Dane ciało stałe przechodzi w stan gazowy i ponownie w stan stały przez oziębienie, a rozkłada się w temp. topnienia procesu. Generalnie mało substancji stałych sublimuje pod ciśnieniem atmosferycznym w temp. pokojowej.

Jednym z niewielu takich związków jest zestalony dwutlenek węgla inaczej zwany suchym lodem, który sublimując może osiągać nawet  $-79^{\circ}\text{C}$ . Możemy taki suchy lód zastosować w produkcji, magazynowaniu żywności w celu chłodzenia oraz jako popularny „efekt dymu” podczas imprez, na dyskotekach. Jednak takie miejsce musi być dobrze wentylowane ze względu na to, że w temperaturze pokojowej zestalony dwutlenek węgla sublimuje do gazu, usuwając tlen z powietrza. Proces sublimacji jest również stosowany w celu usuwania zanieczyszczeń z ciał stałych oraz do tworzenia grafik na poliestrowych materiałach.[75]



**Rysunek 16.** suchy lód [76]

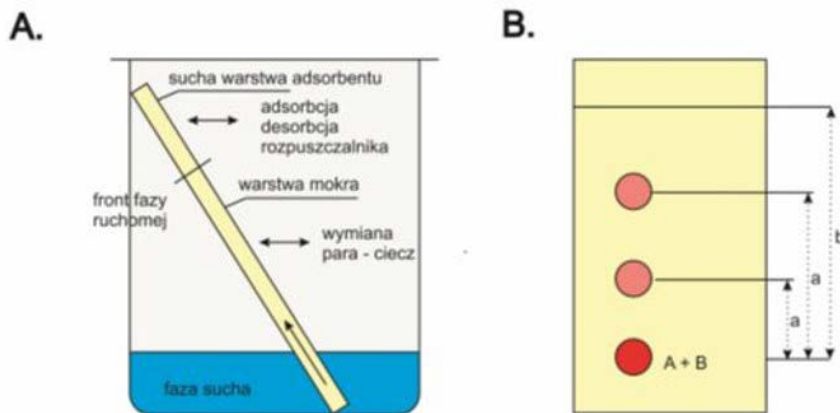
### 3.5. CHROMATOGRAFIA

Chromatografia to kolejna metoda używana w celu rozdzielania danej mieszaniny, ale też do określania jej składu. Występują dwie fazy: faza pierwsza-nieruchoma i faza druga-ruchoma. Zawsze pierwszorzędnie rozdziela się daną mieszaninę, a potem identyfikuje jej skład. Jak sama nazwa wskazuje -faza ruchoma odbywa ruch wobec fazy nieruchomej. Fazą ruchomą jest eluent(rozpuszczalnik), który wymywa mieszaninę w kierunku fazy nieruchomej

(fazy rozdzielczej), którą jest np.: żel krzemionkowy. Następnie dochodzi do rozdzielenia składników mieszaniny za pomocą ich różnej prędkości.[77]

Wyróżniamy różne rodzaje chromatografii ze względu na:

- mechanizm rozdzielenia:
  - podziałową
  - żelową
  - adsorpcyjną
  - jonowymienną
- Sposób przeprowadzenia rozdzielenia:
  - kolumnowa
  - bibułowa
  - cienkowarstwowa
- Rodzaj eluentu:
  - chromatografia gazowa
  - chromatografia ciekłowa
  - chromatografia nadkrytyczna [78]



**Rysunek 17.** Przedstawienie chromatografii ciekłowej. A to tradycyjna chromatografia cienkowarstwowa, a B to schemat cienkowarstwowego chromatografu danych roztworów [79].

Na szczególną uwagę zasługuje tutaj chromatografia TLC cienkowarstwowa ze względu na większe i lepsze możliwości rozdzielenia, prostszą i szybszą metodę badania. Można rozdzielać takie substancje jak organiczne alkohole, fenole, kwasy.

Wykonanie chromatografii TLC cienkowarstwowej:

1. Nałożenie adsorbenta np.: żelu krzemionkowego na płytkę chromatograficzną;
2. Narysowanie linii startu na płytce i nakroplenie na niej badanych roztworów;
3. Włożenie płytki do komory chromatograficznej wypełnionej rozpuszczalnikami w taki sposób by nie przykrywały nakroplonych roztworów;
4. Następnie w zamkniętej komorze następuje rozdzielenie się poszczególnych składników roztworów ku górze przez różną ich szybkość poruszania się [77].

## KLASYCZNE I WSPÓŁCZESNE METODY EKSTRAKЦИИ W UKŁADZIE CIAŁO STAŁE-CIECZ

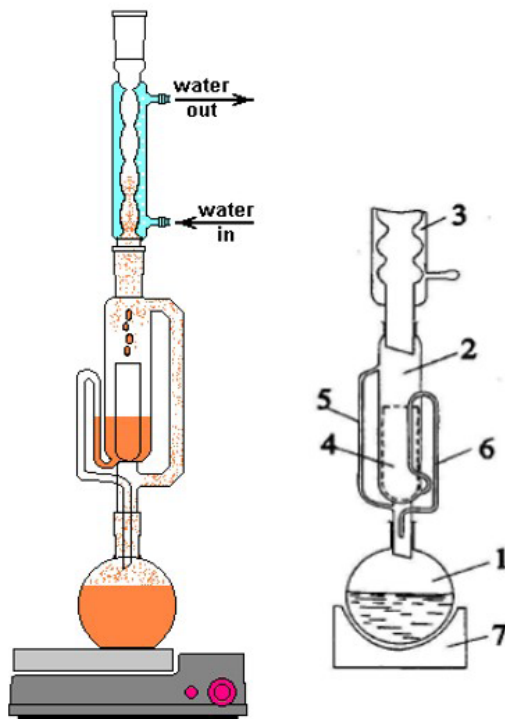
### 4.1. KLASYCZNE METODY EKSTRAKЦИИ

#### **Ekstrakcja za pomocą aparatu Soxhleta**

Aparat Soxhleta jest tradycyjnym aparatem do ekstrakcji trudno rozpuszczalnych substancji. Głównie do ekstrakcji składników z ciała stałego substancji przez ciekły rozpuszczalnik, inaczej zwanej ługowaniem. W ekstrakcji tej rozdział spowodowany jest różnicami rozpuszczalności związków. Skuteczność metody w Aparacie Soxhleta wynika z ciągłości jego procesu, a substancja ekstrahowana styka się jedynie ze schłodzonym rozpuszczalnikiem ciekłym, bez mieszania się z jego gorącymi oparami [80]

Zestaw do Aparatu Soxhleta zawiera:

- chłodnicę zwrotną(3)
- kolbę okrągłodenna(1)
- ekstraktor(2)
- płaszcz grzejny(7)
- gilza(4)
- rurka syfonowa(5)
- zamknięcie syfonowe(6)



Rysunek 18. i Rysunek 19. przedstawiają Aparat Soxhleeta [81]

**Przebieg procesu:** Surowe ciało stałe należy włożyć do bibułowej gilzy, pomiędzy watą umieszczoną na dnie gilzy, a następnie przykrywa się substancję kolejną warstwą waty. To wszystko wprowadzane jest do aparatu, gdzie następnie wlewa się do kolby rozpuszczalnik, który jest lotny po podgrzaniu przez płaszcz grzewczy do temperatury jego wrzenia. Powstały gaz wędruje w górę aparatu przez rurkę i skrapla się do gilzy aż do całej jej objętości, powodując ekstrakcję i zwracając powstałą ciecz ponownie do kolby przez rurkę syfonową. Proces powtarza się wiele razy w ciągłości w celu całkowitej ekstrakcji pożądanej, czystej substancji od rozpuszczalnika i ewentualnych zanieczyszczeń. Powstała nieoddestylowana, nieprzereagowana reszтка substancji poddawana jest ponownej ekstrakcji (za pomocą innego rozpuszczalnika), czy krystalizacji [82].

