

**Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο** Σχολή Χημικών Μηχανικών Τομέας ΙΙ: Ανάπτυξης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων Εργαστήριο Θερμοδυναμικής και Φαινομένων Μεταφοράς

Διπλωματική Εργασία

# Εφαρμογή υπερκρίσιμης εκχύλισης για την παραγωγή εκχυλισμάτων από το φυτό Cistus Creticus





# Χίλιου Μαρία

Επιβλέπων Καθηγητής **Κωστής Μαγουλάς** 

Αθήνα, 2018

# Ευχαριστίες

Με τη συγγραφή αυτής της διπλωματικής ολοκληρώνεται ο κύκλος σπουδών μου στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής μου κ. Κωστή Μαγουλά, αφενός που μου επέτρεψε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα και αφετέρου για την άρτια καθοδήγηση και τη διαρκή παροχή επιστημονικής γνώσης που μου προσέφερε όλο το διάστημα εκπόνησης της διπλωματικής μου.

Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστώ ολόψυχα τη δόκτορα και ΕΔΙΠ Βίκυ Λούλη που ήταν πάντα εκεί πρόθυμη να με βοηθήσει σε όλες τις πτυχές της διπλωματικής μου εργασίας, όπως στην οργάνωση, στη μεθοδικότητα των πειραμάτων και στην παροχή επαρκών γνώσεων για αυτά όπου με οδήγησαν στο να τα κατανοήσω πλήρως. Ο ρόλος της ήταν καταλυτικός για την επιτυχή έκβαση της διπλωματικής μου και την ευχαριστώ πολύ για αυτό.

Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω την ΑΡΙVITA ΑΕΒΕ για τη διάθεση του φυτικού υλικού (Cistus Creticus). Επιπλέον, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Θερμοδυναμικής και Φαινομένων Μεταφοράς, όπου εκπονήθηκε η παρούσα διπλωματική, για το ευχάριστο και φιλικό κλίμα που μου παρείχαν όλο το διάστημα όπου βρισκόμουν εκεί αλλά και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν σε θέματα ασφαλείας του εργαστηρίου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους που συνέβαλαν στη διεξαγωγή των πειραμάτων ποιοτικής εκτίμησης των εκχυλισμάτων. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω το Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων και ιδιαίτερα τον κ. Δημήτρη Τσιμογιάννη που με βοήθησε στην ανάλυση με GC-MS των εκχυλισμάτων. Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα το Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Φυσικών Προϊόντων της Φαρμακευτικής Σχολής Αθηνών και ιδιαίτερα τον δόκτωρα Γιώργο Παπαευσταθίου όπου με την καθοδήγηση του έλαβα ένα επαρκές επιστημονικό υπόβαθρο για όλες τις αναλυτικές τεχνικές που θα χρησιμοποιούσα στη διπλωματική εργασία και οδηγήθηκα στην πλήρη κατανόηση τους, ενώ μέσω της προσωπικής διεξαγωγής πειραμάτων βελτίωσα την εργαστηριακή πρακτική μου. Η περίοδος που βρισκόμουν στη Φαρμακευτική ήταν από τα αγαπημένα κομμάτια της διπλωματικής μου και ευχαριστώ όποιον συνέβαλε σε αυτό. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστώ την κ. Βέρα Λυμπεροπούλου, για τη βοήθεια της στην επανεξέταση με GC-MS κάποιων δειγμάτων.

Επιπρόσθετα θα ήθελα να εκφράσω θερμές ευχαριστίες στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης Διεργασιών και ιδιαίτερα στη Μαρίνα Στραμάρκου και στη Χριστίνα Δρόσου με των οποίων την καλή διάθεση, τη βοήθεια και τη σωστή καθοδήγηση κατάφερα να ολοκληρώσω επιτυχώς σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα τις υπόλοιπες αναλύσεις ποιοτικού χαρακτήρα των εκχυλισμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, στην αδερφή μου και στον Αποστόλη, για την αμέριστη στήριξη που μου παρείχαν, για την κατανόηση και τη βοήθεια τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και συμφοιτητές μου όπου έκαναν τα φοιτητικά μου χρόνια πιο όμορφα!!

# Περίληψη

Στην παρούσα Διλωματική Εργασία πραγματοποιήθηκε η μελέτη, ανάλυση και μοντελοποίηση της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης του φυτού Cistus Creticus, με σκοπό τόσο τη διεξαγωγή συμπερασμάτων για τις ιδιότητες του ελαίου της πρώτης ύλης, όσο και για τη διερεύνηση της επίδρασης των κύριων λειτουργικών παραμέτρων της διεργασίας στην απόδοση της και τη βελτιστοποίηση της.

Η συγκεκριμένη πρώτη ύλη είναι ένα ενδημικό ελληνικό είδος που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων καθώς τα αιθέρια έλαια και εκχυλίσματα του διαθέτουν αξιόλογες δραστικές ιδιότητες όπως αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή, κυτταροτοξική, και γαστροπροστατευτική δράση, ενώ δεν έχει μελετηθεί συστηματικά η επεξεργασία του με τη συγκεκριμένη διεργασία.

Για την ορθή και τεκμηριωμένη παρουσίαση των αποτελεσμάτων της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης (Υ.Ε.) έγινε σύγκριση των εκχυλισμάτων του Cistus με δύο ευρέως διαδεδομένες συμβατικές τεχνικές διαχωρισμού, την υγρή εκχύλιση (Soxhlet) και την Υδροαπόσταξη. Οι διαλύτες που εξετάστηκαν στην πρώτη ήταν η αιθανόλη και το κανονικό εξάνιο.

Οι παράγοντες που μελετήθηκαν στην Υπερκρίσιμη Εκχύλιση είναι η θερμοκρασία (40°C, 50°C, 60°C), η πίεση (110bar, 180bar, 250bar) και η μαζική ροή του διαλύτη (1kgco2/h, 2kgco2/h, 3kgco2/h) ως προς την επίδραση τους στην απόδοση της διεργασίας. Παράλληλα, εξετάστηκε σε προκαταρτικό επίπεδο η επίδραση της χρήσης συνδιαλύτη στα ποιοτικά χαρακτηριστικά και τις χημικές ιδιότητες του εκχυλίσματος. Τέλος, επιχειρήθηκε η μαθηματική περιγραφή του συστήματος της απόκρισης, διερευνώντας την επίδραση των παραμέτρων λειτουργίας στην απόδοση της διεργασίας, και η μαθηματική μοντελοποίηση της με χρήση του μοντέλου μεταφοράς μάζας της Sovová, με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Το αιθέριο έλαιο από την Υδροαπόσταξη και επιλεγμένα εκχυλίσματα που παραλήφθηκαν από τις άλλες μεθόδους εκχύλισης, αναλύθηκαν ως προς τη χημική τους σύσταση και την αντιοξειδωτική τους δράση. Για τη χημική σύσταση χρησιμοποιήθηκε αέρια χρωματογραφία GC-MS, ενώ η αντιοξειδωτική δράση προσδιορίστηκε μέσω της μεθόδου ελεύθερης ρίζας DPPH° και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μετρήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteau.

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι τη σημαντικότερη επίδραση στην απόδοση της διεργασίας της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης έχει η πίεση ακολουθούμενη από τη θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, η αύξησή τους οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης. Επίσης, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων του Cistus Creticus με Υ.Ε. υπερτερούσαν σε σχέση με εκείνα των εκχυλισμάτων των συμβατικών μεθόδων διαχωρισμού. Όσο αφορά την αντιοξειδωτική δράση, το πιο δραστικό εκχύλισμα ήταν αυτό της αιθανόλης από Soxhlet με δράση παρόμοια εκείνης του ασκορβικού οξέος. Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα ήταν λιγότερο δραστικά, αλλά η χρήση μικρής ποσότητας συνδιαλύτη στην περίπτωση της Υ.Ε. αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος δίνοντας την ευελιξία στην Υ.Ε. να συνδυάσει καλές οργανοληπτικές ιδιότητες και δραστικότητα εκχυλισμάτων. Όσον αφορά τη χημική ανάλυση των εκχυλισμάτων, παρατηρήθηκε υψηλό ποσοστό εκχύλισης λιπαρών οξέων όπως του δεκαεξανοϊκού και λινολεϊκού οξέος, ενώσεων ωφέλιμων για τον οργανισμό.

Τέλος, τα αποτελέσματα από τη μαθηματική μοντελοποίηση της διεργασίας της Υ.Ε. οδήγησαν σε μια απλοποιημένη εξίσωση περιγραφής του συστήματος, η οποία προσομοιώνει σε ικανοποιητικό βαθμό την επίδραση των μελετούμενων λειτουργικών παραμέτρων στην απόδοση της διεργασίας και διευκολύνει την αριστοποίησή της. Επίσης, καλή περιγραφή των πειραματικών δεδομένων για την καμπύλη εκχύλισης επιτεύχθηκε με το μοντέλο Sovová σε όλες τις εξεταζόμενες συνθήκες της Υ.Ε..

**Λέξεις κλειδιά:** Cistus Creticus, Υπερκρίσιμη Εκχύλιση, Συμβατικές Μέθοδοι Εκχύλισης, GC-MS, Ολικό Φαινολικό Φορτίο, Αντιοξειδωτική Δράση, Μαθηματική Μοντελοποίηση, Μοντέλο Sovová.

# Utilization of Supercritical Fluid Extraction in order to obtain extracts from Cistus Creticus Plant **Abstract**

In this Diploma Thesis, the investigation, analysis and modeling of the Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Cistus Creticus plant was carried out, in order to gain significant information about the properties of the Cistus Creticus L. oils, and to investigate the effect of the main operating parameters on the extraction yield and optimize the overall process.

The specific plant is a greek native shrub, which is of great interest to the food, cosmetic and pharmaceutical industry, because of its essential oils' and extracts' invaluable properties such as anti-flammatory, antimicrobial, cytotoxic and gastroprotective activity. Furthermore, the SFE of Cistus Creticus has not been studied so far extensively.

For the solid and factual presentation of the results of the Supercritical Fluid Extraction, the Cistus Creticus L. extracts were compared with those of two widely used conventional extraction techniques, namely liquid-liquid extraction (Soxhlet) and Hydrodistillation. The examined solvents in Soxhlet extraction were Ethanol and n-hexane.

For the Supercritical Fluid Extraction, the effect of temperature (40°C, 50°C, 60°C), pressure (110bar, 180bar, 250bar) and solvent flow rate (1kgco2/h, 2kgco2/h, 3kgco2/h) on the extraction yield was studied. Also, the influence of a co-solvent on the qualitative characteristics and chemical properties of Cistus Creticus L. extracts was examined in preliminary experiments. Last but not least, a mathematical description of the system's response was attempted, in order to investigate the effect of process's parameters on the extraction yield. The results obtained were satisfactory. Also, the mathematical modelling of the extraction yield through the implementation of the Sovová mass transfer model was examined, leading to good results.

The essential oil from Hydrodistillation and other selected extracts from the other techniques were evaluated on their chemical composition and Antioxidant Activity. Their chemical composition was evaluated by GC-MS method, their Antioxodant Activity by DPPH<sup>o</sup> assay and their Total Phenolic Content by Folin-Ciocalteue method.

The research's results indicated that the SFE yield was mainly affected by the extraction pressure, followed by the temperature. Specifically, their increase results in process's yield increase, too. Furthermore, the organoleptic characteristics of SFE Cistus Creticus L. extracts outweighed compared to other extracts from the conventional extraction techniques. According to the extracts' antioxidant activity, the most radical extract was that from Soxhlet extraction with Ethanol as solvent, exhibiting similar antioxidant activity to Ascorbic Acid. The other extracts were less radical, but the utilization of a co-solver at small quantity in SFE increases their antioxidant activity, giving the flexibility to SFE to combine the good quality characteristics with significant antioxidant activity.

With regard to extracts' chemical composition, high percentages of fatty acids were detected, such as Hexadecanoid acid and Linoleic Acid, components useful to human organism.

Finally, the results from the mathematical modelling of Supercritical Fluid Extraction process led to a simplified equation describing the system, which simulates sufficiently the effect of the studied process parameters on process performance and paves the way to its optimization. Also, good fitting of the extraction's curve was accomplished with the implementation of Sovová mass transfer model for all the examined SFE experimental conditions.

**Key words:** Cistus Creticus, Supercritical Fluid Extraction, Conventional extraction techniques, GC-MS, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, Mathematical modelling, Sovová model.

# Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
2. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	4
2.1 Η ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ: ΤΟ ΓΕΝΟΣ CISTUS	4
2.1.1 ΒΟΤΑΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	4
2.1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ	5
2.1.3 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	7
2.1.4 Χρησείς	9
2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	9
2.2.1 ΥΔΡΟΑΠΟΣΤΑΞΗ	.10
2.2.1.1 Αρχή της Μεθόδου	.10
2.2.1.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα	.11
<b>2.2.2</b> Үгрн Екхүліхн (Soxhlet)	.11
2.2.2.1 Αρχή της Μεθόδου	.11
2.2.2.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα	.12
2.2.3 ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ	.12
2.2.3.1 Υπερκρίσιμα Ρευστά	.13
2.2.3.1.1 Ιδιότητες Υπερκρίσιμων ρευστών	.13
2.2.3.1.2 Εφαρμογές Υπερκρίσιμων Ρευστών	.13
2.2.4 ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ	.14
2.2.4.1 Αρχή Λειτουργίας	.14
2.2.4.2 Εφαρμογές Υπερκρίσιμης Εκχύλισης	.15
2.2.4.3 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα	.15
2.2.4.4 Συνθήκες Λειτουργίας	.15
2.3 ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	.18
2.3.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	.18
2.3.1.1 Θεωρητικό Υπόβαθρο	.18
2.3.1.2 Μεθοδος ελευθερης ριζας DPPH°	.19
2.3.2 OAIKO ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ (TPC)	.19
2.3.3 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ- ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ (GC-MS)	.20
<b>2.4</b> IIEIPAMATIKOS $\Sigma$ XE $\Delta$ IA $\Sigma$ MO $\Sigma$	.21
2.5 ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ	.25
<b>2.5.1</b> ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΛΥΣΗ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	.27
<b>2.5.2</b> ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	.31
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	.32
3.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΡΩΤΗΣ ΥΛΗΣ	.32
3.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	.33
3.3 ΥΔΡΟΑΠΟΣΤΑΞΗ	.34

3.4 YIPH EKXYAIEH (SOXHLET)	35
3.5 ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ	36
3.5.1 ПЕІРАМАТІКН $\Delta$ ІАТАЕН	36
3.5.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	39
3.6 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	41
3.6.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ	41
3.6.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (TPC)	42
3.6.3 ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ-ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ (GC-MS)	43
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	44
4.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	44
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ	44
4.2.1 ΥΔΡΟΑΠΟΣΤΑΞΗ	45
<b>4.2.2</b> УГРН ЕКХҮЛІЕН (SOXHLET )	46
4.2.2.1 Με διαλύτη κανονικό εξάνιο	46
4.2.2.2 Με διαλύτη αιθανόλη	46
4.2.3 ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ	47
4.2.3.1 Απόδοση Υπερκρίσιμης Εκχύλισης	47
4.2.3.2 Επίδραση συνθηκών στην απόδοση υπερκρίσιμης εκχύλισης	50
<b>4.2.3.2.1</b> Επίδραση Πίεσης	53
4.2.3.2.2 Επίδραση Θερμοκρασίας	55
<b>4.2.3.2.3</b> Επίδραση Ροής	57
4.3 ΜΕΛΕΤΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	60
4.3.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	60
4.3.2 Ολικό Φαινολικό Περιέχομενο	61
4.3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΤΗΤΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	61
5. ΜΟΝΤΕΛΟΙΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ	64
5.1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΒΑΣΕΙ	
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ	64
<b>5.2</b> Προσομοίωση διεργάσιας με το Μοντελό Sovova	68
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	70
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	74
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	86
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ. ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ	90

# Ευρετήριο Εικόνων

<i>Еіко́va 1: Cistus Creticus</i> <sup>[24]</sup> 4
Εικόνα 2: Άνθη από αντιπροσωπευτικά φυτά Cistus. (Α) λευκά [Cistus
Salviifolius του υπογένους Leucocistus], (B) μωβ [cistus incanus από του
υπογένους Cistus], (C) λευκά με μαυροκόκκινες κηλίδες [Cistus ladanifer του
<i>υπογένους Leucocistus]</i> <sup>[1]</sup> 5
Εικόνα 3: Ταξινόμηση των φυτών Cistus σε υπογένη με τα πιο
αντιπροσωπευτικά είδη του καθενός από αυτά. <sup>[1]</sup> 6
Εικόνα 4: εντ-οξείδιο της μανοόλης <sup>[25]</sup> & Εικόνα 5: εντ-13-επι οξείδιο της
μανοόλης <sup>[25]</sup> 8
Εικόνα 6: Σκαρίφημα Διάταξης τύπου Clevenger Υδροαπόσταξης <sup>[32]</sup> 10
Εικόνα 7: Σκαρίφημα διάταξης Soxhlet <sup>[31]</sup> 11
Εικόνα 8: Διάγραμμα φάσεων καθαρής ουσίας <sup>[27]</sup> 12
Εικόνα 9: Απλοποιημένο διάγραμμα ροής μιας μονάδας υπερκρίσιμης
εκχύλισης14
Εικόνα 10: Ευρέως χρησιμοποιούμενοι διαλύτες στην Υπερκρίσιμη Εκχύλιση
με βάση 166 δημοσιεύσεις <sup>[8]</sup> 17
Εικόνα 11: Επιλογή βασικών μεγεθών κατά το σχεδιασμό σε διεργασίες
υπερκρίσιμης εκχύλισης <sup>[8]</sup> 21
Εικόνα 12: Γραφική απεικόνιση του 2 <sup>3</sup> πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού <sup>[17]</sup>
Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των
<i>παραγόντων</i> <sup>[17]</sup>
Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση των τριών περιοχών εκχύλισης <sup>[8]</sup> 26
Εικόνα 15: Αρχική και τελική μορφή δείγματος Cistus Creticus
Εικόνα 16: Φούρνος Κενού για τη μέτρηση της υγρασίας του φυτού
Εικόνα 17: Τοποθέτηση δειγμάτων σε ξηραντήρα κενού
Εικόνα 18: Εργαστηριακή διάταξη Υδροαπόσταξης
Εικόνα 19: Τμήμα της συσκευής Soxhlet κατά την εκχύλιση με αιθανόλη35
Εικόνα 20: Εργαστηριακή συσκευή Soxhlet
Εικόνα 21: Εξατμιστήρας υπό κενό35
Εικόνα 22: Μονάδα ημιπιλοτικής κλίμακας SFE
Εικόνα 23: Διάγραμμα ροής της μονάδας SFE
Εικόνα 24: Απεικόνιση του δοχείου εκχύλισης και του δείγματος εντός του39
Εικόνα 25: Υπολείμματα δειγμάτων κατεργασίας με Υπερκρίσιμη Εκχύλιση40
Εικόνα 26: Μίγματα διαφόρων συγκεντρώσεων εκχυλίσματος μετά το πέρας
της καταστροφής της ρίζας DPPH°42
Εικόνα 27: Μίγματα διαφόρων συγκεντρώσεων ασκορβικού οξέος μετά το
πέρας της καταστροφής της ρίζας DPPH°
Εικόνα 28: Δείγματα προς ανάλυση Ολικού Φαινολικού Φορτίου καθώς
επωάζονται στο υδατόλουτρο43

Εικόνα 29: Δείγματα προς ανάλυση Ολικού Φαινολικού Φορτίου μετά το
πέρας της επώασης τους στο υδατόλουτρο43
Εικόνα 30: Παραλαβόμενα εκχυλίσματα από τις εξεταζόμενες μεθόδους 44
Εικόνα 31: Χρωματογράφημα αιθέριου ελαίου φυτού C.Creticus από
Υδροαπόσταξη62
Εικόνα 32: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φυτού C.Creticus από
Υπερκρίσιμη Εκχύλιση στις ενδιάμεσες συνθήκες (50°C, 180bar, 2kgco2/h)
από το δεύτερο διαχωριστήρα62
Εικόνα 33: Παραλαβή πολυμερών και σύνθετων αφρών με τεχνολογία Υ.Ρ.
[39]
Εικόνα 34: Διεξαγόμενες χημικές αντιδράσεις σε Υ.Ρ. σε βιομηχανική
<i>κλίμακα</i> <sup>[39]</sup> 82
Εικόνα 35: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από υπερκρίσιμη εκχύλιση στις
υψηλές συνθήκες (60°C, 250bar, 3kgco2/h) από το δεύτερο διαχωριστήρα88
Εικόνα 36: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από υγρή εκχύλιση (Soxhlet) με
κανονικό εξάνιο ως διαλύτη88

# Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Κρίσιμες Ιδιότητες μερικώς ευρέως χρησιμοποιούμενων διαλυτών <sup>[28],[38]</sup>	13
Πίνακας 2: Πίνακας δοκιμών παραμέτρων 2 <sup>3</sup> πλήρους παραγοντικού	
σχεδιασμού	23
Πίνακας 3: Τιμές των 2 επιπέδων του παραγοντικού σχεδιασμού	24
Πίνακας 4: Λειτουργικά χαρακτηριστικά βασικών τμημάτων της μονάδας	
υπερκρίσιμης εκχύλισης <sup>[9]</sup>	39
Πίνακας 5: Πειραματικές συνθήκες υπερκρίσιμης εκχύλισης	40
Πίνακας 6: Βιβλιογραφικά δεδομένα απόδοσης υδροαπόσταξης αιθέριου	
ελαίου των υποειδών του Cistus Creticus	45
Πίνακας 7: Σύγκριση εκχυλισμάτων Soxhlet	46
Πίνακας 8: Αποδόσεις και κωδικοί πειραμάτων Υπερκρίσιμης Εκχύλισης	47
Πίνακας 9: Κωδικοποίηση των διαγραμμάτων υπερκρίσιμης εκχύλισης	48
Πίνακας 10: Πυκνότητες διοξειδίου του άνθρακα στις διάφορες πειραματικές	-
συνθήκες <sup>[33]</sup>	50
Πίνακας 11:Αποτελέσματα μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης	60
Πίνακας 12: Αποτελέσματα μέτρησης Ολικού Φαινολικού Φορτίου	61
Πίνακας 13: Ταυτοποιημένα πτητικά συστατικά που περιέχονται στο	
εκχύλισμα από Υπερκρίσιμη Εκχύλιση και στο αιθέριο έλαιο της	
Υδροαπόσταξης	63
Πίνακας 14: Δεδομένα από Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)	64
Πίνακας 15: Οι παράμετροι του μοντέλου	68
Πίνακας 16: Παραδείγματα παραλαβόμενων αιθέριων ελαίων με SFE [30]	83
Πίνακας 17: Παραδείγματα απομόνωσης δραστικών ουσιών από φυτικά	
δείγματα με SFE <sup>[29]</sup>	84
Πίνακας 18: Ταυτοποιημένα συστατικά δειγμάτων από Soxhlet και από	
υπερκρίσιμη εκχύλιση	89
Πίνακας 19: Απόδοση Διεργασίας σε χρόνο εκχύλισης 150min	90
Πίνακας 20: Συμπληρωματικά δεδομένα από ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA	I)
	90
Πίνακας 21: Δοκιμές επίδρασης διάφορου πλήθους συντελεστών	91
Πίνακας 22: Τα 3 διαφορετικά στάδια εκχύλισης των πειραμάτων	96

# Ευρετήριο Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Συγκεντρωτική εξέλιξη απόδοσης όλων των πειραμάτων49
Διάγραμμα 2: Απόδοση της ΥΕ σαν συνάρτηση της πυκνότητας του CO251
Διάγραμμα 3: Σύγκριση επαναληπτικών πειραμάτων
Διάγραμμα 4: Επίδραση της πίεσης σε σταθερή θερμοκρασία των 60°C με ροή
διαλύτη 3kg/h &1kg/h53
Διάγραμμα 5: Επίδραση της πίεσης σε σταθερή θερμοκρασία των 40°C με ροή
διαλύτη 3kg/h &1kg/h54
Διάγραμμα 6: Επίδραση της θερμοκρασίας σε σταθερή πίεση 250 bar με ροή
διαλύτη 3kg/h &1kg/h55
Διάγραμμα 7: Επίδραση της θερμοκρασίας σε σταθερή πίεση 110bar με ροή
διαλύτη 3kg/h &1kg/h
Διάγραμμα 8: Επίδραση της ροής (a) στους 60°C& 250bar (b) στους 60°C&
110bar (с) отоис 40°C& 250bar (d) отоис 40°C& 110bar
Διάγραμμα 9: Εξέλιξη της πορείας της διεργασίας Υπερκρίσιμης Εκχύλισης58
Διάγραμμα 10: Συσχέτιση πειραματικών – υπολογισμένων τιμών απόδοσης
της υπερκρίσιμης εκχύλισης με ANOVA66
Διάγραμμα 11: Συσχέτιση πειραματικών – υπολογισμένων τιμών απόδοσης
της υπερκρίσιμης εκχύλισης67
Διάγραμμα 12: Διάγραμμα υπολογισμού IC50 του δείγματος
5%SFE.60.250.3.SEP2
Διάγραμμα 13: Διάγραμμα υπολογισμού IC50 του δείγματος Sox-Etoh87
Διάγραμμα 14: Διάγραμμα υπολογισμού ΙC50 ασκορβικού οξέος
Διάγραμμα 15: Περιγραφή 1°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová
Διάγραμμα 16: Περιγραφή 2°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová92
Διάγραμμα 17: Περιγραφή 3°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová92
Διάγραμμα 18: Περιγραφή 4°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová93
Διάγραμμα 19: Περιγραφή 5°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová93
Διάγραμμα 20: Περιγραφή 6°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová94
Διάγραμμα 21: Περιγραφή 7°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová94
Διάγραμμα 22: Περιγραφή 8°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová95
Διάγραμμα 23: Περιγραφή 9°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το
μοντέλο Sovová

# Λίστα Συμβόλων

$[DPPH]_{t=0}$	η συγκἑντρωση του διαλὑματος ρίζας DPPHº μὀνο (mg/ml)			
$[DPPH]_t$	η συγκέντρωση της ρίζας στο μίγμα μετά το πέρας της αντίδρασης (mg/ml)			
%DPPHrem	Ποσοστό εναπομείνουσας ρίζας DPPH° στο μίγμα			
е	Απόδοση εκχύλισης (kg/kg <sub>feed</sub> )			
eexp	Απόδοση εκχύλισης από πειραματικά δεδομένα			
emod	Απόδοση εκχύλισης με βάση το μοντέλο			
h	Αξονική συντεταγμένη κατά μήκος της κλίνης (m)			
Н	Ύψος κλίνης (m)			
]	Ρυθμός μεταφοράς μάζας (kg/ m³s)			
k <sub>f</sub>	Συντελεστής μεταφοράς μάζας ρευστής φάσης (m/s)			
ks	Συντελεστής μεταφοράς μάζας στερεής φάσης (m/s)			
$\dot{m}_{CO2}$	Ροή διοξειδίου του άνθρακα (kg <sub>co2</sub> /h)			
mextr <sub>in</sub>	Αρχικό βάρος εκχυλιστήρα (g)			
mextr <sub>f</sub>	Τελικό βάρος εκχυλιστήρα (g)			
mcistus	Αρχικό βάρος φυτικού υλικού (g)			
q	Ανημένη ποσότητα διαλύτη που έχει καταναλωθεί (kg <sub>co2</sub> /kg <sub>feed</sub> )			
q'	Ανηγμένη ροή διαλύτη (kg <sub>CO2</sub> / kg <sub>feed</sub> /s)			
Р	Πiεση (bar)			
т	Θερμοκρασία (°C)			
t	Χρόνος εκχύλισης (s)			
t <sub>f</sub>	Χαρακτηριστικός χρόνος μεταφοράς μάζας στη ρευστή φάση (s)			
tr	Χρόνος παραμονής (s)			
ts	Χαρακτηριστικός χρόνος εσωτερικής διάχυσης (s)			
U	Επιφανειακή ταχύτητα (m/s)			
V	Συντελεστής μεταφοράς μάζας			
x	Περιεχόμενη διαλυμένη ουσία στη στερεή φάση			
	(KG/KGsolid) Περιεκτικότητα της διαλιμιένης ομαίας στην ποώτη			
Xo	ύλη			
Xk	Αρχική συγκέντρωση δεσμευμένου ελαίου στο στερεό			
$X_i, X_iX_j, X_iX_jX_k$	κωοικοποιημενες οιασταθμικες σταθερές της εξίσωσης απόκρισης, i,j,k=1,3			

У	Περιεχόμενη διαλυμένη ουσία στη ρευστή φάση
Уr	(κ9/κ9:02) Διαλυτότητα της διαλυμένης ουσίας στο ρευστό
Z z z <sub>k</sub> z <sub>w</sub>	Αδιάστατος συντελεστής μεταφοράς μάζας στη ρευστή φάση Αδιάστατη αξονική σταθερά Αδιάστατη αξονική σταθερά όπου x=x <sub>k</sub> Αδιάστατη αξονική συντεταγμένη του ορίου μεταξύ του γρήγορου και του αργού σταδίου της εκχύλισης
Ελληνικἁ Σύμβολα	
۵o	Ειδική διεπιφάνεια μεταφοράς μάζας μεταξύ των
a <sub>i</sub>	Συντελεστές παραμέτρων της εξίσωσης απόκρισης του
βi	ουστημάτος τ= 1,7 Συντελεστές παλινδρόμισης της εξίσωσης απόκρισης
	του συστήματος, i=1,7
Y	Λόγος μάζας του διαλύτη στον κενό όγκο του εκχυλιστήρα προς την τροφοδοσία
3	Πορώδες κλίνης
ρ <sub>f</sub>	Πυκνότητα διαλύτη (kg <sub>co2</sub> /m³)
ρs	Πυκνότητα σωματιδίων (kg <sub>co2</sub> /m³)
т	Αδιάστατος χρόνος
Συντμήσεις	
AAD	Absolut Average Deviation
MAD	Maximum Average Deviation
SFE	Supercritical Fluid Extraction
Stdev	Standard Deviation
Δείκτες	
+	Στην επιφάνεια των σωματιδίων

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαρκής υποβάθμιση του περιβάλλοντος και οι κίνδυνοι που θέτουν οι επιπτώσεις της στη γενικότερη βιωσιμότητα των οικοσυστημάτων του πλανήτη αλλά και στην ανθρώπινη υγεία, κατέστησαν επιτακτική την υιοθέτηση ενός διαφορετικού τρόπου ζωής και ανάπτυξης με βασικό πυλώνα την αειφορία. Σε αυτό το πλαίσιο αναπτύχθηκε και η έννοια της πράσινης χημείας, δηλαδή η εφαρμογή ενός συνόλου αρχών με σκοπό την ελάττωση ή την εξάλειψη της χρήσης και της δημιουργίας επικίνδυνων ουσιών στις διεργασίες παραγωγής, σχεδιασμού και εφαρμογής των προϊόντων.<sup>[40]</sup> Συνεπώς το χημικών ενδιαφέρον тпс παγκόσμιας επιστημονικής κοινότητας στράφηκε στη χρήση φυσικών προϊόντων και στην εφαρμογή φιλικότερων προς το περιβάλλον διεργασιών.

Η χρήση φυσικών πρώτων υλών κερδίζει ολοένα και περισσότερο έδαφος σε βασικούς βιομηχανικούς κλάδους όπως εκείνους των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών. Η Ελλάδα διαθέτοντας ένα τεράστιο φυτικό πλούτο μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά σε αυτό το υψίστης σημασίας εγχείρημα. Πράγματι, στην Ελλάδα φύεται μια πληθώρα αρωματικών φυτών, με ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες ιδιότητες, η ανάπτυξη και η παρουσία των οποίων ευνοείται από τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες.

