

IZOLÁCIA PRÍRODNÝCH ZLÚČENÍN S ORGANOLEPTICKÝMI VLASTNOSŤAMI POUŽITÍM VYBRANÝCH POKROČILÝCH EXTRAKČNÝCH TECHNÍK

VERONIKA VÝBOHOVÁ^{a,b} a KATARÍNA HROBOŇOVÁ^a

^a Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b Axxence Slovakia s.r.o., Mickiewiczova 9, 811 07 Bratislava, Slovensko
veronika.vybohova@stuba.sk, katarina.hrobonova@stuba.sk

Došlo 18.1.23, prijaté 20.3.23.

Tento článok predstavuje prehľad vybraných pokročilých techník extrakcie tuhá fáza – kvapalina používaných na extrakciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov. Tieto zlúčeniny sú dôležitými prísadami do potravín, kozmetických a farmaceutických produktov. Najčastejšie používané techniky sú extrakcia podporená ultrazvukom a extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, aj keď ďalšie účinné techniky zahŕňajú extrakciu rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, extrakciu tekutinou v nadkritickom stave, pulzové elektrické pole a extrakciu podporenú enzýmami. Tieto techniky znižujú alebo eliminujú množstvo toxických rozpúšťadiel potrebných na extrakciu, skracujú čas extrakcie a väčšinou sú energeticky účinnejšie. Nízkoenergetické extrakčné podmienky (pulsové elektrické pole a enzýmy) môžu lepšie zachovať zlúčeniny citlivé na teplo, pH a svetlo.

Kľúčové slová: organoleptické vlastnosti, prírodné materiály, extrakcia tuhá látka – kvapalina

Obsah

1. Úvod
2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami
3. Izolácia zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných materiálov
 - 3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina
 - 3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením
 - 3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom
 - 3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave
 - 3.1.4. Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku
 - 3.1.5. Extrakcia podporená pulzovým elektrickým poľom
 - 3.1.6. Enzýmami podporená extrakcia
4. Záver a vyhladky do budúcnosti

1. Úvod

Prírodné materiály (rastlinného, živočíšneho alebo mikrobiologického pôvodu) boli oddávna dôležitým zdrojom látok s organoleptickými vlastnosťami. Niektoré z týchto prírodných chemikálií patrili medzi prvé organické chemikálie, ktoré boli izolované a charakterizované, počnúc mentolom v roku 1771 (cit.¹). Mnohé zlúčeniny izolované z prírodných zdrojov, zvyčajne rôzne esenciálne oleje alebo zložky rastlinných extraktov, sa dlhodobo používajú na výrobu ochucovadiel a vôní. V devätnástom

a dvadsiatom storočí sa izolované látky začali používať aj ako udržateľné východiskové zlúčeniny na prípravu ďalších chemikálií s organoleptickými vlastnosťami pomocou chemických, enzymatických či mikrobiálnych procesov². Izolácia cieľových zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov predstavuje náročnú úlohu vzhľadom na prítomnosť mnohých ďalších zlúčenín v primárnom extrakte a tiež z dôvodu nedostatku procesných informácií. Ko-extrahované látky, ktoré majú podobné chemické a fyzikálne vlastnosti ako cieľová zlúčenina, významne ovplyvňujú účinnosť vybranej izolačnej/extrakčnej techniky³.

V úvode tohto prehľadového článku sú uvedené charakteristické vlastnosti prírodných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami, ich význam a využitie v rôznych oblastiach priemyslu a odvetviach. Ďalšia časť sa zaoberá pokročilými technikami používanými na ich izoláciu z komplexných matric. Uvedené sú pokročilé extrakčné techniky v systéme tuhá fáza – kvapalina, ich výhody a nevýhody. Vybrané pokročilé extrakčné techniky, extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, ultrazvukom, pulzovým elektrickým poľom či enzýmami, extrakcia tekutinou v nadkritickom stave a rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, sú stručne charakterizované, dokumentované príkladmi ich využitia a podmienkami izolácie vybraných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. V závere je zhrnutý význam týchto metód a perspektívy do budúcnosti.

2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami

Organoleptické vlastnosti látok sú charakteristiky, ktoré je možné hodnotiť ľudskými zmyslami. Organoleptika je teda zmyslové posudzovanie, ktoré využíva hlavné zmyslové vnemy na hodnotenie vlastností látok (vzhľad, vôňa, chuť, atď.). Na základe senzorického hodnotenia možno príchut' opísať ako kombináciu chuti, vône a chemických vnemov. Vo všeobecnosti existuje päť základných chutí: sladkosti⁴, kyslosti⁵, slanosti⁶, horkosti⁷ a umami (výskumy naznačujú, že tuk môže tiež vyvolávať chuť⁸). Vôňa zahŕňa vnemy prežívané cez orto- a retro-nazálne cesty, napríklad vanilkové a citrónové arómy. Chemestetické (chemicky stimulovaný pocit bolesti a teploty v oku, nose, ústach a krku) vnemy aktivujú trojklaný nerv, ako napríklad pálenie od kapsaicínu z feferónok alebo chladivý mentol z mäty⁹.