Do wad Ekstrakcji w Aparacie Soxhleeta można zaliczyć:

- długi czas procesu;
- mniej skuteczna ekstrakcja termotrwałych i trudno rozpuszczalnych

- substancji przez możliwy ich rozkład za pomocą ogrzewania;
- wykorzystanie zbyt dużych ilości wody, energii elektrycznej, rozpuszczalnika.

Do zalet Ekstrakcji w Aparacie Soxhleta można zaliczyć:

- całkiem niskie koszty aparatury;
- prosty i łatwy dostęp do aparatury;
- wielokrotna ekstrakcja przez nową frakcję rozpuszczalnika [83].

### **Maceracja**

Proces ten jest klasyczną ekstrakcją różnych związków z ziół, owoców przebiegająca max do dwóch tygodni. Zaczyna się przez zgniatanie owoców, które następnie poddawane są określonej temperaturze. Im większa temperatura tym większa maceracja. Proces ten do tworzenia wina zachodzi podczas fermentacji dla suszonych owoców przy mniej więcej 50-procentowym r-r alkoholu i 70-procentowym r-r alkoholu dla świeżych owoców. Jeśli chodzi o macerację w temperaturze z wytrząsaniem to jest to metoda tania w przypadku aparatury, metoda skuteczna i powszechnie używana. Największą wadą jest długotrwały czas procesu.



**Rysunek 20.** Maceracja wina [84]

Coraz częściej używa się już innych metod ekstrakcji, które powodują szybsze i skuteczniejsze efekty procesu niż klasyczna maceracja, czasochłonna ekstrakcja w Aparacie Soxhleta, czy wytrząsanie w rozpuszczalniku organicznym lub w wodzie. [85,86].



## 4.2. WSPÓŁCZESNE METODY EKSTRAKЦИИ

Do ulepszonych technik rozdziału związków ciało stałe-ciecz należy:

- sonifikacja UAE
- ekstrakcja MAE
- ekstrakcja ASE
- ekstrakcja Soxhtec®
- ekstrakcja enzymatyczna
- ekstrakcja SFE

### **Sonifikacja**

Sonifikacja UAE z angielskiego Ultrasonic Assisted Extraction, czyli Ekstrakcja Wspomagana Ultradźwiękami. Fale ultradźwiękowe inaczej fale akustyczne powodują możliwość zmiany ciśnienia, co z kolei zwiększa przedostawanie się komórek do rozpuszczalnika. Najlepiej, gdy fale te mają niską częstotliwość o średnim natężeniu. Metodę stosujemy do ekstrakcji związków aktywnych biologicznie takich jak herbicydy, polifenole, polisacharydy; również do otrzymania leków, czy cukru.

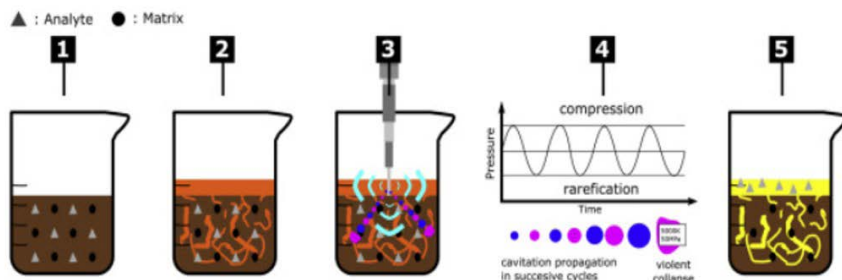
Doświadczenie przeprowadza się przez włożenie ciała stałego z ciekłym rozpuszczalnikiem do ultradźwiękowej łaźni, gdzie fala nie przechodzi bezpośrednio do próbki. Można też zastosować sondę, która generuje fale ultradźwiękowe bezpośrednio do próbki, co jest bardziej skuteczne [87,88].

Ogólnymi zaletami jest:

- proces krótkotrwały
- samorzutne mieszanie rozpuszczalnika i jego wysoka rozpuszczalność
- temperatura pokojowa możliwa do zajścia procesu
- szybsza ekstrakcja substancji nisko cząsteczkowych

Ogólne wady procesu to:

- mniejsza stabilizacja parametrów
- koszty związane z większą ilością wykorzystania energii elektrycznej [89].



**Rysunek 21.** Zasada ZEA. 1. próbka włożona do zlewki 2. próbka z rozpuszczalnikiem (ekstrahentem) 3. dodanie sonotrody (narzędzia ultradźwiękowego) 4. propagacja i implozja wnek ultradźwiękowych 5. gotowa próbka do oczyszczenia [90]

### Ekstrakcja MAE

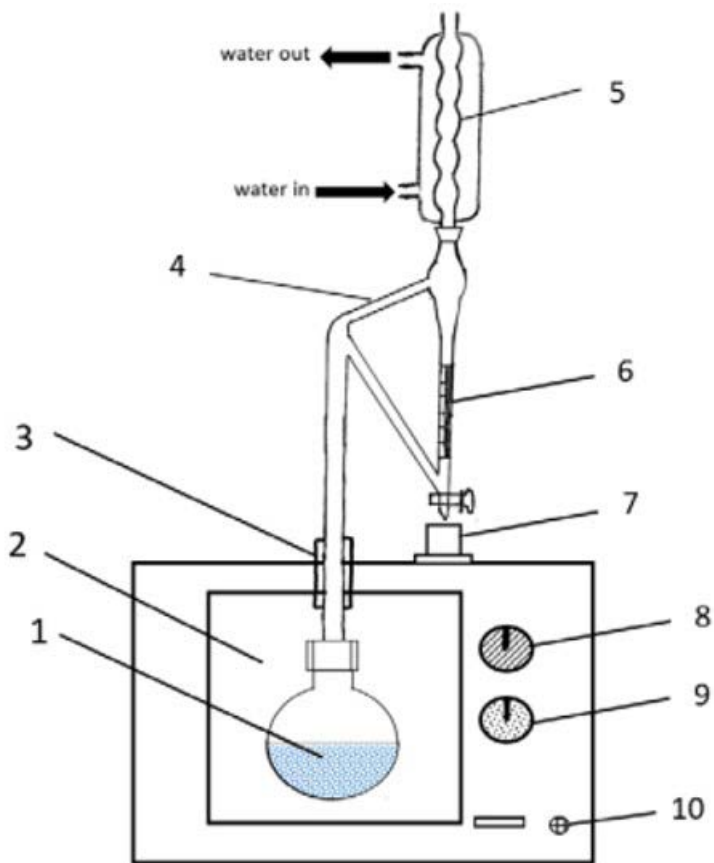
MAE to z angielskiego Microwave Assisted Extraction, czyli Ekstrakcja wspomagana mikrofalami. Wykorzystuje absorpcję mikrofal za pomocą związków chemicznych, którymi jest materiał ekstrahowany i rozpuszczalnik. Ważne jest, by materiał miał budowę polarną, a dipolowy moment rozpuszczalnika nie był równy zero. Ekstrakcja ta polega na włożeniu materiału z ekstrahentem organicznym do naczynia i podgrzaniu do wysokiej temperatury (do około 190°C). Promieniowanie mikrofalowe wywołuje ruch dipoli i jonów, tworząc ciepło. Następnie oddziela się powstały produkt i ochładza. Zastosowanie tej ekstrakcji to głównie oznaczanie fenoli, leków, pestycydów. [91].