Παράλληλα, διερευνώνται συστηματικά σε ερευνητικό και βιομηχανικό επίπεδο εναλλακτικές διεργασίες εκχύλισης όπως η υπερκρίσιμη εκχύλιση. Το υψηλό επιστημονικό ενδιαφέρον γύρω από τη συγκεκριμένη διεργασία οφείλεται στις ιδιαίτερες ιδιότητες των ρευστών σε υπερκρίσιμη κατάσταση, και ειδικότερα του διοξειδίου του άνθρακα, του πιο διαδεδομένου υπερκρίσιμου διαλύτη. Οι ιδιότητες αυτές επιτρέπουν την ανάκτηση εκχυλισμάτων υψηλής ποιότητας, χωρίς υπολείμματα διαλυτών και χωρίς χημική ή θερμική υποβάθμιση, καθιστώντας την υπερκρίσιμη εκχύλιση μια διεργασία φιλική προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλοι διαλύτες (π.χ. αιθάνιο, προπάνιο, νερό) χωρίς όμως να έχουν την ίδια απήχηση. Από τις κυριότερες εφαρμογές της διεργασίας αποτελεί η παραγωγή βιοδραστικών εκχυλισμάτων και η ανάκτηση πολύτιμων συστατικών από φυτικές ύλες για χρήση σε συμπληρώματα διατροφής, στη λαϊκή θεραπευτική, τη φαρμακολογία και την κοσμετολογία.

Για την υλοποίηση και το σχεδιασμό μιας διεργασίας, όπως η υπερκρίσιμη εκχύλιση, απαιτείται ένας πειραματικός σχεδιασμός και η χρήση ενός μαθηματικού μοντέλου που να περιγράφει τα φυσικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά τη διεξαγωγή της.

Η άρτια πειραματική σχεδίαση είναι απαραίτητη για τη διεξαγωγή ακριβή πειραμάτων όπου οδηγούν σε ορθή ανάλυση των αποτελεσμάτων καταβάλλοντας την ελάχιστη προσπάθεια. Στον πειραματικό σχεδιασμό μεταβάλλονται σκοπίμως όσοι παράμετροι θεωρούνται κρίσιμοι για τη διερεύνηση της επίδρασης τους στα πειραματικά αποτελέσματα.<sup>[23]</sup> Από την άλλη η μαθηματική προσομοίωση οδηγεί στην κατανόηση των φυσικών φαινομένων που διέπουν τη διεργασία δηλαδή στην κατανόηση της αλληλεπίδρασης των μεταφερόμενων ουσιών με τη φάση тои υποστρώματος, με τη φάση του διαλύτη, και της αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο αυτών φάσεων και εντοπίζεται το ελέγχον στάδιο της διεργασίας.<sup>[11]</sup> Με χρήση των προσομοιωτών αυτών καθίσταται δυνατή και η κλιμάκωση μεγέθους που είναι απαραίτητη για το σχεδιασμό παραγωγής σε βιομηχανική κλίμακα.

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποσκοπεί στην πειραματική μελέτη και μαθηματική προσομοίωση της διεργασίας ανάκτησης εκχυλισμάτων με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και στη διερεύνηση της επίδρασης των κύριων λειτουργικών παραμέτρων (πίεση, θερμοκρασία, μαζική ροή διαλύτη) στην απόδοση της διεργασίας.

Για τη διαμόρφωση εύλογων αποτελεσμάτων γύρω από την εφαρμογή της υπερκρίσιμης εκχύλισης επιδιώκεται σύγκρισή της με δύο ευρέως χρησιμοποιούμενες συμβατικές τεχνικές ανάκτησης αιθέριων ελαίων. Η σύγκριση γίνεται με γνώμονα τις τελικές αποδόσεις των μεθόδων και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων τους.

Ως φυτική πρώτη ύλη επιλέχθηκε το Cistus Creticus της ελληνικής γης (Κίστος ο Κρητικός). Επιλέχθηκε καθώς αποτελεί μια πλούσια πηγή σε δευτερογενείς μεταβολίτες με αξιόλογες βιολογικές δράσεις, όπως αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντικαρκινική, κυτταροτοξική (κυρίως αντιλευχαιμική) και γαστροπροστατευτική δράση του αιθέριου ελαίου τους λόγω της παρουσίας λαβδανικών διτερπενίων, ενώ βιβλιογραφικά παρέχονται ενδείξεις για σημαντικές χημικές ιδιότητες όπως π.χ. αντιοξειδωτική δράση, έχοντας τη δυναμική να εφαρμοστεί ως πρόσθετο τροφίμων, ως συστατικό αρωμάτων ή συμπληρωμάτων διατροφής. Επίσης χρησιμοποιείται ευρέως στη λαϊκή θεραπευτική ενώ η παραγωγή των εκχυλισμάτων του συγκεκριμένου υποείδους δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά με την τεχνική της υπερκρίσιμης εκχύλισης.

Αρχικά παρατίθενται το θεωρητικό υπόβαθρο του χρησιμοποιούμενου φυτικού υλικού. Αναλυτικότερα, παρέχονται πληροφορίες για το γένος στο οποίο ανήκει, τα βοτανικά χαρακτηριστικά του, η ταξινόμηση των ειδών του, οι ιδιότητες και οι χρήσεις του σήμερα. Ακόμα αναλύονται οι αρχές των μεθόδων ανάκτησης των αιθέριων ελαίων που εφαρμόστηκαν πειραματικά, δηλαδή της υδροαπόσταξης, της υγρής εκχύλισης (Soxhlet) και της υπερκρίσιμης εκχύλισης, εστιάζοντας το ενδιαφέρον στην τελευταία, που είναι μια καινοτόμα και εξελισσόμενη διεργασία. Επιπρόσθετα, παρατίθεται το απαραίτητο θεωρητικό υπόβαθρο για τις αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιηθήκαν για την ποιοτική εκτίμηση των εκχυλισμάτων, για τον πειραματικό σχεδιασμό που ακολουθήθηκε και για τη μοντελοποίηση της διεργασίας. Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά οι συσκευές, τα αντιδραστήρια και η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στα πλαίσια της παρούσας μελέτης. Ακολούθως στο τέταρτο κεφάλαιο, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων εκχύλισης και οι απαραίτητοι σχολιασμοί για τη διεξαγωγή εύλογων γίνονται συμπερασμάτων. Στο επόμενο κεφάλαιο προσομοιώνεται μαθηματικά η διεργασία της υπερκρίσιμης εκχύλισης και σχολιάζονται τα αποτελέσματα. Τέλος, στο έκτο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα τελικά συμπεράσματα της προτάσεις μελέτης каі ορισμένες για μελλοντική έρευνα.

# 2. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# 2.1 Η Πρώτη 'Υλη: Το γένος Cistus



**Εικόνα 1:** Cistus Creticus<sup>[24]</sup>

Τα φυτά του γένους Cistus (επίσης γνωστά ως rockroses) είναι μεσογειακά γένη θάμνων που περιλαμβάνονται στην οικογένεια Cistaceae, η οποία απαρτίζεται από οκτώ γένη.<sup>[1]</sup> Υπάρχουν είδη του γένους αυτού.<sup>[2]</sup> 25 διαφορετικά διάφορες Συναντώνται σε περιοχές тης Μεσογείου όπως στην Πορτογαλία, Ισπανία, Κανάρια νησιά, βορειοδυτική Αφρική, Ιταλία, Ελλάδα, Κύπρο και Τουρκία, ακολουθώντας ένα συγκεκριμένο μοτίβο εμφάνισης ανάλογα με τις

κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες. Μερικά από τα είδη Cistus είναι ενδημικά και άλλα ευρέως διαδεδομένα στη Μεσογειακή περιοχή.<sup>[1]</sup> Το γένος Cistus παρουσιάζει αξιόλογη μορφολογική διαφοροποίηση όντας ένα σύνθετο γένος, λόγω του πολυμορφισμού των ειδών του και του συχνού υβριδισμού μεταξύ συγγενικών ειδών. Ιδιαίτερα ο υβριδισμός φαίνεται να είναι μια ενεργή διαδικασία στο Cistus και πολλοί υβριδισμοί μεταξύ ειδών με λευκά ή με ροζ άνθη έχουν παρατηρηθεί. Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες για τη γενετική δομή και την εξέλιξη του γένους, ενώ σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του φαινοτύπου των φυτών παίζει η εποχή, το περιβάλλον και η γεωγραφική θέση ανάπτυξης τους.<sup>[7]</sup>

Τα περισσότερα είδη Cistus είναι αρωματικά και εύοσμα, και επομένως βρίσκουν ευρεία εφαρμογή σε βιομηχανίες αρωμάτων και παραφαρμακευτικών προϊόντων. Οι πτητικές ενώσεις που περιέχουν εντοπίζονται στα αιθέρια έλαια τους, αλλά επίσης και στα υδατικά και υδροαλκοολικά τους εκχυλίσματα.<sup>[1]</sup>

## 2.1.1 Βοτανικές Ιδιότητες

Τα φυτά Cistus είναι πολυετείς θάμνοι με φύλλα αειθαλή, απλά αδιαίρετα, αντίθετα ή κατ' εναλλαγή με παράφυλλα συνήθως με ελαφρώς τραχεία επιφάνεια, μήκους 2-8 cm. Τα άνθη τους είναι αρρενοθήλεα, ακτινωτά, με τρία ή πέντε σέπαλα (συνήθως με τα εξωτερικά σέπαλα μικρότερα από τα εσωτερικά) αντίθετα από τα πέταλα. Παρουσιάζουν πέντε πέταλα με τα χρώματα που κυμαίνονται από άσπρο σε μωβ και σκούρο ροζ ανάλογα με το υπογένος, με εμφανή σκούρα κόκκινη κηλίδα στη βάση του κάθε πέταλου σε μερικά είδη. Οι στήμονες είναι αρκετοί και φύονται από την ανθοδόχη.<sup>[1]</sup> Στην επιφάνεια των φύλλων του αλλά και σε άλλα στελέχη φέρουν τριχώματα διαφόρων τύπων, όπου ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: τα μη εκκριτικά και τα εκκριτικά ή αδενώδη.<sup>[7]</sup> Από τα αδενώδη τριχώματα εκκρίνονται το αιθέριο έλαιο και η ρητίνη ή «λάδανο», που είναι πλούσια σε δευτερογενείς μεταβολίτες. Επιπρόσθετα, πιστεύεται ότι είναι τα σημεία βιοσύνθεσης και συγκέντρωσης τερπενοειδών, χαρακτηριστικών για κάθε είδος.<sup>[7]</sup>

Από οικολογική ἀποψη, τα φυτά Cistus παρουσιάζουν ἐντομο-εξαρτώμενη γονιμοποίηση (insect-dependent pollination), ανθο-εξαρτώμενη αναπαραγωγή (flower-dependent reproduction), ἀνοιξο-εξαρτώμενη φαινολογία (spring-dependent phenology), και χαρακτηριστικά που αποδεικνύουν την προσαρμοστικότητα τους σε μεσογειακά οικοσυστήματα. Αναπτύσσονται με διαφορετικούς τρόπους, ὀντας το υπέδαφος σε δασικές εκτάσεις ἑως το κυρίαρχο είδος σε αειθαλείς θἁμνους. Η συνύπαρξη ειδών του Cistus είναι επίσης πολύ συχνή, ιδιαίτερα στις οροσειρές.<sup>[1]</sup>

### 2.1.2 Ταξινόμηση των ειδών

Οι ταξινομικές και φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ αυτών των ειδών βασίζονται κυρίως σε φυτικά και αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά. Προς το παρόν, αυτά τα ταξινομικά δεδομένα έχουν βελτιωθεί σημαντικά με τη χρήση γενετικών προσεγγίσεων. Το πολυφαινολικό περιεχόμενο έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία διαφόρων χημειότυπων, επιτρέποντας ως εκ τούτου την κατάταξη των μελών του γένους Cistus, το οποίο επιβεβαιώνει ταξινομικές και εξελικτικές μελέτες. Το γένος Cistus χωρίζεται σε τρία υπογένη: <sup>[1],[7]</sup>

- Cistus,
- Leucocistus,
- Halimioides



**Εικόνα 2:** Άνθη από αντιπροσωπευτικά φυτά Cistus. (Α) λευκά [Cistus Salviifolius του υπογένους Leucocistus], (Β) μωβ [cistus incanus από του υπογένους Cistus], (C) λευκά με μαυροκόκκινες κηλίδες [Cistus ladanifer του υπογένους Leucocistus]<sup>[1]</sup>

Φυλογενετικές αναλύσεις σκιαγραφούν δύο κύριες κλάσεις μέσα στο γένος Cistus, μια κλάση με μωβ άνθη στην οποία ανήκουν τα φυτά του υπογένους Cistus, και μια λευκά άνθη που ανήκουν τα φυτά των Leucocistus και Halimiodes.<sup>[7]</sup>

Ενώ το υπογένος Cistus είναι σχεδόν άνευ ελλαγιταννίνων και περιέχει κυρίως φλαβονοειδή, τα υπογένη Leucocistus και Halimioides είναι εμπλουτισμένα σε ελλαγιταννίνες και περιέχουν μικρότερες ποσότητες φλαβονοειδών.<sup>[1]</sup>

Έχουν αναφερθεί στο παρελθόν φυλογενετικές και ταξινομικές μελέτες που τονίζουν τη σχέση μεταξύ των μελών των συγκεκριμένων υπογενών. Αυτά συνοψίζονται στην Εικόνα 3, που δείχνει τα πιο αντιπροσωπευτικά είδη του καθενός.<sup>[1]</sup>



Εικόνα 3: Ταξινόμηση των φυτών Cistus σε υπογένη με τα πιο αντιπροσωπευτικά είδη του καθενός από αυτά.<sup>[1]</sup>

Επιπλέον το Cistus incanus (επίσης γνωστό ως pink/hairy rockrose) διαθέτει τρία υποείδη:<sup>[3]</sup>

- Cistus × incanus subsp. creticus = Cistus creticus subsp. creticus (ή Cistus Creticus, Cistus Villosus)
- Cistus × incanus subsp. eriocephalus = Cistus creticus subsp. eriocephalus
- Cistus × incanus subsp. corsicus = Cistus creticus subsp. corsicus

Αυτά τα υποείδη χαρακτηρίζονται από ένα σημαντικό πολυμορφισμό λόγω του υβριδισμού και της εμφάνισης ποικίλων οικοτύπων.<sup>[3]</sup> Σύμφωνα με ορισμένες χημειοταξικές μελέτες, οι διαφορές μεταξύ των υποειδών του Cistus incanus οφείλονται σε διάφορες φυσικές παραμέτρους όπως το φως (ηλιακή ακτινοβολία) και η έλξη/ απώθηση εντόμων.<sup>[4]</sup> Στην Ελλάδα αυτοφύονται τα ακόλουθα **6** ενδημικά είδη του γένους Cistus: Cistus creticus subsp. creticus, Cistus creticus subsp. eriocephalus, Cistus parviflorus, Cistus salviifolius, Cistus monspeliensis και Cistus laurifolius.<sup>[7]</sup>

Το είδος Cistus creticus subsp. creticus φύεται σε πολλά μέρη της Ελλάδας και κυρίως στην Κρήτη. Η άνθηση ξεκινά το Μάιο και διαρκεί μέχρι τον Αύγουστο. Χαρακτηριστικό του αποτελούν οι υψηλές αποδόσεις σε "λάδανο", δηλαδή την καφέ χρώματος ρητίνη που εκκρίνουν τα αδενώδη τριχώματα των φύλλων και των βλαστών του σε αντίθεση με το υποείδος Cistus creticus subsp. eriocehalus που δεν παράγει σημαντικές ποσότητες της εν λόγω ρητίνης.<sup>[7]</sup>

Η εποχή ἀνθησης των φυτών του είδους Cistus parviflorus, C. monspeliensis και C. laurifolius είναι από το Μάρτιο ἑως το Μάιο, Απρίλιο ἑως και Ιούνιο και Ιούλιο με Αύγουστο αντίστοιχα. Το C. laurifolius αυτοφύεται κυρίως στη Β. Ελλάδα.<sup>[7]</sup>

### **2.1.3** Ιδιότητες

Τα αιθέρια έλαια των φυτών Cistus είναι πλούσια σε δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως μονοτερπένια, οξυγονωμένα μονοτερπένια, σεσκιτερπένια και οξυγονωμένα σεσκιτερπένια, τα οποία τους προσδίδουν αξιόλογες ιδιότητες, όπως θα αναλυθούν παρακάτω.<sup>[7]</sup>

Αρχικά, τα *τερπένια* είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που αποτελούν τα κυρίαρχα συστατικά στα αιθέρια ελαία διαφόρων φυτών. Περιέχουν στις αλυσίδες τους το ισοπρένιο, συνδεδεμένο με άλλα άτομα άνθρακα οδηγώντας σε δομές με C10 (μονοτερπένια), C15 (σεσκιτερπένια), C20 (διτερπένια), C30 (τριτερπένια), C40 (καροτενοειδή).<sup>[7]</sup>

Αναλυτικότερα, τα σεσκιτερπένια και τα οξυγονωμένα σεσκιτερπένια, είναι ισοπρενοειδείς ενώσεις που περιέχονται σε υψηλές ποσότητες στα αιθέρια έλαια των φυτών Cistus. Ανεξάρτητα αυτών εντοπίζονται και σε άλλα χερσαία και θαλάσσια φυτά, βακτήρια, μύκητες και έντομα, αλλά όχι σε σπονδυλωτά. Πρόκειται για φυσικά πτητικά συστατικά του δευτερογενούς μεταβολισμού όπου συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις του φυτού με έντομα, φυτά και παθογόνα. Συγκεκριμένα, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φυτού, προσδίδοντας του εντομοαπωθητική δράση, καθώς συμβάλουν στην προσέλκυση αρθρόποδων και άλλων αρπακτικών που παρασιτούν ή επιτίθενται κατά των χορτοφάγων. Από τα σημαντικότερα σεσκιτερπένια που εντοπίζονται στα φυτά του Cistus είναι η βιριδιφλορόλη και η β-ευδεσμόλη.<sup>[7]</sup> Επιπροσθέτως, μερικές αξιόλογες ιδιότητες που εμφανίζουν τα αιθέρια ελαία Cistus, όπως αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντικαρκινική, κυτταροτοξική (κυρίως αντιλευχαιμική) και γαστροπροστατευτική δράση, αποδίδεται στην παρουσία λαβδανικών διτερπενίων. Από τα κυριότερα λαβδανικά διτερπένια των φυτών του γένους είναι το εντ-οξείδιο της μανοόλης και το εντ-13-επιοξείδιο της μανοόλης.[7],[28]





Εικόνα 4: εντ-οξείδιο της μανοόλης[25]

Εικόνα 5: εντ-13-επι οξείδιο της μανοόλης<sup>[25]</sup>

Μια επιπλέον ενδιαφέρουσα ιδιότητα των εκχυλισμάτων της ρητίνης είναι η αντιφλεγμονώδη δράση τους. Οι Lendeckel etal. (2001) σε μια προσπάθεια να ερμηνεύσουν την αντιφλεγμονώδη δράση των προαναφερόμενων εκχυλισμάτων διαπίστωσαν ότι τα υδατικά τους εκχυλίσματα παρεμποδίζουν την ενζυμική δράση πεπτιδασών και μειώνουν τη σύνθεση DNA των ανθρώπινων Τ- και μονοπύρηνων κυττάρων, τα οποία εντείνουν τη δημιουργία φλεγμονών.<sup>[7]</sup>

Ακόμα, η παρουσία φλαβονοειδών και φαινολικών συστατικών στα φυτά του γένους εμπλουτίζει τις ιδιότητες τους και ενισχύει την προστασία τους. Συγκεκριμένα, τα φλαβονοειδή απορροφούν την ηλιακή ακτινοβολία, συμβάλλουν στη διαδικασία της επικονίασης, παρέχουν προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, την ξηρασία και τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Χαρακτηριστικά φλαβονοειδή του γένους αποτελούν παράγωγα της κερσετίνης, της μυρικετίνης και της καιμπφερόλης.[28] Από την άλλη, η παρουσία φαινολικών συστατικών, όπως το γαλλικό οξύ και η ελεμισίνη, τους προσδίδουν εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση. Έρευνες απέδειξαν ότι τα εκχυλίσματα φυτών Cistus έχουν παρουσιάσει αντιοξειδωτική ενεργότητα αντίστοιχη των βιταμινών C και E. Ακόμα προσδίδουν στυπτική δράση στο φυτό, ενώ ενισχύουν την αντιμικροβιακή τους δραστικότητα. Για παράδειγμα έχει αποδειχθεί πως η παρουσία της κερκετίνης δρα παρεμποδιστικά σε κάποια ένζυμα του ιού HIV-1, γνωστός και ως ιός του AIDS, ενώ η απιγενίνη παρεμποδίζει τη διαδικασία μεταγραφής του ιού. Τέλος, αξιοσημείωτη είναι η αντιθρομβωτική τους δράση που οφείλεται στα φλαβονοειδή. [7],[28]

Η σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών στα φυτά επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως οι κλιματολογικές συνθήκες, η θερμοκρασία και το έδαφος. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε πως ανάλογα με την εποχή και την ώρα συγκομιδής διαφέρει η συνολική ποσότητα αιθέριου ελαίου και η σύσταση του. Αναφορικά με την επίδραση του εδάφους, η σύσταση του αιθέριου ελαίου μπορεί να διαφοροποιηθεί αν αναπτυχθεί σε ασβεστώδες ή σε πυριτικό έδαφος.<sup>[7], [28]</sup>

## **2.1.4** Χρήσεις

Η εκμετάλλευση της ρητίνης ("λάδανου") του Cistus Creticus αποτελεί σημαντική, και παλαιότερα την κυρίαρχη πηγή εισοδήματος των κατοίκων της κοινότητας Σισσών Μυλοποτάμου Ρεθύμνης, οι οποίοι ασχολούνται με τη συλλογή της και την εξαγωγή της σε Αραβικές κυρίως χώρες όπου χρησιμοποιείται ως θυμίαμα αλλά και για την απολύμανση εσωτερικών χώρων.<sup>[15]</sup> Επίσης τόσο η ρητίνη, όσο και το φυτό χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική για την αντιμετώπιση αρκετών παθήσεων όπως το κοινό κρυολόγημα, βήχας, έλκη, εγκαύματα και προβλήματα δυσπεψίας. Επιπρόσθετα εκχυλίσματα του φυτού χρησιμοποιούνται ως συστατικά σε σαμπουάν για ενίσχυση του τριχωτού της κεφαλής. Επιπλέον, τα αιθέρια έλαια κάποιων ειδών χρησιμοποιούνται στην κοσμετολογία, λόγω του ιδιαίτερου αρώματος τους και των θεραπευτικών ιδιοτήτων τους.<sup>[28]</sup>

Ωστόσο, τα αιθέρια έλαια και οι ρητίνες των Cistus δε βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς χρησιμοποιούνται μόνο ως αρωματοποιητικοί παράγοντες σε τρόφιμα ή ως ενεργά συστατικά σε συμπληρώματα διατροφής. Παραδείγματος χάρη το εκχύλισμα του Cistus incanus χρησιμοποιείται ως συστατικό σε τρόφιμα με τονωτικές ιδιότητες για το ανοσοποιητικό. Δεν έχουν προσδιοριστεί περαιτέρω χρήσεις των παραγώγων Cistus. Παρ' όλα αυτά, βάσει βιβλιογραφίας υπάρχουν δύο εν δυνάμει εφαρμογές για τα έλαια και άλλα παράγωγα τους που μπορούν να ως αντιοξειδωτικά, λόγω της ισχυρής τους αξιοποιηθούν στο μέλλον: ομώνυμης δράσης, και ως συντηρητικά καθώς τα αιθέρια έλαια και τα εκχυλίσματα των Cistus όπως προαναφέρθηκε, έχουν αποδεδειγμένη αντιμυκητισιακή δράση και αντιμικροβιακή ικανότητα έναντι αρκετών Gramθετικών και Gram-αρνητικών βακτηριών, αν και αρχικά θα πρέπει να προσδιοριστεί η επαρκής δοσολογία και να εφαρμοστεί τοξικολογική έρευνα ώστε να είναι κατάλληλη η χρήση τους.<sup>[1]</sup>

Σήμερα, η χρήση "πράσινης χημείας" προωθείται για την αντικατάσταση των συμβατικών χημικών που χρησιμοποιούνται, προκειμένου να μειωθούν οι υγειονομικοί και περιβαλλοντικοί κίνδυνοι. Η χρήση των εκχυλισμάτων του Cistus ως συντηρητικά και ως αντιμικροβιακοί παράγοντες μπορούν να αποτελέσουν μια καλή εναλλακτική των υφιστάμενων συνθέτων που χρησιμοποιούνται στους τομείς των τροφίμων και της κοσμετολογίας.<sup>[5]</sup>

### 2.2 Μέθοδοι Ανάκτησης Αιθέριων Ελαίων

Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές ανάκτησης των αιθέριων ελαίων από φυτική πρώτη ύλη είναι η απόσταξη, η εκχύλιση με χρήση διαλυτών και η ψυχρή συμπίεση. <sup>[10],[1]</sup> Όμως οι παραπάνω συμβατικές τεχνικές ανάκτησης έχουν αρκετά μειονεκτήματα, καθώς είναι ενεργοβόρες, απαιτούν υψηλούς χρόνους εκχύλισης, υψηλές καταναλώσεις οργανικών διαλυτών ενώ η ποιότητα των παραγόμενων εκχυλισμάτων έχει περιθώρια βελτίωσης.

Συνεπώς, αναζητούνται πιο φιλικές προς το περιβάλλον τεχνολογίες. Σε αυτήν την κατεύθυνση συνέβαλε η ανάπτυξη νέων "πράσινων" διαλυτών όπως τα ιοντικά υγρά, ενώ χρησιμοποιήθηκαν υπάρχοντες διαλύτες οι οποίοι δεν είχαν αξιοποιηθεί νωρίτερα, όπως το νερό και τα υπερκρίσιμα ρευστά. Αντίστοιχα αναπτύχθηκαν και νέες "πράσινες" διεργασίες, όπως η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση (Supercritical Fluid Extraction), η Υποβοηθούμενη από Μικροκύματα Εκχύλιση (Microwave Assisted Extraction), η Εκχύλιση με Χρήση Υπερήχων (Ultrasonic Extraction), η Υποβοηθούμενη από Πίεση Εκχύλιση (Pressure Assisted Extraction) και η Μικροεκχύλιση Στερεούς Φάσης (Solid-Phase Microextraction).<sup>[9]</sup>

Στα επόμενα κεφάλαια θα αναπτυχθούν λεπτομερώς οι τεχνικές που εφαρμόστηκαν πειραματικά στην παρούσα Διπλωματική Εργασία, οι οποίες είναι η Υδροαπόσταξη, η Υγρή Εκχύλιση (Soxhlet) και η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση.

## 2.2.1 Υδροαπόσταξη

#### 2.2.1.1 Αρχή της Μεθόδου

Στην Εικόνα 6 αναπαριστάται σχηματικά η συσκευή τύπου Clevenger. Αποτελείται από δυο τμήματα: τη σφαιρική φιάλη και το γυάλινο σωλήνα με τον ψυκτήρα και το σιφώνιο. Το νερό και το φυτικό υλικό τοποθετούνται στη σφαιρική φιάλη και θερμαίνονται μέσω θερμικού μανδύα. Όταν αρχίζει να ζέει ο διαλύτης, οι ατμοί του μαζί με τις πτητικές ουσίες του δείγματος οδηγούνται στον ψυκτήρα, όπου συμπυκνώνονται και ρέουν εντός του σιφωνίου όπου είναι εμφανής ο σχηματισμός δύο φάσεων: μιας υδατικής και μιας ελαιώδους. Αξίζει να σημειωθεί ότι λόγω βαρύτητας η ελαιώδης φάση βρίσκεται πάνω από την υδατική, και γι' αυτό διαχωρίζεται εύκολα το αιθέριο έλαιο και συλλέγεται σε ένα δοχείο.<sup>[11]</sup>



Εικόνα 6: Σκαρίφημα Διάταξης τύπου Clevenger Υδροαπόσταξης<sup>[32]</sup>

#### 2.2.1.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα

Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι απλή και οικονομική γι' αυτό και έχει βρει μεγάλη απήχηση στην παραγωγή εκχυλισμάτων. Ακόμα, είναι εύκολος ο διαχωρισμός του αιθέριου ελαίου από το διαλύτη, και επειδή η ελαιώδης φάση δεν είναι αναμίξιμη με την υδατική, το παραλαβόμενο προϊόν είναι καθαρό, ενώ παρέχει τη δυνατότητα εφαρμογής από μικρές σε μεγάλες κλίμακες.<sup>[6],[14]</sup>

Από την άλλη πλευρά, είναι ενεργοβόρα και η υψηλή θερμοκρασιακή λειτουργία μπορεί να οδηγήσει στην αποσύνθεση ορισμένων πτητικών ενώσεων του φυτικού υλικού και στη χημική ή και θερμική αλλοίωση των τελικών προϊόντων.<sup>[6]</sup>

# 2.2.2 Υγρή Εκχύλιση (Soxhlet)

### 2.2.2.1 Αρχή της Μεθόδου

Στην Εικόνα 7 αναπαρίσταται σχηματικά η διάταξη Soxhlet. Απαρτίζεται από τρία τμήματα: μια σφαιρική φιάλη, τον εκχυλιστήρα και τον ψυκτήρα. Το φυτικό προς εκχύλιση δείγμα τοποθετείται σε πορώδη υποδοχέα, εντός του γυάλινου εκχυλιστήρα, ενώ ο διαλύτης τοποθετείται στη σφαιρική φιάλη, όπου θερμαίνεται με θερμαντική εστία σε κατάλληλη θερμοκρασία (κοντά στη θερμοκρασία βρασμού του). Ο ψυκτήρας συνδέεται μέσω σωλήνωσης με ψυκτικό υγρό. Οι ατμοί του ζέοντα διαλύτη διέρχονται από τον πλευρικό σωλήνα του εκχυλιστήρα στον ψυκτήρα, συμπυκνώνονται και ρέουν στάγδην στον πορώδη υποδοχέα πληρωμένο με το πληρωτικό υλικό. Το μίγμα ακαριαία αποκτά χρώμα. Όταν ο διαλύτης φτάσει στο σημείο υπερχείλισης, λαμβάνει χώρα το φαινόμενο του σιφωνισμού, και επομένως ο υγρός διαλύτης με τις εκχυλισμένες ουσίες διέρχεται στη σφαιρική φιάλη. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου το διάλυμα εντός του εκχυλιστήρα αποχρωματιστεί. Το εκχύλισμα μπορεί να διαχωριστεί από το διαλύτη με εξάτμιση.<sup>[22]</sup>



Εικόνα 7: Σκαρίφημα διάταξης Soxhlet<sup>[31]</sup>

#### 2.2.2.2 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα

Πλεονεκτήματα της συμβατικής εκχύλισης Soxhlet αποτελούν: η μετατόπιση της ισορροπίας μεταφοράς με τη συνεχή ανακύκλωση και επαφή του διαλύτη με το δείγμα, δεν απαιτείται διήθηση μετά το στάδιο της έκπλυσης, ενώ είναι μια οικονομική και εύκολη μέθοδος.<sup>[26]</sup> Πράγματι, υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία εγκεκριμένων μεθόδων που περιλαμβάνουν ως στάδιο προετοιμασίας δειγμάτων την εκχύλιση Soxhlet.<sup>[13]</sup>

Μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν: οι υψηλοί χρόνοι εκχύλισης, η απαίτηση μεγάλων ποσοτήτων διαλυτών, το γεγονός ότι για την παραλαβή ξηρών εκχυλισμάτων είναι απαραίτητο να ακολουθηθεί μια διεργασία συμπύκνωσης ή εξάτμισης, ενώ λόγω της υψηλής θερμοκρασιακής λειτουργίας ενδέχεται η θερμική αποσύνθεση ορισμένων περιεχόμενων ενώσεων στο φυτικό υλικό. Ιδιαίτερα οι υψηλοί χρόνοι εκχύλισης και η υπέρμετρη κατανάλωση διαλυτών θέτει την συμβατική Soxhlet υπό αμφισβήτηση.<sup>[26]</sup> Τέλος η τεχνική είναι περιορισμένη σχετικά με την εκλεκτικότητα του διαλύτη και δεν αυτοματοποιείται εύκολα.<sup>[13]</sup>

#### 2.2.3 Υπερκρίσιμη Τεχνολογία

Στην Εικόνα 8 απεικονίζεται το διάγραμμα φάσεων P-T μιας καθαρής ουσίας. Η *καμπύλη AB* παριστάνει την καμπύλη εξάχνωσης, όπου συνυπάρχουν η αέρια και η στερεή φάση. Η *καμπύλη BC* παριστάνει την καμπύλη τάσης ατμών, όπου συνυπάρχουν η υγρή και η ατμώδης φάση. Τέλος, η *καμπύλη BD* παριστάνει την καμπύλη τήξης, όπου συνυπάρχουν η στερεή και η υγρή φάση. Το σημείο B όπου συναντώνται και οι τρείς καμπύλες αλλαγής φάσης ονομάζεται τριπλό σημείο, ενώ το σημείο *C* ονομάζεται *κρίσιμο σημείο*. Για τιμές πίεσης και θερμοκρασίας πάνω από εκείνες του κρίσιμου σημείου δεν μπορεί να συνυπάρξει η υγρή και η αέρια φάση. Οι συνθήκες αυτές ονομάζονται κρίσιμη πίεση (Pc) και κρίσιμη θερμοκρασία (Tc) και το ρευστό που βρίσκεται πάνω από αυτές τις συνθήκες ονομάζεται υπερκρίσιμο ρευστό.<sup>[11]</sup>



Εικόνα 8: Διάγραμμα φάσεων καθαρής ουσίας<sup>[27]</sup>

#### 2.2.3.1 Υπερκρίσιμα Ρευστά

Οι κρίσιμες ιδιότητες των πιο διαδεδομένων διαλυτών σε εφαρμογές υπερκρίσιμης τεχνολογίας παρατίθενται στον Πίνακα 1:

	Κρίσιμες ιδιότητες			
Διαλύτης	Θερμοκρασία (K)	Πiεση (bar)	Πυκνότητα (g/ml)	
Διοξείδιο του ἀνθρακα	304.25	73.9	0.47	
Αιθάνιο	305.55	48.84	0.2	
Μεθάνιο	190.4	46	0.16	
Μεθανόλη	512.6	80.9	0.27	
Υποξείδιο του αζώτου	309.85	72.65	0.46	
Ακετόνη	508.1	47	0.28	
Εξαφθοριούχο θείο	318.95	38.2	0.73	
Νερό	647.1	220.64	0.32	

Πίνακας 1:	Κρίσιμες	Ιδιότητες	μερικώς ε	ευρέως	χρησιμοποιούμεν	νων διαλυτών <sup>[28],[38]</sup>
			P P		<u> </u>	

#### 2.2.3.1.1 Ιδιότητες Υπερκρίσιμων ρευστών

Τα υπερκρίσιμα ρευστά έχουν ιδιότητες παραπλήσιες των υγρών και των αερίων, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν μια διττή συμπεριφορά αυτών: <sup>[11]</sup>

- Διαχυτότητα αντίστοιχη των αερίων
- 🗸 Πυκνότητα αντίστοιχη των υγρών
- Χαμηλό ιξώδες αντίστοιχο των αερίων
- Σχεδόν μηδενική επιφανειακή τάση

#### 2.2.3.1.2 Εφαρμογές Υπερκρίσιμων Ρευστών

Τα υπερκρίσιμα ρευστά έχουν βρει εφαρμογή σε πολλές βιομηχανικές διεργασίες καθώς διέπονται από εξαιρετικές θερμοδυναμικές ιδιότητες, οδηγούν στην αποφυγή χρήσης οργανικών διαλυτών, αποδίδουν προϊόντα υψηλής καθαρότητας ενώ λόγω του θερμοκρασιακού εύρους λειτουργίας επιτυγχάνεται χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας. Μερικές από τις βιομηχανικές εφαρμογές των υπερκρίσιμων ρευστών, πέραν της υπερκρίσιμης εκχύλισης που θα αναφερθεί ιδιαίτερα, είναι οι ακόλουθες:

- Τεχνολογία Πολυμερών
- Υπερκρίσιμη ξήρανση και καθαρισμός
- Χημικές Αντιδράσεις
- Παραγωγή ενέργειας

Ενδιαφέροντα στοιχεία για τις εφαρμογές αυτές δίνονται στο Παράρτημα Ι.