Vôňa má dominantnú úlohu pri ovplyvňovaní ľudského apetítu. Na detekcii aromatických zlúčenín sa podieľa približne 400 aktívnych čuchových receptorov. Prchavé zlúčeniny extrahované z rastlín sa využívajú ako prídavné látky v parfumoch, arómach a iných kozmetických výrobkoch, no uplatnenie majú aj v potravinárskom, farmaceutickom priemysle a poľnohospodárstve nielen ako príchute, vône či farbivá, ale aj pre ich ďalšie biologické účinky, napr. antibakteriálne (linalool), antivírusové, antifungálne (geraniol), antiparazitické (tymol), insekticídne (eugenol), analgetické (metyl salicylát), protirakovinové (kurkumín), neuroprotektívne (quercetin), psychofyziologické (arómy) a spomalenie starnutia (kurkumín) účinky¹⁰. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami zahŕňujú rôzne typy zlúčenín, ktoré možno zaradiť do niekoľkých skupín, alkoholy, aldehydy, ketóny, estery, kyseliny, fenoly a heterocyklické zlúčeniny.

Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami sa najčastejšie a v najväčších množstvách izolujú z esenciálnych olejov získaných väčšinou destiláciou rôznych častí rastlín alebo priamo extrakciou z rastlinnej hmoty. Okrem izolácie týchto zlúčenín z uvedených „tradičných“ zdrojov sa začali izolovať aj z médií z mikrobiálnych procesov a z fermentačných zmesí, kde môžu byť ako primárny alebo vedľajší produkt. Získavanie zlúčenín z vedľajších potravinárskych produktov, prípadne z „odpadu“ a biomasy/fytomasy je potenciálnym a aj ekologickým prístupom do budúcnosti¹¹.

3. Izolácia zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných materiálov

Chemický spracovateľský priemysel čelí výzvam zameraným na vývoj nových produktov, zefektívnenie existujúcich procesov smerovaných na zníženie kapitálových a prevádzkových nákladov, či zvýšenie bezpečnosti a ekologickosti postupov. V súvislosti s tým sa vo veľkej miere uprednostňujú chemikálie získavané z prírodných

materiálov. Aby sa vyhovelo uvedeným požiadavkám, je potrebný systematický prístup k navrhovaniu separačného procesu pre komerčnú izoláciu a čistenie prírodných zložiek, ktorý často pozostáva z kombinácie viacerých extrakčných/separačných techník.

3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina

Účinnosť extrakcie tuhá fáza – kvapalina (solid-liquid extraction, SLE) závisí od typu vzorky a fyzikálno-chemických vlastností analytov. Voľba extrakčného rozpúšťadla súvisí s ich rozpustnosťou. Klasické SLE techniky zahŕňujú maceráciu, perkoláciu (premývanie) a extrakciu v Soxhletovom extraktore¹². Sú mnohokrát časovo náročnejšie, a preto sa nahrádzajú pokročilejšími technikami, ktorých cieľom je aj zvýšiť účinnosť SLE. V oboch prípadoch sa v súčasnosti využívajú aj alternatívne extrakčné rozpúšťadlá, ktorých príklady využitia sú popísané v nasledujúcich kapitolách.

3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením

Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením (microwave-assisted extraction, MAE) je rýchly, účinný a aj ekonomicky výhodnejší (menšia alebo žiadna spotreba rozpúšťadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami) proces na extrakciu látok z rastlinných materiálov. V MAE bioaktívnych zlúčenín z rastlín sa mikrovlnná energia distribuuje priamo do tkanív rastlinných materiálov prostredníctvom interakcií molekúl látok s mikrovlnným žiarením (mikrovlnný výkon 350–600 W), pričom dochádza k jej premene na tepelnú energiu. Toto teplo zvyšuje medzibunkový tlak, čo spôsobuje prasknutie rastlinných buniek a uvoľňovanie zlúčenín do rozpúšťadla počas extrakcie^{13,14}.