Zalety procesu to:

- mało używanych rozpuszczalników
- krótkotrwała ekstrakcja
- automatyczny system

Wady procesu to:

- rozpuszczalnik organiczny
- wysoka temperatura
- potrzeba oddzielenia powstałego produktu od resztek



**Rysunek 22.** Schemat aparatury MAE: (1) kolba okrągłodenna; (2) obieg grzewczy pieca mikrofalowego; (3) rurka ekranująca; (4) kolumna frakcjonująca; (5) skraplacz pary; (6) skalowana kapilara do pomiaru objętości; (7) pobieracz próbek; (8) minutnik; (9) moc regulator; (10) włącznik/ wyłącznik. [92]

### Ekstrakcja ASE

Unowocześniona aparatura od klasycznych metod pod względem użycia wyższej temperatury i wyższego ciśnienia rozpuszczalników, co powoduje poprawienie ich właściwości fizykochemicznych. Temperatura wrzenia ekstrahenta pod ciśnieniem atmosferycznym jest niższa niż temperatura procesu ekstrakcji, ale mimo to rozpuszczalnik nie zmienia swojego stanu skupienia i cały czas jest cieczą.

Przebieg procesu polega pierwszorzędnie na ogrzaniu próbek. Potem substancje w próbkach z matrycy stałej są transportowane do matrycy ciekłej. Następnie rozpuszczalnik przepływa próbki do odbieralnika przez filtr,

a pozostała ilość rozpuszczalnika jest pod wpływem azotu przy odpowiednim ciśnieniu likwidowana. [93]

Zastosowania tej ekstrakcji to m.in.:

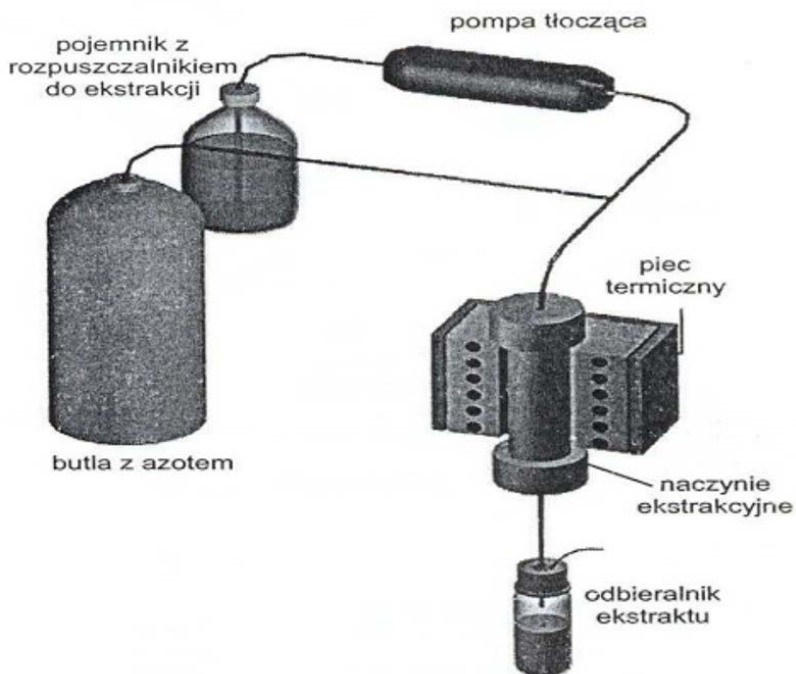
- ekstrakcja produktów farmaceutycznych
- ekstrakcja pestycydów, dodatków do polimerów, aflotoksyn
- ekstrakcja substancji próbek stałych [93]

Ma wiele zalet m.in.:

- proces jest automatyczny
- urządzenie jest proste i dokładne
- rozdział substancji o wysokiej zawartości wilgoci
- proces krótkotrwały (od 5-15 minut)
- ograniczenie ilości używanych rozpuszczalników [94].

Do wad można zaliczyć:

- droga aparatura
- użycie rozpuszczalników organicznych [94]



Rysunek 23. Schemat aparatury ASE [95]

## Ekstrakcja Soxhtec®

Jest to bardziej unowocześniona i zautomatyzowana forma ekstrakcji, przypominająca bardzo klasyczną metodę ekstrakcji w Aparacie Soxhleeta. Dzięki Aparacie Soxhtec, można nie tylko ekstrahować substancje tj. lipidy, metabolity z kawy, grzybów czy warzyw, ale też analizować zarówno surowy tłuszcz jak i ilość tłuszczu całkowitego jako metodę „odniesienia”. [96]

Aparat Soxhtec zawiera:

- dwunastopozycyjny system hydrolizy
- sześciopozycyjny system ekstrakcji
- gilzy Hydrocap
- automatyczne dozowanie rozpuszczalnika w zamkniętym obiegu
- automatyczną termoregulacją i chłodzenie wodne



**Rysunek 24.** Aparat ekstrakcyjny Soxhtec® [97]

Proces ekstrakcji:

1. Najpierw należy odpowiednio zważyć badane ciało stałe i zmieszane najczęściej z piaskiem, przenieść do gilz, a pozostałą część na ściankach naczyń przenieść za pomocą waty higienicznej.

2. Następnie umieścić gilzy w Aparaturze i włączyć przycisk START.
3. Pierwszym etapem jaki prowadzi automatyczny system aparaturowy jest przeniesienie gilz do wrzącego rozpuszczalnika, gdzie zachodzi proces maceracji (proces wyodrębniania, uwalniania składników z badanego materiału).
4. Drugim etapem jest przepłukiwanie gilz, zawierających badany materiał przez ciekły rozpuszczalnik, którego szybkość i wartość temperatury wrzenia można regulować.
5. Trzecim etapem jest automatyczny odzysk rozpuszczalnika.
6. Następnie aparatura wyłącza się samoistnie bez ingerencji człowieka.

### **Ekstrakcja enzymatyczna**

Ekstrakcja enzymatyczna- jest biologicznym, naturalnym procesem, do którego używane są konkretne enzymy.

Wady procesu to:

- tylko niektóre enzymy mogą oddzielić wybrane składniki
- enzymy muszą być dodane w odpowiedniej temperaturze i przy odpowiednim pH i w określonym czasie co znacznie komplikuje ekstrakcję

Do zalet można zaliczyć:

- naturalny proces
- powstały produkt ekologiczny i czysty [98].

### **Ekstrakcja SFE**

Ekstrakcja SFE to z angielskiego Supercritical Fluid Extraction, czyli Ekstrakcja Płynem Nadkrytycznym. Polega na wykorzystaniu gazu w stanie nadkrytycznym, którego ciśnienie i temperatura jest ponad punktem krytycznym gazu. Tym gazem najczęściej jest dwutlenek węgla ze względu na swoje dobre właściwości fizykochemiczne. Metoda ta ma praktycznie same zalety.

## **4.3. CEL PRACY**

Celem prowadzenia prac badawczych było zbadanie wydajności ekstrakcji oleju nadkrytycznym dwutlenkiem węgla z makuchu sezamowego.



**Rysunek 25.** Ekstraktor nadkrytyczny CO<sub>2</sub> używany głównie w przemyśle, a **Rysunek 26** ekstraktor nadkrytyczny CO<sub>2</sub> używany głównie w laboratorium [99].

## STOSOWANA APARATURA BADAWCZA I ODCZYNNIKI

### 5.1. APARATURA

Do przeprowadzenia badań zastosowano następującą aparaturę:



**Rysunek 27.** Aparat do ekstrakcji SFE firmy LIZARD (fotografia własna)





**Rysunek 28.** Suszarka POL-EKO (fotografia własna)



**Rysunek 29.** Aparat Digesdahl (fotografia własna)



Rysunek 30. Aparat Soxteca 2050 (fotografia własna)



Rysunek 31. Waga analityczna firmy RADWAG AS 220/C/2 (fotografia własna)



**Rysunek 32.** Spektrofotometr DR3900 (fotografia własna)

## 5.2. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Do przeprowadzenia badań zastosowano następujące odczynniki:

- stężony kwas siarkowy
- nadtlenek wodoru
- woda destylowana
- wskaźnik TKN
- 1M KOH
- stabilizator mineralny
- alkohol poliwinylowy (środek dyspergujący)
- odczynnik Nesslera
- piasek
- mikropipety automatyczne-Transferpette
- szalki Petriego
- kolba mineralizacyjna firmy Hach
- zlewki
- ekzykator

### 5.3. MATERIAŁ BADAWCZY



**Rysunek 33.** makuch sezamowy (fotografia własna)

Materiałem badawczym jest makuch sezamowy. Jest to produkt o stałej konsystencji.