## 2.2.4 Υπερκρίσιμη Εκχύλιση

Η υπερκρίσιμη εκχύλιση είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος εφαρμογής των υπερκρίσιμων ρευστών. Διάφοροι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες είναι οι ακόλουθοι: αιθάνιο, προπάνιο, διοξείδιο του άνθρακα, αιθυλένιο, νερό, κυκλοεξάνιο κ.α. Ο πιο συνηθισμένος, ωστόσο, διαλύτης για την υπερκρίσιμη εκχύλιση είναι το **διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>)**, με πληθώρα πλεονεκτημάτων όπως: είναι μη τοξικό και άφλεκτο, διαθέτει χαμηλή κρίσιμη θερμοκρασία (31,1°C), είναι πτητικό, οικονομικό και εύκολα διαθέσιμο. Επίσης, μπορεί εύκολα να απομακρυνθεί από το εκχύλισμα με μια απλή εκτόνωση σε ατμοσφαιρική πίεση. Πολλές φορές, μαζί με το διοξείδιο του άνθρακα για αύξηση της εκλεκτικότητάς του χρησιμοποιούνται και συνδιαλύτες, όπως η αιθανόλη και η μεθανόλη.<sup>[5],[9],[28]</sup>

#### 2.2.4.1 Αρχή Λειτουργίας

Μια τυπική μονάδα υπερκρίσιμης εκχύλισης περιλαμβάνει ουσιαστικά δύο τμήματα, ένα τμήμα εκχύλισης και ένα τμήμα διαχωρισμού. 'Eva απλοποιημένο διάγραμμα ροής μιας τυπικής μονάδας υπερκρίσιμης εκχύλισης απεικονίζεται στην Εικόνα 9. Ο διαλύτης διέρχεται από το συμπιεστή ώστε να μεταβεί στην υπερκρίσιμη φάση, και εισέρχεται στον εκχυλιστήρα, που πραγματοποιείται η διεργασία. Ακολούθως εισέρχεται στο διαχωριστήρα όπου καθώς μειώνεται η πίεση μεταβάλλεται η διαλυτική ικανότητα του διαλύτη, και ορισμένα συστατικά απομακρύνονται με τη μορφή εκχυλίσματος. Για την κλασμάτωση του παραλαβόμενου εκχυλίσματος είναι δυνατή η τοποθέτηση δύο ή περισσότερων διαχωριστήρων σε σειρά, ενώ για την αύξηση της δυναμικότητας είναι δυνατόν να τοποθετηθούν περισσότεροι εκχυλιστήρες παράλληλα. Τἑλος, ο διαλύτης ανακυκλοφορεί каі η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου εξαντληθεί η πρώτη ύλη.[11]



Εικόνα 9: Απλοποιημένο διάγραμμα ροής μιας μονάδας υπερκρίσιμης εκχύλισης

### 2.2.4.2 Εφαρμογές Υπερκρίσιμης Εκχύλισης

Σημαντικότερες εφαρμογές τις υπερκρίσιμης εκχύλισης αποτελούν: [28], [29], [30]

- Παραλαβή αιθέριων ελαίων
- Απομόνωση ενώσεων υψηλής αξίας
- Κλασμάτωση και εξευγενισμός βρώσιμων ελαίων
- Απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών από διάφορα προϊόντα
- Απομάκρυνση τοξικών ουσιών από εδάφη και απόβλητα

Περισσότερα στοιχεία για τις εφαρμογές αυτές δίνονται στο Παράρτημα Ι.

#### 2.2.4.3 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα

Н υπερκρίσιμη εκχύλιση πλεονεκτεί σε πολλά σημεία, καθώς πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες, εφόσον και τα κρίσιμα ρευστά έχουν χαμηλές κρίσιμες θερμοκρασίες. Συνεπώς, είναι κατάλληλη για την ουσιών, επεξεργασία θερμοευαίσθητων ενώ λόγω тων χαμηλών θερμοκρασιών που απαιτούνται έχει μικρή κατανάλωση ενέργειας. Ακόμα, οι υπερκρίσιμοι διαλύτες χαρακτηρίζονται από υψηλή διαλυτική ικανότητα, είναι πτητικοί και ως αποτέλεσμα μπορούν να απομακρυνθούν με μια απλή εκτόνωση από το προϊόν χωρίς να χρειάζεται να υποστεί θερμική ή άλλη καταπόνηση για την απομάκρυνση του διαλύτη και είναι και ατοξικοί.<sup>[5],[6]</sup>

Ωστόσο μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν οι υψηλές πιέσεις λειτουργίας που απαιτούνται, καθώς συνεπάγονται υψηλό κόστος εξοπλισμού για λόγους ασφαλείας. Επιπρόσθετα το πάγιο κόστος της διεργασίας είναι υψηλό και υπάρχει αδυναμία συνεχούς λειτουργίας της συσκευής σε αρκετές περιπτώσεις. Τέλος, ο σημαντικότερος λόγος για την περιορισμένη εφαρμογή της υπερκρίσιμης εκχύλισης σήμερα είναι η δυσκολία προσομοίωσης της ισορροπίας φάσεων σε υπερκρίσιμο ρευστό.<sup>[5],[11]</sup>

### 2.2.4.4 Συνθήκες Λειτουργίας

Η υπερκρίσιμη εκχύλιση είναι τεχνολογία υψηλής πίεσης, και η συγκεκριμένη παράμετρος είναι υψίστης σημασίας για πολλές τεχνικές και οικονομικές πτυχές της διεργασίας. Η παράμετρος που κυρίως επηρεάζεται από τις μεταβολές της πίεσης είναι η πυκνότητα, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εκτιμηθεί το κατά πόσο η διαλυτική ικανότητα του υπερκρίσιμου CO<sub>2</sub> προσεγγίζει εκείνη ενός υγρού διαλύτη. Συγκεκριμένα η πίεση προτιμάται κατά τη μελέτη της μεταβολής της πυκνότητας ενός υπερκρίσιμου διαλύτη (κατ' επέκταση και της διαλυτικής του ικανότητας) επειδή προσφέρει ευρύτερα περιθώρια μεταβολής σε σχέση με τη θερμοκρασία.<sup>[8]</sup>

Αναφορικά με μια πληθώρα δημοσιεύσεων που εφάρμοσαν τη διεργασία της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης σε φυτικά δείγματα με CO<sub>2</sub> ως διαλύτη, υποδηλώνουν ότι το σύνηθες θερμοκρασιακό εύρος λειτουργίας είναι 40-60°C, με εστιασμένο το ενδιαφέρον τους σε θερμοκρασίες κοντά στο κάτω όριο. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την επιθυμία να εξεταστεί η επίδραση της πίεσης σε χαμηλότερες θερμοκρασίες λόγω του υψηλότερου ποσοστού μεταβολής της πυκνότητας σε αυτήν την περιοχή αλλά και λόγω ανησυχιών σχετικά με τη θερμική αλλοίωση των εκχυλισμάτων, λειτουργικών και οικονομικών περιορισμών.<sup>[8]</sup>

Συνοπτικά η επίδραση της πίεσης και της θερμοκρασίας στη διαλυτότητα μπορεί να περιγραφεί με δύο τρόπους: <sup>[6],[8]</sup>

- Αναφορικά με την πίεση, όσο αυξάνεται, αυξάνεται η πυκνότητα του υπερκρίσιμου ρευστού, άρα και η διαλυτική του ικανότητα.
- II. Αναφορικά με τη θερμοκρασία, η μεταβολή της επηρεάζει τις ιδιότητες του διαλύτη, όπως την πυκνότητα αλλά και τις ιδιότητες της διαλυμένης ουσίας και κυρίως την τάση ατμών. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, η πυκνότητα μειώνεται (χαμηλότερη διαλυτική ικανότητα) αλλά αυξάνεται η τάση ατμών (υψηλότερη διαλυτότητα). Επομένως το αν θα αυξηθεί ή μειωθεί η διαλυτότητα εξαρτάται από το ποιός από τους δύο αυτούς παράγοντες θα είναι ο επικρατέστερος.

Αυτό καθορίζεται από την πίεση λειτουργίας, και ειδικότερα στις χαμηλές πιέσεις κυριαρχεί ο παράγοντας της πυκνότητας ενώ στις υψηλότερες συμβαίνει το αντίστροφο.

Άλλη μια σημαντική παράμετρος της διεργασίας αποτελεί η χρήση συνδιαλύτη, δηλαδή η χρήση μιας ουσίας που δρα βοηθητικά στον κυρίως διαλύτη επάγοντας την αύξηση της διαλυτότητας του ως προς στοχευμένα συστατικά εντός του φυτικού υλικού και έπειτα την εκλεκτική απομάκρυνση τους από το μίγμα.<sup>[6]</sup> Στην Εικόνα 10 φαίνονται οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι συνδιαλύτες σε αρκετές μελέτες που έκαναν χρήση της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης.

Όπως φαίνεται ο ευρύτερα χρησιμοποιούμενος συνδιαλύτης είναι η αιθανόλη. Πρόκειται για το λιγότερο τοξικό οργανικό διαλύτη από τους πλέον χρησιμοποιούμενους σε μια διεργασία Υπερκρίσιμης Εκχύλισης, τόσο ως προς τον άνθρωπο, όσο και προς το περιβάλλον, και αυτό την καθιστά σε πλεονεκτικότερη θέση, βρίσκοντας έτσι ευρείες εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, σε βιομηχανίες καλλυντικών και σε παραφαρμακευτικές βιομηχανίες. Επιπρόσθετα, η αιθανόλη είναι ιδιαίτερα πολική (1.69 d) που σημαίνει πως ακόμα και η προσθήκη της σε μικρές ποσότητες μπορεί να αυξήσει σημαντικά την πολικότητα του υπερκρίσιμου διαλύτη.<sup>[8]</sup>



**Εικόνα 10:** Ευρέως χρησιμοποιούμενοι διαλύτες στην Υπερκρίσιμη Εκχύλιση με βάση 166 δημοσιεύσεις<sup>[8]</sup>

Ακολούθως χρησιμοποιείται η μεθανόλη, το νερό και το διχλωρομεθάνιο. Παρά το γεγονός ότι η μεθανόλη είναι πιο πολική από την αιθανόλη, η πρώτη θέτει κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία, και για αυτό προοδευτικά εγκαταλείπεται η χρήση της.<sup>[8]</sup>

Άλλη μια σημαντική παράμετρος της διεργασίας είναι η ροή του διαλύτη. Ίσως θα ήταν εύλογο η αύξηση της διαλυτικής ροής να οδηγούσε στην επιτάχυνση του ρυθμού εκχύλισης. Βέβαια η επίδραση της ροής εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης όπως π.χ. τη δομή και τη κοκκομετρία της, αλλά και από τα φαινόμενα μεταφοράς που λαμβάνουν χώρα σε κάθε στάδιο εκχύλισης π.χ. ενδοσωματιδακή διάχυση. Συνεπώς με βάση τους προαναφερόμενους παράγοντες η αύξηση της διαλυτικής ροής μπορεί να ευνοεί ή όχι το ρυθμό εκχύλισης, ενώ η τελική επιλογή ροής σε βιομηχανική κλίμακα εξαρτάται και από άλλους τεχνικοοικονομικούς παράγοντες, όπως η διάρκεια εκχύλισης και οι καταναλώσεις διαλυτών και ενέργειας.<sup>[6]</sup>

# 2.3 Μελέτη Χημικών Ιδιοτήτων των εκχυλισμάτων

Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθούν εκείνες οι χημικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων που εξετάσθηκαν και οι αναλυτικές τεχνικές όπου εφαρμόσθηκαν για την αξιολόγηση τους. Ειδικότερα εξετάστηκε η αντιοξειδωτική τους δράση με τη μέθοδο ελεύθερης ρίζας DPPH<sup>o</sup> και το Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο τους με τη μέθοδο Folin-Ciocalteue. Τέλος η χημική σύσταση των εκχυλισμάτων εξετάσθηκε με Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας (GC-MS).

## 2.3.1 Αντιοξειδωτική Δράση

### 2.3.1.1 Θεωρητικό Υπόβαθρο

Η παρουσία αντιοξειδωτικών σε προϊόντα διατροφής ή κοσμετολογίας είναι υψίστης σημασίας καθώς διακόπτει την οξείδωση των ελεύθερων ριζών, αποτρέποντας την πρόκληση σοβαρών συνεπειών. Με τον όρο ελεύθερες ρίζες χαρακτηρίζονται οι ασταθείς, υψηλά αντιδραστικές και ενεργοποιημένες μοριακές δομές που έχουν μονήρη ηλεκτρόνια. <sup>[44]</sup>

Παραδείγματα ελεύθερων ριζών αποτελούν τα ανιόντα υδροξυλίου (ΟΗ-), περοξυλίου υδροπεροξυλίου υσίδι33ος3πυ (02-), (ROO-), (HOO-), αλκοοξυλίου (RO-), νιτρικού οξειδίου (NO-) κ.λ.π. Οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν ταχύτατα με άλλες ενώσεις, ώστε να αποσπάσουν τα απαραίτητα ηλεκτρόνια προς σταθεροποίηση τους. Με αυτόν τον τρόπο, η ένωση που «έχασε» ηλεκτρόνια μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα, και λαμβάνει χώρα μια αλυσιδωτή αντίδραση. Η αντίδραση αυτή συνεχίζεται προκαλώντας υπεροξείδωση λιπιδίων, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση και την αποσύνθεση των κυτταρικών μεμβρανών ή την οξείδωση άλλων κυτταρικών συστατικών όπως πρωτεΐνες και DNA, προκαλώντας τελικά τη διάσπαση των κυττάρων. Η οξείδωση που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες θέτει μειωμένες δυνατότητες για την καταπολέμηση της γήρανσης και άλλων σοβαρών ασθενειών, όπως καρκίνου, νεφρικής ανεπάρκειας, αθηροσκλήρωσης και καρδιακών παθήσεων. [44]

Ωστόσο, ορισμένες ελεύθερες ρίζες παράγονται κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού. Μερικές φορές τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος τα παράγουν σκόπιμα προς εξουδετέρωση ορισμένων ιών και βακτηριδίων. Βέβαια, περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η ρύπανση, η ακτινοβολία, ο καπνός τσιγάρων και τα ζιζανιοκτόνα μπορούν επίσης να δημιουργήσουν ελεύθερες ρίζες. Συνεπώς, οι ελεύθερες ρίζες από τη μία πλευρά μπορούν να παράγουν ευεργετικά αποτελέσματα, αλλά μπορούν επίσης να προκαλέσουν επιβλαβή οξείδωση και σοβαρές κυτταρικές βλάβες εάν υπάρχουν σε περίσσεια.<sup>[44]</sup>

Τα αντιοξειδωτικά γίνονται δότες ηλεκτρονίων στις ελεύθερες ρίζες, σταθεροποιώντας τις, χωρίς όμως να καθίστανται πλέον τα ίδια ελεύθερες ρίζες καθώς είναι σταθερά σε κάθε κατάσταση.

### 2.3.1.2 Μέθοδος ελεύθερης ρίζας DPPH°

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων, τα τελευταία αφήνονται να αντιδράσουν με μια σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH° (2,2-Διφαινύλο-1-πυκριλυδραζυλίου) σε διάλυμα μεθανόλης, όπου λαμβάνουν χώρα οι εξής αντιδράσεις:

 $DPPH^{\circ} + AH \rightarrow DPPH - H + A^{\circ}$  $DPPH^{\circ} + R^{\circ} \rightarrow DPPH - R$ 

Η μείωση της DPPH° συνοδεύεται από παρακολούθηση της μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος σε ένα συγκεκριμένο φάσμα κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, με χρήση φωτομέτρου UV-Vis. Συγκεκριμένα, το διάλυμα DPPH° παρουσιάζει απορρόφηση στα 515nm, όπου апокта ένα χαρακτηριστικό μωβ χρώμα, και με περαιτέρω μείωση από ένα αντιοξειδωτικό (AH) ή από μια ελεύθερη ρίζα (R°) όπου περιέχονται στα εκχυλίσματα, η απορρόφηση μειώνεται, και συνεπώς το διάλυμα αρχίζει να αποχρωματίζεται. Με αυτόν τον τρόπο εκτιμάται η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων μέσω της ποσότητας που απαιτείται για την δέσμευση του 50% των ελεύθερων ριζών (δείκτης ΙC50). Είναι προφανές ότι όσο μικρότερη είναι η συγκεκριμένη ποσότητα, τόσο πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση διέπει τα εκχυλίσματα.<sup>[7],[11]</sup>

## 2.3.2 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (TPC)

Ο προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών στα εκχυλίσματα έγινε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Είναι μια φωτομετρική μέθοδος, καθώς τα φαινολικά συστατικά αντιδρούν με ένα χρωματομετρικό παράγοντα ώστε να επιτρέπεται η μέτρηση στο ορατό τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Το αντιδραστήριο στην προκειμένη περίπτωση αποτελεί το Folin-Ciocalteue, που είναι μίγμα φωσφοροβολφραμικού και φωσφορομολυβδαινικού οξέος. Βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων σε αλκαλικό περιβάλλον, από τις φαινολικές ενώσεις προς τα φωσφορομολυβδικά και φωσφοροβολφραιμικά va όξινα σύμπλοκα ώστε σχηματιστούν κυανά σύμπλοκα, пои προσδιορίζονται φασματοσκοπικά περίπου στα 760nm. Ο χημικός τύπος των κυανών συμπλόκων δεν έχει εξακριβωθεί αλλά εκτιμάται ότι είναι  $(PMoW_{11}O_{40})^{4-}$ . [44]

Επομένως από την απορρόφηση προσδιορίζεται η συγκέντρωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων, δηλαδή χωρίς να γίνεται διάκριση των φαινολικών συστατικών. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα ανθρακικού οξέος (NaCO<sub>3</sub>) ενώ οι προσδιοριζόμενες φαινολικές ουσίες συχνά εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. <sup>[9],[44]</sup>

# 2.3.3 Αέρια Χρωματογραφία- Φασματομετρία Μάζας (GC-MS)

Η Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μαζών είναι ένα από τα πιο χρήσιμα εργαλεία στην ανάλυση πολύπλοκων μιγμάτων, καθώς το συγκεκριμένο φασματόμετρο λειτουργεί ως ανιχνευτής υψηλής εκλεκτικότητας για το χρωματογραφικό σύστημα.<sup>[45]</sup> Ο αέριος χρωματογράφος διαχωρίζει το μίγμα στα συστατικά του, μέσω έγχυσης ποσότητας τους σε μια κινητή φάση, και το φασματόμετρο μάζας τα αναλύει ξεχωριστά. Με τον συνδυασμό των δύο αυτών τεχνικών αναλύεται ποιοτικά και ποσοτικά ένα δείγμα.<sup>[46]</sup>

Η κινητή φάση είναι αέρια και συνήθως αποτελείται από ένα ευγενές αέριο όπως το ήλιο (φέρον αέριο). Επίσης υπάρχει και σταθερή φάση, που είναι συνήθως ένα υλικό που δεσμεύει εκλεκτικά συστατικά από το δείγμα. Η στατική φάση συνήθως εμπεριέχεται σε σωλήνα συγκεκριμένου υλικού, που ονομάζεται στήλη. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι απαλλαγμένο από προσμίξεις και από οξυγόνο, καθώς το τελευταίο οξειδώνει τη στατική φάση, οδηγώντας σε καταστροφή της στήλης. Τέλος, πρέπει να είναι απαλλαγμένο και από υγρασία καθώς απενεργοποιεί τη στήλη.<sup>[46],[47]</sup>

Υπάρχουν δύο ειδών στήλες: οι πληρωμένες και οι τριχοειδείς. Η στήλη απαρτίζεται από έναν επιμήκη σωλήνα, συνήθως με τη μορφή σπείρας ή U, από χαλκό, ανοξείδωτο χάλυβα, πλαστικό, γυαλί ή αργίλιο, μήκους 1-2 m για της πληρωμένες στήλες, έως αρκετών εκατοντάδων μέτρων για τις τριχοειδείς.<sup>[47]</sup>

Το μίγμα συστατικών της κινητής φάσης αλληλεπιδρά με τη στατική φάση, με διαφορετικό ρυθμό το καθένα. Αυτά που αλληλεπιδρούν ταχύτερα, εξέρχονται ταχύτερα από τη στήλη, ενώ αντιθέτως εκείνα που αλληλεπιδρούν αργότερα θα εξέρθουν τελευταία. <sup>[46]</sup>

Η αλληλεπίδραση αυτή εξαρτάται από τη συγγένεια των συστατικών με τη στατική φάση. Συνεπώς ο διαχωρισμός επηρεάζεται από την αλλαγή χαρακτηριστικών, της θερμοκρασίας και της πίεσης τόσο της σταθερής όσο και της κινητής φάσης. <sup>[46]</sup>

Η φασματομετρία μάζας βασίζεται στον ιοντισμό ατόμων, μορίων ή στην παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων και στην καταγραφή της σχετικής έντασης του ρεύματος που αντιστοιχεί στο πηλίκο μάζα προς φορτίο (m/z). [47]

Ο επικρατέστερος τρόπος ιοντισμού είναι με βομβαρδισμό των αερίων μορίων της ένωσης με μια δέσμη ηλεκτρονίων. Άλλοι τρόποι σχηματισμού ιόντων είναι: η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου (FI), ο χημικός ιοντισμός (CI), ο βομβαρδισμός με ουδέτερα άτομα Xe, Ar ή ιόντα Cs.<sup>[45]</sup>

Οι συνηθέστεροι αναλυτές είναι: τετραπολικός αναλυτής, αναλυτής τομέα, παγίδα ιόντων κλπ. [47],[48]
## 2.4 Πειραματικός Σχεδιασμός

Μια συνήθως πολύπλοκη και δαπανηρή πειραματική μελέτη μπορεί να επιλυθεί με το σχεδιασμό πειραμάτων, κατά τον οποίο όλοι οι παράγοντες εξετάζονται σε έναν ελάχιστο αριθμό πειραμάτων και τα αποτελέσματα επαληθεύονται με αναγνωρισμένες στατιστικές μεθόδους. Με αυτόν τον τρόπο λαμβάνονται ακριβή δεδομένα με χαμηλότερη ανάλωση πρώτων υλών και κόστους, ενώ με τη χρήση των προαναφερθέντων μοντέλων μπορούν να διεξαχθούν συσχετίσεις όλων των παραγόντων με επιλεγμένες μεταβλητές (π.χ. απόδοση, φυσικές ιδιότητες δείγματος κ.λ.π.).

Όσον αφορά το σχεδιασμό πειραμάτων κατά την υπερκρίσιμη εκχύλιση, οι τύποι που χρησιμοποιούνται παρέχονται ακολούθως με την Εικόνα 11. Μια στις 5 εξεταζόμενες έρευνες ακολούθησε σχεδιασμό πειραμάτων (Design of Experiments) ενώ τα 2/3 ακολούθησαν τη μεθοδολογία απόκρισης επιφάνειας (Response Surface Methodology).<sup>[8]</sup>

Σχετικά με τους τύπους σχεδιασμού, υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των σχεδίων Box-Behnken (BBD), Κεντρικό Σύνθετο Σχέδιο (Central Composite Design), Πλήρης Παραγοντικός (Full Factorial Design) και Κλασματικός Παραγοντικός Σχεδιασμός (Fractional Factorial Design), με μια μικρή κυριαρχία των Box-Behnken και Κεντρικού Σύνθετου Σχεδίου.<sup>[8]</sup>



Εικόνα 11: Επιλογή βασικών μεγεθών κατά το σχεδιασμό σε διεργασίες υπερκρίσιμης εκχύλισης<sup>[8]</sup>

Ο σχεδιασμός πειραμάτων (DOE) στοχεύει στη μελέτη των επιδράσεων μιας ή περισσότερων ανεξάρτητων μεταβλητών στη μέση τιμή ή στη διασπορά της μεταβλητής απόκρισης. Η καταλληλότερη προσέγγιση για σχεδιασμούς που έχουν πολλούς παράγοντες είναι η κατασκευή ενός παραγοντικού πειράματος (factorial experiment) το οποίο μελετάει την ταυτόχρονη εναλλαγή των επιπέδων πολλών παραγόντων τη φορά. Η σημαντικότερη περίπτωση παραγοντικού σχεδιασμού είναι όταν έχουμε κ παράγοντες με 2 επίπεδα ο καθένας, όπου μια πλήρης επανάληψη ενός πειράματος απαιτεί 2<sup>κ</sup> δοκιμές. Ο συγκεκριμένος σχεδιασμός καλείται πλήρης παραγοντικός (Full Experimental Design). Ο κλασματικός παραγοντικός σχεδιασμός (Fractional Factorial Design) είναι μια παραλλαγή του βασικού πλήρους παραγοντικού, όπου εξετάζεται μόνο ένα συγκεκριμένο υποσύνολο δοκιμών.<sup>[16]</sup>

Η μεθοδολογία απόκρισης επιφάνειας (RSM) διερευνά τις σχέσεις μεταξύ επεξηγηματικών μεταβλητών και μιας ή περισσότερων μεταβλητών απόκρισης. Πυρήνας της συγκεκριμένης μεθοδολογίας είναι η χρήση μιας ακολουθιακής πειραματικής διαδικασίας για τη λήψη μιας βέλτιστης απόκρισης. Πρωτίστως επιθυμείται η εύρεση μιας κατάλληλης προσέγγισης της σχέσης απόκρισης και ανεξάρτητων μεταβλητών, με χρήση, συνήθως, ενός πολυωνύμου πρώτου ή δεύτερου βαθμού.

Το σχέδιο που χρησιμοποιείται περισσότερο στο μοντέλο επιφάνειας απόκρισης δευτέρου βαθμού είναι το Κεντρικό Σύνθετο Σχέδιο (Central Composite Design). <sup>[17]</sup> Βρίσκει ευρεία εφαρμογή καθώς έχει καλές ιδιότητες όπως περιστροφικότητα, απαιτεί λιγότερες δοκιμές από άλλα ανταγωνιστικά σχέδια και μπορεί να δημιουργηθεί από ένα σχέδιο πρώτου βαθμού 2<sup>κ</sup> με την προσθήκη των αξονικών δοκιμών. Το σχέδιο Box-Behnken είναι ομοίως δευτέρου βαθμού με όλους τους παράγοντες σε τρία επίπεδα. <sup>[17]</sup>

Αναφορικά με τις μεταβλητές που εξετάζονται σύμφωνα με την Εικόνα 11, οι πιο συνηθισμένες είναι η πίεση (Ρ) και η θερμοκρασία (Τ). Ακολουθεί ο χρόνος εκχύλισης (t), η συγκέντρωση συνδιαλύτη (Cmodifier), η πυκνότητα των σωματιδίων (d<sub>P</sub>) και η ροή του διαλύτη (Q).<sup>[8]</sup>

Στην παρούσα Διπλωματική Εργασία εφαρμόστηκε πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός 3 παραγόντων (A,B,C) σε δύο επίπεδα, ένα υψηλό «+» και ένα χαμηλό «-». Το παρόν σχέδιο απεικονίζεται σαν κύβος με 2<sup>3</sup>=8 δοκιμές ως κορυφές, όπως φαίνεται στην Εικόνα 12.