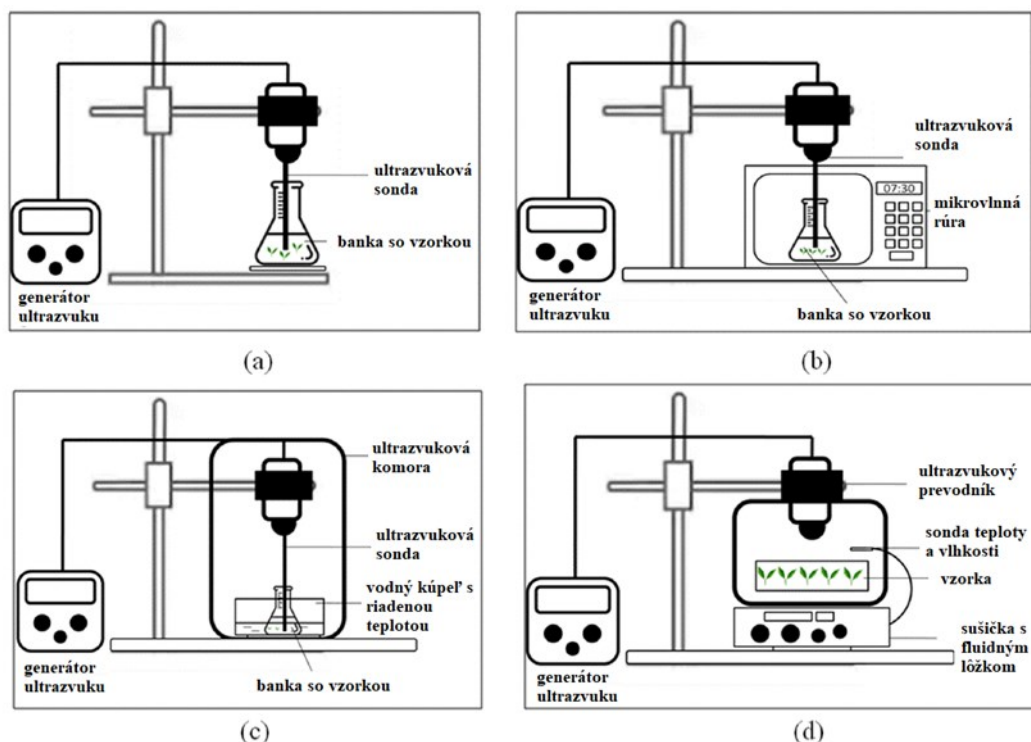
MAE je vhodnou metódou na extrakciu účinných látok v krátkom časovom intervale (5–30 min) s použitím menšej spotreby rozpúšťadla. Príkladom je extrakcia fenolových látok z jablčných výliskov¹⁵, betaláinu z dračieho ovocia Pitahaya¹⁶, antokyanínu z levandule (*Lavandula pedunculata* L.)¹⁷, antokyanínu a fenolových kyselín z višne Marasca¹⁸. Metóda MAE bez použitia rozpúšťadla sa použila na extrakciu metyleugenolu, safrolu, eukalyptolu, limonénu a borneolu z gáfrovníka¹⁹ (extrakčným rozpúšťadlom bola voda prítomná v rastlinnom materiáli). Skupina zlúčenín, ako sú limonén, citral, dekanal, dodekanal, geraniol, eugenol a β -pinén, sa izolovala z pomarančovej kôry pomocou MAE za použitia iónových kvapalín²⁰. Voda sa použila ako extrakčné činidlo pre extrakciu eukalyptolu, linaloolu a terpinén-4-olu z vavrínu pravého²¹. Uvedené zlúčeniny získané z gáfrovníka a vavrínu pravého sa používajú v parfumerskom priemysle. Táto technika však nie je vhodná pre extrakciu tepelne nestabilných zlúčenín, keďže pôsobením mikrovlnného žiarenia dochádza aj k výraznému ohrevu extrahovanej zmesi. Príklady aplikácií MAE pre extrakciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodného materiálu dokumentuje tab. I.

3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom

Extrakcia podporená ultrazvukom (ultrasound-assisted extraction, UAE) zahŕňa desorpciu a difúziu rozpustenej látky z rastlinnej bunky do extrakčného rozpúšťadla. UAE umožňuje dosiahnutie vyšších výťažkov extrakcie z pórovitých substrátov v dôsledku zvýšenej solvácie a rýchlosti prenosu hmoty v rastlinnej bunke²². Výhodou UAE je dosiahnutie účinnej extrakcie v krátkom časovom intervale (5–60 min) s menším množstvom rozpúšťadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami a vhodnosť aj pre tepelne nestabilné zlúčeniny, keďže sa väčšinou realizuje pri laboratórnej teplote. Avšak dlhšie extrakčné časy môžu prirodzene zvýšiť vnútornú teplotu v extrakčnej nádobe. Aplikáciu UAE (pomocou ultrazvukovej sondy) možno kombinovať s ďalšími technológiami, napr. sušením, pôsobením mikrovlnného žiarenia alebo vodným kúpeľom na zabezpečenie konštantnej teploty, ako je znázornené na obr. 1. Príklady aplikácií UAE pre extrakciu dimetyl disulfidu, diallyl sulfidu či disulfidu z cesnaku a eugenolu z klinčekov dokumentuje tab. I. Pri extrakcii spomenutých zlúčenín z cesnaku, ktoré sú zodpovedné za jeho špecifickú arómu, bol výťažok 75 %. Extrakcie podporené ultrazvukom trvali do 45 min pri teplote 25–30 °C.

3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave

Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave (supercritical fluid extraction, SFE) v porovnaní s inými extrakčnými metódami nepoužíva toxické organické rozpúšťadlá, prípadne len malé množstvo prídavného organického modifikátora. Ako extrakčné tekutiny možno využiť oxid uhličitý (kritické parametre 31,0 °C, 7,37 MPa), chlór difluórmétán (kritické parametre 96 °C, 4,94 MPa), oxid dusný (kritické parametre 36,4 °C, 7,25 MPa). Využitie chlór difluórmétánu a oxidu dusného sa v poslednom období minimalizuje pre ich nepriaznivé vlastnosti (chlór difluórmétán má nepriaznivý účinok na ozónovú vrstvu, oxid dusný vytvára výbušnú zmes)²⁴. Účinnosť extrakcie sa zvyšuje pridaním modifikátora k nadkritickej tekutine z dôvodu zvýšenia rozpustnosti cieľových analytov (najmä pri vysoko polárnych látkach). Napríklad v prípade extrakcie izo-pinokamfénu a pinokamfénu²⁵ bol použitý prídavok modifikátora, metanolu, k extrakčnému činidlu CO₂. Obsah modifikátora (napr. metanol, etanol, etyl-acetát a iné) je väčšinou v rozsahu 1–15 %, avšak závisí aj od extrakčných podmienok, typu matrice, typu rozpustenej látky a typu modifikátora. Tab. I dokumentuje príklady použitia SFE pre izoláciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. Pomocou SFE sa získali esenciálne oleje z kávovníka a yzopu lekár-