Pozostały po wydobyciu oleju z nasion rośliny oleistej, czyli z nasion sezamu, za pomocą tłoczenia przez prasy ślimakowe. Do badań użyty został sproszkowany, mielony, ekologiczny makuch sezamowy pozyskany z lokalnej firmy.

# METODYKA BADAŃ

### 6.1. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI SUCHEJ MASY

Zważono masy pustych szalek na wadze analitycznej. Następnie wysypano do szalek surowy makuch sezamowy w ilości około 5 g z dokładnością do 0,0001 g olejno dla próbki A i dla próbki B (A-próbka dla makuchu sezamowego B-próbka dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1), a następnie wstawiono próbki do suszarki na 3h i próbki zważono.

### 6.2. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU ZA POMOCĄ APARATU SOXTECA

Zważono puste naczynia z dnem porowatym na wadze analitycznej. Oznaczenie przeprowadzono dla dwóch rodzajów makuchu (przed SFE-próbka A i po SFE-próbka B). Następnie odważono około 5 g piasku i 5g makuchu dla każdej z rodzajów. Tak zmieszane z piaskiem makuchy przeniesiono do gilz, a następnie do jednostki ekstrakcyjnej w aparaturze SOXTEC AVANTI 2050. Proces ekstrakcji dla związków rozpuszczalnych przebiegał dwustopniowo. Cały proces trwał 75 minut, a temperatura początkowa miała 285°C. Następnie po wysuszeniu naczyń z tłuszczem w cieplarni zważono je i obliczono masę powstałego oleju(tłuszczu).

### 6.3. EKSTRAKCJA SFE OLEJU Z MAKUCHU SEZAMOWEGO

Do oznaczeń zastosowano makuch sezamowy, który został poddany procesowi SFE, czyli ekstrakcji nadkrytycznym płynem jakim jest dwutlenek węgla (ang. Supercritical Fluid Extraction).

Na wadze analitycznej zważono masy trzech pustych fiolek o pojemnościach 8 ml. Proces ekstrakcji SFE wykonano w 3 powtórzeniach (próbkach). Celki ekstrakcyjne wypełniono makuchem i zważono. Ekstrakcja trwała 45 minut. Po zakończeniu ekstrakcji makuchy z trzech ekstrakcji (powtórzeń), przeniesione zostały do zamkniętego naczynka, a powstałe ekstrakty w fiolkach włożone do suszarki POL-EKO w temperaturze 105°C na 30 min. Po wyjęciu z cieplarki i ostudzeniu, fiołki z olejem zostały zważone.

W tabeli nr 1 przedstawiono dobór parametrów ekstrakcji oleju z makuchu sezamowego nadkrytycznym dwutlenkiem węgla na podstawie danych literaturowych

**Tabela 1.** Parametry pracy ekstraktora SFE [101]

Ciśnienie Ekstraktora	18 MPa
Czas ekstrakcji	45min
Temperatura Ekstrakcji	40°C
Temperatura kapilary	200°C
Gaz do ekstrakcji	CO <sub>2</sub>
Gaz chłodzący	CO <sub>2</sub>
Gaz pomocniczy	N <sub>2</sub>

#### 6.4. OZNACZANIE ZAWARTOŚCI BIAŁKA W MAKUCHU SEZAMOWYM

Do oznaczenia zastosowano makuch sezamowy i jego pozostałości po ekstrakcji SFE, opisaney w (pkt 4.1). Początkowo odmierzone masę około 0,1g makucha sezamowego przed i po procesie SFE.

Przeprowadzono mineralizację za pomocą aparatu do trawienia firmy Digesdahl, umieszczając odmierzoną próbkę do kolby mineralizacyjnej firmy Hach. Następnie dodano 4 ml stężonego kwasu siarkowego i temperaturę na 440°C. Kolbę umieszczono na płytce grzejnej i ogrzano do temperatury wrzenia kwasu siarkowego. Próba grzana była 4 minuty po czym dodawano 10ml nadtlenu wodoru. Nadmiar nadtlenu wodoru po chwili zaczął się wygotowywać, a w momencie wykroplenia, nastawiono czas na minutę. Następnie zdjęto kolbę z płytki grzejnej i ochłodzono ją pod zimną wodą. Po tej czynności dolano do wyznaczonej kreski wodę destylowaną i całość wymieszano.

Następnie do fiołki (25ml) pobrano 1 ml zawartości kolby. Dodano jedną kroplę wskaźnika TKN (czyli zawartość całkowita azotu Kjeldahla),

a potem po kropli odczynnika 1M KOH, aż do zabarwienia się próbki na niebiesko. Następnie wypełniono wodą destylowaną do 20 ml i dodano trzy krople stabilizatora mineralnego. Po wymieszaniu umieszczono 3 krople środka dyspergującego (alkohol poliwinylowy) i znów wymieszano. Na końcu napełniono fiolkę wodą destylowaną, ale do maksimum jej pojemności, czyli do 25 ml i wymieszano.

Każda próba badana była w dwóch powtórzeniach i dla jednej próby ślepej, w której nie umieszczono makuchu tylko wodę destylowaną.

Po przygotowaniu wszystkich 5 prób, dodano po 1ml odczynnika Nesslera, zamknięto korkiem i wymieszano próbki. Po 2 minutach wstawiono próbki do kuwety (spektrofotometru) w celu określenia TKN próbek.

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

### 7.1. EKSTRAKCYJA OLEJU Z MAKUCHU SEZAMOWEGO METODĄ SFE

Przeprowadzono procesy ekstrakcji metodami w aparacie SFE i w aparacie Soxteca w celu porównania wydajności procesu SFE.

#### Wydajność procesu ekstrakcji SFE

W tabeli nr 2 i 3 przedstawiono dane masowe dotyczące ekstrakcji SFE nr 1 i SFE nr 2.

**Tabela 2.** Dane do ekstrakcji SFE nr 1

<b>Ekstrakcja SFE nr 1 dla makuchu sezamowego</b>				
Numer próbki	Dane przed SFE		Dane po SFE	
	Masa fiolek[g]	Masa makuchu[g]	Masa fiolek z olejem[g]	Masa ekstraktu (oleju)[g]
1	12,2799	0,7602	12,2935	0,0136
2	12,3364	0,7581	12,3473	0,0109
3	12,1622	0,7801	12,1693	0,0071

**Tabela 3.** Dane do ekstrakcji SFE nr 2

<b>Ekstrakcja SFE nr 2 dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1</b>				
Numer próbki	Dane przed SFE		Dane po SFE	
	Masa fiolek[g]	Masa makuchu[g]	Masa fiolek z olejem[g]	Masa ekstraktu (oleju)[g]
1	12,2998	0,7720	12,3039	0,0041
2	12,2350	0,8224	12,2355	0,0005
3	12,2531	0,8256	12,2547	0,0016



W tabeli nr 4 przedstawiono dane dotyczące ilości oleju otrzymanego z makuchu sezamowego w procesach SFE nr 1 i SFE nr 2.

