

EXTRAKČNÉ POSTUPY PRE IZOLÁCIU DITERPÉNOV Z UHLIA

ANTON ZUBRIK^a, MICHAL LOVÁS^a, SILVIA
DOLINSKÁ^a, SLAVOMÍR HREDZÁK^a,
ĽUDMILA TURČANIOVÁ^a, JOSEF CVAČKA^b
a VLADIMÍR VRKOSLAV^b

^a Ústav geotechniky SAV, Watsonova 45, 043 53 Košice,
SR, ^b Ústav organickej chémie a biochémie AV ČR, v.v.i.,
Flemingovo nám. 2., 166 10 Praha 6, ČR
vrkoslav@uochb.cas.cz

Došlo 24.7.12, prepracované 7.11.12, prijaté 22.11.12.

Kľúčové slová: slovenské hnedé uhlie, diterpény, superkritická fluidná extrakcia, mikrovlnná extrakcia

Úvod

Uhlie a produkty jeho spracovania hrajú dôležitú úlohu hlavne v energetických potrebách spoločnosti. Okrem toho uhlie predstavuje unikátny prírodný zdroj organických zlúčenín, ktorý je možné využiť v rôznych oblastiach priemyslu¹ (napríklad skvapalňovaním uhlia sa získavajú rôzne organické látky a chemikálie, aromatické zlúčeniny môžu byť prevedené na cenné chemikálie, ako je fenol alebo naftalén). Uhlie môže byť využívané na získavanie rôznych uhlíkových materiálov typu uhlíkových vlákien, aktívneho uhlia, grafitových materiálov, fullerénov alebo nanorúrok². Unikátne zlúčeniny z uhlia ako sú terpény a humínové kyseliny majú zaujímavé vlastnosti z hľadiska ich biologickej aktivity^{3,4}.

Z fyzikálneho hľadiska je uhlie dvojzložkový systém^{5–9}. Prvou zložkou je makromolekulárna sieť, zložená z aromatických klastrov, spojených mostíkmi (neextrahovateľné zložky). Druhou zložkou je mobilná fáza, tvorená nízkomolekulovými, extrahovateľnými látkami. Obidve zložky sú súčasťou všetkých typov uhlia¹⁰. Mobilnú fázu tvorí množstvo aromatických, alifatických a alicyklických látok. Medzi nimi majú zvláštny význam terpenické biomarkery, ktoré je možné využiť pre štúdium vzniku uhlia a diagenetických procesov prebiehajúcich v minulosti. Do skupiny uhoľných biomarkerov patria látky s rigidným tetracyklickým skeletom, ako sú kaurány, fylokladány a beyerány¹¹.

V handlovskom hnedom uhli sa vyskytujú niektoré vzácné terpenoidné látky s potenciálnou biologickou aktivitou³. Jedným z hlavných komponentov je tetracyklický diterpén 16 α (H)-fylokladán, ktorý vykazuje slabú genotoxickú a selektívnu antimikrobiálnu aktivitu^{4,12}. Táto zlúčenina by mohla slúžiť aj ako prekursor pre syntézu derivátov s vyššou biologickou aktivitou, a preto boli hľa-

dané postupy jej izolácie z uhlia. Najbežnejším a najrýchlejším spôsobom získania nízkomolekulových látok je extrakcia a následná separácia extraktu v spojitosti s identifikačnými metódami. Extrakcia závisí nielen od typu extrakčnej metódy, ale aj napr. od čistoty, zloženia a zrnitosti vzorky. Mechanická aktivácia mletím, resp. aktivačné mletie je jedným z kľúčových krokov predextrakčnej úpravy uhlia¹³. Mechanickou aktiváciou uhlia dochádza nielen k jeho zdobneniu a tým k sprístupneniu extrakčného činidla do matrixu uhlia, ale aj k zmenám v organickej štruktúre uhlia¹⁴ a uvoľneniu látok zadržovaných v polymérnom matrixe.

V tomto príspevku sú testované a porovnané rôzne extrakčné postupy pre izoláciu 16 α (H)-fylokladánu z mechanicky aktivovaného hnedého uhlia, t.j. klasická extrakcia v Soxhletovom prístroji, nízkoteplotná a vysokoteplotná superkritická fluidná extrakcia a mikrovlnná extrakcia.