Obr. 1. Spojenie ultrazvukovej technológie s inými technológiami využiteľná na spracovanie vzoriek: (a) UAE pomocou ultrazvukovej sondy, (b) ultrazvuková mikrovlnná extrakcia, (c) UAE kombinovaná s vodným kúpeľom s konštantnou teplotou, (d) ultrazvukové sušenie vo fluidnej vrstve (upravený podľa²³)

Tabuľka I

Vybrané zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami získané z prírodného materiálu pomocou pokročilých extrakčných techník

Technika	Rastlinný zdroj	Zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami	Extrakčné činidlo	Parametre	Výťažok [%]	Lit.
MAE	citrónovník pomarančový (kôra) (<i>Citrus sinensis</i>)	limonén, citral, dekanal, geranial, eugenol, β -pinén, dodekanal	[C2mim]OAc, [C4mim]Cl	$P = 540 \text{ W}$ $t = 20 \text{ min}$	2,1	20
MAE	gafrovník lekárskeý (<i>Cinnamomum camphora</i>)	metyleugenol, safrol, eukalyptol, limonén, borneol	bez rozpúšťadiel	$P = 420 \text{ W}$ $t = 22 \text{ min}$	8,03	19
MAE	vavrín pravý (<i>Laurus nobilis</i>)	eukalyptol, linalool, terpinén-4-ol	H ₂ O	$P = 540 \text{ W}$ $t = 30 \text{ min}$	–	21
UAE	cesnak kuchynský (<i>Allium sativum</i>)	dimetyl disulfid, diallyl sulfid, diallyl disulfid, 1,4-dimetyl-tetrasulfid	hexán	$f = 35 \text{ kHz}$ $T = 25 \text{ °C}$ $t = 30 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 50 \text{ ml}$	75	42
UAE	klinčekovec voňavý (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	eugenol, α -kopaén, β -karyofylén, α -humulén, acetát eugenolu	etanol:H ₂ O 50:50 (v/v)	$f = 25 \text{ kHz}$ $T = 28\text{--}30 \text{ °C}$ $t = 45 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 20 \text{ l}$	–	43
SFE	kávovník arabský (<i>Coffea arabica</i>)	2-etyl-3-metylpyrazín, difurfuryléter, 5-metyl-2-furán-karboxaldehyd	CO ₂	$p = 15\text{--}30 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}60 \text{ °C}$ $t = 120 \text{ min}$	< 30	44
SFE	yzop lekárskeý (<i>Hyssopus officinalis</i>)	izo-pinokamfén, pinokamfén	CO ₂ / metanol 94:6 (v/v)	$p = 10\text{--}35 \text{ MPa}$ $T = 35\text{--}75 \text{ °C}$	13,6–17,1	25
PLE	kávovník arabský (<i>Coffea arabica</i>)	pyrazíny	H ₂ O	$p = 3,45\text{--}17,24 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}200 \text{ °C}$ $t = 2\text{--}18 \text{ min}$	–	30
PLE	kurkuma pravá (<i>Curcuma longa</i> L.)	kurkumín	H ₂ O (pH 1,6)	$p = 5 \text{ MPa}$ $T = 90\text{--}250 \text{ °C}$ $t = 60 \text{ min}$	18	31
PLE	brazílskeý hroznoý strom (<i>Myrciaria cauliflora</i>)	antokyány	cholín chlorid / propylén glykol 1:2 mol/mol	$p = 10 \text{ MPa}$ $T = 60, 90, 120 \text{ °C}$ $t = 12 \text{ min}$	45	32
PEF	hnedeý makroriasa (<i>Alaria esculenta</i>)	polyfenoly	–	$E = 7,5 \text{ kV cm}^{-1}$ $t = 0,96 \text{ } \mu\text{s}$ $N = 720$ $f = 1,2 \text{ Hz}$	1,0	33
PEF	sinice (<i>Arthrospira Platensis</i>)	fykocyanín	–	$E = 40 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 28, 56 \text{ a } 112 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 2\text{--}6 \text{ Hz}$	8,5	34
PEF	ľuľok zemiakový (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	antokyaníny	–	$E = 5 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 135 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 1 \text{ Hz}$	–	35
EAE	nechtík lekárskeý (<i>Calendula officinalis</i>)	karotenoidy	–	viskozým, pektinex, neutráza, koroláza	7,6	41
EAE	vanilka voňavá (<i>Vanilla fragrans</i>)	vanilín	–	β -glukozidáza a pektináza	14–21	40