**Tabela 4.** wydajność procesu ekstrakcji SFE nr 1 i SFE nr 2

<b>Zawartość oleju otrzymana z makuchu sezamowego</b>						
Numer próbki	Dla SFE nr 1			Dla SFE nr 2		
	Masa makuchu przed SFE [g]	Masa ekstraktu [g]	Ilość oleju [%]	Masa makuchu [g]	Masa ekstraktu [g]	Ilość oleju [%]
1	0,7602	0,0136	1,789	0,7720	0,0041	0,53
2	0,7581	0,0109	1,438	0,8224	0,0005	0,06
3	0,7801	0,0071	0,91	0,8256	0,0016	0,19

- Przy założeniu, że masa makuchu dla SFE nr 1 i nr 2 to 100%, a masa ekstraktu dla SFE nr 1 i nr 2 to x%,
- Średnia procentowa ilość wyekstrahowanego oleju w stosunku do ilości makuchu (surowca) dla: SFE nr 1=1,38% i SFE nr 2=0,26%

### **Zawartość tłuszczu w makuchu określona w aparacie Soxteca**

W tabeli nr 5 przedstawiono dane przed procesem i po procesie w aparacie Soxteca.

**Tabela 5.** Dane do ekstrakcji w aparacie Soxteca

<b>Ekstrakcja w aparacie Soxteca</b>					
Nazwa próbki	Dane przed procesem			Dane po procesie	
	Masa naczynia [g]	Masa piasku [g]	Masa makuchu [g]	Masa naczynia z olejem [g]	Masa ekstraktu [g]
A	72,8325	5,0198	5,0223	73,2333	0,4008
B	72,5873	5,0375	5,0062	72,9159	0,3286

- gdzie:
- A-próbka dla makuchu sezamowego  
B-próbka dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1

W tabeli nr 6 przedstawiono dane dotyczące ilości oleju uzyskanego w aparacie Soxteca.

**Tabela 6.** Ekstrakcja w aparacie Soxteca

<b>Zawartość oleju otrzymana z makuchu sezamowego w aparacie Soxteca[%]</b>			
Nazwa próbki	Masa makuchu [g]	Masa ekstraktu [g]	Ilość oleju [%]
A	5,0223	0,4008	7,98
B	5,0062	0,3286	6,56

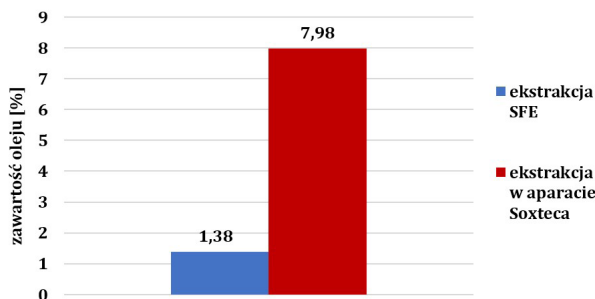
- gdzie:
  - A-próbka dla makuchu sezamowego
  - B-próbka dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1
- Przy założeniu, że masa makuchu przed procesem w aparacie Soxteca to 100%, a masa ekstraktu po procesie to x%

W tabeli nr 7 przedstawiono wydajności procesu SFE w stosunku do masy makuchu i do całkowitej zawartości oleju oraz ilość oleju w aparacie Soxteca przy 100% wydajności.

**Tabela 7.** Dane wydajności procesu SFE i zawartości tłuszczu w makuch (Soxtec)

<b>Wydajność procesu SFE</b>	SFE nr 1 [% wydzielonego oleju do masy makuchu]	SFE nr 2 [% wydzielonego oleju do masy pozostałości makuchu]	SFE nr 1 [% masy wydzielonego oleju do całkowitej zawartości oleju z makuchu]	SFE nr 2 [% masy wydzielonego oleju do całkowitej zawartości oleju z makuchu po SFE nr 1]
<b>Ekstrakcja SFE</b>	1,38%	0,26%	17,29%	3,96%
<b>Zawartość tłuszczu w makuchu (Soxtec)</b>	Zawartość tłuszczu w makuchu sezamowym	Zawartość tłuszczu w pozostałości makuchu po SFE nr 1		
<b>Ekstrakcja (Soxtec)</b>	7,98%	6,56%		

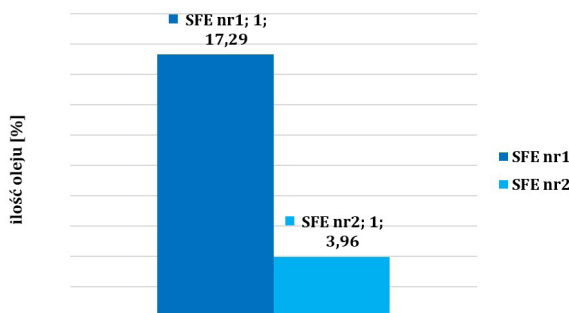
W celu oceny wydajności procesu ekstrakcji SFE zastosowano metodę odniesienia, czyli ekstrakcję Soxteca.



**Wykres 1.** Wydajność procesu otrzymania oleju z makuchu po ekstrakcji SFE nr 1

- Z obliczonych danych w tabeli 7 i na wykresie 1 możemy porównać procentową ilość oleju otrzymaną za pomocą ekstrakcji SFE dla makuchu sezamowego do ilości oleju w makuchu określoną w aparacie Soxteca dla makuchu sezamowego. Do badania dla obu procesów wzięto makuch sezamowy i pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1.
- Ekstrakcję SFE wykonano w 3 powtórzeniach dla 2 rodzajów makuchu (przed i po 1 ekstrakcji), a ekstrakcję Soxteca wykonano w 2 powtórzeniach dla 2 rodzajów makuchu (przed i po 1. ekstrakcji).
- Z zawartości tłuszczu w makuchu w ilości 7,98 % masy makuchu (określonej w aparacie Soxteca) udało się w trakcie pierwszej ekstrakcji w Aparacie SFE wydzielić aż 1,38 % masy makuchu (Patrz tabela 7).

W celu oceny wydajności procesu ekstrakcji SFE nr 1, a ekstrakcji SFE nr 2.



**Wykres 2.** Wydajność procesu otrzymania oleju po ekstrakcji SFE nr 1 i SFE nr 2

- W obliczeniach przyjęto, że wydajność ekstrakcji Soxteca to 100%, a wydajność ekstrakcji SFE to x%. Bierzemy ilość wydzielonego tłuszczu dla makuchu po ekstrakcji SFE nr 1 =1,38% i po ekstrakcji SFE nr 2=0,26%
- Na podstawie tabeli nr 7 i wykresu nr 2 porównano wydajności procesu SFE dla makuchu sezamowego i pozostałości makuchu powstałego po SFE nr 1.
- Można wywnioskować, że wydajność procesu SFE pod względem ilości wydobycia z niego oleju jest dużo niższa dla drugiego procesu SFE niż dla pierwszego procesu SFE.
- Ilość otrzymanego oleju z makuchu po pierwszej ekstrakcji wyniosła 17,29% całości oleju, a biorąc pozostałości makuchu (czyli powstałego po SFE nr 1) w drugiej ekstrakcji uzyskano zaledwie 3,96% z pozostałego oleju.
- Zmiana parametrów procesu w aparacie SFE może przyczynić się do zwiększenia wydajności ekstrakcji (np.: ciśnienie, temperatura).

## 7.2. OZNACZENIE CAŁKOWITEJ ZAWARTOŚCI BIAŁKA

Przeprowadzono badanie zawartości białka w makuchach w celu porównania ilości zawartego białka w makuchu sezamowym przed i po ekstrakcji SFE.

Do obliczeń potrzebujemy znać ilość wody zawartej w makuchu sezamowym.

### Oznaczenie wilgotności makuchu sezamowego:

W tabeli nr 8 przedstawiono procentową zawartość suchej masy w makuchu sezamowym.

**Tabela 8:** procentowa zawartość suchej masy w makuchu sezamowym

Zawartość suchej masy w makuchu sezamowym [%]				
Nazwa próbki	Masa naczynia[g]	Masa makuchu przed suszeniem[g]	Masa makuchu po suszeniu[g]	Ilość suchej masy [%]
A	89,6114	5,0854	4,8297	94,97
B	91,8736	5,0004	4,7701	95,39

- o gdzie
- A-próbka dla makuchu sezamowego
- B-próbka dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr1
- o Suszenie trwało 3h w suszarce POL-EKO

### Oznaczenie białka w makuchu sezamowym:

W tabeli nr 9 przedstawiono TKN azotu dla suchych próbek z danych literaturowych.