Εικόνα 12: Γραφική απεικόνιση του 2<sup>3</sup> πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού<sup>[17]</sup>

Οι οκτώ δυνατοί συνδυασμοί των επιπέδων σχεδιασμού συμβολίζονται με μικρά γράμματα, όπου η υψηλή στάθμη οποιουδήποτε παράγοντα σε κάθε δοκιμή συμβολίζεται με το αντίστοιχο μικρό γράμμα, ενώ η χαμηλή στάθμη του με απουσία αυτού. Το **(1)** παριστάνει τη δοκιμή όπου όλοι παράγοντες βρίσκονται στο χαμηλό επίπεδο. Τα παραπάνω φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 2.<sup>[17]</sup>

Δοκιμἑς	Α	В	С
(1)	-	-	-
а	+	-	-
b	-	+	-
С	-	-	+
ab	+	+	-
ac	+	-	+
bc	-	+	+
abc	+	+	+

Πίνακας 2: Πίνακας δοκιμών παραμέτρων 2<sup>3</sup> πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού

Τέλος οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των 3 παραγόντων απεικονίζονται στην Εικόνα 13:



Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραγόντων <sup>[17]</sup> (a) κύριες επιδράσεις, (b)αλληλεπίδραση μεταξύ δυο παραγόντων (c) αλληλεπίδραση μεταξύ τριών παραγόντων

Προς περαιτέρω επεξήγηση του παραπάνω σχήματος αξίζει να επισημανθούν τα εξής: <sup>[9],[16]</sup>

- Τα διανύσματα των τριών παραγόντων ορίζουν από δύο επίπεδα, ένα υψηλό και ένα χαμηλό, ορίζοντας έτσι τα έξι επίπεδα του γεωμετρικού χώρου, όπως φαίνεται στο σχήμα (a). Η μεταβολή της απόκρισης από την αλλαγή στο επίπεδο ενός παράγοντα ονομάζεται κύρια επίδραση (main effect) καθώς αναφέρεται στους θεμελιώδεις παράγοντες του πειράματος.
- Στο σχήμα (b) απεικονίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ δύο παραγόντων (two-factor interaction).
- ✓ Στο σχήμα (c) απεικονίζεται η αλληλεπίδραση των 3 παραγόντων (three-factor interaction).

Ειδικότερα οι τρείς παράγοντες που εξετάστηκαν είναι η θερμοκρασία (Τ), η πίεση (Ρ) και η μαζική ροή του διαλύτη (m<sub>CO2</sub>), με τις τιμές υψηλού και χαμηλού επιπέδου όπως παρατίθενται στον Πίνακα 3:

Παρἁγοντες	Μονἁδες	Υψηλό επίπεδο «+»	Χαμηλό Επίπεδο «-»
Θερμοκρασία (Τ)	°C	40	60
Πίεση (Ρ)	bar	110	250
Μαζική ροή διαλύτη (ṁ <sub>co2</sub> )	kg/h	1	3

Πίνακας 3: Τιμές των 2 επιπέδων του παραγοντικού σχεδιασμού

Τέλος η εξίσωση που περιγράφει την επίδραση των παραγόντων στο σύστημα, για 2<sup>3</sup> παραγοντικό σχεδιασμό είναι η ακόλουθη: <sup>[16]</sup>

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_1 X_2 + \beta_5 X_1 X_3 + \beta_6 X_2 X_3 + \beta_7 X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

Όπου Υ: η απόκριση του συστήματος

β: συντελεστές παλινδρόμησης

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>: είναι μια κωδικοποιημένη διασταθμική μεταβλητή με τιμές -1 ή +1 ανάλογα με την επιλογή επιπέδου για τον κάθε παράγοντα αντίστοιχα.

X1X2, X1X3, X2X3: είναι μια κωδικοποιημένη διασταθμική μεταβλητή με τιμές -1 ή +1 για την αλληλεπίδραση μεταξύ 2 παραγόντων.

X1X2X3: είναι μια κωδικοποιημένη διασταθμική μεταβλητή με τιμές -1 ή +1 για την αλληλεπίδραση των 3 παραγόντων.

ε: ο όρος για το τυχαίο σφάλμα, όπου θεωρείται ότι έχει μηδενική μέση τιμή.

## 2.5 Μοντελοποίηση Διεργασίας

Το μοντέλο BICM (Broken plus Intact Cell Model) είναι η πιο διαδεδομένη προσέγγιση στη μαθηματική μοντελοποίηση της υπερκρίσιμης εκχύλισης. Αφορά μια σταθερή κλίνη αλεσμένου δείγματος, απαρτιζόμενη από σωματίδια, όπου εντός των κυτταρικών δομών τους περιέχεται η επιθυμητή προς διάλυση ουσία (έλαιο). *Βασική παραδοχή* του μοντέλου αποτελεί η θεώρηση πως ένα μέρος των κυτταρικών δομών έχει διανοίξει κατά την άλεση. Συνεπώς οι κυτταρικές δομές διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: σπασμένων τοιχωμάτων (broken cells) και άθικτες κυτταρικές δομές (intact cells). Επομένως κατά την υπερκρίσιμη εκχύλιση του δείγματος, η απομάκρυνση του διαλύτη μπορεί να υποκινείται από τη συναγωγή από τις σπασμένες κυτταρικές δομές (εξωτερικές) στην υπερκρίσιμη φάση ή από τη διάχυση από τα εσωτερικά άθικτα κυτταρικά τοιχώματα προς τα εξωτερικά κύτταρα. <sup>[8],[18]</sup>

Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο οι καμπύλες εκχύλισης χωρίζονται σε τρείς περιοχές, κάθε μια από τις οποίες χαρακτηρίζεται από την κυριαρχία συγκεκριμένων ή συνδυασμένων μηχανισμών μεταφοράς μάζας. <sup>[8],[18]</sup>

Συγκεκριμένα, η πρώτη περιοχή ονομάζεται "σταθερός ρυθμός εκχύλισης" (Constant Extraction Rate), όπου η εξωτερική επιφάνεια των σωματιδίων καλύπτεται από το διαλύτη και ο κυρίαρχος μηχανισμός μεταφοράς μάζας είναι η συναγωγή των εύκολα προσπελάσιμων ουσιών (που έχουν απελευθερωθεί κατά το σπάσιμο των κυτταρικών δομών). Η δεύτερη περιοχή ονομάζεται "πτώση του ρυθμού εκχύλισης" (Falling Extraction Rate) και συνδυάζει την εξαφάνιση του συναγωγικού όρου της πρώτης φάσης με τη σημαντική αύξηση της ενδοσωματιδιακής διάχυσης του διαλύτη στα εσωτερικά άθικτα κύτταρα. Όντας ενδιάμεση περιοχή, η αξιοσημείωτη έκβαση της είναι μια προοδευτική μείωση της ροής του ελαίου, εφόσον η προσβάσιμη προς διάλυση ουσία από τα εξωτερικά κύτταρα εξαντλείται και η εσωτερική διάχυση από τα άθικτα κύτταρα προοδευτικά κυριαρχεί στην πορεία της όλης διεργασίας. Η τελική περιοχή χαρακτηρίζεται από το μικρότερο ρυθμό εκχύλισης, διότι η διεργασία ελέγχεται από τη διάχυση του διαλύτη εντός των άθικτων κυττάρων. Είναι γνωστή ως "ελεγχόμενη από τη διάχυση" (Low Extraction Rate ή Diffusion Controlled). Τα παραπάνω απεικονίζονται στην Εικόνα 14. [8]



Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση των τριών περιοχών εκχύλισης [8]

Οι παραδοχές που εφαρμόζονται κατά τη μοντελοποίηση του συστήματος είναι: <sup>[18],[19]</sup>

- Ο εκχυλιστήρας θεωρείται ως μια σταθερή κλίνη που αποτελείται από δύο φάσεις: μια στερεή (η φυτική προς εκχύλιση ύλη) και μια ρευστή φάση (υπερκρίσιμος διαλύτης).
- ✓ Η ροή του διαλύτη κατά μήκος της κλίνης είναι εμβολική (Plug Flow).
- Η στερεή κλίνη θεωρείται ομογενής ως προς το μέγεθος των σωματιδίων και την αρχική κατανομή της διαλυμένης ουσίας.
- Το εκχύλισμα θεωρείται ως μια χημική ένωση.
- Η αξονική διασπορά παραλείπεται.
- Η ογκομετρική ροή, η πυκνότητα και το ιξώδες του διαλύτη θεωρούνται σταθερά κατά τη διεργασία. Οι πτώσεις πίεσης και θερμοκρασίας θεωρούνται αμελητέες. Συνεπώς η επιφανειακή ταχύτητα μπορεί να θεωρηθεί σταθερή κατά μήκος της κλίνης.
- Το πορώδες της κλίνης δεν επηρεάζεται από τη μείωση της διαλυμένης ουσίας κατά τη διάρκεια της διεργασίας.
- Ο διαλύτης είναι καθαρός ως προς τη διαλυμένη ουσία κατά την είσοδο του στον εκχυλιστήρα.
- Η διαλυμένη ουσία θεωρείται πλήρως διαλυτή στον υπερκρίσιμο διαλύτη.

## 2.5.1 Αναλυτική Λύση Μοντέλου

Σχετικά με τη μαθηματική έκφραση του μοντέλου, το ισοζύγιο μάζας για τη **ρευστή φάση** με εμβολική ροή παρουσιάζεται ακολούθως:<sup>[20]</sup>

$$\rho_f \varepsilon \frac{\partial y}{\partial t} + \rho_f U \frac{\partial y}{\partial h} = \mathcal{J}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) \quad \textbf{(1)}$$

όπου y: η περιεχόμενη διαλυμένη ουσία (έλαιο) στην υγρή φάση (kg/kgco2)

x: η περιεχόμενη διαλυμένη ουσία στη στερεή φάση (kg/kgsolid)

t: ο χρόνος εκχύλισης (s)

h: η αξονική συντεταγμένη κατά μήκος της κλίνης (m)

ρ<sub>f</sub>: η πυκνότητα του διαλύτη (kg<sub>co2</sub>/m<sup>3</sup>)

ε: το πορώδες της κλίνης

U: η επιφανειακή ταχύτητα (m/s)

J(x,y): ο ρυθμός μεταφοράς μάζας (kg/ m<sup>3</sup>s)

Αξίζει να αναφερθεί ότι η παραδοχή εμβολικής ροής είναι αρκετά απλοποιημένη καθώς με αυτόν τον τρόπο ακτινικά φαινόμενα και η αξονική διασπορά που λαμβάνουν χώρα στη ρευστή φάση στον εκχυλιστήρα παραλείπονται.<sup>[20]</sup>

Ο πρώτος όρος του ισοζυγίου αφορά τη συσσώρευση της διαλυμένης ουσίας (ελαίου) και ο δεύτερος τη μεταφορά μάζας.<sup>[20]</sup>

Το ισοζύγιο μάζας για τη **στερεή φάση** δίνεται από την εξίσωση:<sup>[20]</sup>

$$\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = -\mathcal{J}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) \qquad (2)$$

όπου ρ<sub>s</sub>: πυκνότητα των σωματιδίων (kg/m<sup>3</sup>)

Αναφορικά με τις αρχικές και οριακές συνθήκες, θεωρήθηκε ότι:[6]

**αρχική συνθήκη:** για t=0, x=x<sub>o</sub> & y=y<sub>o</sub> **οριακή συνθήκη:** για t και h=0, y=0

Δηλαδή θεωρήθηκε ότι κατά την έναρξη της εκχύλισης η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας στο στερεό είναι ομοιόμορφη και ίση με την περιεκτικότητα της στην πρώτη ύλη (x<sub>0</sub>). Επίσης έγινε η παραδοχή ότι το CO<sub>2</sub> καθώς εισέρχεται στον εκχυλιστήρα δεν έχει έλαιο (οριακή συνθήκη).<sup>[6]</sup> Επιπρόσθετα, πριν επιλυθούν οι εξισώσεις είναι χρήσιμο να εισαχθούν οι αδιάστατες σταθερές που θα χρησιμοποιηθούν περαιτέρω:

$$\checkmark$$
 z =  $\frac{h}{H}$ , όπου Η είναι το ύψος της κλίνης (m).

$$\checkmark$$
 τ (=t/t<sub>r</sub>), αδιάστατος χρόνος ,  $t_r = \frac{Hε}{U}$ , χρόνος παραμονής (s)

- $\checkmark$   $t_f = \frac{\varepsilon}{k_f a_o}$ , χαρακτηριστικός χρόνος της μεταφοράς μάζας στη ρευστή φάση (s), όπου  $a_o$ : ειδική διεπιφάνεια μεταφοράς μάζας μεταξύ των φάσεων (m²/m³) & k<sub>f</sub>: συντελεστής μεταφοράς μάζας ρευστής φάσης (m/s)
- <br/>  $\checkmark \quad \gamma = \frac{\rho_f \varepsilon}{\rho_s(1-\varepsilon)}$ , ο λόγος μάζας του διαλύτη στον κενό όγκο της κλίνης του εκχυλιστήρα προς την τροφοδοσία (kgco2/kgfeed)
- <br/>  $\checkmark Z = \frac{t_r}{t_f} = \frac{H k_f a_o}{U}$ , αντίστροφη επίδραση του συντελεστή μεταφοράς<br/> μάζας στη ρευστή φάση στο χρόνο εκχύλισης

Ο ρυθμός μεταφοράς μάζας εκφράζεται ως εξής:

$$\mathcal{J} = \nu k_f a_o \rho_f (y_r - y), \tag{3}$$

$$\frac{\partial x}{\partial \tau} = -\gamma Z \nu (y_r - y)$$
 (4)

όπου yr: η διαλυτότητα της διαλυμένης ουσίας στο ρευστό (kg/kgco2),

Ο συντελεστής ν αρχικά ισούται με τη μονάδα. Έπειτα από την πτώση της συγκέντρωσης στερεής φάσης υπό μιας συγκεκριμένης τιμής, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας μειώνεται μονότονα, όπως εκφράζεται από τη σχέση:

$$\nu = \begin{cases} 1, & x \ge x_k \\ \nu(x), & x < x_k \end{cases}$$
(5)

η συνάρτηση **v=v(x)** είναι ειδική για το εκχυλισμένο υλικό και δέχεται επιδράσεις από τη μείωση της συγκέντρωσης ισορροπίας της ρευστής φάσης και από την αύξηση της αντίστασης μεταφοράς μάζας στη στερεή φάση κατά τη διάρκεια της εκχύλισης.

Η απόδοση της εκχύλισης υπολογίζεται στη στερεά φάση:

$$e = x_o - \int_0^1 x \, dz \tag{6}$$

#### Θεωρητικό Μέρος

Σύμφωνα με τις υποθέσεις του μοντέλου BICM ο ρυθμός μεταφοράς μάζας αποτυπώνεται ως εξής:

$$\mathcal{J}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \begin{cases} k_f \alpha_o \rho_f(y_r - y), & \gamma \iota \alpha \ x \ge x_k \\ k_s \alpha_o \rho_s(x - x^+) = k_s \alpha_o \rho_s x, & \gamma \iota \alpha \ x < x_k \end{cases}$$
(7)

όπου ksao: ο ογκομετρικός συντελεστής μεταφοράς μάζας στερεής φάσης, που σχετίζεται με τη διάχυση μέσω των κυτταρικών μεμβρανών.

x<sup>+</sup>: περιεχόμενη διαλυμένη ουσία στην επιφάνεια των σωματιδίων (kg/kg<sub>solid</sub>)

xk: αρχική συγκέντρωση δεσμευμένου ελαίου στο στερεό (kg/kgsolid)

Εφόσον ο χαρακτηριστικός χρόνος εσωτερικής διάχυσης t<sub>s</sub> είναι τάξεις μεγέθους μεγαλύτερος από το χρόνο παραμονής t<sub>r</sub> και την αντίσταση μεταφοράς μάζας της υγρής φάσης t<sub>f</sub>, θεωρείται για την εκχύλιση από τα εσωτερικά κύτταρα ότι η συγκέντρωση στην επιφάνεια των σωματιδίων x<sup>+</sup> μπορεί να παραλειφθεί συγκρινόμενη με τη μέση συγκέντρωση x.

Με βάση τις εξισώσεις (3),(5),(7) ο συντελεστής ν προσδιορίζεται:

$$\nu = \begin{cases} 1, & \gamma \iota \alpha \ x \ge x_k \\ \frac{k_s \alpha_o \rho_s x_k}{k_f \alpha_o \rho_f y_r x_k} = \frac{t_f x_k}{\gamma t_s y_r x_k} = k \frac{x}{x_k}, & \gamma \iota \alpha \ x < x_k \end{cases} \quad \mu \varepsilon \ k \ll 1$$
(8)

Για την αναλυτική επίλυση του μοντέλου, αρκεί να βρεθεί το δεύτερο μέλος της εξίσωσης (6). Για αυτό το λόγο η **(4)**, αρχικά παραγωγίζεται ως προς z:

$$\frac{\partial^2 x}{\partial \tau \partial z} + \gamma \frac{dv}{dx} \frac{\partial x}{\partial z} Z(y_r - y) - \gamma v Z \frac{\partial y}{\partial z} = 0$$
(9)

Εφαρμόζεται η παραδοχή ότι η συσσώρευση της διαλυμένης ουσίας στο διαλύτη είναι αμελητέα ( $\frac{\partial y}{\partial \tau} = 0$ ), άρα η εξίσωση (1) μετασχηματίζεται ως εξής:

$$\frac{\partial y}{\partial z} = vZ(y_r - y)$$
(10)

Από τις εξισώσεις (4) και (10) παρατηρείται ότι ισχύει  $\frac{\partial x}{\partial \tau} = -\gamma \frac{\partial y}{\partial z}$  (11)

Αντικαθιστώντας την εξίσωση (11) στην (9) προκύπτει η εξίσωση (12):

$$\frac{\partial^2 x}{\partial \tau \partial z} - \frac{1}{\nu} \frac{d\nu}{dx} \frac{\partial x}{\partial z} \frac{\partial x}{\partial \tau} + \nu Z \frac{\partial x}{\partial \tau} = 0$$
(12)

Με ολοκλήρωση της (12) προκύπτει η εξίσωση (13) για το x η οποία έχει αναλυτική λύση την εξίσωση (15) εφόσον το v=1, ενώ για τη δεύτερη φάση της εκχύλισης θα πρέπει να λυθεί αναλυτικώς.

$$\frac{1}{\nu Z}\frac{\partial x}{\partial z} + x = x_o$$
(13)

Η εξίσωση (4) έχει οριακή συνθήκη την εξίσωση (14) για z=0 όπου y=0.

$$\frac{\partial x}{\partial \tau} | z = 0 = -\gamma Z \nu y_r$$
(14)

Βέβαια προτείνεται η αναλυτική λύση της και για τη δεύτερη φάση εάν ο συντελεστής ν είναι ανάλογος της συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας στη στερεή φάση (δηλαδή ως προς το x, όπως και συμβαίνει στο παρόν μοντέλο, βλ. εξίσωση (8)).

$$x(t,z) = \begin{cases} x_o - Zy_r texp(-Zz), & t \le t_1 \\ x_o - (x_o - x_k) \exp(-Z(z - z_k), & t > t_1, z \ge z_k \\ \frac{x_o}{1 + \left[\frac{x_o}{x_k} exp\left((\frac{t-t_1}{t_s})\right) - 1\right] \exp\left(-\frac{x_o tr}{\gamma y_r t_s}z\right)}, & t > t_1, z < z_k \end{cases}$$
(15)

Από τις εξισώσεις (6) και (15) προκύπτει η απόδοση της εκχύλισης:

$$e(t) = \begin{cases} qy_r [1 - e^{-Z}], & \gamma \iota \alpha \quad t \le t_1 \\ q'y_r \{t - t_1 e^{-Z(1 - z_k)}\}, & \gamma \iota \alpha \quad t_1 < t \le t_2 \\ x_o - \frac{\gamma y_r t_s}{t_r} \ln\{1 + \frac{x_k}{x_o} [e^{\frac{x_o t_r}{\gamma y_r t_s}} - 1]\} e^{\frac{t_1 - t}{t_s}}, & \gamma \iota \alpha \quad t > t_2 \end{cases}$$
(16)

όπου q=q't η ανηγμένη ποσότητα διαλύτη που έχει καταναλωθεί (kgco2/kgfeed)

zk:αδιάστατη αξονική σταθερά όπου x=xk

$$Z = \frac{t_r}{t_f} = \frac{k_f a_0 \rho_f}{\dot{q}(1-\varepsilon)\rho_s}, \quad \textbf{(17)}, \qquad t_1 = \frac{x_o - x_k}{\gamma y_r} t_f \quad \textbf{(18)},$$

$$t_2 = t_1 + t_s \ln\left\{\frac{x_k}{x_o} + \left(1 - \frac{x_k}{x_o}\right) exp\left(\frac{x_o}{\gamma y_r} \frac{t_r}{t_s}\right)\right\}$$
(19)

Προς περαιτέρω επεξήγηση των παραπάνω μεγεθών οι χρόνοι t1, t2 και η σταθερά zk θέτουν τα όρια ύπαρξης κάθε σταδίου της διεργασίας.

#### 2.5.2 Προσαρμογή Πειραματικών Δεδομένων

Η εξίσωση (16) μπορεί να αναδιαταχθεί ως προς την ποσότητα του διαλύτη q:<sup>[21]</sup>

$$e = \begin{cases} qy_r(1 - e^{-Z}), & q < q_m \\ y_r(q - q_m e^{z_w - Z}), & q_m < q < q_n \\ x_0 - \frac{y_r}{W} \ln\left\{1 + \left(e^{Wx_0/y_r} - 1\right)e^{W(q_m - q)}\frac{x_k}{x_0}\right\}, & q > q_n \end{cases}$$
(20)

Οι συντελεστές **Ζ, W** είναι αναλογικοί των συντελεστών μεταφοράς μάζας στη ρευστή και τη στερεή φάση αντίστοιχα, ενώ η αρχική συγκέντρωση του «εύκολα διαθέσιμου ελαίου» στις ανοιγμένες κυτταρικές δομές από την άλεση είναι  $x_0 - x_k$ . Τέλος  $q_m, q_n$  είναι οι ποσότητες του διαλύτη που θέτουν τα όρια ύπαρξης κάθε σταδίου της εκχύλισης και  $z_w$  είναι μια αδιάστατη αξονική συντεταγμένη του ορίου μεταξύ του γρήγορου και του αργού σταδίου εκχύλισης.<sup>[9]</sup>

Η μοντελοποίηση έγινε με υπολογισμό της απόδοσης εκχύλισης από την εξίσωση (20) για κάθε στάδιο, με τη χρήση 5 ανεξάρτητων παραμέτρων: x<sub>0</sub>, x<sub>k</sub>, y<sub>r</sub>, Z και W.

Ειδικότερα, η y<sub>r</sub> υπολογίζεται από την κλίση του ευθύγραμμου τμήματος της καμπύλης εκχύλισης του γρήγορου σταδίου της διεργασίας, που θεωρείται ότι ελέγχεται από τη διαλυτότητα. Η x<sub>0</sub> υπολογίζεται από τα πειραματικά σημεία, και οι υπόλοιπες τρείς μεταβλητές προσαρμόζονται με βάση την ακόλουθη συνάρτηση ελαχιστοποίησης:

$$\left\{\sum \frac{\left(e_{mod}-e_{\exp}\right)^2}{n-1}\right\}^{0.5} \to 0,$$

όπου n: αριθμός των μετρήσεων, e<sub>mod</sub>: η απόδοση της διεργασίας με βάση το μοντέλο και e<sub>exp</sub>: η απόδοση της εκχύλισης όπως προσδιορίστηκε πειραματικά.

# 3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# 3.1 Προετοιμασία Πρώτης ύλης

Η εξεταζόμενη φυτική ύλη είναι το Cistus Creticus subsp. Creticus σε αποξηραμένα δείγματα που περιέχουν άνθη, φύλλα και κλαδιά. Συλλέχθηκε στην Κρήτη τον Φεβρουάριο 2017. Κατά την προετοιμασία της φυτικής ύλης αρχικά, ορισμένη ποσότητα καθαρίζεται με το χέρι ώστε να απομακρυνθούν μεγάλες ποσότητες κλαδιών που περιέχονταν. Στη συνέχεια αλέθεται σε blender (AVEC) ώστε να λειοτριβηθεί, και τέλος κοσκινίζεται με χρήση κοσκίνων (Endecottsltd. London, England) των 425μm και 100μm, ώστε να αποκτήσει την επιθυμητή κοκκομετρία, μεταξύ των δύο αυτών τιμών. Στην Εικόνα 15 φαίνεται η αρχική και η τελική μορφή του φυτικού υλικού.



Εικόνα 15: Αρχική και τελική μορφή δείγματος Cistus Creticus

## 3.2 Μέτρηση Υγρασίας

Για τη μέτρηση τη υγρασίας του δείγματος χρησιμοποιήθηκε μια απλή αδιαβατική μέθοδος ξήρανσης με θέρμανση του υπό κενό (σε φούρνο Vacuum Oven της εταιρείας Gallenkamp), όπως φαίνεται στην Εικόνα 16.

Το δείγμα, χωρίς να υποστεί κάποια επεξεργασία, ζυγίστηκε και υποβλήθηκε σε θέρμανση υπό κενό στα 800 mbar και στους 70°C (±0,2°C) για 24 ώρες. Έπειτα, τοποθετήθηκε σε ξηραντήρα κενού ώστε να επανέλθει σταδιακά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, χωρίς να απορροφήσει υγρασία από την ατμόσφαιρα. Μετά από μερικές ώρες σταθεροποίησης στον ξηραντήρα κενού, ζυγίστηκε εκ νέου για να υπολογιστεί η απώλεια μάζας του. Για ελαχιστοποίηση του σφάλματος η μέτρηση υγρασίας έγινε σε τρία δείγματα μάζας περίπου ~1g.<sup>[9]</sup>



Εικόνα 16: Φούρνος Κενού για τη μέτρηση της υγρασίας του φυτού



Εικόνα 17: Τοποθέτηση δειγμάτων σε ξηραντήρα κενού

## 3.3 Υδροαπόσταξη

Περίπου 100gr δείγματος λειοτριβούνται και ακολούθως τοποθετούνται στη σφαιρική φιάλη μαζί με 1000ml νερό. Ο ψυκτήρας συνδέεται με το ψυκτικό (νερό, 15°C), και η φιάλη θερμαίνεται με χρήση θερμαντικού μανδύα. Στη θερμοκρασία βρασμού του νερού, οι ατμοί του με τις εκχυλισμένες ουσίες οδηγούνται στον ψυκτήρα όπου υγροποιούνται και εισάγονται στο βαθμονομημένο σωλήνα. Μετά από περίπου 4 ώρες η διεργασία ολοκληρώνεται, και το αιθέριο έλαιο καθώς είχε κολλώδη υφή και δεν μπορούσε να απομονωθεί διαφορετικά από τα τοιχώματα του σωλήνα, διαλύεται σε διχλωρομεθάνιο και φυλάσσεται προσεκτικά σε κατάλληλο σκεύος.<sup>[11]</sup>



**Εικόνα 18:** Εργαστηριακή διάταξη Υδροαπόσταξης

## 3.4 Υγρή Εκχύλιση (Soxhlet)



**Εικόνα 19:** Τμήμα της συσκευής Soxhlet κατά την εκχύλιση με αιθανόλη

Εντός της γυάλινης φιάλης τοποθετείται μίγμα κατάλληλα προετοιμασμένου φυτικού υλικού και αιθανόλης (καθαρότητας 96% v/v της εταιρίας Carlo Erba Reagents, Γαλλία) σε αναλογία 1:20. Ο ψυκτήρας συνδέεται μέσω σωλήνωσης με νερό (15°C). Μέσω θερμαντικής πλάκας θερμαίνεται η αιθανόλη, έως ότου αποχρωματιστεί το μίγμα εντός του εκχυλιστήρα. Αυτό συνέβη μετά τον 14° κύκλο, σε 6 ώρες περίπου. Το εκχύλισμα διαχωρίστηκε από το διαλύτη με εξάτμιση υπό κενό με χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα (BUCHI, Rotavapor R200).

Το παραπάνω πείραμα πραγματοποιήθηκε επίσης με κανονικό εξάνιο ως διαλύτη (καθαρότητας 98,5%w/w της εταιρίας Carlo Erba Reagents, Γαλλία). Η εκχύλιση ολοκληρώθηκε μετά τον 15° κύκλο, σε 5.5 ώρες περίπου. Το εκχύλισμα παραλείφθηκε με τον ίδιο τρόπο.



Εικόνα 21: Εξατμιστήρας υπό κενό



Εικόνα 20: Εργαστηριακή συσκευή Soxhlet

# 3.5 Υπερκρίσιμη Εκχύλιση

## 3.5.1 Πειραματική Διάταξη

Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν η ημιπιλοτικής κλίμακας διάταξη SFE-500 της εταιρίας SEPAREX και παρατίθενται στην Εικόνα 22 ενώ το διάγραμμα ροής απεικονίζεται στην Εικόνα 23.



Εικόνα 22: Μονάδα ημιπιλοτικής κλίμακας SFE



Εικόνα 23: Διάγραμμα ροής της μονάδας SFE

<b>1:</b> Φιάλη CO <sub>2</sub>	<b>7:</b> Εναλλάκτης θερμότητας	<b>13:</b> Βάνα αντεπιστροφής
<b>2:</b> Εναλλάκτης κατ΄αντιρροή	<b>8:</b> Ροόμετρο	<b>14:</b> Εναλλάκτης θερμότητας
<b>3:</b> Αντλία CO <sub>2</sub>	<b>9:</b> Εκχυλιστήρας	<b>15:</b> Διαχωριστήρες
<b>4:</b> Αντλία συνδιαλύτη	<b>10:</b> Λουτρά θέρμανσης	<b>16:</b> Φίλτρο
<b>5:</b> Δοχείο ψυκτικού ρευστού	<b>11:</b> Αντλία θερμαντικού ρευστού	<b>17:</b> Δοχείο ψυκτικού ρευστού
<b>6:</b> Αντλία ψυκτικού ρευστού	<b>12:</b> Αντλία ανακυκλοφορίας	<b>18:</b> Αντλία ψυκτικού ρευστού

Πριν ξεκινήσει η διεργασία θα πρέπει η θερμοκρασία στον εκχυλιστήρα, στους διαχωριστήρες αλλά και το ψυκτικό υγρό που ρέει τον εναλλάκτη να έχει λάβει την επιθυμητή τιμή. Το σύστημα θέρμανσης αποτελούν δύο θερμαντικά λουτρά (μονάδα 10) όπως αντλούνται από δύο αντλίες το καθένα (μονάδα 11). Στην έξοδο των θερμαντικών λουτρών υπάρχουν θερμοστοιχεία (TT) προς καταγραφή της θερμοκρασίας των ρευμάτων. Το σύστημα ψύξης αποτελείται από μια ψυκτική μονάδα (μονάδα 5 και 6), όπου χρησιμοποιείται για τη συμπύκνωση του διαλύτη ώστε να εξασφαλιστεί η υγρή μορφή του και για την ψύξη των κεφαλών της αντλίας. Επίσης υπάρχει άλλη μια ψυκτική μονάδα για την ψύξη των διαχωριστήρων (μονάδες 17, 18).<sup>[11]</sup> Αφού επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία στο ψυκτικό υγρό του εναλλάκτη, στα δοχεία του εκχυλιστήρα και των διαχωριστήρων, τοποθετείται το φυτικό δείγμα εντός μεταλλικού δοχείου με γυάλινα σφαιρίδια ως πληρωτικό υλικό.