[C2mim]OAc – 1-etyl-3-metylimidazoliumacetát, [C4mim]Cl – 1-butyl-3-metylimidazoliumchlorid, A – amplitúda, T – teplota, t – čas, p – tlak, E – intenzita elektrického poľa, N – počet impulzov, f – frekvencia, U – špecifický energetický príkon, P – mikrovlnný výkon

skeho obsahujúce zlúčeniny ako sú 2-etyl-3-metylpyrazín a piokamfén. Výťažky nepresahovali 30 %. Hlavným dôvodom použitia SFE je ekologickosť extrakčného činidla (CO_2) a uskutočnenie pri nižších a stabilných teplotách, čo je žiadané napr. pri získavaní látok, ktoré pri vysokých teplotách degradujú prípadne aj na škodlivé látky, no vyššie náklady na vybavenie sú čiastočným negatívom. Táto technika je vhodná pre získavanie cenných prírodných zlúčenín, napr. lipofilných zlúčenín, ako sú éterické oleje, tokoferoly, oleje bohaté na polyneenasýtené mastné kyseliny, steroly, skvalén – zložky, ktoré sa môžu používať ako ingrediencie v potravinárskom priemysle, kozmetike a farmaceutikách²⁶.

3.1.4. Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku

Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku (pressurized liquid extraction, PLE, accelerated solvent extraction, ASE) využíva zvýšenú teplotu (do 300 °C) a tlak (3–20 MPa) na extrakciu cieľových zlúčenín. Za týchto podmienok zostáva rozpúšťadlo v kvapalnom stave aj pri teplotách nad bodom varu, čím sa dosiahne jeho lepší prienik do štruktúry či tkanív, čo vplyva na zvýšenie účinnosti extrakcie²⁷. Zvýšená teplota tiež zvyšuje rozpustnosť a rýchlosť difúzie látok. Zmenou teploty a tlaku možno dosiahnuť efektívnu extrakciu aj pomocou GRAS rozpúšťadiel (generally recognized as safe – všeobecne uznávaných ako bezpečné), ako je voda alebo etanol (napr. dielektrická konštanta (ϵ) vody pri 300 °C a tlaku 22,99 MPa má hodnotu 21, čo je porovnateľné s etanolom ($\epsilon = 25$) pri 25 °C)²⁸.

Podmienky PLE je potrebné prispôsobiť vlastnostiam cieľových analytov. Pre extrakciu látok s organoleptickými vlastnosťami je možné uskutočniť extrakciu vo viacerých sekvenčných krokoch. Prvý krok sa väčšinou realizuje pri nižšej teplote (napr. 40 °C) a následný pri zvýšenej teplote, napr. 100 °C. Tento proces môže poskytnúť extrakty rôznych skupín látok, napr. extrakt obohatený o antokyány získaný v prvom extrakčnom kroku a extrakt obohatený o iné fenolové zlúčeniny (druhý krok). Nižšia teplota v prvom kroku zabráni tepelnej degradácii antokyánov pred druhým krokom²⁹.

V prípade PLE pyrazínov z pomletých kávových zŕn Arabica (tab. I) sa využili vysoké extrakčné teploty (nad 150 °C), keďže vhodným extrakčným rozpúšťadlom bola voda³⁰. Ukázalo sa, že vysoké teploty nie vždy negatívne ovplyvňujú výťažok tepelne nestálych prírodných bioaktívnych zlúčenín. Pri extrakcii vodou pri nadkritických podmienkach zvýšenie teploty (100–374 °C) znižuje polaritu vody a zvyšuje rozpustnosť cieľových zložiek, a tým aj účinnosť extrakcie. Na zlepšenie rozpustnosti analytov vo vode je vhodné upraviť pH. Jedným z príkladov je extrakcia kurkumínu z kurkumy (*Curcuma longa* L.)³¹. Kurkumín má veľmi obmedzenú rozpustnosť vo vode (0,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$), avšak extrakciou vodou s pH 1,6 (úprava pH pomocou 0,1 mol l^{-1} HCl) pri tlaku 5 MPa a teplote 197 °C sa dosiahlo významné zvýšenie rozpustnosti kurkumínu (62 mg ml^{-1}), pravdepodobne v dôsledku jeho disociácie ($\text{pK}_a = 7,8$). Pre PLE sa používajú aj hlboko eutektické

rozpúšťadlá. Zmesi zložené z cholin chloridu, propylén glykolu a kyseliny jablčnej sa testovali pre izolovanie antokyány z bobúľ Jaboticaba, pričom sa dosiahli výťažky 45 % (cit.³²).

3.1.5. Extrakcia podporená pulzovým elektrickým poľom

Energia pulzového elektrického poľa (pulsed electric field, PEF) bola využitá pri extrakcii látok s organoleptickými vlastnosťami zo širokej škály prírodných materiálov vrátane rias, kvasníc a iných mikroorganizmov^{33,34}, ovocia či zeleniny³⁵.