**Tabela 9:** TKN azotu dla suchych próbek [102]

Spodziewane stężenie azotu (mg/l)	Analizowana objętość(ml)
42-2200	10,0*
106-5600	5,00*
350-18000	2,00*
1000-56000	1,00*
4200-220000	0,50*

Oznaczenia:

TKN - zawartość całkowita azotu Kjeldahla, który składa się z azotu amonowego i organicznego [ppm lub mg/l].

- a - [mg/l] stężenia odczytane z wyświetlacza (średnia)
- b - [g (lub ml wody)] próbka pobrana do mineralizacji (sucha masa)
- c - [ml] analizowana objętość mineralizowanej próbki = 10ml

- Przy uwzględnieniu średniej zawartości suchej masy w makuchu sezamowym, gdzie masa makuchu to 100%, a procentowa średnia zawartość suchej masy to x [g] obliczamy wg wzoru:

próbka A =0,1027g

próbka B =0,1007g

- Wzór na TKN [ppm]:

$$TKN = \frac{75 \cdot a}{b \cdot c}$$

próbka A:  $a_1=123$ [mg/l]  $a_2 =127$  [mg/l]

próbka B:  $a_1 =121$ [mg/l]  $a_2 =126$  [mg/l]

Tabela nr 10 przedstawia dane wydajności procesu SFE i zawartości tłuszczu w makuchu w aparacie Soxteca.

**Tabela 10.** Dane wydajności procesu SFE i zawartości tłuszczu w makuchu (Soxtec)

Całkowita zawartość białka w makuchu sezamowym						
Nazwa próbki	Sucha masa makuchu [g]	a [mg/l]	b [mg]	c [l]	TKN [ppm]	Białko w [g]
A	0,0975	125	97,5	0,01		9,615
B	0,0961	123,5	96,1	0,01		9,638

- gdzie:
  - A-próbka dla makuchu sezamowego
  - B-próbka dla pozostałości makuchu sezamowego po SFE nr 1
- Następnie przeliczamy na %, gdzie 100g to 100%
- Współczynnik przeliczeniowy azotu na białko dla sezamu=5,3[100]

W tabeli nr 11 przedstawiono obliczoną całkowitą zawartość białka w badanych makuchach (białko w [%])\* współczynnik 5,3).

**Tabela 11.** Całkowita zawartość białka w makuchach

Nazwa próbki	Białko [%]	Współczynnik	Całkowita zawartość białka [%]
A	9,615	5,3	50,96
B	9,638		51,08

- Z obliczeń możemy wywnioskować, że zawartość białka w makuchu sezamowym po SFE jest większa niż w makuchu sezamowym przed ekstrakcją.
- Przyczyną takiego zjawiska jest to, że podczas procesu SFE usuwane są niewielkie ilości tłuszczu, które zmniejszają masę makuchu, dlatego zwiększa się ilość zawartego w nim białka co do ogólnej jego masy.
- Zwiększenie wydajności procesu ekstrakcji SFE pozwoliłoby na otrzymanie surowca o większej zawartości białka. Najbardziej pożądana byłaby możliwość wyekstrahowania z makuchu całej ilości pozostałości tłuszczowych.
- Całkowita zawartość białka w makuchu sezamowym przed SFE wynosi 50,96%
- Całkowita zawartość białka w makuchu sezamowym po SFE wynosi 51,08%

## WNIOSKI

W wyniku realizacji badań sformułowano następujące wnioski:

- Technika SFE to skuteczny proces wydobycia z makuchów resztek oleju przy jednoczesnym zachowaniu cennych właściwości powstałego ekstraktu
- Przez wyekstrahowanie oleju z makuchu za pomocą ekstrakcji SFE nadkrytycznym dwutlenkiem węgla otrzymujemy makuch, który jest bogatszy w białko. Procesy utleniania zachodzą w mniejszym stopniu ze względu na mniejszą obecność tłuszczu, co zwiększa z kolei termin przydatności do użycia otrzymanych makuchów.
- Powtarzanie procesu ekstrakcji SFE (SFE nr 2) jest mniej zasadne, gdyż ilość otrzymanego oleju jest niższa w porównaniu do ekstrakcji SFE nr1 z makuchu nie poddanego jeszcze żadnemu procesowi SFE.
- W zastosowanej aparaturze SFE wydajność pod względem ilości otrzymanego oleju jest niewielka, ale przy zmianach parametrów procesu można by uzyskać więcej oleju.

## LITERATURA

- [1] Łukaszyński D.: Zastosowanie technologii nadkrytycznych do ekstrakcji i analizy produktów spożywczych oraz substancji aktywnych biologicznie. *Post. Nauk Roln.*, 1995, 6, 91–97.
- [2] Valcárcel M., Tena M.T.: Applications of supercritical fluid extraction in food analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, 358, 561–573.
- [3] Sihvonen M., Järvenpää E., Hietaniemi V. and Huopalahti R.: Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends Food Sci. Technol.* 1999, 10, 217–222.
- [4] Brunner G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering* 67 (2005) 21-33.
- [5] PERRUT, M., *Proceed. 4 th meeting "Supercritical Fluids and Environment", VILLEURBANNE, Ed. ISASF, 1997, 1-10.*
- [6] Jagiřło M., 2004. Zastosowanie ekstrakcji w stanie nadkrytycznym do analizy fenoli. *Ochrona środowiska. Rok 26, 2004, Nr 3. Akademia Świętokrzyska, Instytut Chemii.*
- [7] CH. LUTERMANN, W.DOTT, J.HOLLENDER: Combined modifier in situ derivation effects on supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil. *J. Chromatogr. A*, 1998, 811, pp. 151-156.
- [8] RÓJ E. (red.) 2014. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction and its applications. *Polish Foundations of the Opportunities Industrialization Centers " OIC Poland", Lublin: 198.*



- [9] Xu L., Zhan X., Zeng Z., Chen R., Li H., Xie T., Wang S. Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5 (2011) 1196-1211.
- [10] JANISZEWSKA E., WITROWA-RAJCHERT D.: Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2005, 4(45), 5-16
- [11] Sovova H., Stateva R.P. Supercritical fluid extraction from vegetable materials. *Rev Chem Eng* 27 (2011) 79-156.
- [12] de Melo M.M.R., Silvestre A.J.D., Silva C.M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *The Journal of Supercritical Fluids* 92 (2014) 115-176.
- [13] MAJEWSKA E., BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK E.: Zielona chemia w przemyśle spożywczym. *Chemia. Dydaktyka. Ekologia. Metrologia.* 2010, 15(1), 21-27.
- [14] K. Zosel, US4260639A, 1981.
- [15] Marentis R., Hsu J.T. Supercritical fluid extraction of nutraceutical products. 4th Brazilian Meeting on Supercritical Fluids EBFS 2001
- [16] Grajek W., Łukaszyński D.: Ekstrakcja składników żywności dwutlenkiem węgla w warunkach nadkrytycznych. *Przem. Spo.*, 1993, 11, 307–310.
- [17] Louli V., Folas G., Voutsas E., Magoulas K.: Extraction of parsley seed oil by supercritical CO<sub>2</sub>. *J. Supercritical Fluids*, 2004, 30, 163–174.
- [18] Rozzi N. L., Phippen W., Simon J. E., Singh R. K.: Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 2002, 35, 319–324.
- [19] Shim, Y. Y., Gui, B., Wang, Y. & Reaney, M. J. T. (2015). Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) oil processing and selected products. *Trends in Food Science and Technology*, 43, 162-177.
- [20] Domysławski W., Krygier K.: System wiejskich przetwórnictw rolnospożywczych. *Olejarnie*. Wydawnictwo IBMER, Warszawa, 1992.