Το δοχείο σφραγίζεται καλά ώστε να μην υπάρχουν απώλειες. Ακολούθως ανοίγεται η βαλβίδα της φιάλης CO<sub>2</sub> (μονάδα 1), όπου ο διαλύτης βρίσκεται υπό τη μορφή υγροποιημένου αερίου, και ακολούθως διέρχεται στον εναλλάκτη κατ' αντιρροή (μονάδα 2) όπου ψύχεται και μεταβαίνει στην υγρή μορφή. Στη συνέχεια το CO<sub>2</sub> συμπιέζεται μέσω αντλίας (μονάδα 3), που στο ρεύμα εξόδου υπάρχει καταγραφικό πίεσης (Pr), και ακολούθως διέρχεται από ένα θερμαντήρα (μονάδα 7) ώστε να αποκτήσει τις επιθυμητές συνθήκες για να εισέλθει στον εκχυλιστήρα (μονάδα 9) με φορά από κάτω προς τα πάνω. Παράλληλα ένα καταγραφικό ροής μετρά τη μαζική ροή του (μονάδα 8). Η πίεση εντός του εκχυλιστήρα ρυθμίζεται από μια βάνα αντεπιστροφής (μονάδα 13), και όταν η επιθυμητή πίεση του εκχυλιστήρα επιτευχθεί αρχίζει η ροή του διαλύτη με τα εκχυλισμένα συστατικά του δείγματος. Η πίεση εντός του εκχυλιστήρα καταγράφεται από μετρητικό πίεσης (PT).<sup>[11]</sup>

Το ανώτερο μίγμα διέρχεται από έναν εναλλάκτη θερμότητας (μονάδα 14), ώστε να μη στερεοποιηθεί και φράξει τις σωληνώσεις, και έπειτα οδηγείται στους διαχωριστήρες προς παραλαβή των εκχυλισμάτων (μονάδα 15).<sup>[11]</sup>

Ο διαχωρισμός στους διαχωριστήρες γίνεται λόγω διαφοράς πίεσης, όπου μεταβάλλεται η διαλυτότητα του διοξειδίου του άνθρακα, και ορισμένα συστατικά όντας πλέον μη διαλυτά σε αυτό, διαχωρίζονται. Συνεπώς στον πρώτο διαχωριστήρα όπου η πίεση είναι υψηλότερη, γίνεται η παραλαβή των πιο βαριών εκχυλισμένων ουσιών του δείγματος, και στο δεύτερο διαχωριστήρα, όπου η πίεση είναι χαμηλότερη, γίνεται συλλογή του αιθέριου ελαίου. Το διοξείδιο του άνθρακα καθώς εξέρχεται από το δεύτερο διαχωριστήρα είτε ανακυκλώνεται μέσω ενός φίλτρου (μονάδα 16) είτε εκτονώνεται στην ατμόσφαιρα μέσω βαλβίδας. Σε περίπτωση προσθήκης συνδιαλύτη, εκείνος προστίθεται με αντλία εμβόλου (μονάδα 4) πριν τη συμπίεση του διαλύτη. Για ανακυκλοφορία του διαλύτη εντός του εκχυλιστήρα, υπάρχει στη συσκευή μια αντλία ανακυκλοφορίας (μονάδα 12).<sup>[11]</sup>

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε κάθε δοχείο υπάρχει ένα ασφαλιστικό πίεσης (≈300bar) ώστε να γίνει ασφαλής εκτόνωση σε περίπτωση υπερπίεσης. Επίσης υπάρχουν τέσσερις βάνες εκτόνωσης στην ατμόσφαιρα, και τρείς βάνες εκτόνωσης στην έξοδο των διαχωριστήρων και του εκχυλιστήρα. Ακόμα ο εκχυλιστήρας και οι διαχωριστήρες έχουν διπλά τοιχώματα για τη θέρμανση/ ψύξη τους. Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των βασικών τμημάτων της συσκευής παρατίθενται στον Πίνακα 4: <sup>[11],[9]</sup> Πίνακας 4: Λειτουργικά χαρακτηριστικά βασικών τμημάτων της μονάδας υπερκρίσιμης εκχύλισης<sup>[9]</sup>

Μέγιστη Πίεση	300bar
Μέγιστη θερμοκρασία	70°C
Ελάχιστη παροχή διαλύτη	0.5kg/h
Μέγιστη παροχή διαλύτη	5 kg/h
Χωρητικότητα εκχυλιστήρα	≈400ml
Χωρητικότητα διαχωριστήρων	≈18ml

#### 3.5.2 Πειραματική διαδικασία

Περίπου 50gr φυτικής ύλης τοποθετούνται στο κελί εκχύλισης με πληρωτικό υλικό πάνω και κάτω (γυάλινες σφαίρες) ώστε να δημιουργηθεί ομοιόμορφη κλίνη και για να μειωθεί ο κενός όγκος εντός του δοχείου, όπως φαίνεται στην Εικόνα 24. Ο υπερκρίσιμος διαλύτης είναι CO<sub>2</sub> (99.5%, Air Liquide Hellas, Ασπροπύργου Αττικής).



Εικόνα 24: Απεικόνιση του δοχείου εκχύλισης και του δείγματος εντός του

Τα εκχυλίσματα συλλεγόταν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και από τους δύο διαχωριστήρες σε γυάλινα φιαλίδια. Λόγω των απωλειών κατά τη συλλογή των εκχυλισμένων ουσιών λόγω παράσυρσης τους στην ατμόσφαιρα ή επικάθισης τους στις σωληνώσεις της συσκευής, μελετήθηκε η απώλεια βάρος στον εκχυλιστήρα. Δηλαδή, ανά τακτά χρονικά διαστήματα η εκχύλιση διακοπτόταν και το δοχείο του εκχυλιστήρα ζυγιζόταν μέχρι να σταθεροποιηθεί το βάρος του. Κάθε πείραμα ολοκληρωνόταν όταν η καμπύλη εκχύλισης άρχιζε να προσεγγίζει ασυμπτωτικά τη μέγιστη απόδοση που μπορούσε να επιτευχθεί. Τα υπολλείματα της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης απομακρύνονταν προσεκτικά από το δοχείο του εκχυλιστήρα και φυλάσσονταν σε υάλινους περιέκτες όπως φαίνεται στην Εικόνα 25.



Εικόνα 25: Υπολείμματα δειγμάτων κατεργασίας με Υπερκρίσιμη Εκχύλιση.

Οι συνθήκες εκχύλισης που εξετάσθηκαν παρατίθενται αναλυτικά στον Πίνακα 5. Η ακολουθία αυτή των πειραμάτων προέκυψε με χρήση του Design Expert, και εφαρμογή πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού 2<sup>3</sup> με τετραπλή επανάληψη του κεντρικού σημείου και κατόπιν επιλογής των υψηλών και χαμηλών επιπέδων για καθένα από τους τρεις παράγοντες. Επίσης πραγματοποιήθηκε ένα επιπλέον πείραμα με χρήση συνδιαλύτη καθαρής αιθανόλης (Absolut, Fischer Chemical) σε ποσότητα 5% w/w απευθείας στο διοξείδιο του άνθρακα σε συνθήκες 250bar, 60°C και 3kgco2/h. Τέλος, αξίζει να σημειωθούν οι συνθήκες στους δύο διαχωριστήρες όπως ρυθμίζονται στους 8°C, 80bar και 15bar για τον πρώτο και το δεύτερο διαχωριστήρα αντίστοιχα.

A/A	Κωδικός	Θερμοκρασία (°C)	Πiεση (bar)	Μαζική ροή διαλύτη (kg/h)	Συνδιαλὑτης (%w/w)
1	SFE.40.110.1	40	110	1	0
2	SFE.40.250.1	40	250	1	0
3	SFE.60.110.1	60	110	1	0
4	SFE.60.250.1	60	250	1	0
5	SFE.40.110.3	40	110	3	0
6	SFE.40.250.3	40	250	3	0
7	SFE.60.110.3	60	110	3	0
8	SFE.60.250.3	60	250	3	0
9	SFE.50.180.2	50	180	2	0
10	SFE.50.180.2	50	180	2	0
11	SFE.50.180.2	50	180	2	0
12	SFE.50.180.2	50	180	2	0
13	SFE.5%E.60.250.3	60	250	3	5

Πίνακας 5: Πειραματικές συνθήκες υπερκρίσιμης εκχύλισης

## 3.6 Αναλυτικές Τεχνικές

## 3.6.1 Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Δράσης

Από όλα τα εκχυλίσματα όπου παραλήφθηκαν από τις εφαρμοζόμενες μεθόδους εκχύλισης, προς διερεύνηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης επιλέχθηκαν εκείνα από υπερκρίσιμη εκχύλιση με συνδιαλύτη από τα πρώτα 30min εκχύλισης (και από τους δύο διαχωριστήρες, με κωδικό SFE.5%E.60.250.3-1/ SFE.5%E.60.250.3-2 αντίστοιχα), από υπερκρίσιμη εκχύλιση στις υψηλές συνθήκες (από τον πρώτο διαχωριστήρα, με κωδικό SFE.60.250.3-1) και από τη συμβατική Soxhlet με αιθανόλη (με κωδικό Sox-Etoh).

εξέταση Αρχικά παρασκευάζονται та προς διαλύματα. Ειδικότερα, εξασφαλίζεται μέσω των απαραίτητων συμπυκνώσεων ότι όλα τα δείγματα είναι σε ξηρή μορφή. Στη συνέχεια παρασκευάζονται αρχικά διαλύματα ξηρού εκχυλίσματος-αιθανόλης (absolute, της Εταιρίας Sigma-Aldrich, Γερμανία) συγκέντρωσης **1.4g/2.5ml**, και στη συνέχεια γίνονται οι κατάλληλες αραιώσεις σε κάθε ένα από αυτά, οπότε σχηματίζονται 4-5 διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης του προς εξέταση αντιοξειδωτικού. Παράλληλα παρασκευάζεται μεθανολικό διάλυμα ελεύθερης ρίζας DPPH°, χρησιμοποιώντας 0.003gr (της Εταιρίας Sigma-Aldrich, Αμερική) σε 100ml μεθανόλης (καθαρότητας 99.8% της εταιρίας Sigma-Aldrich, Πολωνία). Ακολουθεί φωτομέτρηση των δείγματων φασματοφωτόμετρο μονής δέσμης (Bel Photonics uv-m51) στα 515nm, με τυφλά, αντιστοίχως παρασκευασμένα δείγματα όπου στη θέση του διαλύματος ρίζας προστίθενται 3.9ml μεθανόλης. Αρχικά σε μια κυψελίδα προστίθεται 3.9ml από το διάλυμα της ρίζας, φωτομετρείται, καταγράφεται η συγκεκριμένη ένδειξη και έπειτα σε αυτήν προστίθεται 0.1ml από το διάλυμα εκχυλίσματος όπου πλέον καταγράφεται η απορρόφηση της συναρτήσει του χρόνου. Η καταγραφή σταματά μετά από το πέρας ενός συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος (20 λεπτά). Αξίζει να σημειωθεί ότι ενώ τα αρχικά μίγματα ρίζας-εκχυλίσματος είχαν μωβ χρώμα, μετά το πέρας της αντίδρασης καταστροφής της ρίζας αποχρωματίστηκαν ανάλογα με τη συγκέντρωση αντιοξειδωτικού που περιείχαν, όπως φαίνεται στην Εικόνα 26. Επίσης, για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε μια πρότυπη αντιοξειδωτική ουσία, το ασκορβικό οξύ, όπου κατεργάστηκε ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο. Τα μίγματα διαφόρων συγκεντρώσεων ασκορβικού οξέος μετά την ανάλυση τους φαίνονται στην Εικόνα 27. Τέλος, βάσει των απορροφήσεων υπολογίζεται ο δείκτης ΙC<sub>50</sub>. Αναλυτικότερες πληροφορίες παρέχονται στο Παράρτημα II.



Εικόνα 26: Μίγματα διαφόρων συγκεντρώσεων εκχυλίσματος μετά το πέρας της καταστροφής της ρίζας DPPH°



Εικόνα 27: Μίγματα διαφόρων συγκεντρώσεων ασκορβικού οξέος μετά το πέρας της καταστροφής της ρίζας DPPH°

## 3.6.2 Προσδιορισμός Ολικού Φαινολικού Φορτίου (TPC)

Τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε ανάλυση αντιοξειδωτικής δράσης, μελετήθηκαν επίσης για την περιεκτικότητα τους σε φαινολικά συστατικά με τη μέθοδο Folin-Ciocalteue. Αναλυτικότερα, παρασκευάζονται 3 διαλύματα εκχυλίσματος-αιθανόλης διαφορετικής συγκέντρωσης το καθένα. Έπειτα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα προστίθεται με τη σειρά 0.1ml κατάλληλα αραιωμένου δείγματος, 7.9ml απεσταγμένο νερό και το διάλυμα αναδεύεται σε vortex για μερικά λεπτά, έπειτα σε αυτό προστίθενται 500ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteue και επίσης το διάλυμα αναδεύεται σε vortex. Τέλος προστίθεται 1.5ml διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), όπου ομοίως ακολουθεί ανάδευση του προκύπτων διαλύματος σε vortex.

Τα δείγματα επωάζονται σε υδατόλουτρο στους 40°C για 30λεπτά. Αξίζει να σημειωθεί πως με το πέρας του χρόνου, τα δείγματα απέκτησαν έντονο κυανό χρώμα όπως φαίνεται στις Εικόνες 28 και 29.

Ακολουθεί φωτομέτρηση των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο μονής δέσμης (Bel Photonics uv-m51) στα 765nm, με τυφλά, αντιστοίχως παρασκευασμένα δείγματα όπου στη θέση των 0.1ml δείγματος προστίθενται 0.1ml απεσταγμένο νερό.

Τέλος βάσει των απορροφήσεων υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg<sub>GAE</sub>/g<sub>extract</sub>). Αναλυτικότερες πληροφορίες για τους υπολογισμούς αυτούς παρατίθενται στο **Παράρτημα ΙΙ**.



Εικόνα 28: Δείγματα προς ανάλυση Ολικού Φαινολικού Φορτίου καθώς επωάζονται στο υδατόλουτρο



Εικόνα 29: Δείγματα προς ανάλυση Ολικού Φαινολικού Φορτίου μετά το πέρας της επώασης τους στο υδατόλουτρο

#### 3.6.3 Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας (GC-MS)

Гіа προσδιορισμό тоу TOU πτητικού προφίλ των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα GC HP 6890, συζευγμένο με έναν ανιχνευτή μάζας HP 5973 (Hewlett Packward, Palo Alto, CA, USA). Ποσότητα κατάλληλα αραιωμένου εκχυλίσματος σε κυκλοεξάνιο (2mg/ml) εγχύεται στο χρωματογράφο με split ratio 1:2. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με μια στήλη MS HP-5 (30 m x 320 µm x 0,25 µm, Hewlett Packard, Paio Alto, CA, USA). Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που επιλέγεται είναι το ακόλουθο: στους 60°C για 5 λεπτά, αύξηση με ρυθμό 3°C/min έως τους 280°C, και παραμονή στους 280°C yıa 15min. Η θερμοκρασία έγχυσης του δείγματος ήταν 220°C και η παροχή του φέροντος αερίου (ήλιο) ήταν 0.8 mL/min.Η ταυτοποίηση των ουσιών έγινε με τη χρήση των βιβλιοθηκών Wiley και Nist.

# 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

# 4.1 Μέτρηση Υγρασίας

Το ποσοστό της περιεχόμενης υγρασίας υπολογίστηκε από την απώλεια βάρους των δειγμάτων μετά το πέρας της ξήρανσης τους προς το αρχικό βάρος της πρώτης ύλης που υποβλήθηκε σε ξήρανση, και εκφράζεται σε χιλιόγραμμα νερού προς χιλιόγραμμα πρώτης ύλης.

Συνεπώς η υγρασία υπολογίστηκε ίση με **(7.490±0.005)% w/w.** Η παραπάνω τιμή είναι συγκρίσιμη με βιβλιογραφικά δεδομένα για το συγγενικό υποείδος Cistus Ladaniferus που συλλέχθηκε στην Ισπανία το 2007 και προσδιορίστηκε 7% w/w.<sup>[41]</sup>

## 4.2 Αποτελέσματα Μεθόδων Ανάκτησης

Τα παραλαβόμενα εκχυλίσματα από τις εφαρμοζόμενες εκχυλιστικές μεθόδους παρατίθενται στην Εικόνα 30.



**Εικόνα 30:** Παραλαβόμενα εκχυλίσματα από τις εξεταζόμενες μεθόδους. <u>Πάνω κεντρικά</u>: Υπερκρίσιμης Εκχύλισης, <u>Κάτω αριστερά</u>: Υπερκρίσιμης Εκχύλισης με συνδιαλύτη, <u>Κάτω δεξιά</u>: Συμβατικών μεθόδων

Περισσότερες πληροφορίες για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους αλλά και για τις αποδόσεις των μεθόδων ακολουθούν στα επόμενα υποκεφάλαια.

#### 4.2.1 Υδροαπόσταξη



**Εικόνα 31:** Εκχύλισμα Υδροαπόσταξης

Το αιθέριο έλαιο από την εφαρμογή της Υδροαπόσταξης είχε κολλώδη υφή, έντονη χαρακτηριστική οσμή (δυσάρεστη), διαφορετική από εκείνη των υπόλοιπων εκχυλισμάτων και ανοικτό κίτρινο χρώμα. Επίσης το δείγμα της υδροαπόσταξης υπέστη έντονη θερμική καταπόνηση, εφόσον η απόσταξη έλαβε χώρα στη θερμοκρασία βρασμού του νερού, κοντά στους 100°C.

Η απόδοση της υδροαπόσταξης του Cistus Creticus υπολογίζεται με βάση το υγρό εκχύλισμα, ως προς την αρχική προς εκχύλιση ποσότητα του φυτικού υλικού. Συνεπώς η απόδοση της διεργασίας είναι **0.041% w/w.** 

Προς σύγκριση παρατίθενται στον Πίνακα 6 πειραματικά δεδομένα από τη βιβλιογραφία. Η απόδοση που επιτεύχθηκε συμφωνεί σε γενικές γραμμές με τα δεδομένα του ακόλουθου πίνακα αν συνυπολογιστεί η διαφορετική περιοχή και χρονολογία συλλογής του Cistus Creticus.

Πίνακας 6: Βιβλιογραφικά δεδομένα απόδοσης υδροαπόσταξης αιθέριου ελαίου των υποειδών
του Cistus Creticus

Υποείδος Cistus	Απόδοση % κ.β.	Πληροφορίες Συλλογής	Βιβλιογραφική Αναφορά
C. Creticus subsp. Creticus	0.6	Κρήτη, 1993	[36]
C. Creticus subsp. Creticus	0.16	Κρήτη, 1998	[37]
C. Creticus subsp. Creticus	0.03	Κρήτη, 2011	[7]
C. Creticus subsp. Creticus	0.09	Ιταλία, 2012	[35]
C. Creticus subsp. Creticus	0.4	Σαρδηνία, 2016	[37]
C. Creticus subsp. Eriocephalus	0.03	Ισπανία, 2012	[37]

## 4.2.2Υγρή Εκχύλιση (Soxhlet )

#### 4.2.2.1 Με διαλύτη κανονικό εξάνιο



**Εικόνα 32** Εκχύλισμα απο Soxhlet με κ. εξάνιο

Το εκχύλισμα της Soxhlet με κανονικό εξάνιο ως διαλύτη είχε κολλώδη υφή, σκούρο πράσινο χρώμα και έντονη (δυσάρεστη οσμή). Η απόδοση της υγρής εκχύλισης του Cistus Creticus υπολογίζεται με βάση το ξηρό εκχύλισμα, που προκύπτει από εξάτμιση του υγρού εκχυλίσματος ως προς την αρχική ποσότητα φυτικού υλικού προς εκχύλιση. Συνεπώς απόδοση της συγκεκριμένης διεργασίας είναι **0.046 ή 4.6% w/w.** Στη βιβλιογραφία δεν εντοπίστηκαν αποτελέσματα εκχύλισης του Cistus Creticus με κανονικό εξάνιο ως διαλύτη, επομένως προς σύγκριση παρατίθεται η απόδοση του συγγενικού υποείδους Cistus Laurifolius (του υπογένους Leucocistus), που συλλέχθηκε από την Αβίλα της Ισπανίας, ίση με **5.6%.**<sup>[34]</sup>

Παρά τις σημαντικές διαφοροποιήσεις στο υπογένος Cistus, στην τοποθεσία και στη χρονική περίοδο συλλογής,

συμπεραίνεται πως οι δύο τιμές αποδόσεων είναι της ίδιας τάξης, ικανοποιητικά συγκρίσιμες. Οι αποκλίσεις οφείλονται στους προαναφερθέντες λόγους.

#### 4.2.2.2 Με διαλύτη αιθανόλη



**Εικόνα 33:** Εκχύλισμα από Soxhlet με αιθανόλη

Το εκχύλισμα της Soxhlet με αιθανόλη ως διαλύτη, είχε επίσης κολλώδη υφή, και σκούρο πράσινο χρώμα (όμως λιγότερο σκούρο από του εκχυλίσματος της Soxhlet με κανονικό εξάνιο) και βαριά χαρακτηριστική οσμή (λιγότερο δυσάρεστη επίσης σε σχέση με το άλλο εκχύλισμα της Soxhlet).

Η απόδοση της υγρής εκχύλισης με αιθανόλη υπολογίζεται ομοίως με βάση το ξηρό εκχύλισμα, που προκύπτει από εξάτμιση του υγρού εκχυλίσματος ως προς την αρχική ποσότητα φυτικού υλικού προς εκχύλιση, ίση με **0.0285 ή 28.5% w/w**.Και εδώ δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα

**28.5% W/W**.Καί έσω σεν υπαρχούν βιρλιογραφικά σεοσμένα προς σύγκριση, καθώς δεν είχε εφαρμοστεί Soxhlet με αιθανόλη σε κανένα δείγμα του γένους Cictasae.

Προς σύγκριση των εκχυλισμάτων την υγρής εκχύλισης (Soxhlet) παρατίθεται ο Πίνακας 7. Παρατηρείται πως η εκχύλιση με αιθανόλη ως διαλύτη εμφανίζει μεγαλύτερη απόδοση από εκείνη με εξάνιο. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι το εξάνιο είναι άπολος διαλύτης και εκχυλίζει λιγότερα συστατικά.

Κωδικός Δείγματος	Αναλογία διαλύτη- δείγματος	Κύκλοι σιφωνισμού	Χρὀνος Εκχύλισης	Απόδοση (% w/w)
Sox-Hex	10:1	15	296min	4.6
Sox-Etoh	10:1	14	369min	28.5

#### Πίνακας 7: Σύγκριση εκχυλισμάτων Soxhlet

Επίσης αξίζει να αναφερθεί ότι τα δείγματα της Soxhlet έχουν υποστεί μεγάλη θερμική καταπόνηση, καθώς η εκχύλιση πραγματοποιείται στα σημεία βρασμού των διαλυτών της, δηλαδή στους 68°C και 78°C αντίστοιχα.

## 4.2.3 Υπερκρίσιμη Εκχύλιση

### 4.2.3.1 Απόδοση Υπερκρίσιμης Εκχύλισης

Οι αποδόσεις του κάθε πειράματος, όπως έχει προαναφερθεί υπολογίστηκαν με βάση την απώλεια μάζας του εκχυλιστήρα, δηλαδή ισχύει:

$$e = \frac{mextr_{in} - mextr_f}{m_{cistus}},$$

όπου *mextr<sub>in</sub>*: το αρχικό βάρος του εκχυλιστήρα, πληρωμένο με την ποσότητα της φυτικής ύλης και το πληρωτικό υλικό (g)

mextr<sub>f</sub>: το τελικό βάρος του εκχυλιστήρα, μετά την ολοκλήρωση της διεργασίας (g)

m<sub>cistus</sub>: το αρχικό βάρος της φυτικής ύλης που τοποθετήθηκε στο δοχείο του εκχυλιστήρα (g)

Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 8.

A/A	Κωδικός	Т (°С)	P (bar)	Ροή διαλύτη (kg/h)	Απόδοση (%w/w)	
Πείραμα 1	SFE.40.110.1	40	110	1	4.53	
Πείραμα 2	SFE.40.250.1	40	250	1	6.74	
Πείραμα 3	SFE.60.110.1	60	110	1	5.29	
Πείραμα 4	SFE.60.250.1	60	250	1	7.40	
Πείραμα 5	SFE.40.110.3	40	110	3	5.62	
Πείραμα 6	SFE.40.250.3	40	250	3	7.09	
Πείραμα 7	SFE.60.110.3	60	110	3	6.26	
Πείραμα 8	SFE.60.250.3	60	250	3	8.38	
Πείραμα 9	SFE.50.180.2	50	180	2	5.91	
Πείραμα 10	SFE.50.180.2	50	180	2	6.1	
Πείραμα 11	SFE.50.180.2	50	180	2	5.95	
Πείραμα 12	SFE.50.180.2	50	180	2	6.32	
Πείραμα 13	SFE.5%E.60.250.3	60	250	3	7.59*	

Πίνακας 8: Αποδόσεις και κωδικοί πειραμάτων Υπερκρίσιμης Εκχύλισης

\*Το πείραμα με συνδιαλύτη είχε διάρκεια 2 ώρες, και όχι εκείνη που απαιτείται ώστε η καμπύλη εκχύλισης να προσεγγίσει ασυμπτωτικά τη μέγιστη απόδοση που μπορεί να επιτευχθεί, όπως όλα τα υπόλοιπα πειράματα.

Η εξέλιξη της απόδοσης κάθε πειράματος απεικονίζεται στο Διάγραμμα 1, που για λόγους ευκολίας οι πειραματικές συνθήκες του κάθε πειράματος έχουν κωδικοποιηθεί με βάση το χρώμα, και τη σήμανση των κόμβων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 9:

Πίνακας 9: Κωδικοποίηση των διαγραμμάτων υπερκρίσιμης εκχύλισης

Σχήμα	Πίεση	Χρώμα	Θερμοκρασία	Γἑμισμα	Μαζική ροή διαλύτη
Κὑκλος	250bar	Κὀκκινο	60°C	NAI	3kg/h
Ρόμβος	110bar	Μπλε	40°C	'OXI	1kg/h
Τετρἁγωνο	180bar	Πρἁσινο	50°C		





**Διάγραμμα 1:** Συγκεντρωτική εξέλιξη απόδοσης όλων των πειραμάτων (a) ως προς το χρόνο εκχύλισης (b) ως προς την ανηγμένη ποσότητα διαλύτη προς την τροφοδοσία

#### 4.2.3.2 Επίδραση συνθηκών στην απόδοση υπερκρίσιμης εκχύλισης

Βασικές παράμετροι που προσδιορίζουν τη διαλυτότητα μιας ουσίας σε κάποιο υπερκρίσιμο διαλύτη είναι η *πυκνότητα του διαλύτη* και η *τάση ατμών της προς διάλυση ουσίας*. Η αύξηση τόσο της πυκνότητας όσο και της τάσης ατμών οδηγεί σε αύξηση της διαλυτικής ικανότητας ενός διαλύτη, και το αντίστροφο. Οι δύο παράγοντες που επηρεάζουν αυτά τα μεγέθη είναι η πίεση και η θερμοκρασία, όπου με την αύξηση της πίεσης αυξάνεται η πυκνότητα του διαλύτη, ενώ με την αύξηση της θερμοκρασίας μειώνεται μεν η πυκνότητα αλλά παράλληλα αυξάνεται η τάση ατμών της ουσίας. Συνεπώς, ενώ με την αύξηση της πίεσης αυξάνεται η διαλυτική ικανότητα ενός διαλύτη, με την αύξηση της θερμοκρασίας το αν θα αυξηθεί ή όχι η διαλυτότητα εξαρτάται από το ποιός από τους δύο αυτούς παράγοντες θα επικρατήσει.

Αυτό καθορίζεται από την πίεση της εκχύλισης και ιδιαίτερα στις χαμηλότερες πιέσεις λειτουργίας κυριαρχεί ο παράγοντας της πυκνότητας ενώ στις υψηλότερες εκείνος της τάσης ατμών της προς διάλυση ουσίας.

Προς τούτο, πριν τη διερεύνηση της επίδρασης κάθε παραμέτρου στην απόδοση της διεργασίας αξίζει να παρατεθεί η πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα στις διαφορετικές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας των πειραμάτων.

Πiεση (bar)	Θερμοκρασία (°C)	Пυκνότητα CO₂ (kg/m³)
110	40	684
110	60	358
250	40	879
250	60	787
180	50	757

Πίνακας 10: Πυκνότητες διοξειδίου του άνθρακα στις διάφορες πειραματικές συνθήκες<sup>[33]</sup>

Επίσης στο Διάγραμμα 2 παρουσιάζεται η απόδοση της διεργασίας ως συνάρτηση της πυκνότητας του CO2.



Διάγραμμα 2: Απόδοση της ΥΕ σαν συνάρτηση της πυκνότητας του CO2

Όπως φαίνεται από τους Πίνακες 8 και 10 και τα Διαγράμματα 1 και 2 για την υψηλή ροή (3 kg<sub>co2</sub>/h) η υψηλότερη απόδοση είναι **8.38% w/w** και επιτεύχθηκε με εκχύλιση στις υψηλότερες συνθήκες, δηλαδή σε 250bar και 60°C, γεγονός αναμενόμενο καθώς εκεί η πυκνότητα του διαλύτη είναι υψηλή λόγω της υψηλής πίεσης αλλά και η τάση ατμών των προς διάλυση ουσιών είναι επίσης υψηλή λόγω της θερμοκρασίας. Η χαμηλότερη αντίστοιχα απόδοση (**4.53%**) επιτεύχθηκε στη χαμηλή πίεση και θερμοκρασία. Οι παρατηρήσεις αυτές ισχύουν και για τη χαμηλή ροή (1 kg<sub>co2</sub>/h).

Αναφορικά με το πειραματικό σφάλμα της διεργασίας στο Διάγραμμα 3 γίνεται σύγκριση των αποτελεσμάτων των όμοιων πειραμάτων στις ενδιάμεσες συνθήκες των 180bar, 50°C και 2kg<sub>CO2</sub>/h. Η τελική απόδοση τους προσδιορίζεται σε **(6.07±0.16)% w/w** που αντιστοιχεί σε μέσο σφάλμα **±2.65%.** 



Διάγραμμα 3: Σύγκριση επαναληπτικών πειραμάτων

Αξίζει, επίσης, να αναφερθούν οι διακυμάνσεις που παρατηρήθηκαν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων ανάλογα με τις συνθήκες, δηλαδή το άρωμα και το χρώμα, όπου σε χαμηλές πιέσεις και θερμοκρασίες το έλαιο είχε αρχικά ένα ελαφρύ πράσινο χρώμα και ένα ελαφρύ άρωμα που θύμιζε αρκετά το φυσικό του φυτού, αλλά καθώς προχωρούσε η εκχύλιση και οι συνθήκες γίνονταν εντονότερες, αποκτούσε πιο βαθύ χρώμα, και το άρωμα του αποκτούσε πιο ελαιώδη χροιά. Οι παρατηρήσεις αυτές ερμηνεύονται από το γεγονός ότι σε υψηλότερη θερμοκρασία και πίεση εκχυλίζονται και βαρύτερα συστατικά.

Στα ακόλουθα υποκεφάλαια μελετάται διεξοδικά η επίδραση καθεμίας από τις παραμέτρους.

#### 4.2.3.2.1 Επίδραση Πίεσης

Για να μελετηθεί η επίδραση της πίεσης στην απόδοση της διεργασίας εξετάστηκαν τρείς διαφορετικές πιέσεις λειτουργίας, και η παράμετρος της θερμοκρασίας κρατήθηκε σταθερή όπως φαίνεται στα Διαγράμματα 4-5. Επίσης παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα περιγραφής των πειραματικών δεδομένων με το μοντέλο Sovová.