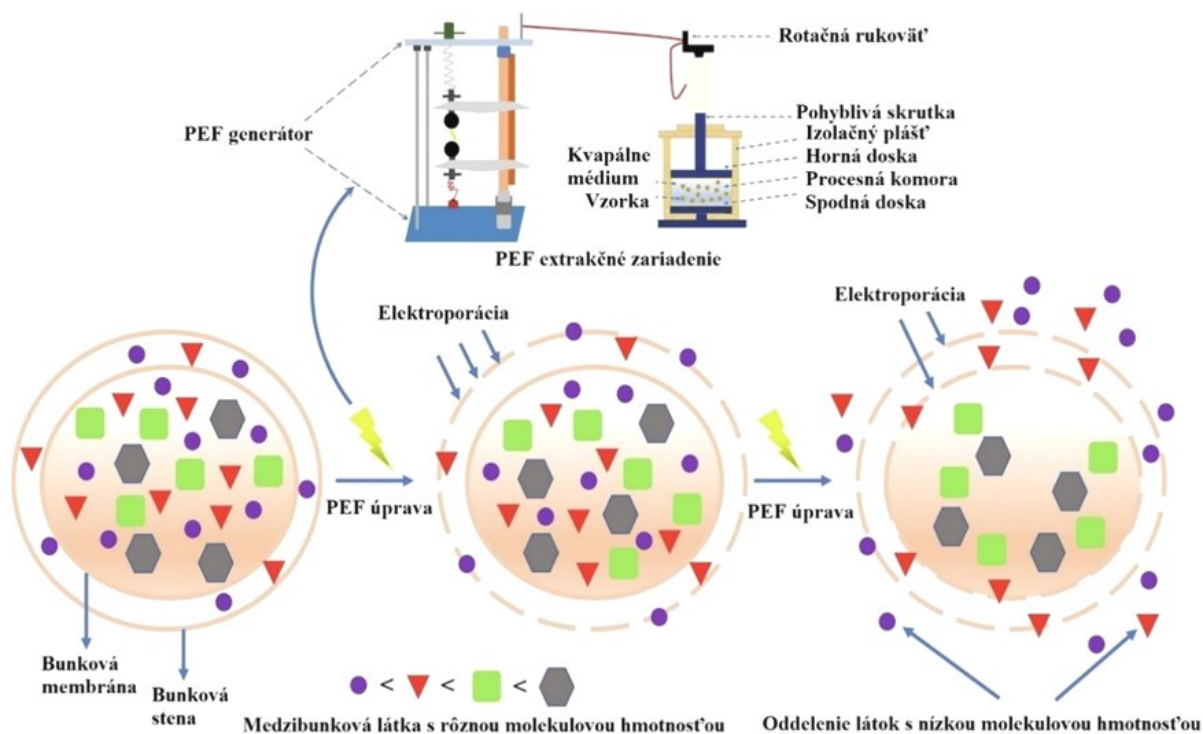
Techniky podporované PEF sú založené na využití elektroporácie – vytváraní pórov v bunkových membránach vplyvom elektrických impulzov s krátkym trvaním (0,96–100 μs) a napätím do 20 kV. Zvýšenie elektroporácie a permeability bunkovej steny má za následok zvýšenie účinnosti extrakcie (obr. 2). Účinnosť PEF závisí od parametrov, ako je intenzita elektrického poľa (0,5–40 kV cm^{-1}), počet impulzov (1–6000), trvanie alebo šírka impulzu (0,96–100 μs), frekvencia impulzov (1–20 Hz). Štúdie ukázali, že so zvýšením intenzity elektrického poľa sa výrazne zvýšil výťažok extrakcie, čo môže byť spôsobené vyšším príkonom energie, ktorý uľahčuje pretrhnutie bunkovej membrány³⁶.

Príklady použitia PEF na získanie polyfenolov z hnedej makroriasy *Alaria esculenta* a fykocyanínu zo sinice *Arthrospira Platensis* dokumentuje tab. I. Výťažky látok s organoleptickými vlastnosťami predstavovali maximálne 9 % a boli porovnateľné s výťažkami extrakcie, pri ktorej sa na rozrušenie bunkovej membrány použilo miešanie s guľôčkami³⁴.

3.1.6. Enzýmami podporená extrakcia

Enzýmami podporená extrakcia (enzyme-assisted extraction, EAE) je založená na schopnosti určitých enzýmov degradovať alebo narušovať bunkové steny, aby sa umožnilo uvoľnenie cieľových zlúčenín. Enzýmy sú vhodné aj ako katalyzátory pri extrakcii a môžu znížiť používanie konvenčných rozpúšťadiel. Zmes enzýmov môže účinne hydrolyzovať celulóзовú štruktúru bunkovej steny rastlín a v konečnom dôsledku zvýšiť získané množstvo viazaných aj voľných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami³⁸. EAE má oproti konvenčným extrakčným metódam niekoľko výhod: mierne reakčné podmienky (uskutočňuje sa pri teplotách cca do 80 °C), krátky čas (niekoľko minút; závisí od typu enzýmu), možnosť využitia celého rastlinného materiálu, proces vyžaduje menší počet krokov (väčšinou jeden). Substrátová špecifickosť, ktorá vedie k extrakcii zlúčenín s vysokou čistotou, prispieva k zníženiu výrobných nákladov v porovnaní s klasickými extrakčnými a separačnými metódami³⁹.

Enzýmy, ako napr. celuláza, α -amyláza, β -glukozidáza, proteáza, xylanáza alebo pektináza, sa použili na extrakciu vanilínu zo zelených vanilkových strukov s výťažkom 21 % (cit.⁴⁰) a karotenoidov z nechtíka lekárskoho⁴¹ s výťažkom do 7,6 % (tab. I).