- [21] Prior E.M., Vadke V.S., Sosulski F.W.: Effect of heat treatment on canola press oils. II. Oxidative stability. *J.Am.Oil Chem. Soc.*, 1991, No. 68.
- [22] Podkówka W., Podkówka Z.: Wartość pokarmowa wytlóków z nasion rzepaku otrzymanych przy zastosowaniu prasy 02 PVO. *Postępy Nauk Rolniczych*, 1993, nr 6.
- [23] Codex Standard 19-1981 – Codex Standard for edible fats and oils not covered by individual standards. (2017). FAO/WHO. Codex Stan 19-1981.
- [24] Rękas, A., Siger, A., Wroniak, M., Ścibisz, I., Derwiaka, D. & Anders, A. (2017). Influence of dehulled rapeseed roasting on the physicochemical composition and oxidative state of oil. *Grasas Y Aceites*, 68(1), 1-10.
- [25] Kochhar, S. P. (2017). Processing coconut oil. *Fats and Oils International*, 33(1), 24-27.
- [26] Krygier K., Domian K., Drąka D.: Porównanie jakości i trwałości olejów rzepakowych: tłoczonego na zimno i na gorąco oraz rafinowanego. *Rośliny Oleiste*, 1995, nr 16.
- [27] WANG X., H. WANG, Y. LIU, J. YOU, Y. SUO. 2009. "Extraction of pollen lipids by SFE-CO<sub>2</sub> and determination of free fatty acids by HPLC". *European Journal of Lipid Science and Technology* 111: 155–163.
- [28] Jamroz D. (red.), (2015), *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo*, t. 3, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- [29] Chachułowa J. (red.), (1997), *Pasze*, Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa.
- [30] Cozea, A., Ionescu, N., Popescu, M., Neagu, M. & Gruia, R. (2016). Comparative study concerning the composition of certain oil cakes with phytotherapeutical potential. *Revista de Chimie (Bucharest)*, 67(3), 422-425.
- [31] Bakkalbasi, E., Meral, R. & Dogan, I. S. (2015). Bioactive compounds, physical and sensory properties of cake made with walnut press-cake. *Journal of Food Quality*, 38, 422-430.

- [32] Parry, J. W., Cheng, Z., Moore, J. & Yu, L. L. (2008). Fatty acid composition, antioxidant properties and antiproliferative capacity of selected cold-pressed seed flours. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 85, 457-464.
- [33] Sahin, S. and Elhussein, E. A. A. (2018). Valorization of biomass: phytochemicals in oilseed by-products. *Phytochemistry Reviews*, 1-12. doi: <https://doi.org/10.1007/s11110>
- [34] Beegum, S., Sharma, M., Manikantan, M. R. & Gupta, R. K. (2017). Effect of virgin coconut oil cake on physical, textural, microbial and sensory attributes of muffins. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 540-549.
- [35] Anilakumar Kandangath Raghavan, Pal Ajay, Khanum Farhath, Bawa Amarinder Singh. 2010. Nutritional, medicinal and industrial uses of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds- an overview. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75.
- [36] Teh, S. S., Niven, B. E., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A. & Birch, J. (2015). Optimization of polyphenol extraction and antioxidant activities of extracts from defatted flax seed cake (*Linum usitatissimum* L.) using microwave-assisted and pulsed electric field (PEF) technologies with response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*, 24(5), 1649-1659.
- [37] Szwejkowska Beata, Bielski Stanisław. 2012. Wartość prozdrowotna nasion szarłatu (*Amaranthus cruentus* L.). *Postępy Fitoterapii* 4.
- [38] Kondratowicz-Pietruszka Elżbieta. 2010. Charakterystyka profilu kwasów tłuszczowych wybranych olejów roślinnych. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie* nr 841.
- [39] Kaźmierska Agnieszka, Gawor Ewa. 2015. Wpływ oleju z wiesiołka na skórę, ze szczególnym uwzględnieniem działania kwasu gamma-linolenowego (GLA). *Kosmetologia Estetyczna* 4.
- [40] Kaniewski Ryszard, Pniewska Irena, Kubacki Andrzej, Strzelczyk Małgorzata, Chudy Magdalena, Oleszak Grzegorz. 2017. Konopie siewne (*Cannabis sativa* L.) – wartościowa roślina użytkowa i lecznicza. *Postępy fitoterapii* 2.

- [41] Mańkowska Dorota, Bylka Wiesław. 2009. *Nigella sativa* L. – związki czynne, aktywność biologiczna. *Herba polonica* 55.
- [42] Achremowicz Bogdan, Ceglińska Alicja, Darmetko Monika, Haber Tadeusz, Jankowska Joanna, Karpiński Piotr, Obiedziński Mieczysław, Tarasiewicz Renata. 2017. Charakterystyka wybranych surowców roślinnych i możliwości ich wykorzystania jako dodatków do ciast chlebowych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* 1.
- [43] <https://probiovege.com.pl/makuchy/>
- [44] Ramachandran, S., Singh, K. S., Larroche, C., Soccol, C. R. & Pandey, A. (2007). Oil cake and their biotechnological applications – a review. *Bioresource Technology*, 98, 2000-2009.
- [45] Ravindran, R. & Jaiswal, A. K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 58-69
- [46] Kiran, E. U., Trzcinski, A. P., Wun Jern, N. & Yu, L. (2014). Enzyme production from food wastes using a biorefinery concept. *Waste and Biomass Valorization*, 5(6), 903–917.
- [47] Oluyori, A., Adelani-Akande, T. & Inyinbor, A. (2017). Biomass valorizations: agricultural waste in environmental protection, phytomedicine and biofuel production. w: J. Shankat Tumuluru (red). *Biomass volume estimation and valorization for energy*. doi: 10.5772/66102
- [48] Akay, F., Kazan, A., Celiktas, M. S. & Yesil-Celiktas, O. (2015). A holistic engineering approach for utilization of olive pomace. *Journal of Supercritical Fluids*, 99, 1-7.
- [49] Gobbettia M., Erica Pontonio E., Filannino P., Rizzello C. G., De Angelis M. & Di Cagno R., (2017). How to improve the gluten-free diet: The state of the art from a food scienceperspective. *Food Research International*, Article in press.
- [50] Coelho, M. S. & Salas-Mellado, M. D. L. M. (2015). Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *Food Science and Technology*, 60, 729-726.

- [51] Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nuñez, M.J. & Parajò, J. C. (2001). Natural antioxidant from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- [52] Martínez, M. L., Labuckas, D. O., Lamarque A. L. & Maestri, D. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1959-1967.
- [53] Matthäus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(50), 3444-3452.
- [54] Chambal, B., Bergenstahl, B. & Dejmek, P. (2012). Edible proteins from coconut milk press cake; one step alkaline extraction and characterization by electrophoresis and mass spectrometry. *Food Research International*, 47(2), 146-151.
- [55] Jamdar, S. N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M. D., Juan, F., Yardi, V. & Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 121 (1), 178-184.
- [56] Das, R. & Bhattacharjee, C. (2017). Agroindustrial waste valorization by application of membrane technology. *Research Paper. Agriculture*, 3(12), 26-28.
- [57] Lai, W. T., Khong, N. M. H., Lim, S. S., Hee, Y. Y. & Sim, B. I. (2017). A review: Modified agricultural by-products for the development and fortification of food products and nutraceuticals. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 148-160.
- [58] Wnukowski, P. i Kozłowska, M. (2017). Patent USA, Mild fractionation of functional isolates derived from grains and oilseeds. US 2017/0318834 A1, wrzesień 2017.
- [59] Muiño, I., Diaz, M. T., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Cañeque, V., Lauzurica, S. & de la Fuente, J. (2017). Valorisation of an extract from olive oil waste as natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *Journal of Cleaner Production*, 140, 924-932.