**Διάγραμμα 4:** Επίδραση της πίεσης σε σταθερή θερμοκρασία των 60°C με ροή διαλύτη 3kg/h &1kg/h

Από το Διάγραμμα 4 είναι εμφανές πως η αύξηση της πίεσης επιδρά θετικά στην απόδοση της διεργασίας, γεγονός αναμενόμενο, εφόσον υπό σταθερή θερμοκρασία, η αύξηση της πίεσης αυξάνει την πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα όπως φαίνεται από τον Πίνακα 10 (σε T=60°C και P=250bar είναι ρ<sub>CO2</sub>=787kg/m<sup>3</sup>, ενώ σε T=60°C και P=110bar είναι ρ<sub>CO2</sub>=358kg/m<sup>3</sup>). Κατ' επέκταση αυξάνεται και η διαλυτική ικανότητα του διοξειδίου του άνθρακα. Επιπρόσθετα, η αύξηση της απόδοσης αποδίδεται στο γεγονός ότι με την αύξηση της διαλυτικής ικανότητας του διαλύτη συνεκχυλίζονται και άλλα πιο βαριά συστατικά όπως κεριά, λιπαρά οξέα κ.λ.π.

Ομοίως από το Διάγραμμα 5 συμπεραίνεται πως η αύξηση της πίεσης και στους 40°C επιδρά θετικά στην απόδοση της υπερκρίσιμης εκχύλισης όπου η πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα επίσης αυξάνεται (σε T=40°C και P=250bar είναι ρ<sub>CO2</sub>=879kg/m<sup>3</sup>, ενώ σε T=40°C και P=110bar είναι ρ<sub>CO2</sub>=684kg/m<sup>3</sup>).



**Διάγραμμα 5:** Επίδραση της πίεσης σε σταθερή θερμοκρασία των 40°C με ροή διαλύτη 3kg/h &1kg/h

Συγκρίνοντας τα δύο παραπάνω διαγράμματα μεταξύ τους, και κάνοντας τους απαραίτητους υπολογισμούς στα αρχικά σημεία- εφόσον αυτά προσεγγίζουν τη διαλυτότητα σύμφωνα με τις παραδοχές του μοντέλου Sovová -, η αύξηση της απόδοσης με σταθερή θερμοκρασία στους 60°C και 1kg<sub>CO2</sub> /h είναι προσεγγιστικά της τάξης των 76%, ενώ η αύξηση της απόδοσης με σταθερή θερμοκρασία στους 40°C με 1kg<sub>CO2</sub> /h είναι προσεγγιστικά της τάξης των 72%. Η απόκλιση αυτή οφείλεται στην αύξηση της πυκνότητας με την πίεση κατά 55% περίπου στους 60°C, ενώ στους 40°C αυξάνεται κατά 48% περίπου. Επίσης αξίζει να σημειωθεί ότι οι παραπάνω υπολογισμοί έγιναν για τη χαμηλή ροή του διαλύτη εφόσον ο χρόνος παραμονής του στον εκχυλιστήρα είναι μεγαλύτερος και συνεπώς η τιμή θεωρείται πιο κοντινή σε εκείνη της ισορροπίας.

#### 4.2.3.2.2 Επίδραση Θερμοκρασίας

Τα Διαγράμματα 6 και 7 παρουσιάζουν την επίδραση της θερμοκρασίας στην απόδοση της διεργασίας, με ταυτόχρονη παράθεση και των αποτελεσμάτων του μοντέλου Sovová κάθε πειράματος.



**Διάγραμμα 6:** Επίδραση της θερμοκρασίας σε σταθερή πίεση 250 bar με ροή διαλύτη 3kg/h &1kg/h

Από το Διάγραμμα 6 παρατηρείται πως η αύξηση της θερμοκρασίας έχει θετική επίδραση στην απόδοση της διεργασίας. Η επίδραση αυτή της θερμοκρασίας δεν ερμηνεύεται με βάση την πυκνότητα, καθώς όπως φαίνεται από τον Πίνακα 10, με ισοβαρή μείωση της θερμοκρασίας, η πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα, αυξάνεται. Στην υψηλή πίεση, συνεισφέρει περισσότερο η αύξηση της τάσης ατμών, που προκαλείται από τη θερμοκρασιακή αύξηση και επίσης οδηγεί σε υψηλότερη διαλυτότητα, συνεπώς και σε υψηλότερες αποδόσεις.<sup>[6]</sup>



**Διάγραμμα 7**: Επίδραση της θερμοκρασίας σε σταθερή πίεση 110bar με ροή διαλύτη 3kg/h &1kg/h

Παρατηρώντας το Διάγραμμα 7 συμπεραίνεται πως οι μεταβολές στην έκβαση των καμπυλών εκχύλισης είναι μικρότερου εύρους και στα πρώτα στάδια της διεργασίας η ταύτιση των καμπυλών είναι μεγαλύτερης έκτασης για τις εξεταζόμενες θερμοκρασίες. Ωστόσο με την αύξηση της θερμοκρασίας η απόδοση της διεργασίας αυξάνεται, γεγονός που υποδεικνύει πως στην παρούσα μελέτη φαίνεται να επικρατεί ο παράγοντας της τάσης ατμών κατά τη μεταβολή της θερμοκρασίας σε όλες τις εξεταζόμενες πιέσεις.

Συγκρίνοντας τα Διαγράμματα 6 και 7 γίνεται εμφανές πως οι μεταβολές των αποδόσεων είναι υψηλότερες στις ακραίες συνθήκες και στις επόμενες συνθήκες είναι σχεδόν παραπλήσιες οι καμπύλες εκχύλισης. Υψηλότερης έκτασης διαφοροποίηση στις σημειακές αποδόσεις παρατηρείται για τα πειράματα στην υψηλότερη πίεση και υψηλότερη ροή (SFE.60.250.3, SFE.40.250.3, συγκρινόμενα με SFE.60.110.3, SFE.40.110.3) παρόλο που η πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα μεταβάλλεται περισσότερο κατά την ισοβαρή μεταβολή της θερμοκρασίας στα 110bar (μειώνεται κατά 50% όταν η θερμοκρασία αυξάνεται ισοβαρώς από τους 40°C στους 60°C, ενώ μειώνεται μόνο κατά 4% όταν η θερμοκρασία αυξάνεται αντίστοιχα σε 250bar). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει για άλλη μια φορά την κυριαρχία της τάσης ατμών της προς διάλυσης ουσίας. Ωστόσο η επίδραση της θερμοκρασίας δεν είναι τόσο έντονη στο ρυθμό εκχύλισης όσο εκείνη της πίεσης, ειδικά στις χαμηλές πιέσεις που εξετάσθηκαν.
#### **4.2.3.2.3 Επίδραση Ροής**

Για τη διερεύνηση της επίδρασης της ροής στην απόδοση της διεργασίας όλες οι υπόλοιπες συνθήκες κρατούνται σταθερές, και μεταβάλλεται μόνο η ροή. Συνεπώς προτίθεται προς σύγκριση το Διάγραμμα 8, όπως απεικονίζεται ακολούθως.



**Διάγραμμα 8**: Επίδραση της ροής (a) στους 60°C& 250bar (b) στους 60°C& 110bar (c) στους 40°C& 250bar (d) στους 40°C& 110bar

Είναι εμφανές πως ο ρυθμός εκχύλισης αυξάνεται με την αύξηση της ροής του διαλύτη κατά το πρώτο στάδιο της διεργασίας όλων των πειραμάτων. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι κατά το συγκεκριμένο στάδιο εκχυλίζεται κυρίως το έλαιο που έχει απελευθερωθεί κατά την άλεση των σπόρων.

Σε ακόλουθο στάδιο της διεργασίας, όπου λαμβάνει χώρα η διάχυση του διαλύτη εντός των σωματιδίων, ο ρυθμός αρχίζει να μειώνεται και για τις δύο ροές. Ωστόσο σε όλα τα πειράματα παρατηρείται πως η αύξηση της ροής έχει θετική επίδραση στην απόδοση της διεργασίας. Ακόμα αξίζει να επισημανθεί ότι η επίδραση της ροής είναι σχεδόν αμελητέα στις πειραματικές συνθήκες των 40°C και 250bar. Τέλος για την παρατήρηση της εξέλιξης της διεργασίας Υπερκρίσιμης Εκχύλισης του Cistus Creticus παρατίθεται το Διάγραμμα 9, περιέχοντας εκείνες τις καμπύλες εκχύλισης όπου επιτεύχθηκαν η μέγιστη, η ενδιάμεση και η ελάχιστη απόδοση. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα σημεία της ενδιάμεσης καμπύλης και του μοντέλου της είναι ο μέσος όρος των τεσσάρων καμπυλών εκχύλισης σε αυτές τις συνθήκες. Αναλυτικότερα η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στο μοντέλο Sovová για όλες τις εξεταζόμενες συνθήκες παρατίθεται στο **Παράρτημα III**.



Διάγραμμα 9: Εξέλιξη της πορείας της διεργασίας Υπερκρίσιμης Εκχύλισης

Συμπερασματικά, η αύξηση της πίεσης, της θερμοκρασίας και της ροής επιδρούν θετικά στην απόδοση στην διεργασίας ως προς την απώλεια βάρους στον εκχυλιστήρα αλλά και στην παραγωγή αιθέριου ελαίου (βλ. Πίνακα 8). Συνεπώς ως βέλτιστες συνθήκες με κριτήριο τις αποδόσεις επιλέγονται οι ακόλουθες: **250bar, 60°C, 3kgco2/h.** 

Ως βιβλιογραφικά δεδομένα προς σύγκριση παρέχονται δύο μελέτες, μια για το συγκεκριμένο υποείδος (Cistus Creticus subsp. Creticus, όπου συλλέχθηκε στο Ρέθυμνο το 2013)<sup>[28]</sup> και μια για ένα άλλο υποείδος του γένους Cistus (Cistus Ladanifer του υπογένους Leucocistus, όπου συλλέχθηκε στην Ισπανία το 2007).<sup>[41]</sup> Από μια σύγκριση αυτών προκύπτει ότι :

Α. Η ολική απόδοση ως προς την παραγωγή αιθέριων ελαίων ήταν προσεγγιστικά της τάξης των *5mg<sub>oil</sub>/g<sub>feed</sub>* για το Cistus Ladanifer και *0.26ml<sub>oil</sub>/g<sub>feed</sub>* για το Cistus Creticus, ενώ στην παρούσα εργασία, οι αποδόσεις παραγωγής εκχυλισμάτων από το δεύτερο διαχωριστήρα κυμαίνονται στο εύρος από *0.10* έως *1.38mg<sub>oil</sub>/g<sub>feed</sub>*.

B. Αναφορικά με την εξάρτηση από τους παράγοντες, μόνο στο υποείδος Cistus Ladanifer έγινε παρόμοια διερεύνηση, καθώς στο Cistus Creticus έγινε μόνο ένα πείραμα στις συνθήκες των: 90bar, 40°C και 5kg<sub>co2</sub>/h.<sup>[28]</sup>

Συγκεκριμένα οι παράγοντες με τις οι τιμές τους που εξετάσθηκαν στο Cistus Ladanider είναι: η πίεση (8-9-10MPa), η θερμοκρασία (30-40-50-60 °C), η μαζική ροή του διοξειδίου του άνθρακα (0.4-0.7-1-1.3 kg/h) και η κοκκομετρία των σπόρων του φυτού (0.175-0.3-0.46-0.65-0.94mm).<sup>[41]</sup>

Στην προαναφερόμενη μελέτη ως βέλτιστη πίεση επιλέχθηκε η ενδιάμεση (9MPa) καθώς οι αποδόσεις διέφεραν ελάχιστα από την υψηλότερη (10MPa) και επιλέχθηκε με οικονομοτεχνικά κριτήρια. Επίσης, ως βέλτιστη θερμοκρασία επιλέχθηκε η χαμηλότερη (40°C) καθώς παρατηρείται η αντίστροφη επίδραση στην παραγωγή αιθέριου ελαίου, και ως βέλτιστη ροή μια ενδιάμεση (0.7kg<sub>CO2</sub>/h).

Η εξάρτηση από τις παραμέτρους μπορεί να διαφοροποιείται κατά περίπτωση καθόσον οι συνθήκες εκχύλισης (κυρίως το εύρος της πίεσης) διαφέρουν, αλλά και οι εκχυλιζόμενες ουσίες και οι συγκεντρώσεις τους δεν είναι οι ίδιες.

## 4.3 Μελέτη Χημικών Ιδιοτήτων των Εκχυλισμάτων

## 4.3.1 Αντιοξειδωτική Δράση

Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων παρατίθεται στον Πίνακα 11, μαζί με τις αποδόσεις των ξηρών εκχυλισμάτων των διεργασιών. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα άλλα δύο δείγματα που εξετάσθηκαν δεν παρουσίασαν αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση με την εφαρμοζόμενη μέθοδο, και συνεπώς δεν παρατίθενται προς σύγκριση.

Μέθοδος	Διαλὑτης/ Συνδιαλὑτης	Κωδικός δείγματος	Απόδοση (gextract/gfeed)	IC₅₀ (gextract/ml)
Εκχύλιση Soxhlet	Αιθανόλη/-	Sox_Etoh	28.50%	0.0032
Υπερκρίσιμη Εκχύλιση	CO₂/Αιθανόλη	5%SFE.60.250.3-2	1.42%*	0.0954
		Ascorbic Acid		0.0021

Πίνακας 11:Αποτελέσμ	ματα μέτρησης	αντιοξειδωτικής δ	δράσης
	$r \cdot r \cdot r \cdot r \cdot r$		P

\*Το παρόν εκχύλισμα είναι από τα πρώτα 30min της διεργασίας.

Δεδομένου ότι για μικρές τιμές του δείκτη ΙC<sub>50</sub> η αντιοξειδωτική δράση ενός δείγματος είναι υψηλότερη, καθώς απαιτείται μικρότερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικού για την εξουδετέρωση του ίδιου ποσοστού ρίζας, παρατηρείται πως το εκχύλισμα με την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι εκείνο που παραλήφθηκε με την υγρή εκχύλιση (Soxhlet) με αιθανόλη ως διαλύτη. Μάλιστα, η τιμή του δείκτη ΙC<sub>50</sub> διαφέρει μόνο 1.5 φορές από την τιμή του δείκτη του ασκορβικού οξέος, γεγονός ιδιαίτερα εντυπωσιακό. Αμέσως υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση παρουσίασε το εκχύλισμα από υπερκρίσιμη εκχύλιση με συνδιαλύτη στις υψηλές συνθήκες. Γενικώς η χρήση αιθανόλης τόσο ως διαλύτη στη συμβατική Soxhlet, όσο και ως συνδιαλύτη οδήγησε στην παραλαβή αντιοξειδωτικά στην Υ.Ε. δραστικότερων εκχυλισμάτων. Επίσης, η προσθήκη αιθανόλης σε μεγαλύτερο ποσοστό στη διεργασία της Υ.Ε. θα απέδιδε προϊόντα ισχυρότερης αντιοξειδωτικής δράσης (π.χ. προσθήκη 10% κ.β. αιθανόλης στις εκχυλιστικές συνθήκες).

## 4.3.2 Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο

Στον Πίνακα 12 παρατίθεται τα αποτελέσματα του Ολικού Φαινολικού Περιεχομένου των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων εκφρασμένα σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg<sub>GAE</sub>/g<sub>extract</sub>).

Μέθοδος	Διαλύτης/ Συνδιαλύτης	Κωδικός δείγματος	TPC (mg <sub>GAE</sub> /g <sub>extract</sub> )
Εκχύλιση Soxhlet	Αιθανόλη/-	Sox_Etoh	171.73
Υπερκρίσιμη Εκχύλιση	CO2/Αιθανόλη	5%SFE.60.250.3-1	23.20
Υπερκρίσιμη Εκχύλιση	CO2/Αιθανόλη	5%SFE.60.250.3-2	21.09
Υπερκρίσιμη Εκχύλιση	CO <sub>2</sub> /-	SFE.60.250.3-1	14.46

Πίνακας 12: Αποτελέσματα μέτρησης Ολικού Φαινολικού Φορτίου

Συγκρίνοντας την περιεκτικότητα των δειγμάτων σε φαινολικά συστατικά, υψηλότερη εμφανίζουν τα δείγματα κατεργασίας με αιθανόλη, πρωτίστως εκείνο που παραλήφθηκε με Soxhlet, και ακολούθως εκείνα από υπερκρίσιμη εκχύλιση με αιθανόλη ως συνδιαλύτη. Ακολουθεί το εκχύλισμα από υπερκρίσιμη εκχύλιση χωρίς συνδιαλύτη. Το σημαντικά υψηλότερο φορτίο του δείγματος κωδικού Sox-Etoh οφείλεται αφενός στη διαλυτική ικανότητα της αιθανόλης ως προς τέτοια συστατικά, αλλά και στην υψηλή απόδοση της διεργασίας Soxhlet ως προς την παραγωγή εκχυλίσματος. Έπειτα στα δείγματα της Υ.Ε., η προσθήκη συνδιαλύτη οδήγησε σε αύξηση της περιεκτικότητας τους σε φαινολικά συστατικά. Τέλος, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων συμφωνεί με δύο βιβλιογραφικές μελέτες που έχουν γίνει σε άλλα υποείδη του γένους (Cistus Creticus subsp. eriocephalus, Σαρδηνίας <sup>[49]</sup> και Cistus incanus L., Πολωνίας <sup>[50]</sup> ), όπου έχουν Ολικό Φαινολικό Φορτίο στο εύρος *2-100mgGAE/gextract*.

## 4.3.3 Ανάλυση του πτητικού κλάσματος των εκχυλισμάτων

Στο σημείο αυτό παρατίθενται προς σύγκριση τα χρωματογραφήματα και τα ταυτοποιημένα πτητικά συστατικά ενός αντιπροσωπευτικού εκχυλίσματος από υπερκρίσιμη εκχύλιση (συνθήκες εκχύλισης: 50°C, 180bar, 2kg<sub>CO2</sub>/h, 2°<sup>c</sup> διαχωριστήρας) και του αιθέριου ελαίου από υδροαπόσταξη του φυτού Cistus Creticus με τις Εικόνες 31, 32 και τον Πίνακα 13. Τα υπόλοιπα δείγματα που αναλύθηκαν παρατίθενται στο **Παράρτημα ΙΙ.** 

Από την παρατήρηση των χρωματογραφημάτων επισημαίνονται διαφορές ανάλογα με την εφαρμοζόμενη μέθοδο εκχύλισης. Για παράδειγμα το αιθέριο έλαιο της υδροαπόσταξης περιέχει σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα εκείνες τις φαινολικές ενώσεις και τα οξυγωνομένα σεσκιτερπένια όπου εξέρχονται πρώτα από τη στήλη της συσκευής. Ακόμα, εμφανίζει σε σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα το δεκαεξανοϊκό οξύ. Ωστόσο το εκχύλισμα από την υπερκρίσιμη εκχύλιση απέδωσε περισσότερα αλκένια σε σχέση με το αιθέριο έλαιο.



Εικόνα 31: Χρωματογράφημα αιθέριου ελαίου φυτού C.Creticus από Υδροαπόσταξη



Εικόνα 32: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος φυτού C.Creticus από Υπερκρίσιμη Εκχύλιση στις ενδιάμεσες συνθήκες (50°C, 180bar, 2kg<sub>co2</sub>/h) από το δεύτερο διαχωριστήρα

Γενικά όλα τα εκχυλίσματα του Cistus απέδωσαν λιπαρά οξέα σε μεγάλες ποσότητες, και ιδιαίτερα το δεκαεξανοϊκό και το λινολεϊκό οξύ, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην εκχύλιση όλου του φυτού, συμπεριλαμβανομένων και των καρπών του, όπου έχουν υψηλό λιπιδικό περιεχόμενο. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρουσιάζονται από τους Krollmann et al.<sup>[60]</sup>

RT	Συστατικά	SFE.50.180.2-2	EsOil_HD	Βιβλιογραφία	
17.22	Benzyl acetate	0.556%	0.06%	Wiley&Nist	
23.33	Thymol	0.195%	0.92%	[41],[56],[59]	
23.70	Carvacrol	1.049%	7.56%	[51],[35],[53],[41], [28],[4],[56]	
26.74	n-Decanoic Acid	0.335%	0.006%	[4],[56]	
35.38	Viridiflorol	0.371%	1.714%	[10],[59],[57],[53],[3] ,[56]	
35.80	Ledol	0.099%	0.857%	[35],54],[57],[58], [59]	
41.78	Tetradecanoic Acid	1.795%	4.963%	[35],[53],[56],[3]	
44.47	2-pentadecanone,6,10,14- trimethyl	1.289%	3.272%	[3]	
46.29	Nonadecane	0.271%	0.008%	[3]	
46.88	Farnesyl Acetone	0.254%	1.139%	[35]	
47.15	Methyl hexadecanoate	0.694%	1.242%	[56]	
48.50	Hexadecanoic Acid	8.488%	46.916%	[35],[53],[4], [56],[3]	
49.09	Manoyl Oxide	1.078%	3.085%	[3],[4],[7], [10],[28],[35],[37], [41],[51]-[59]	
49.75	13-epi-manoyl oxide	1.003%	3.342%	[3],[4],[7],[10],[28], [35],[37],[41],[51]- [59]	
52.53	Heneicosane	0.990%	-	[37],[3],[56]	
52.92	Phytol	1.079%	1.018%	[35],[37]	
53.85	linoleic acid	24.428%	9.877%	[3]	
57.30	Ribenol	0.815%	0.013%	[28],[55]	
58.25	Tricosane	2.646%	1.855%	[35],[53],[41],[56],[3]	
60.34	EthylesterRibenol	0.829%	0.291%	[28],[55]	
60.94	Tetracosane	0.392%	0.398%	[35],[53],[3]	
61.26	Eicosene	0.103%	0.005%	Wiley&Nist	
63.54	Pentacosane	2.436%	2.232%	[35],[53],[41],[56],[2 8]	
66.06	Hexacosane	0.519%	0.024%	[35],[41],[3]	
67.84	1-Nonadecene	2.016%	0.015%	[41]	
68.45	Heptacosane	3.321%	2.420%	[35],[41],[3], [28]	
71.41	Squalene	2.692%	0.021%	[35]	
72.50	9-Nonadecene	12.995%	0.021%	[41]	
73.03	Triacontane	4.083%	1.195%	[41],[28]	
76.86	17-Pentatriacontene	13.363%	0.012%	Wiley&Nist	
	Total Content	90.185%	85.137%		
Total	Higher Alkanes/Waxes	14.658%	8.134%		
	Total Alkenes	28.477%	0.053%		
Т	otal Fatty Acids & derivatives	35.235%	51.96%		
	Total Diterpenes	4.805%	7.749%		
	Total Oxygenated Sesquiterpenes	0.470%	2.571%		
Tota	l Phenolic Compounds	1.244%	8.484%		
	Others	5.296%	6.184%		

Πίνακας 13: Ταυτοποιημένα πτητικά συστατικά που περιέχονται στο εκχύλισμα από Υπερκρίσιμη Εκχύλιση και στο αιθέριο έλαιο της Υδροαπόσταξης

# 5. ΜΟΝΤΕΛΟΙΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ

## 5.1 Στατιστική Ανάλυση και μαθηματική προσομοίωση βάσει πειραματικού σχεδιασμού

Η γενική μορφή απόκρισης του συστήματος Υ με βάση τις παραμέτρους που επιλέχθηκαν (Τ,Ρ,m<sub>CO2</sub>) περιγράφεται από την παρακάτω εξίσωση:

 $Y = const + a_1 \times (T) + a_2 \times (P) + a_3 \times (\dot{m}_{CO2}) + a_4 \times (T \times P) + a_5 \times (T \times \dot{m}_{CO2})$  $+ a_6 \times (P \times \dot{m}_{CO2}) + a_7 \times (T \times P \times \dot{m}_{CO2})$ 

όπου:

Υ: απόδοση υπερκρίσιμης εκχύλισης επί τις εκατό,

const: σταθερά του συστήματος,

α1, α2, α3: συντελεστές παραμέτρων,

α4, α5, α6, α7: συντελεστές συσχέτισης παραμέτρων,

Τ: Θερμοκρασία (°C)

P: Πίεση (bar)

*m*<sub>CO2</sub>= ροή διοξειδίου του άνθρακα (kg/h)

Για την εύρεση των παραγόντων της εξίσωσης εφαρμόστηκε Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) με χρήση του Design Experts χρησιμοποιώντας ως δεδομένα τις αποδόσεις της διεργασίας σε κάθε P,T, m<sub>co2</sub> στον ίδιο χρόνο εκχύλισης (150min). Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον Πίνακα 14 και στο Διάγραμμα 10. Με επίπεδο σημαντικότητας α=0.05 οι παράγοντες του μοντέλου έχουν μια τιμή F ίση με 73.46 που σχετίζεται με μια πιθανότητα μικρότερη από 0.05, που σημαίνει πως οι παράγοντες είναι στατιστικά σημαντικοί.

Πίνακας 14: Δεδομένα από Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F- Value	p- Value
Model	23.290	7	3.327	73.46	0.0024
Р	15.208	1	15.208	335.77	0.0004
т	2.543	1	2.543	56.14	0.0049
m <sub>со2</sub>	4.545	1	4.545	100.35	0.0021
P*T	0.383	1	0.383	8.45	0.0621
P*ṁ <sub>CO2</sub>	0.249	1	0.249	5.49	0.1010
T*ṁ <sub>CO2</sub>	0.285	1	0.285	6.29	0.0870
P* T*ṁ <sub>CO2</sub>	0.078	1	0.078	1.72	0.2808
Error	0.136	3	0.045		
Total	23.556	11			
	R <sup>2</sup> =0.9942		R <sup>2</sup> (adj)=0.981		

Ένα τέτοιο στατιστικό εύρημα σημαίνει πως η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται και πως υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση και πρόβλεψη της απόδοσης της διεργασίας από την πίεση, τη θερμοκρασία και τη ροή του διαλύτη. Αναλυτικότερα, στον Πίνακα 14 παρέχονται οι τιμές F των κύριων επιδράσεων και των αλληλεπιδράσεων των μοντέλων, όπου και παρατηρείται πως οι τελευταίες δεν είναι στατιστικά σημαντικές.<sup>[42]</sup>

Ο συντελεστής προσδιορισμού R<sup>2</sup> εκφράζει το ποσοστό διακύμανσης της εξαρτημένης μεταβλητής που οφείλεται στην επίδραση των ανεξάρτητων μεταβλητών και έχει αρκετά ικανοποιητική τιμή. Δηλαδή αν είναι γνωστές οι συνθήκες πίεσης, θερμοκρασίας και ροής διαλύτη μπορεί να περιγραφεί με υψηλή ακρίβεια το μοντέλο.<sup>[42]</sup>

Η εξίσωση που περιγράφει το συγκεκριμένο μοντέλο δίνεται ακολούθως ενώ η συσχέτιση των υπολογισμένων τιμών απόκρισης με των πειραματικών δίνονται στο Διάγραμμα 10.

$$\begin{aligned} \mathbf{Yield} &= -1.06357 + 0.01316 \times (\mathbf{T}) + 0.02321 \times (\mathbf{P}) + 1.53286 \times (\dot{\mathbf{m}}_{CO2}) \\ &- 3.03571 * 10^{-5} \times (\mathbf{T} \times \mathbf{P}) - 9.57143 * 10^{-3} \times (\mathbf{P} \times \dot{\mathbf{m}}_{CO2}) \\ &- 6.51786 * 10^{-3} \times (\mathbf{T} \times \dot{\mathbf{m}}_{CO2}) + 1.41071 * 10^{-4} \times (\mathbf{T} \times \mathbf{P} \times \dot{\mathbf{m}}_{CO2}) \end{aligned}$$

Αρχικά παρατηρείται πως κανένας παράγοντας δε μένει ανεπηρέαστος από τα επίπεδα των άλλων παραγόντων, συνεπώς δεν μπορούν να διεξαχθούν συμπεράσματα για την επίδραση του καθενός στην απόδοση της διεργασίας.

Ωστόσο, παρατηρείται πως οι συντελεστές των κύριων επιδράσεων είναι αρκετές τάξεις μεγέθους υψηλότεροι από τους συντελεστές των αλληλεπιδράσεων μεταξύ δύο και τριών παραγόντων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι δεν είναι σημαντικά στατιστικές αλληλεπιδράσεις (βλ. Πίνακα 14) θα μπορούσαν να παραληφθούν από το μοντέλο.



Διάγραμμα 10: Συσχέτιση πειραματικών – υπολογισμένων τιμών απόδοσης της υπερκρίσιμης εκχύλισης με ΑΝΟVΑ

Για τη βελτίωση του μοντέλου που περιγράφει το εξεταζόμενο σύστημα υπολογίστηκαν οι συντελεστές που περιγράφουν με βέλτιστο τρόπο την απόκριση του συστήματος στο περιβάλλον του Excel. Κριτήριο βελτιστοποίησης ήταν η ελαχιστοποίηση του αθροίσματος τετραγώνων της συνάρτησης της απόκρισης με τον ελάχιστο δυνατό αριθμό παραμέτρων.

Στο **Παράρτημα ΙΙΙ** δίνονται τα αποτελέσματα των δοκιμών με διαφορετικούς συνδυασμούς παραμέτρων.

Από τη μελέτη αυτή προτείνεται ως βέλτιστη η ακόλουθη συνάρτηση:

 $\begin{aligned} \mathbf{Yield} \ = \ 0.00129 \times (\mathbf{P}) + 0.42010 \times (\dot{\mathbf{m}}_{CO2}) + 1.89780 * 10^{-4} \times (\mathbf{T} \times \mathbf{P}) \\ + \ 0.01205 \times (\mathbf{T} \times \dot{\mathbf{m}}_{CO2}) - 1.62950 * 10^{-3} \times (\mathbf{P} \times \dot{\mathbf{m}}_{CO2}) \end{aligned}$ 

Επιπλέον, η συσχέτιση των υπολογισμένων τιμών απόδοσης με τις πειραματικές φαίνεται στο Διάγραμμα 11.



Διάγραμμα 11: Συσχέτιση πειραματικών – υπολογισμένων τιμών απόδοσης της υπερκρίσιμης εκχύλισης

Αξίζει να σημειωθεί ότι η περιοχή του διαγράμματος που περιγράφεται από τις κόκκινες διακεκομμένες γραμμές αντιστοιχεί σε σφάλματα ±2%, ενώ με τη μορφή error bars δίνονται τα σφάλματα των πειραματικών μετρήσεων.

Αξιολογώντας εκ νέου τις τιμές που λαμβάνουν οι όροι της εξίσωση της απόδοσης συμπεραίνεται επίσης πως δεν μπορούν να διεξαχθούν συμπεράσματα για κάθε παράγοντα. Συνεπώς οι επιδράσεις κάθε παράγοντα εξετάζονται μεμονωμένα, και διαπιστώνεται πως όλοι έχουν θετική επίδραση στην απόδοση της διεργασίας. Το γεγονός αυτό επικυροποιείται και από τα πειραματικά αποτελέσματα όπου η αύξηση της πίεσης, της θερμοκρασίας και της ροής του διαλύτη, κρατώντας το επίπεδο του εξεταζόμενου παράγοντα σταθερό κάθε φορά, οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης της διεργασίας στο εξεταζόμενο εύρος τιμών.

## 5.2 Προσομοίωση διεργασίας με το Μοντέλο Sovová

Κάνοντας χρήση του αλγορίθμου GRG του solver στο περιβάλλον του excel και με εφαρμογή των εξισώσεων μεταφοράς μάζας (βλ. §2.4.2) υπολογίστηκαν οι τιμές των παραμέτρων του μοντέλου όπως φαίνεται στον Πίνακα 15, ενώ οπτικά παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 3-9.