Obr. 2. Schematický diagram extrakcie pulzovým elektrickým poľom (upravený podľa³⁷)

4. Záver a vyhlídky do budúcnosti

Práca predstavuje stručné zhrnutie techník používaných na izoláciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z rozličných prírodných materiálov. V súčasnosti sa zlúčeniny získavajú nie len extrakciou z esenciálnych olejov, rastlín, no taktiež z vedľajších potravinárskych produktov a odpadov, a aj pomocou mikrobiálnych a fermentačných procesov.

Potreba znížiť spotrebu rozpúšťadla, skrátiť čas a náklady na spracovanie vzorky extrakciou, používať ekologické rozpúšťadlá, získať reprodukovateľné výsledky a dosiahnuť vysokú účinnosť extrakcie sú hlavnými dôvodmi hľadania nových či modifikácie už existujúcich metód a postupov. Implementáciou mikrovlnného žiarenia, ultrazvuku, pulzného elektrického poľa či enzýmov sa zlepšila účinnosť a skrátil čas extrakcie. Enzýmami podporená extrakcia a extrakcia pulzovým elektrickým poľom sú perspektívne do budúcnosti, pretože ide o netepelné vysokoúčinné technológie. Vysoké extrakčné účinnosti sa taktiež dosahujú použitím iónových kvapalín, hlboko eutektických rozpúšťadiel a tekutín v nadkritickom stave, čo umožňuje eliminovať použitie toxických organických rozpúšťadiel.

Použitie danej techniky do určitej miery súvisí s maticou, v ktorej sa cieľová extrahovaná látka nachádza. Je potrebné vybrať takú techniku, pri ktorej sa čo najviac rozruší štruktúra matrice/tkanív rastlinného materiálu a uvoľní sa cieľový analyt. S vlastnosťami a štruktúrou extrahovanej látky súvisia podmienky extrakcie – teplota (tepelné stabilné či nestabilné zlúčeniny), výber vhodného extrakčného rozpúšťadla (miešateľnosť, rozpustnosť, polarita).

Bez ohľadu na extrakčnú techniku, na lepšie pochopenie správania prenosu hmoty zlúčenín sa čoraz častejšie využíva matematické modelovanie, v ktorom možno predpovedať správanie rozpustených látok v sub- a superkritických médiách počas extrakčných procesov. Navyše, ekonomická analýza a hodnotenie ekologickosti nových procesov sú užitočné, najmä ak je cieľom zväčšenie (scale-up) techník pre účely získavania látok. Vo väčšine prípadov kombinácia pokročilých extrakčných techník (napr. UAE s MAE) poskytuje účinnejšiu extrakciu látok zo zložitých matric. V niektorých prípadoch tiež znižujú celkový počet krokov extrakčného postupu, eliminujú ďalšie procesné kroky alebo aj znižujú energetickú náročnosť. Pre priemyselné uplatnenie týchto techník je vhodná ich automatizácia, online prepojenie a prípadne aj online spojenie

s metódami stanovenia cieľových látok, napr. chromatografickými metódami. Toto môže zvýšiť efektivitu práce, eliminovať chyby a vyriešiť problémy pre ciele uplatnenia.

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe projektu VEGA (projekt č. 1/0159/20) a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-20-0317.