- [60] Terpin, P., Čeh, B., Poklar Ulrih, N. & Abramović, H. (2012). Studies of the correlation between antioxidant properties and total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products*, 39, 210-217.
- [61] Komisja Europejska. (2013). Commission regulation (EU) no 68/2013 of 16 January 2013 on the Catalogue of feed materials (Official Journal of the European Union, L29/1).
- [62] Kaczmarek, P., Korniewicz, D., Lipiński, K. & Mazur, M., (2016). Chemical composition of rapeseed products and their use in pig nutrition. *Polish Journal of Natural Sciences*, 31(4), 545-562.
- [63] Smulikowska, S. (2006). Wartość odżywcza wyłoków rzepakowych produkowanych w kraju dla drobiu. *Wiadomości Zootechniczne*, XLIV (3), 22-28.
- [64] Strzetelski, J. (2006). Możliwości wykorzystania w żywieniu bydła produktów ubocznych powstających przy głębokim tłoczeniu oleju z nasion roślin oleistych i produkcji bioetanolu. *Wiadomości Zootechniczne*, XLIV (3), 56-66.
- [65] Borys, B. (2014). Produkty uboczne biopaliw w żywieniu owiec – makuch rzepakowy i słonecznikowy. *Wiadomości Zootechniczne*, LII (4), 18-35.
- [66] Gorlov, I. F., Slozhenkina, M. I., Alekseev, A. L. & Sutorma, O. A. (2017). Use of by-products of the processing of pumpkin seeds in the ratio of bull-calves for the production of marbled beef. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*, ISSN:0869:3730
- [67] Liu, Z., Quek, A. & Balasubramanian, R. (2014). Preparation and characterization of fuel pellets from woody biomass materials, agro-residues and their corresponding hydrochars. *Applied Energy*, 113, 1315-1322.
- [68] Kachel-Jakubowska, M., Kraszkiewicz, A. & Krajewska, M. (2016). Possibilities of using waste after pressing oil from oilseeds for energy purposes. *Agricultural Engineering*, 20(1), 45-54.
- [69] GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.
- [70] Filtracja, dekantacja, wirowanie, Zintegrowana Platforma Edukacyjna, <https://zpe.gov.pl>

- [71] [https://zasoby1.open.agh.edu.pl/dydaktyka/chemia/a\\_e\\_chemia/6\\_chemia\\_roztworow/04\\_02\\_00.htm](https://zasoby1.open.agh.edu.pl/dydaktyka/chemia/a_e_chemia/6_chemia_roztworow/04_02_00.htm)
- [72] [https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/farm/chemia\\_org/kosm/k-skrypt-destylacja.pdf](https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/farm/chemia_org/kosm/k-skrypt-destylacja.pdf)
- [73] Kryształizacja, Zintegrowana Platforma Edukacyjna, <https://zpe.gov.pl>
- [74] [http://supra.home.amu.edu.pl/files/ogolna/biofizyka-skrypt\\_do\\_cw\\_lab\\_z\\_chemii\\_ogolnej.pdf](http://supra.home.amu.edu.pl/files/ogolna/biofizyka-skrypt_do_cw_lab_z_chemii_ogolnej.pdf)
- [75] Hans-Dieter Barke, Al Hazari, Sileshi Yitbarek, *Misconceptions in chemistry. Addressing perceptions in chemical education*, Berlin: Springer, 2009, s. 75
- [76] <https://zrobionecznie.pl/jak-zrobic-suchy-lod>
- [77] <https://anchemplus.pl/co-to-jest-chromatografia/>
- [78] [https://chemfiz.cm.umk.pl/data/pages/dydaktyka/aninstr//wyklad\\_AI\\_3-1.pdf](https://chemfiz.cm.umk.pl/data/pages/dydaktyka/aninstr//wyklad_AI_3-1.pdf)
- [79] Stryer L., 2003. *Biochemia*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.
- [80] [https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/farm/chemia\\_org/kosm/k-skrypt-ekstrakcja.pdf](https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/farm/chemia_org/kosm/k-skrypt-ekstrakcja.pdf)
- [81] [https://cbimo.zut.edu.pl/fileadmin/pliki/cbimo/grafika/5.\\_Ekstrakcja.pdf](https://cbimo.zut.edu.pl/fileadmin/pliki/cbimo/grafika/5._Ekstrakcja.pdf)
- [82] Z. M. J. Minczewski, *Chemia analityczna. Chemiczne metody analizy ilościowej*, Warszawa: Wydawnictwo naukowe PWN, 2008.
- [83] F. P.-C. M.D. Luque de Castro, „Soxhlet extraction: Past and present panacea,” *Journal of Chromatography A*, p. 2383–2389, (2010).
- [84] J. Robinson (ed) "The Oxford Companion to Wine" Third Edition pg 414-415 Oxford University Press 2006
- [85] H. Giergielewicz-Możajska, Ł. Dąbrowski, J. Namieśnik, Przegląd technik ekstrakcyjnych wykorzystywanych na etapie wyodrębniania analitów z próbek stałych. Część 1, *Ekologia i Technika*, 6(48), 2000, 159 [Review of the extraction methods form the solid samples – part I];

- [86] G. Romanik, E. Gilgenast, A. Przyjazny, M. Kamiński, Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70 , 2007, 253;
- [87] A. Śliwiński, *Ultradźwięki i ich zastosowania*, WNT, Warszawa, 2001;
- [88] T. J. Mason, L. Paniwnyk, L. P. Lorimer, The uses of ultrasound in food technology, *Ultrasonics Sonochem.* 3, 1996, 253
- [89] D. M. Stasiak, Wykorzystanie ultradźwięków do przyśpieszenia wodnej ekstrakcji cukru z krajanki buraka cukrowego, *Acta Sci. Pol.* 4, 2005, 31;
- [90] Benedikt A. Weggler, Frank L. Dorman, in *Separation Science and Technology*, 2020
- [91] M. Waksmundzka – Hajnos, A. Petruczynik, A. Dragan, D. Wiąnowska, A. L. Dawidowicz, I. Sowa, Influence of the extraction mode on the yield of some furanocoumarins from *Pastinaca sativa* fruits, *J. Chromatogr. B.*, 800, 2004, 181;
- [92] A. Wesołowska, D. Jadczyk, Comparison of the Chemical Composition of Essential Oils Isolated from Two Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Cultivars, *Not Bot Horti Agrobo*, 2019, 47(3):829-835.
- [93] „Better solutions for food and beverage analysis”, Ed. Dionex Corporation, Sunnyvale, CA 94088-3603, Second Edition, January 1997, 37
- [94] <https://chem.pg.edu.pl/>
- [95] [https://chem.pg.edu.pl/documents/175628/47894245/KURS%20-%20PRZYGOT\\_PROBKI.pdf](https://chem.pg.edu.pl/documents/175628/47894245/KURS%20-%20PRZYGOT_PROBKI.pdf)
- [96] <https://www.fossanalytics.com/pl-pl/news-articles/lab/soxhlet-fat-analysis-revisited>
- [97] <https://www.fossanalytics.com/pl-pl/products/soxtec-8000>
- [98] A. Leśniewicz, Techniki ekstrakcji próbek stałych – ekstrakcja i chromatografia w analityce, wykład;
- [99] [https://www.aga-analytical.com.pl/pl/products/ekstraktor-nadkrytyczny-co2-laboratorium.htm?product\\_level=1](https://www.aga-analytical.com.pl/pl/products/ekstraktor-nadkrytyczny-co2-laboratorium.htm?product_level=1)



## LITERATURA

---

- [100] H. Greenfield, D.A.T. Southgate: *Food Composition Data. Production, Management and Use*. 2<sup>nd</sup> ed. FAO, Rome 2003.
- [101] Instrukcja obsługi aparatu do ekstrakcji SFE firmy LIZARD
- [102] Instrukcja obsługi wg metody 8075 - TKN Azotu dla suchych próbek.

**ISBN: 978-83-67959-00-1**