Πείραμα- Κωδικός	<b>y</b> r	xo	Xk	(Z* <i>q̇</i> )*10 <sup>2</sup> (s <sup>-1</sup> )	(W* <i>q</i> )*10 <sup>4</sup> (s <sup>-1</sup> )	q <sub>m</sub>	qn	AAD %
1-SFE.40.110.1	0 001 49	0.0610	0 0200	1.197	0.448	7.24	23.65	5.33
5-SFE.40.110.3	0.00146	0.0010	0.0590	3.476	1.734	7.64	24.47	3.17
3-SFE.60.110.1	0 0020	0 0690	0.0404	1.378	0.467	3.90	14.53	2.85
7-SFE.60.110.3	0.0020	0.0080	0.0494	1.775	2.296	9.70	20.51	3.11
9-SFE.50.180.2	0.0030	0.0690	0.0470	8.124	1.815	1.05	9.32	4.72
2-SFE.40.250.1	0.0050	0.0760	0.0462	2.814	1.911	1.27	8.14	4.19
6-SFE.40.250.3	0.0050	0.0760	0.0402	0.956	2.535	11.0	17.39	1.20
4-SFE.60.250.1	0.0090	0 00 20	0.0467	1.469	1.314	2.64	8.61	4.47
8-SFE.60.250.3	0.0080	0.0920	0.0467	1.154	7.096	8.92	15.22	1.76
					Μέσο Σφάλμ	α:		3.43

Πίνακας 15: Οι παράμετροι του μοντέλου

Το μοντέλο Sovová εφαρμόστηκε με επιτυχία στα πειραματικά δεδομένα όπως φαίνεται από τα μέσα απόλυτα σφάλματα (AAD%) στον Πίνακα 15. Αναφορικά με τις παραμέτρους του μοντέλου, το x<sub>0</sub> αφορά τη μέγιστη ποσότητα ελαίου που μπορεί να εκχυλιστεί στις εκάστοτε συνθήκες και το xk αφορά την παγιδευμένη ποσότητα ελαίου εντός του δείγματος. Και οι δύο συντελεστές εξαρτώνται από τις συνθήκες παραπάνω εκχύλισης. Συγκεκριμένα παρατηρείται πως το x<sub>0</sub> αυξάνεται με την αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας λόγω της σημαντικής μεταβολής της πυκνότητας του διοξειδίου του άνθρακα, και την επίδραση της τάσης ατμών στη διαλυτότητα, με αποτέλεσμα va συνεκχυλίζονται περισσότερες ουσίες. То Xk, προσαρμόζεται στα πειραματικά δεδομένα, ενώ επηρεάζεται από την κοκκομετρία του φυτικού υλικού και το x<sub>0</sub>. Επιπρόσθετα το y<sub>r</sub> εκφράζει τη διαλυτότητα του διοξειδίου του άνθρακα, υπολογίζεται πειραματικά, και είναι συνάρτηση της πίεσης και της θερμοκρασίας. Συγκεκριμένα αυξάνεται με την πίεση, όπως αναμενόταν, ενώ αυξάνεται και με τη θερμοκρασία, γεγονός που οφείλεται στη μεγαλύτερη επίδραση της τάσης ατμών της προς διάλυση ουσίας στη διαλυτότητα στο διοξείδιο του άνθρακα, καθώς η πυκνότητα του μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας όπως έχει προαναφερθεί.

Μαζί με το x<sub>k</sub> προσαρμόζονται και οι αδιαστάτοι συντελεστές μεταφοράς μάζας για τη φάση του ρευστού και στου στερεού, Z και W αντίστοιχα. Γίνεται εμφανές πως οι τιμές του (Z\*q) έχουν σχεδόν δύο τάξεις μεγέθους μικρότερες τιμές από το λόγο (W\*q), γεγονός που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία, δεδομένου ότι αφορούν διαφορετικά υποστρώματα. Επίσης το (**Z**\**q̇*) είτε αυξάνεται ή μειώνεται με την αύξηση της ροής ενώ το (**W**\**q̇*) αυξάνεται με την αύξηση της ροής, και σε μεγαλύτερη έκταση από ότι ο πρώτος όρος.

Τέλος οι τιμές των qm και qn βοηθούν στον προσδιορισμό του κάθε σταδίου της διεργασίας. Παρατηρώντας τη ποσότητα του διαλύτη που καταναλώνεται κάθε χρονική στιγμή, και από τις τιμές των qm και qn συμπεραίνεται πως το γρήγορο στάδιο στα πειράματα ενδιάμεσης και υψηλής ροής (πειράματα 5-9) λαμβάνει χώρα εντός 5-10 λεπτών, ενώ στα πειράματα χαμηλής ροής (πειράματα 1-5) λαμβάνει χώρα για περισσότερο χρόνο, από 15-20min. Το ενδιάμεσο στάδιο εκχύλισης λαμβάνει χωρά για τα επόμενα 5 έως 40 λεπτά. Τη μικρότερη διάρκεια του ενδιαμέσου σταδίου έχουν τα πειράματα υψηλής ροής, ενώ στις χαμηλότερες ροές η διάρκεια του σταδίου αυτού αυξάνεται. Γενικώς η διάρκεια κάθε σταδίου ήταν υψηλότερη για τις χαμηλές ροές ανεξαρτήτου πίεσης και θερμοκρασίας. Ωστόσο, το τελευταίο στάδιο της εκχύλισης όπως λαμβάνει χώρα στα επόμενα χρονικά σημεία, είναι το βραδύτερο για όλα τα πειράματα.

Αναλυτικά η έκταση των σταδίων με χρωματική διαβάθμιση και τα διαγράμματα εφαρμογής του μοντέλου σε κάθε πείραμα απεικονίζονται στο Παράρτημα ΙΙΙ.

# 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Είναι διεθνής τάση των τελευταίων χρόνων η αξιοποίηση φυσικών εκχυλισμάτων είτε άμεσα προς ευρεία κατανάλωση είτε μετά από κλασμάτωση για την παραγωγή πρόσθετων τροφίμων, ποτών, καλλυντικών και φαρμάκων. Η τάση αυτή οφείλεται στις αποδεδειγμένες ιδιότητες που τα εκχυλίσματα αρκετών αρωματικών φυτών διαθέτουν και οι οποίες είναι εφάμιλλες ή καλύτερες από εκείνες των συνήθως χρησιμοποιούμενων συνθετικών ουσιών, χωρίς όμως τις πιθανές παρενέργειές τους λόγω της φυσικής προέλευσής τους.

Η ανάκτηση των φυσικών αυτών εκχυλισμάτων επιδιώκεται με χρήση κατά το δυνατό φιλικότερων προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον διαλυτών και μεθόδων.

Στην παρούσα Διπλωματική Εργασία εξετάσθηκε η διεργασία της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης και η εφαρμογή της για την παραγωγή εκχυλισμάτων από το φυτό Cistus Creticus καθώς και η σύγκριση τους με δύο ευρέως διαδεδομένες "Συμβατικές Τεχνικές" εκχύλισης, την υδροαπόσταξη και την υγρή εκχύλιση (Soxhlet).

Η συγκεκριμένη φυτική ύλη επιλέχθηκε καθώς τα έλαια της εμφανίζουν αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή, αντικαρκινική, κυτταροτοξική (κυρίως αντιλευχαιμική), γαστροπροστατευτική, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση, ενώ αρκετές επιστημονικές έρευνες έχουν διεξαχθεί προς διερεύνηση της ικανότητας των εκχυλισμάτων του γένους αυτού στην παρεμπόδιση της μεταγραφής ρετροϊών.

Η μέθοδος της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης επελέγη αφενός διότι λόγω των ηπιότερων συνθηκών οδηγεί στην παραγωγή ποιοτικά και οργανοληπτικά ανώτερων εκχυλισμάτων και αφετέρου διότι τα εκχυλίσματα είναι πλήρως απαλλαγμένα από διαλύτες.

Στη συγκεκριμένη Διπλωματική Εργασία δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην πειραματική μελέτη της διεργασίας της ΥΕ και στη μοντελοποίησή της. Ειδικότερα μελετήθηκαν η επίδραση της πίεσης, της θερμοκρασίας και της μαζικής ροής του διαλύτη στο ρυθμό και την απόδοση της εκχύλισης. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι:

Η αύξηση της πίεσης οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης της διεργασίας, καθώς αυξάνεται η πυκνότητα του υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα άρα και η διαλυτική του ικανότητα. Βέβαια με την αύξηση της πίεσης συνεκχυλίζονται και συχνά ανεπιθύμητες ουσίες, όπως αποδείχτηκε με τη μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των εκχυλισμάτων, αλλά και από την ανάλυση με GC-MS. Συγκεκριμένα, σε σχετικά χαμηλές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας το έλαιο είχε αρχικά ένα ελαφρύ πράσινο χρώμα και ένα ελαφρύ άρωμα, αλλά καθώς οι συνθήκες γίνονταν εντονότερες, αποκτούσε πιο βαθύ χρώμα, και το άρωμα του αποκτούσε πιο ελαιώδη χροιά.

Επίσης με την αύξηση της πίεσης αυξήθηκε η περιεκτικότητα σε αλκάνια και κεριά, ενώ μειώθηκε για άλλα πτητικά συστατικά (οξυγονωμένα σεσκιτερπένια, διτερπέρνια κ.α). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει πως η τελική επιλογή πίεσης εξαρτάται από την επιθυμητή ποιότητα του προϊόντος αλλά και από οικονομοτεχνικά χαρακτηριστικά καθώς με την αύξηση της πίεσης αυξάνεται και το κόστος παραγωγής.

Αναφορικά με τη θερμοκρασία, η αύξηση της οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης της διεργασίας, γεγονός που αποδίδεται στην επικράτηση του παράγοντα της τάσης ατμών της προς διάλυσης ουσίας σε σχέση με την πυκνότητα του διοξειδίου του άνθρακα.

Τέλος, η αύξηση της μαζικής ροής του διαλύτη επιδρά θετικά στο ρυθμό εκχύλισης, γεγονός που οφείλεται σε διάφορους παράγοντες όπως τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης αλλά και στα φαινόμενα μεταφοράς που λαμβάνουν χώρα. Ωστόσο, η τελική επιλογή ροής σε βιομηχανικό επίπεδο εξαρτάται επίσης από οικονομοτεχνικούς παράγοντες, όπως η διάρκεια της εκχύλισης και οι καταναλώσεις διαλυτών και ενέργειας.

Με γνώμονα τις τελικές αποδόσεις ως βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης επιλέγονται οι υψηλότερες (250bar, 60°C, 3kg/h).

Ωστόσο, η επιλογή αυτή των συνθηκών υποστηρίζει μόνον τη μεγιστοποίηση της απόδοσης της διεργασίας. Γενικώς, θα πρέπει να συνυπολογιστούν και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων, τα οποία όπως φάνηκε επηρεάζονται από τις συνθήκες λειτουργίας. Πιο συγκεκριμένα η μελέτη μεταξύ των ενδιάμεσων (50°C, 180bar, 2kgco2/h) και των υψηλών συνθηκών (60°C, 250bar, 3kgco2/h) κατέδειξε πως το εκχύλισμα από τις ενδιάμεσες είχε καλύτερη περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά, και συγκεκριμένα μικρότερη περιεκτικότητα σε αλκάνια και κεριά και υψηλότερη σε λιπαρά οξέα. Συνεπώς για να αποφασιστούν οι βέλτιστες συνθήκες σχετικά και με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων θα πρέπει να γίνει μια εκτενέστερη μελέτη τους για όλες τις εξεταζόμενες συνθήκες.

Περαιτέρω, για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων, όλα εμφάνισαν υψηλή περιεκτικότητα σε δύο λιπαρά οξέα: το δεκαεξανοϊκό οξύ και το λινολεϊκό οξύ, γεγονός που οφείλεται στην εκχύλιση όλων των μερών του φυτικού υλικού, συμπεριλαμβανομένων και των καρπών του που είναι πλούσιοι σε λιπιδικό περιεχόμενο. Συγκρίνοντας τα εκχυλίσματα μεταξύ τους, εκείνα των συμβατικών μεθόδων εμφάνισαν σε υψηλότερη περιεκτικότητα λιπαρά οξέα, ~50% των ταυτοποιημένων ουσιών, σε αντίθεση με εκείνα της υπερκρίσιμης που είχαν λιπαρά οξέα σε χαμηλότερο ποσοστό (~30%) και περιείχαν άλλες ενώσεις, όπως π.χ. αλκένια, σε υψηλότερο.

Ακόμα, η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων που προέκυψαν με χρήση αιθανόλης ως διαλύτη/συνδιαλύτη κατέδειξε πως εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση, η οποία αναμένεται να αυξάνει με τη συγκέντρωση του συνδιαλύτη και το χρόνο εκχύλισης, όπως φαίνεται και από την ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος από την υγρή εκχύλιση (Soxhlet) με αιθανόλη.

Παρόμοια συμπεράσματα προκύπτουν και από τα αποτελέσματα για το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, χωρίς ωστόσο να προκύπτει μονοσήμαντη αντιστοίχιση της αντιοξειδωτικής δράσης και του φαινολικού περιεχομένου.

Αναφορικά με τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων του C. Creticus, όλα τα παραλαβόμενα προϊόντα είχαν κολλώδη υφή αλλά το χρώμα και το άρωμα διέφεραν ανάλογα με την εφαρμοζόμενη τεχνική. Η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση έδωσε εκχυλίσματα με βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, καθώς το άρωμα όλων των εκχυλισμάτων της προσέγγιζε εκείνο του φυσικού φυτού και το χρώμα κυμαινόταν από ανοικτό έως σκούρο πράσινο. Αντίθετα, τα προϊόντα των άλλων τεχνικών είχαν βαριά λιπαρή έως δυσάρεστη οσμή και το χρώμα των εκχυλισμάτων από την εφαρμογή της υγρής εκχύλισης ήταν σκούρο πράσινο, ενώ εκείνο της υδροαπόσταξης (αιθέριο έλαιο) ήταν ανοικτό κίτρινο.

Επιπρόσθετα, επιχειρήθηκε η μαθηματική μοντελοποίηση της διεργασίας με εφαρμογή 2<sup>3</sup> παραγοντικού σχεδιασμού και ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Το σύστημα περιγράφηκε με υψηλή ακρίβεια, εφόσον ο συντελεστής συσχέτισης R<sup>2</sup> έλαβε τιμή ίση με 0.98. Με ελαχιστοποίηση των παραμέτρων που υπεισέρχονται στην εξίσωση της απόδοσης προκύπτει μια ακόμα πιο απλή συσχέτιση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κλιμάκωση της διεργασίας σε βιομηχανικό επίπεδο.

Για τη φυσική περιγραφή της διεργασίας εφαρμόστηκε το μοντέλο Sovová που λαμβάνει υπόψη τα στάδια που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της εκχύλισης και στηρίζεται στην εφαρμογή ισοζυγίων μάζας σε καθένα από τους όγκους ελέγχου που ορίζουν αυτά με βασική παραδοχή τη διάκριση των κυτταρικών δομών σε κατεστραμμένες και μη. Η περιγραφή των πειραματικών σημείων της καμπύλης εκχύλισης με το μοντέλο αυτό είναι ικανοποιητική. Επίσης επιτυγχάνεται η κατανόηση των φυσικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της διεργασίας.

Συνοψίζοντας, στην παρούσα Διπλωματική Εργασία επιχειρήθηκε η διερεύνηση των δυνατοτήτων της Υπερκρίσιμης Εκχύλισης, συγκριτικά με άλλες μεθόδους ανάκτησης αιθέριων ελαίων, η μοντελοποίηση και η βελτιστοποίησή της. Η συγκεκριμένη μελέτη κατέδειξε πως η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση μπορεί να αποτελέσει μια καλή εναλλακτική επιλογή για την παραγωγή εκχυλισμάτων από το Cistus Creticus όπως και από άλλα αρωματικά φυτά. Ορισμένες προτάσεις για μελλοντική έρευνα παρουσιάζονται στη συνέχεια:

- Διερεύνηση της υπερκρίσιμης εκχύλισης με συνδιαλύτη σε υψηλότερες συγκεντρώσεις (10 ή 20%) και για μεγαλύτερους χρόνους εκχύλισης.
- Η ανάλυση των εκχυλισμάτων με τη μέθοδο HPLC ή LC/MS ώστε να διερευνηθεί η επίδραση των συνθηκών εκχύλισης στη σύσταση τους και στην περιεκτικότητα τους σε βιοδραστικά συστατικά.
- Η εξέταση διαφορετικής κοκκομετρίας του φυτικού υλικού ή η εκχύλιση μόνο των φύλλων του για τη διερεύνηση του νέου προφίλ των εκχυλισμάτων.
- Η μελέτη και άλλων τεχνικών εκχύλισης και σύγκρισή τους με την
  ΥΕ, όπως εκχύλιση με υπερήχους ή μικροκύματα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

**[1]** Victor R. Preedy (2016), «Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety», *Department of Nutrition and Dietetics*, King's College London, Vol. 74, pg. 649-651, 652-655.

[2] National Centre for Biotechnology Information, Taxonomy Cistus: <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy</a>

**[3]** Filippo Maggi, Domenico Lucarini, Fabrizio Papa, Gregorio Peron, Stefano Dall'Acqua (2016), «Phytochemical analysis of the labdanum-poor Cistus creticus subsp. eriocephalus (Viv.) Greuter et Burdet growing in central Italy», *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 66, pg.50-57, <u>www.elsevier.com/locate/biochemsyseco</u>

**[4]** Julien Paolini, Alessandra Falchi, Yann Quilichini, Jean-Marie Desjobert, Marie-Cecile De Cian, Laurent Varesi, Jean Costa (2009), «Morphological, chemical and genetic differentiation of two subspecies of Cistus creticus L. (C. creticus subsp. eriocephalus and C. creticus subsp. Corsicus)», *Phytochemistry*, Vol. 70, 1146-1160, <u>www.elsevier.com/locate/phytochem</u>

**[5]** Υπερκρίσιμη Εκχύλιση, Διαφάνειες Μαθήματος Μηχανική και Ανάπτυξη Διεργασιών, 7° εξάμηνο, *Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ*, Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων, pg. 8.

**[6]** Β. Λούλη (2004), «Ανάπτυξη της τεχνικής της υπερκρίσιμης εκχύλισης και εφαρμογές της στην ανάκτηση φυσικών προϊόντων», Διδακτορική διατριβή, *Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ*, Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων, σελ. 18-19, 52-61.

**[7]** Αναστασία Δ. Μπαστούνη (2011), «Μελέτη του αιθέριου ελαίου και υδροαλκοολικών εκχυλισμάτων του γένους Cistus της ελληνικής χλωρίδας», Μεταπτυχιακή Διατριβή, *Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*, Κλάδος ΙΙΙ: Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων, σελ. 3-20.

**[8]** M.M.R. de Melo, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva (2014), «Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology», *The Journal of Supercritical Fluids, Vol.* 92, pg. 115–176, <u>www.elsevier.com/locate/supflu</u>

[9] Δάφνη Κάβουρα (2016), «Συγκριτική Ανάλυση και Μοντελοποίηση Υπερκρίσιμης Εκχύλισης έναντι Συμβατικών και άλλων "Πράσινων" Εκχυλιστικών Μεθόδων για την Ανάκτηση Βιοδραστικών Ενώσεων από Salvia fruticosa», Διπλωματική Εργασία, *Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ*, Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων, σελ. 7-8, 19. **[10]** Aranzazu Morales-Soto, Maria Jose Oruna-Concha, J. Stephen Elmore, Enrique Barrajon-Catalan, Vicente Micol, Cristina Roldan, Antonio Segura-Carretero (2015), «Volatile profile of Spanish Cistus plants as sources of antimicrobials for industrial application», *Industrial Crops and Products*, Vol. 74, pg. 425-433, <u>www.elsevier.com/locate/indcrop</u>

**[11]** Λεμονής Ηλίας (2016), «Ανάκτηση αντιοξειδωτικών από φυσικές πρώτες ύλες με χρήση της υπερκρίσιμης εκχύλισης: πειραματικές μετρήσεις και προσομοίωση», Διδακτορική Διατριβή, *Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ*, Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων, σελ. 1-6, 8-11, 36-43.

**[12]** Bruno Marongiu, Alessandra Piras, Federica Pani, Silvia Porcedda, Mauro Ballero (2003), «Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO<sub>2</sub>», *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 18, pg. 505-509, <u>www.interscience.wiley.com</u>

**[13]** M.D. Luque de Castro, L.E. Garcia-Ayuso (1998), «Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future», *AnalyticaChimicaActa*, Vol.369, pg. 1-10.

**[14]** Mijat Božović, Alberto Navarra, StefaniaGarzoli, Federico Pepi, RinoRagnov (2017), «Essential oils extraction: a 24-hour steamdistillation systematic methodology», *Natural Product Research*, pg. 1-3, <u>http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20</u>

**[15]** Οικονομάκης Κ.Δ., «Οικοφυσιολογικές Παρατηρήσεις από το φυτό Cistus Creticus L.», Ινστιτούτο Υποτροπικών και Ελαίας, Χανιά, <u>http://www.iama.gr/ethno/Ladano\_files/Ladano\_Oikonomakis.pdf</u>

**[16]** Γεώργιος Μ. Ζιώγας (2012), «Στατιστικός Έλεγχος Ποιότητας και Παραγοντικοί Σχεδιασμοί: Ανθεκτικοί Παραμετρικοί Σχεδιασμοί», Τμήμα Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης, Πανεπιστήμιο Πειραιά.

**[17]** Δήμητρα Χατζηαβραμίδη (2011-2012), «Διασφάληση και Έλεγχος Ποιότητας», *Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ.* 

**[18]** Milan N. Sovilj ,Branislava G. Nikolovski , Momčilo Đ. Spasojević (2011), «Critical review of supercritical fluid extraction of selected spice plant materials», *Macedonian Journal of chemistry and Chemical Engineering*, Vol. 30, pg. 197-220.

**[19]** S. Lucas, M.P. Calvo, J. Garcia-Serna, C. Palencia, M.J. Cocero (2007), «Two-parameter model for mass transfer processes between solid matrixes and supercritical fluids: Analytical solution», *Journal of Supercritical fluids*, Vol. 41, pg. 257-266.

**[20]** Helena Sovová (2017), «Broken and-intact cell model for supercritical fluid extraction: Its origin and limits», The journal of Supercritical fluids, pg.1-6, <u>www.elsevier.com/locate/supflu</u>

**[21]** S. Maksimovic , J. Ivanovic , D. Skala (2012), «Supercritical extraction of essential oil from Mentha and mathematical modelling– the influence of plant particle size», *Procedia Engineering*, Vol.42, pg. 1767-1777.

**[22]** Azwa*nida NN* (2015), «A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation», *Medicinal and Aromatic Plants,* 2015, Vol. 4, pg.1-6.

**[23]** Δημήτριος Π. Κομίλης (2006), «Πειραματικός Σχεδιασμός και Στατιστική Ανάλυση», *Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος,* Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, σελ. 3-6.

[24] <u>http://www.west-crete.com/flowers/cistus\_creticus.htm</u>

**[25]** Vasiliki Falara, Eran Pichersky, Angelos K. Kanellis (2010), «A Copal-8ol Diphosphate Synthase from the Angiosperm Cistus creticus subsp. creticus Is a Putative Key Enzyme for the Formation of Pharmacologically Active, Oxygen-Containing Labdane-Type Diterpenes<sup>1[OA]</sup> »,*Plant Physiology*, Vol. 154, p.g. 302.

**[26]** Lijun Wang, Curtis L. Weller (2006), «Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants », *Trends in Food Science & Technology, Vol. 17*, *p.g.301-302*.

[27]https://www.google.gr/search?biw=1366&bih=662&tbm=isch&sa=1&ei =NxICWuaSC8qP0gX7wY\_YDg&q=phase+diagram&oq=phase+diagram&gs\_I =psy-

ab.3..0j0i30k1l9.13616.16525.0.16973.14.9.0.5.5.0.133.946.0j8.9.0...0..1 c.1.64.psy-ab..0.13.976.0...103.GRXFQNZmMec#imgrc=fqdA\_SaD\_iXn\_M:

**[28]** Παπαευσταθίου Γεώργιος (2017), «Βελτιστοποίηση φιλικών προς το περιβάλλον διαδικασιών εκχύλισης για την παραλαβή βιοδραστικών προϊόντων», Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, σελ. 13-18.

**[29]** Miguel Herreroa, Jose A. Mendiola, Alejandro Cifuentes, Elena Ibanez (2010), «Supercritical fluid extraction: Recent advantages and applications», *Journal of Chromatography A*, pg. 2495-2511.

**[30]** Ernesto Reverchon, Iolanda De Marco (2006), « Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter», *Journal of Supercritical fluids*, pg. 146-166.

[31]<u>https://www.google.gr/search?q=soxhlet&source=lnms&tbm=isch&sa=</u> X&ved=0ahUKEwj68Y2zqpHVAhWma5oKHTsgBocQ\_AUICigB&biw=1366&bih =662#imgrc=q2CchFfZKIIJtM:.

[32]<u>https://www.google.gr/search?q=hydrodistillation&tbm=isch&tbs=rimg</u> :CTOgjqE\_1BMOqIjhbzpg2si8upfIOte-jOCY0ND-

7ZKTCurfnQZrd7aU7GMda3aQ1kOzmB5mcckwlJyelYjjwn3RxFCoSCVvOmDay Ly6lEbvy1exG1PVOKhIJ8g6176M5xjQRPzdJnmkxmr0qEgk0P7tkpMK6txESQt CdH3duAioSCedBmt3tpTsYEQKGx0pubDU6KhIJx1rdpDWQ7OYRjhXPWrqmAx gqEgkHmZxyTCUnJxGYX2WKZebtXioSCaViOPCfdHEUEWB1peIhXPh 1&tbo= u&sa=X&ved=0ahUKEwjXq93i5qXYAhWQGOwKHZgnBBoQ9C8IHg&biw=136 6&bih=613&dpr=1#imgrc=5KknezfrGuDv2M:

[33] Fluid Property Calculator, <a href="https://www.irc.wisc.edu/properties/">https://www.irc.wisc.edu/properties/</a>

**[34]** IJ. De Pascual Teresa, J. G. Urones, I.S. Marcos, F. Bermejo, P. Basabe (1983), «A rearranged labdane: salmantic acid from Cistus Laurofilius», *Phytochemistry*, Vol. 22, p.g. 2783-2785

**[35]** Monica Rosa Loizzo, Mariem Ben Jemia, Felice Senatore, Maurizio Bruno, Francesco Menichini, Rosa Tundis (2013), «Chemistry and functional properties in prevention of neurodegenerative disorders in five Cistus species essentials oils», *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 59, p.g. 586-594.

**[36]** Costas Demetzos, Argyris Loukis , Vasilis Spiliotis, Nikolaos Zoakis, Nikolaos Stratigakis, Haralambos E. Katerinopoulos (2011), «Composition and Antimicrobial Activity of the essential oil of Cistus Creticus L. », *Journal of Essential Oil Research, Vol:Issue* 7:4, p.g. 407-410, http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1995.9698549

**[37]** Patrizia Monica Mastino, Mauro Marchetti, Jean Costa, Marianna Usai (2017), «Comparison of essential oils from cistus species growing in Sardinia», *Natural Product Research, Vol:Issue* 31:3, 299-307, <a href="http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2016.1236095">http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2016.1236095</a>

**[38]** Rui P.F.F. da Silva, Teresa A.P. Rocha-Santos, Armando C. Duarte (2016), «Supercritical fluid Extraction of bioactive compounds», *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 76, p.g. 40-51.

**[39]** Z. Knez, E. Markocic, M. Leitgeb, M. Primozic, M. Knez Hrncic, M. \_Skerget (2014), «Industrial applications of supercritical fluids: A review», *Energy*, Vol. 77, p.g. 235-243.

**[40]** A.I. Ζουμπουλάκης, Ε.Ν. Πελέκα, Κ.Σ. Τριανταφυλλίδης (2015), «Πράσινη Χημεία και Τεχνολογία στη Βιώσιμη Ανάπτυξη», σελ. 21, 43, https://repository.kallipos.gr/pdfviewer/web/viewer.html?file=/bitstream/11 419/2320/6/00\_master\_document-KOY.pdf

**[41]** J. Rincon, A. de Lucas, I. Gracia (2000), «Isolation of Rock Rose Essential Oil Using Supercritical CO2 Extraction», *Separation Science and Technology*, *Vol:Issue* 35:16, p.g. 2745-1763.

**[42]** Α. Εμβαλώτης, Α. Κάτσης, Γ. Σιδερίδης (2006), «Στατιστική Μεθοδολογία Εκπαιδευτικής Έρευνας», Α' Έκδοση, σελ. 43-45, <u>http://www.actuar.aegean.gr/notes/Embalotis%20et%20al %20Stat Notes</u>.<u>pdf</u>

**[43]** Charanjit Kaur, Harish C. Kapoor (2001), «Antioxidants in fruits and vegetables-the millenium's health», *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 36,pg. 703-725.

**[44]** Elizabeth A. Ainsworth, Kelly M. Gillespie (2017), «Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent», *Nature Publishing Group*, Vol. 2, No. 4, 875-877

**[45]** Παρασκευή Μαγνησάλη (2009), «Ανάπτυξη μεθοδολογίας αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (GC-MS) για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό στεροειδών ορμονών στον ορό-Εφαρμογή στην διάγνωση ενδοκρινοπαθειών», Ιατρική Σχολή Αθηνών, σελ. 55-56.

**[46]** The Shared Research Instrumentation Facility, Technology Tools for Scientific Discover, <u>https://www.gmu.edu/depts/SRIF/tutorial/gcd/gc-ms2.htm</u>(Accessed January 20, 1998).

[47] Χημικό εργαστήριο, <u>http://chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/11/s.html</u>

**[48]** Δρ Χαραλαμπάκη Μαρία, «Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectometry-MS) και Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συνδυασμένη με Φασματομετρία Μάζας (LC-MS)», *Φαρμακευτικό Τμήμα Αθηνών*, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, σελ. 26-27, <u>https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM189/%CE%91%CE</u> <u>%9D%CE%91%CE%98 %CE%A6%CE%A5%CE%A3%20 %CE%A0%CE%</u> A1%20%CE%99%CE%99%20-%203.pdf

**[49]** Giovanna Piluzza, Simonetta Bullitta (2017), «Correlations between phenoic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area», *Pharmaceutical Biology*, 2011; 49(3), p.g. 240–247.

**[50]** Agnieszka Viapiana, Agnieszka Konopacka, Krzysztof Waleron, Marek Wesolowski (2017), «Cistus incanus L. commercial products as a good source of polyphenols in human diet», *Industrial crops and products*, 107, p.g. 297-304.

**[51]** C. Demetzos, T. Anastasaki, and D. Perdetzoglou (2002), «A chemometric interpopulation study of the essential oils of Cistus creticus L. Growing in Crete (Greece)», *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.*, vol. 57, no. 1–2, p.g. 89–94.

**[52]** E. Barrajón-Catalán, S. Fernández-Arroyo, C. Roldán, E. Guillén, D. Saura, A. Segura-Carretero, and V. Micol, «A systematic study of the polyphenolic composition of aqueous extracts deriving from several Cistus genus species: evolutionary relationship», *Phytochem. Anal.*, vol. 22, no. 4, p.g. 303–12.

**[53]** D. Angelopoulou, C. Demetzos, D. Pertetzoglou (2002), «Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves», *biochemical systematics and ecology*, vol.30, p.g.189-303.

**[54]** Salome Teixeira, Adelio Mendes, Arminda Alves, Lucia Santos (2007), «Simultaneous distillation-extraction of high-value volatile compounds from Cistus ladanifer L. », *Analytica Chemica Acta*, Vol. 584, p.g. 439-446.

**[55]** L. Omur Demirezer, Zuhal Guvenalp, Ayse Kuruuzum-Uz, Cavit Kazaz (2012), «Labdane-Type diterpenes from Cistus creticus», *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 48, No. 2, p.g. 337-338.

**[56]** Costas Demetzos, Dimitra Angelopoulou, Dimitrios Perdetzoglou (2002), «A comparative study of the essential oils of Cistus salviifolius in several populations of Crete (Greece)», *biochemical systematics and ecology*, Vol. 30, pg. 651-665.

**[57]** Juan L. Oller-López , Ricardo Rodríguez , Juan M. Cuerva , J. Enrique Oltra, Btissam Bazdi , Abdelaziz Dahdouh, Ahmed Lamarti, Ahmed Ibn Mansour (2014), «Composition of the Essential Oils of Cistus ladaniferus and C. monspiliensis from Morocco», *Journal of Essential Oil Research*, 17:5, p.g. 513-555, <u>http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2005.9698992</u>.