LITERATÚRA

- Sústríková A., Šalamon I.: *Hortic. Sci. (Prague, Czech Repub.)* 31, 31 (2004).
- Duffy I. J.: *Chemicals by Enzymatic and Microbial Processes: Recent Advances (Chemical Technology Review)*. Noyes Data Corp, New Jersey 1980.
- Van der Scharft P., v knihe: *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, str. 235. Woodhead Publishing, Reading 2015.
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 44 (2007).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 109, 488 (2015).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P., Cahlíková L.: *Chem. Listy* 105, 761 (2011).
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 895 (2007).
- Running C. A., Craig B. A., Mattes R. D.: *Chem. Senses* 40, 507 (2015).
- Gaudette J. N.: *Encycl. Food Chem.* 1, 101 (2019).
- Zhou L., Yu C., Cheng B., Wan H., Luo L., Pan H., Zhang Q.: *Ind. Crops Prod.* 155, 112735 (2020).
- Rowe D. J., v knihe: *Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*, str. 212. Woodhead Publishing, Cambridge 2012.
- Priego-Capote F., v knihe: *Analytical Sample Preparation With Nano- and Other High-Performance Materials*, str. 111. Elsevier, Córdoba 2021.
- Li Y., Li S., Lin S., Zhang J., Zhao C., Li H.: *Molecules* 22, 1481 (2017).
- Wei E., Yang R., Zhao H., Wang P., Zhao S., Zhai W., Zhang Y., Zhou H.: *Int. J. Biol. Macromol.* 123, 280 (2019).
- Chandrasekar V., San Martín-González M.F., Hirst P., Ballard T. S.: *J. Food Process Eng.* 38, 571 (2015).
- Thirugnanasambandham K., Sivakuma V.: *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 16, 41 (2017).
- Farzaneh V., Carvalho I. S.: *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 6, 92 (2017).
- Elez Garofulić I., Dragović-Uzelac V., Režek Jambrak A., Jukić M.: *J. Food Eng.* 117, 437 (2013).
- Liu Z., Li H., Zhu Z., Huang D., Qi Y., Ma C., Zou Z., Ni H.: *LWT - Food Sci. Technol.* 153, 112549 (2022).
- Franco-Vega A., López-Malo A., Palou E., Ramírez-Corona N.: *Chem. Eng. Process.* 160, 108277 (2021).
- Franco-Vega A., Ramírez-Corona N., López-Malo A., Palou E.: *J. Food Eng.* 247, 1 (2019).
- Li S., Zhang R., Lei D., Huang Y., Cheng S., Zhu Z., Wu Z., Cravotto G.: *Trends Food Sci. Technol.* 109, 1 (2021).
- Yusoff I. M., Taher Z. M., Rahmat Z., Chua L. S.: *Food Res. Int.* 157, 111268 (2022).
- Vinitha U. G., Sathasivam R., Muthuraman M. S., Park S. U.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 118, 101815 (2022).
- Kazazi H., Rezaei K., Ghotb-Sharif S. J., Emam-Djomeh Z., Yamini Y.: *Food Chem.* 105, 805 (2007).
- Mackela I., Kraujalis P., Baranauskienė R., Venskutonis P. R.: *J. Supercrit. Fluids* 104, 291 (2015).
- Selvamuthukumar M., Shi J.: *Food Qual. Saf.* 1, 61 (2017).
- Pimentel-Moral S., Borrás-Linares I., Lozano-Sánchez J., Alañón M.E., Arráez-Román D., Segura-Carretero A.: *Food Res. Int.* 137, 109466 (2020).
- Alvarez-Rivera G., Bueno M., Ballesteros-Vivas D., Mendiola J. A., Ibanez E.: *Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, Cambridge 2020.
- Xu J. L., Kim T. J., Kim J. K.: *Food Chem.* 281, 261 (2019).
- Euterpio M. A., Cavaliere C., Capriotti A. L., Crescenzi C.: *Anal. Bioanal. Chem.* 401, 2977 (2011).
- Benvenuti L., Ferreira Zielinski A. A., Salvador Ferreira S. R.: *Food Chem.: X* 13, 100236 (2022).
- Einarsdóttir R., Þórarinsdóttir K. A., Aðalbjörnsson B. V., Guðmundsson M., Marteinsdóttir G., Kristbergsson K.: *J. Appl. Phycol.* 34, 597 (2022).
- Jaeschke D. P., Mercali G. D., Marczak L. D. F., Müller G., Frey W., Gusbeth C.: *Bioresour. Technol.* 283, 207 (2019).
- Puértolas E., Cregenzán O., Luengo E., Alvarez I., Raso J.: *Food Chem.* 136, 1330, (2013).
- Naliyadhara N., Kumar A., Girisa S., Daimary U. D., Hegde M., Kunnumakkara A. B.: *Trends Food Sci. Technol.* 122, 238 (2022).
- Jiang Y., Xing M., Kang Q., Sun J., Zeng X., Gao W., Li H., Gao Y., Li A.: *Food Chem.* 383, 132304 (2022).
- Shen D., Kou X., Wu C., Fan G., Li T., Dou J., Wang H., Zhu J.: *Food Chem.* 357, 129747 (2021).
- Gligor O., Mocan A., Moldovan C., Locatelli M., Crişan G., Ferreira I. C. F. R.: *Trends Food Sci. Technol.* 88, 302 (2019).
- Ruiz-Terán F., Perez-Amador I., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 5207 (2001).
- Barzana E., Rubio D., Santamaria R. I., Garcia-Correa O., Garcia F., Ridaura Sanz V. E., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 4491 (2002).
- Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S., Polissiou M. G.: *Ultrason. Sonochem.* 13, 54 (2006).
- Alexandru L., Binello A., Chemat F., Cravotto G., Giordana L.: *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 20, 167 (2013).

44. Hurtado-Benavides A. M., Dorado D., del Pilar Sánchez-Camargo A.: *J. Supercrit. Fluids* 113, 44 (2016).

V. Výbohová^{a,b} and K. Hroboňová^a (^a *Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Analytical Chemistry, Bratislava*, ^b *Axxence Slovakia s.r.o., Bratislava, Slovakia*): **Isolation of Natural Compounds with Organoleptic Properties Using Selected Advanced Extraction Techniques**

This review presents an overview of various advanced solid–liquid extraction techniques used for extraction of compounds with organoleptic properties from natural sources. These compounds are important additives to food, cosmetic, and pharmaceutical products. The most frequently used techniques are ultrasound assisted extrac-

tion and microwave assisted one, but there are other efficient techniques, such as pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction, pulsed electric field and enzyme assisted extraction. These techniques reduce or eliminate the volume of toxic solvents required for extraction, decrease the extraction time and mostly are more energy efficient. Low energy extraction conditions (pulsed electric field and enzyme assisted) can better preserve the compounds sensitive to heat, pH, and light.

Keywords: organoleptic properties, natural materials, solid-liquid extraction

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (Project VEGA Nr. 1/0159/20) and by the Slovak Research and Development Agency under the contract number APVV-20-0317.