**[58]** Demetzos, H. Katerinopoulos, A. Kavourakis, N. Stratigakis, A. Loukis, C. Ekonomakis, V. Spiliotis, J. Tsaknis (1997), «Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Cistus Creticus subsp. Eriocephalus», *Planta Med.,* Vol. 63, p.g. 477-479.

**[59]** Paula B. Gomes, Vera G. Mata, A.E. Rodrigues (2005), «Characterization of the Portuguese-grown Cistus ladanifer Essential Oil», *J. Essent. Oil Res., Vol. 17*, p.g. 1-6.

**[60]** Patrick Krollmann, Paul-Gerhard Gülz (1982), «Composition of Seed Lipids from Species of the Genus Cistus L. (Cistaceae) », *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, Vol. 110, p.g. 469-474.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

#### Α. Εφαρμογές Υπερκρίσιμων Ρευστών

Σε αυτό το σημείο παρατίθενται αναλυτικά ορισμένες ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες εφαρμογές των υπερκρίσιμων ρευστών:

#### \* Τεχνολογία Πολυμερών

Οι τεχνολογίες υψηλής πίεσης, και ιδιαίτερα εκείνες που περιλαμβάνουν υπερκρίσιμα ρευστά έχουν μελετηθεί εκτενώς για την επεξεργασία των πολυμερών. Το διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται ευρέως στην παραγωγή πολυμερών καθώς απορροφάται από τα πολυμερικά υλικά και λόγω της καλής ιδιότητας πλαστικοποίησης του προκαλεί μείωση του ιξώδους του συστήματος επιτρέποντας την διεξαγωγή της διεργασίας σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται στην επεξεργασία πολυμερών ως διαλύτης, αντιδιαλύτης ή πλαστικοποιητής για μικροκυτταρικό αφρισμό, για την παραγωγή σωματιδίων, την πολυμερική ανάμειξη, την απόκτηση σύνθετων πολυμερών και για τον εμποτισμό δραστικών ουσιών στα πολυμερή, οδηγώντας σε χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας σε σχέση με συμβατικές τεχνολογίες και στην αντικατάσταση συμβατικών αντιδραστηρίων, επιβλαβών για την υγεία και το περιβάλλον.<sup>[39]</sup>



Εικόνα 33: Παραλαβή πολυμερών και σύνθετων αφρών με τεχνολογία Υ.Ρ.<sup>[39]</sup>

#### Υπερκρίσιμη ξήρανση και καθαρισμός

Η υπερκρίσιμη ξήρανση χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση υγρών από στερεά χωρίς την αλλοίωση της δομής των τελευταίων. Βασίζεται στις ιδιότητες υγρών που αποκτούν οι διαλύτες στην υπερκρίσιμη κατάσταση και στη διαλυτική ικανότητα τους προς οργανικούς διαλύτες.

Καθώς ένα υπερκρίσιμο ρευστό διαπερνά ένα διαβρεγμένο στερεό, ο διαλύτης απομακρύνεται χωρίς την εμφάνιση επιφανειακής τάσης στη διεπιφάνεια υγρού-αερίου-στερεού, όπου θα μπορούσε να μεταβάλει την εσωτερική δομή του στερεού με συμβατική ξήρανση.<sup>[39]</sup>

Επιπροσθέτως, ξήρανση με υπερκρίσιμα ρευστά προάγει ŋ тпу αποτελεσματική περάτωση της διεργασίας χωρίς τη λειτουργία σε υψηλές θερμοκρασίες. Χρησιμοποιείται στην παραγωγή αερογέλης, μικροηλεκτρομηχανικών συστημάτων και στην προετοιμασία των βιολογικών δειγμάτων για την ηλεκτρονική μικρογραφία σάρωσης. [39]

Πολλά προϊόντα από φυσικές πηγές περιέχουν πιθανούς ρυπαντές βιολογικής ή βιοχημικής φύσεως ή από υπολείμματα χημικών διεργασιών. Οι μολύνσεις ενδεχομένως να περιλαμβάνουν βακτηρίδια, ιούς, τοξίνες κ.α. Γίνεται εμφανές πως η απομάκρυνση τους είναι υψίστης σημασίας στον τομέα των τροφίμων και των φαρμάκων. Η παστερίωση χαμηλής θερμοκρασίας με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα είναι ενδιαφέρουσα για θερμοευαίσθητα υλικά και υλικά ευαίσθητα στην υδρόλυση, ενώ μπορεί να συνδυαστεί με άλλες διεργασίες όπως η εκχύλιση, ο εμποτισμός και η ξήρανση. <sup>[39]</sup>

Συγκεκριμένα στο πεδίο της μικροηλεκτρονικής, τα υπερκρίσιμα ρευστά, και ιδιαίτερα το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα, βρίσκουν εφαρμογή ως παράγοντες καθαρισμού. Η εφαρμογή αυτή βασίζεται στη διαλυτική ικανότητα του διοξειδίου του άνθρακα, στη χαμηλή επιφανειακή του τάση, και στην ικανότητα του να διεισδύει σε μικρές κοιλότητες περίπλοκης γεωμετρίας. Οι ρυπαντές διαλύονται στο υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και είναι εύκολα απομακρυνόμενοι μαζί με το ρευστό με εκτόνωση.

Η μέθοδος αυτή μελετήθηκε για τον καθαρισμό μικρών ή ευαίσθητων μερών και πολύπλοκων δομών που υπήρχε ανησυχία σχετικά με την οργανική απομάκρυνση των ρυπαντών και αποτελεί μια φιλικότερη προς το περιβάλλον διεργασία συγκρινόμενη με τις συμβατικές μεθόδους που περιλαμβάνουν μίγματα θειϊκού οξέος ή υπεροξειδίου του υδρογόνου ή διάφορους οργανικούς διαλύτες.<sup>[39]</sup>

## Χημικές Αντιδράσεις

Οι διεργασίες χημικής παραγωγής βασίζονται κυρίως σε καταλυτικές και βιοκαταλυτικές τεχνολογίες. Οι καταλυτικές διεργασίες έχουν συνήθως χαμηλότερο κόστος λειτουργίας και αποδίδουν υψηλότερης ποιότητας προϊόντα με λιγότερα παραπροϊόντα και μειωμένους περιβαλλοντικούς κινδύνους. Η χρήση των υπερκρίσιμων ρευστών σε καταλυτικές τεχνολογίες έχει ανέλθει κυρίως λόγω της επιθυμίας αντικατάστασης των πτητικών οργανικών διαλυτών. Ήδη μερικές χημικές διεργασίες έχουν πραγματοποιηθεί με υπερκρίσιμα ρευστά σε βιομηχανική κλίμακα αποδίδοντας προϊόντα



Εικόνα 34: Διεξαγόμενες χημικές αντιδράσεις σε Υ.Ρ. σε βιομηχανική κλίμακα<sup>[39]</sup>

#### Παραγωγή ενέργειας

Η ιδἑα της εφαρμογής υπερκρίσιμων υγρών για την παραγωγή ενἑργειας εμφανίστηκε στη δεκαετία του 1950, όταν η χρήση του υπερκρίσιμου νερού σε συστήματα παραγωγής ατμού προτάθηκε για να αυξηθεί η θερμική αποδοτικότητα των εγκαταστάσεων παραγωγής ενἑργειας από ορυκτά καύσιμα. Τα τελευταία χρόνια μελετήθηκαν εκτενώς τα υπερκρίσιμα ρευστά ως μέσα μεταφοράς θερμότητας σε συστήματα ψύξης και κύκλους παραγωγής ισχύος, ως εναλλακτική λύση για την αποθήκευση του άνθρακα (carbon storage), ως μέσο για την αλληλεπίδραση των υλικών μέσα στην αναδυόμενη περιοχή των κυψελών καυσίμου ή ως αντιδρώντα για τη σύνθεση βιοντίζελ και άλλων βιοκαυσίμων.<sup>[39]</sup>

Η χρήση υπερκρίσιμων ρευστών στη μεταφορά θερμότητας είναι ένα καινοτόμο ερευνητικό πεδίο, που πρόσφατα έχει μελετηθεί λεπτομερώς. Ωστόσο, τα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα και εφαρμοσιμότητα αυτών των χαρακτηριστικών στην πράξη είναι ακόμα σε έλλειμμα.<sup>[39]</sup>

Το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα έχει μελετηθεί ως ψυκτικό σε κλιματιστικά και συστήματα αντλιών θερμότητας αυτοκινήτων, θεωρούμενο ως το ρευστό μεταφοράς θερμότητας της νέας γενιάς. Ακόμα τα υπερκρίσιμα ρευστά, λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων μεταφοράς θερμότητας που τα διέπουν, έχουν προταθεί σε κύκλους παραγωγής ισχύος όπως ο υπερκρίσιμος κύκλος Rankine και Brayton, για τη μείωση του κόστους ηλεκτρισμού. Επίσης, η παγίδευση του παραγόμενου διοξειδίου του άνθρακα από την καύση των συμβατικών ορυκτών καυσίμων, και η υπόγεια αποθήκευση του σε υπερκρίσιμη κατάσταση, έχει προταθεί ως λύση για τις αυξημένες εκπομπές του CO<sub>2</sub> στην ατμόσφαιρα.<sup>[39]</sup> Η υπερκρίσιμη μεθανόλη και άλλοι διαλύτες χρησιμοποιούνται ως αντιδρώντα στην παραγωγή βιοντίζελ, καθώς η διεργασία δεν απαιτεί καταλύτη, και μπορεί να οδηγήσει σχεδόν σε πλήρη μετατροπή σε μικρό χρόνο, ενώ μπορεί να διαχειριστεί τροφοδοσίες υψηλής περιεκτικότητας σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και νερό. <sup>[39]</sup>

### Β. Εφαρμογές Υπερκρίσιμης Εκχύλισης

Επίσης αναλύονται εκτενέστερα οι εφαρμογές Υπερκρίσιμης Εκχύλισης που αναφέρθηκαν στο Κεφάλαιο 2.

#### Παραλαβή αιθέριων ελαίων

Η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση έχει βρει ευρεία εφαρμογή στην παραλαβή αιθέριων ελαίων από φυτικά υλικά λόγω της υψηλής ποιότητας προϊόντων που αποδίδει. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στις συνθήκες λειτουργίας μιας τυπικής μονάδας Υπερκρίσιμης Εκχύλισης, όπου συγκεκριμένα είναι ηπιότερες, με αποτέλεσμα να μην καταπονείται θερμικά το δείγμα, τα αιθέρια έλαια να είναι πιο εύοσμα και το άρωμα τους να προσεγγίζει περισσότερο το φυσικό. Ακόμα, δεδομένου ότι η παραλαβή των αιθέριων ελαίων γίνεται σε χαμηλή θερμοκρασία (κυμαίνεται από -5°C έως 5°C) "βαριά" συστατικά όπως παραδείγματος χάριν κεριά δεν είναι διαλυτά στο διαλύτη και συνεπώς δεν παραλαμβάνονται.<sup>[30]</sup>

Παραδείγματα παραλαβής αιθέριων ελαίων από διάφορα φυτικά δείγματα απεικονίζονται στον Πίνακα 16.

Φυτό	Βοτανική ονομασία
Anise seeds	Pimpinella anisum L.
Bacuri fruit shells Mart.	Platonia insignis
Basil leaves	Ocimum basilicum
Clove bud	Eugenia caryophyllata
Eucalyptus leaves	Eucalyptus globulus L.
Laurel leaves	Laurus nobilis
Lemon balm	Melissa officinalis
Lemon bergamot	Monarda citriodora
Lemon eucalyptus	Eucalyptus citriodora
Lemongrass leaves	Cymbopogon citrates
Mint leaves	Mentha spicata insularis
Pepper	Black Piper nigrum L
Thyme	Thyme zygis sylvestris
Vernonia seeds	Vernonia galamensis

Піvакас 16:	Παραδείνυατα	παραλαβόμενων	αιθέριων	ελαίων με	SFE [30]
invanaç ±0i	rapaocrypara	napanapoperar	anocpiav	chaiw pc	01 2

#### Απομόνωση ενώσεων υψηλής αξίας

Με την εφαρμογή της υπερκρίσιμης εκχύλισης είναι δυνατή η παραλαβή δραστικών εκχυλισμάτων με χρήσεις στη διατροφολογία ως συμπληρώματα διατροφής. Επίσης είναι δυνατός ο προσδιορισμός και η απομόνωση ενώσεων υψηλής αξίας με θεραπευτικές ιδιότητες για την αντιμετώπιση μιας σειράς ασθενειών και την ενίσχυση του ανθρώπινου οργανισμού.<sup>[30]</sup>

Παραδείγματα παραλαβής δραστικών ουσιών από φυτικές ύλες παρατίθενται στον Πίνακα 17.

Φυτό	Αποσπώμενη Ουσία	Ιδιότητα
Cynanchum paniculatum	φενόλη	αντιφλεγμονώδης και αντιδιαβητική δράση, καρδιαγγειακή προστασία
Cassia tora L. seeds	αιθέριο έλαιο	αντιοξειδωτική δράση
Cucscuta reflexa	κουμαρίνη	αντιμηκυτιακή και αντικαρκινική δράση
Black cumin (Nigella sativa)	αιθέριο έλαιο	αντιμικροβιακή δράση
Ginger (Zingiber corallinum Hance)	αιθέριο έλαιο	αντιπυρετική δράση
Anoectochilus roxburghii	φυτοστερόλες	αντιφλεγμονώδης και αντικαρκινική δράση
Valerian (Valiriana officinalis L.)	βαλεριανικό οξύ	καταπραϋντική δραση
Stevia rebaudiana	σεσκιτερπένια, γλυκοσίδες	αντιφλεγμονώδη και διουριτική δράση
Chamomile (Matricaria chamomilla)	αιθέριο έλαιο	αντιφλεγμονώδη και αντισπασμωδική δράση
Eugenia uniflora fruits	κερατινοειδή	αντιοξειδωτική δράση
Pinus sp	φλαβονοειδη	αντιοξειδωτική δράση
Rosehip (Rosa canina)	κερατινοειδή, λιπαρά οξεά	αντιοξειδωτική δράση
Hibiscus cannabinus	έλαιο	αντιοξειδωτική δράση
Eremanthus erythropappus	α-βισαβολόλη	αντιφλεγμονώδης δράση
Viscum album L.	κυτοτοξικές ενώσεις	αντικαρκινική δράση
Hippophae rhamnoides	πηκτικἑς ενώσεις	αντιθρομβωτικήδράση

Πίνακας 17: Παραδείγματα απομόνωσης δραστικών ουσιών από φυτικά δείγματα με SFE<sup>[29]</sup>

#### Κλασμάτωση και εξευγενισμός βρώσιμών ελαίων

Η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση βρίσκει εφαρμογή στην κλασμάτωση και στον εξευγενισμό των βρώσιμων ελαίων. Συγκεκριμένα όσον αφορά τη διαδικασία εξευγενισμού των ελαίων, η συγκεκριμένη μέθοδος είναι αρκετά αποτελεσματική καθώς συμβάλει στη διατήρηση πολύτιμών συστατικών εντός των ελαίων όπου με εφαρμογή άλλων συμβατικών μεθόδων δε θα είχαν διατηρηθεί. Παραδείγματα ελαίων αποτελούν το φοινικέλαιο, έλαιο από φύτρο σιταριού κ.α. <sup>[29]</sup>

#### Απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών από διάφορα προϊόντα

Η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση εφαρμόζεται για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών από διάφορα προϊόντα όπως για παράδειγμα για την απομάκρυνση της νικοτίνης από τον καπνό και της καφεΐνης από καφέ ή τσάι. Η διεργασία απομάκρυνσης της νικοτίνης με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα έχει απόδοση 98%, αφήνοντας αναλλοίωτη τη γεύση του καπνού, ενώ το αποκαφεϊνοποιημένο προϊόν παρουσιάζει ένα πλήρες αρωματικό προφίλ καθώς έχει επεξεργαστεί σε χαμηλές θερμοκρασιακές συνθήκες και άνευ οργανικών διαλυτών, ενώ η παραλαβόμενη καφεΐνη έχει υψηλή ζήτηση στις βιομηχανίες φαρμάκων και τροφίμων. Επομένως, κατά τη συγκεκριμένη διεργασία παράγονται μικρές ποσότητες αποβλήτων καθιστώντας την οικονομικά και περιβαλλοντικά βιώσιμη με αυξανόμενη απήχηση.<sup>[28]</sup>

#### Απομάκρυνση τοξικών ουσιών από εδάφη και απόβλητα

Είναι γεγονός ότι η Υπερκρίσιμη Εκχύλιση μπορεί να συμβάλει σε μια πληθώρα περιβαλλοντικών οφελών καθώς μέσω αυτής μειώνεται η χρήση οργανικών διαλυτών και λαμβάνουν χώρα και άλλες ευεργετικές διεργασίες όπως η απομάκρυνση βαρέων μετάλλων από εδάφη, λάσπες και απόβλητα, η αναγέννηση ανενεργών καταλυτών, η μείωση της δευτερογενούς παραγωγής αποβλήτων, επεξεργασία μολυσμένων εδαφών με μη πολικές ενώσεις (PAH, PCB) κ.α.<sup>[29]</sup>

### ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ. ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

#### Α. Υπολογισμός Δεικτών Μέτρησης Αντιοξειδωτικής Δράσης ΙC<sub>50</sub>

Στο σημείο παρατίθεται αναλυτικά ο τρόπος υπολογισμού του δείκτη ΙC<sub>50</sub> όπου χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των DPPH<sup>o</sup> εκχυλισμάτων. Αφού τοποθετηθεί то διάλυμα στο φασματοφωτόμετρο, και καταγραφεί η απορρόφηση του, προστίθεται το προς εξέταση δείγμα για την παρατήρηση της απορρόφησης του ανά τακτά χρονικά διαστήματα (0-5-10-20λεπτά). Η καταγραφή ολοκληρωνόταν μετά το πέρας των 20 λεπτών. Τότε καταγράφεται η τελική τιμή της απορρόφησης. Στη συνέχεια, αξιολογώντας τα δεδομένα απορροφήσεων, και με βάση μια καμπύλη αναφοράς όπου έχει υπολογιστεί με διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης της ρίζας (με εξίσωση Y=294.54\*X-0.006) υπολογίζεται η συγκέντρωση της ρίζας που δεν έχει αντιδράσει με το αντιοξειδωτικό, και ακολούθως υπολογίζεται το επί τις εκατό ποσοστό της απομείνουσας ρίζας στο εξεταζόμενο δείγμα (%DPPHREM).

$$\% DPPH_{REM} = \frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t=o}} * 100$$

Όπου [*DPPH*]<sub>t=0</sub>: η συγκέντρωση του διαλύματος ρίζας DPPH° μόνο,

[*DPPH*]<sub>t</sub>: η συγκέντρωση της ρίζας στο μίγμα μετά το πέρας της αντίδρασης της με το αντιοξειδωτικό.

Έπειτα κατασκευάζεται το διάγραμμα συγκέντρωσης αντιοξειδωτικού-% ποσοστό απομείνουσας ρίζας, όπου με την προσθήκη κατάλληλης γραμμής τάσης υπολογίζεται εκείνη η συγκέντρωση δείγματος όπου οδηγεί σε καταστροφή του 50% της ελεύθερης ρίζας *DPPH*<sup>o</sup> (ή αλλιώς ο δείκτης IC<sub>50</sub>), όπως φαίνεται για τα εξεταζόμενα δείγματα αναλυτικά στα Διαγράμματα 12-14.



Διάγραμμα 12: Διάγραμμα υπολογισμού IC<sub>50</sub> του δείγματος 5%SFE.60.250.3.SEP2



Διάγραμμα 13: Διάγραμμα υπολογισμού IC<sub>50</sub> του δείγματος Sox-Etoh



**Διάγραμμα 14:** Διάγραμμα υπολογισμού ΙC<sub>50</sub> ασκορβικού οξέος

## **Β. Υπολογισμός Ολικού Φαινολικού Φορτίου Εκχυλισμάτων**

Αφού φωτομετρηθούν τα υπό εξέταση δείγματα, προκύπτουν κάποιες τιμές απορρόφησης όπου αντιπροσωπεύουν την παρουσία φαινολικών συστατικών στο δείγμα. Κάνοντας σύγκριση με την απορρόφηση μιας διαδεδομένης φαινολικής ουσίας, του γαλλικού οξέος, συναρτήσει της συγκέντρωσης του, όπως είχε προσδιοριστεί πειραματικά στο Εργαστήριο Σχεδιασμού και Ανάλυσης με την προσθήκη γραμμής τάσης με εξίσωση **Y=00012\*X-0.44**, υπολογίζεται εκείνη η συγκέντρωση του γαλλικού οξέος όπου οδηγεί στη δεδομένη τιμή απορρόφησης (σε ppm γαλλικού οξέος). Έπειτα εφόσον είναι γνωστές οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων υπολογίζεται το ολικό φαινολικό φορτίο τους σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg<sub>GAE</sub>/g<sub>extract</sub>).

#### Γ. Ανάλυση του πτητικού κλάσματος των εκχυλισμάτων με GC-MS

Ακολουθούν τα χρωματογραφήματα των υπόλοιπων εκχυλισμάτων που μελετήθηκαν με GC-MS (Εικόνες 35/36) και ένας συγκεντρωτικός πίνακας (Πίνακας 18) των ταυτοποιημένων συστατικών τους: από Υπερκρίσιμη Εκχύλιση στις υψηλές συνθήκες (60°C, 250bar, 3kg<sub>CO2</sub>/h, 2<sup>ος</sup> διαχωριστήρας) και από την υγρή εκχύλιση με διαλύτη κανονικό εξάνιο.



**Εικόνα 35:** Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από υπερκρίσιμη εκχύλιση στις υψηλές συνθήκες (60°C, 250bar, 3kg<sub>co2</sub>/h) από το δεύτερο διαχωριστήρα



Εικόνα 36: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος από υγρή εκχύλιση (Soxhlet) με κανονικό εξάνιο ως διαλύτη

RT	Συστατικά	SFE.60.250.3-2	Sox_Hex	Βιβλιογραφία
17.22	Benzyl acetate	0.002%	0.003%	Wiley&Nist
23.33	Thymol	0.007%	0.003%	[41],[56],[59]
23.70	Carvacrol	0.024%	0.006%	[51],[35],[53], [41],[28],[4], [56]
26.74	n-Decanoic Acid	0.006%	0.003%	[4],[56]
35.38	Viridiflorol	0.005%	0.005%	[10],[59],[57], [53],[3],[56]
35.8	Ledol	0.011%	0.016%	[35],54],[57], [58],[59]
41.78	Tetradecanoic Acid	1.115%	0.318%	[35],[53],[56], [3]
44.47	2-pentadecanone,6,10,14- trimethyl	2.425%	1.593%	[3]
46.29	Nonadecane	0.004%	0.063%	[3]
46.88	Farnesyl Acetone	0.003%	0.002%	[35]
47.15	Methyl hexadecanoate	0.076%	0.003%	[56]
48.50	Hexadecanoic Acid	15.087%	36.596%	[35],[53],[4], [56],[3]
49.09	Manoyl Oxide	0.026%	0.006%	[3],[4],[7],[10],[28], [35],[37],[41],[51]- [59]
49.75	13-epi-manoyl oxide	0.645%	0.039%	[3],[4],[7],[10],[28], [35],[37],[41],[51]- [59]
52.53	Heneicosane	0.969%	1.278%	[37],[3],[56]
52.92	Phytol	0.010%	0.004%	[35],[37]
53.85	linoleic acid	7.752%	18.406%	[3]
57.30	Ribenol	0.809%	0.015%	[28],[55]
58.25	Tricosane	2.918%	2.357%	[35],[53],[41], [56],[3]
60.34	EthylesterRibenol	0.327%	0.003%	[28],[55]
60.94	Tetracosane	1.194%	0.923%	[35],[53],[3]
61.26	Eicosene	0.005%	0.014%	Wiley & Nist
63.54	Pentacosane	6.550%	3.937%	[35],[53],[41], [56],[28]
66.06	Hexacosane	2.230%	1.177%	[35],[41],[3]
67.84	1-nonadecene	0.014%	0.012%	[41]
68.45	Heptacosane	11.572%	7.388%	[35],[41],[3], [28]
71.41	Squalene	0.008%	0.010%	[35]
72.50	9-Nonadecene	2.197%	0.516%	[41]
73.03	Triacontane	21.060%	12.441%	[41],[28]
76.86	17-Pentatriacontene	4.827%	0.083%	Wiley & Nist
	Total Content	81.882%	87.217%	
Total H	ligher Alkanes/Waxes	46.498%	29.563%	
	Total Alkenes	7.043%	0.625%	
Total Fa	tty Acids & derivatives	25.35%	56.60%	
1	otal Diterpenes	1.82%	0.07%	
Total oxy	ganated sesquiterpenes	0.02%	0.02%	
Total	phenolic compounds	0.03%	0.01%	
	Others	1.129%	0.332%	

Πίνακας 18: Ταυτοποιημένα συστατικά δειγμάτων από Soxhlet και από υπερκρίσιμη εκχύλιση

### ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ. ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ Α. Μαθηματική Προσομοίωση

Αρχικά παρατίθεται οι αποδόσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην Ανάλυση Διακύμανσης σε χρόνο 150min στον Πίνακα 19. Επιλέχθηκε μια ίδια χρονική στιγμή σε όλες τις εκχυλιστικές συνθήκες γιατί τα δεδομένα είναι περισσότερο συγκρίσιμα και αξιόπιστα ώστε να έχουν τη δυναμική να αξιοποιηθούν και σε βιομηχανικό επίπεδο, όπου ο χρόνος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.

Πείραμα- Κωδικός	T(°C)	P(bar)	F(kg/h)	Yield (%)
1-SFE.40.110.1	40.00	110.00	1.00	2.99
2-SFE.40.250.1	40.00	250.00	1.00	5.86
3-SFE.60.110.1	60.00	110.00	1.00	3.50
4-SFE.60.250.1	60.00	250.00	1.00	6.85
5-SFE.40.110.3	40.00	110.00	3.00	4.67
6-SFE.40.250.3	40.00	250.00	3.00	6.44
7-SFE.60.110.3	60.00	110.00	3.00	5.54
8-SFE.60.250.1	60.00	250.00	3.00	8.58
9-SFE.50.180.2	50.00	180.00	2.00	5.18
10-SFE.50.180.2	50.00	180.00	2.00	5.31
11-SFE.50.180.2	50.00	180.00	2.00	5.20
12-SFE.50.180.2	50.00	180.00	2.00	5.64

<b>Πίνακας 19:</b> Απόδοση Διεργασίας σε χρόνο εκχύλισης 150π
---

Από την Ανάλυση Διακύμανσης στο περιβάλλον του Design Experts προέκυψε ο Πίνακας 20 με τους συντελεστές των κωδικοποιημένων παραγόντων (Coded Factors).

Πίνακας 20: Συμπληρωματικά δεδομένα από ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)

Factor	Coefficients	Error	95% Confidence Interval of the Deifference	
			Lower	Upper
A-P	5.55	0.075	5.31	5.79
B-T	1.38	0.075	1.14	1.62
<b>C-</b> <i>m</i> <sub><i>C</i>02</sub>	0.56	0.075	0.32	0.80
AB	0.75	0.075	0.51	0.99
AC	0.22	0.075	-0.02	0.46
BC	-0.18	0.075	-0.42	0.06
ABC	0.19	0.075	-0.05	0.43
Center Point	0.10	0.13	-0.14	0.19

Στον Πίνακα 21 παρατίθενται οι βέλτιστες τιμές, από κάποιες δοκιμές προσδιορισμού των συντελεστών που περιγράφουν απόκριση του συστήματος.

	Πλήθος Συντελεστών		
	5	4	3
constant	-	-	-
<b>a</b> 1	-	-	-
<b>a</b> <sub>2</sub>	0.01291	-0.01623	0.00134
a <sub>3</sub>	0.04201	-	-
<b>G</b> 4	0.00019	0.00012	0.00015
α <sub>5</sub>	0.01205	0.01962	0.00164
<b>a</b> 6	-0.00163	-0.00143	-
<b>a</b> 7	-	-	-
R <sup>2</sup>	0.980	0.976	0.970
ssq	0.493	0.560	0.841
AAE(%)	3.20	3.54	4.23
Stdev	1.87	2.32	2.96
MAD(%)	5.99	5.82	11.56

Πίνακας 21: Δοκιμές επίδρασης διάφορου πλήθους συντελεστών

#### Β. Μαθηματική Προσομοίωση

Στα Διαγράμματα 15-23 παρουσιάζεται αναλυτικά η προσαρμογή του μοντέλου Sovová σε όλα τα πειραματικά σημεία.



**Διάγραμμα 15:** Περιγραφή 1<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 16: Περιγραφή 2°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 17: Περιγραφή 3<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová


Διάγραμμα 18: Περιγραφή 4<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



**Διάγραμμα 19:** Περιγραφή 5<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 20: Περιγραφή 6<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 21: Περιγραφή 7°υ πειρἁματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 22: Περιγραφή 8<sup>ου</sup> πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová



Διάγραμμα 23: Περιγραφή 9°υ πειράματος υπερκρίσιμης εκχύλισης από το μοντέλο Sovová

Επίσης παρατίθεται ο Πίνακας 22 με την ανηγμένη ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα κάθε χρονική στιγμή για κάθε πείραμα και τα μεγέθη q<sub>m</sub> και q<sub>n</sub> όπως υπολογίστηκαν από τα ισοζύγια μάζας, για τον προσδιορισμό της διάρκειας κάθε σταδίου. Το πρώτο στάδιο συμβολίζεται με ανοικτό μωβ χρώμα, το δεύτερο συμβολίζεται με σκούρο μωβ και το τρίτο με μια άλλη ενδιάμεση απόχρωση μωβ. Να επισημανθεί ότι:

- ✓ Για Q<qm λαμβάνει χώρα το πρώτο στάδιο,</p>
- ✓ Για q<sub>m</sub><Q<q<sub>n</sub> λαμβάνει χώρα το δεύτερο στάδιο,
- ✓ Για Q>q₁ λαμβάνει χώρα το τρίτο στάδιο.

Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Exp 8	Exp 9
q <sub>m</sub> =7.24	qm=7.64	qm=3.90	qm=9.7	qm=1.3	qm=11	qm=2.6	qm=8.9	qm=1.3
q <sub>n</sub> =23.65	qn=24.47	qn=14.5	qn=20.5	qn=8.14	qn=18	qn=8.61	qn=15.2	qn=9.84
Q (kgCO <sub>2</sub> /kgfeed)								
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.650	1.667	1.628	1.880	5.051	4.926	5.201	4.998	3.257
3.299	3.334	3.255	3.760	10.101	9.852	10.401	9.996	6.514
4.949	5.001	4.883	5.640	15.152	14.778	15.602	14.994	9.771
6.598	8.335	8.138	9.399	20.202	19.704	20.803	19.992	16.286
9.897	11.669	11.393	13.159	30.303	29.557	31.204	29.988	22.800
13.196	15.003	14.648	16.919	40.404	44.335	41.606	39.984	29.314
16.495	21.671	21.159	24.438	55.556	59.113	57.208	49.980	42.343
23.093	28.339	27.669	31.957	75.758	78.818	78.011	64.974	61.885
29.691	38.341	37.435	41.356	95.960	98.522	98.814	84.966	81.428
37.939	48.343	50.456	52.636	126.263	128.079	130.019	107.327	120.513
47.836	68.347	66.732	69.554	186.869	187.192	192.428		159.599
67.630	88.351	86.263	92.112	247.475	246.305	229.873		198.684
87.424	113.356	105.794	120.310	308.081	305.419	292.282		257.312
107.218		125.326	154.147	368.687				
127.012		144.857						
156.704								
176.498								

Πίνακας 22: Τα 3 διαφορετικά στάδια εκχύλισης των πειραμάτων