Experimentálna časť

Postup prípravy vzoriek a ich charakterizácia

Základná vzorka uhlia, odobratá z Bane Handlová (Hornonitrianske bane Prievidza, a.s.) bola drvená v čelust'ovom drviči a vo vibračnom čelust'ovom mlynčeku. Drvením a kontrolným triedením za sucha na site s okatosťou 5 mm sa z pôvodnej vzorky uhlia pripravila vsádzka pre rozdzružovanie v hydrocyklóne so zrnitosťou 0–5 mm. Rozdzružovanie sa realizovalo v hydrocyklóne bez použitia zaťažkávadla (Water Only Cyclone). Detailný postup rozdzružovania uhlia a schéma hydrocyklónu je uvedená v predchádzajúcich prácach^{15,16}.

Analyzované vzorky (základná vzorka – Z1 a prepad z hydrocyklónu – P1) boli podrvené pod 0,5 mm a pripravené na mechanickú aktiváciu v planetárnom mlyne Pulverisette 6 (Fritsch, Nemecko) za podmienok, ktoré sú uvedené v práci Zubrika⁴. Špecifický povrch (S_A) vzoriek bol meraný prístrojom Gemini 2360 (Micromeritics, USA) metódou BET. Granulometrická analýza bola vykonaná laserovým analyzátorom Sympatec Helos 12LA s disperzným podávačom Rodos SR za sucha (Sympatec, Nemecko).

Prvková analýza (CHN) bola realizovaná na analyzátoře Carlo Erba Model 1106 (Carlo Erba, Taliansko). Obsah popola, obsah SiO₂ a celková síra sa stanovila podľa štandardných analytických metód. Ostatné prvky boli stanovené atómovou absorpčnou spektrometriou (Fast Sequential AA240FS, Varian, Austrália).

Extrakcia

Nízkoteplotná superkritická fluidná extrakcia (LSFE): Experimenty nízkoteplotnej superkritickéj fluidnej extrakcie s oxidom uhličitým boli vykonané na prístroji SE-1 vyrobenom firmou SEKO-K, Brno, Česká republika. Podmienky extrakcie boli nasledovné: hmotnosť vzorky uhlia

bola 1 g, celkový extrakčný čas 90 min, tlak 30 MPa a teplota 90 °C.

Vysokoteplotná superkritická fluidná extrakcia (HSFE): Schéma použitého prístroja je uvedená v práci Czechovského a spol.¹⁷ Extrakcia prebiehala 60 min pri tlaku 12–13 MPa a teplote 300 °C, resp. 340 °C. Hmotnosť vzorky bola 2,5 g. Ako rozpúšťadlo boli použité cyklohexán a izopropylalkohol v pomere 9:1. Prietok rozpúšťadla bol 60 ml h⁻¹. Po extrakcii bol extrakt prefiltrovaný.

Mikrovlnná extrakcia (ME): Pre mikrovlnnú extrakciu uhlia bola použitá špeciálne upravená mikrovlnná pec AVM 434/WP/HP (Whirlpool, Švédsko) s výkonom 500 W a frekvenciou 2,45 GHz. Pokusy boli realizované v 500ml varnej banke napojenej na refluxný chladiaci systém. 20 g uhlia bolo extrahované s 250 ml dichlórmetánu počas 20 min (cit.^{4,18}). Získaný extrakt uhlia bol prefiltrovaný.

Soxhletova extrakcia: Vzorka uhlia o hmotnosti 10 g bola podrobená klasickej Soxhletovej extrakcii v dichlórmetáne (300 ml). Soxhletová extrakcia trvala 72 hodín vo vodnom kúpeli pri teplote bodu varu rozpúšťadla. Získaný extrakt uhlia bol prefiltrovaný.

Všetky získané extrakty uhlia boli vysušené a zväžené.

Izolácia 16 α (H)-fylokkladánu z extraktov

Izolácia a štrukturálna charakteristika bola vykonaná z extraktu získaného mikrovlnnou extrakciou podľa predchádzajúcich pokusov^{4,12,16,18}. Po extrakcii mechanicky aktivovanej vzorky P1 rôznymi metódami boli vysušené

extrakty rozpustené v 1 ml *n*-hexánu. Pred samotnou separáciou v kolóne sa extrakty re-extrahovali na SPE kolónkach (Chromabond SiOH, Macharey-Nagel GmbH + Co. KG) s väčším množstvom *n*-hexánu (100 ml). Rozpúšťadlo bolo odparené a zvyšok každého extraktu bol ďalej separovaný do 4 frakcií v kolóne. Kolóna bola naplnená silikagélom (5 g, Kieselgel 60), cez ktorú pretieklo 80 ml *n*-hexánu. Boli zachytené štyri frakcie (F1 až F4) po 20 ml rozpúšťadla.

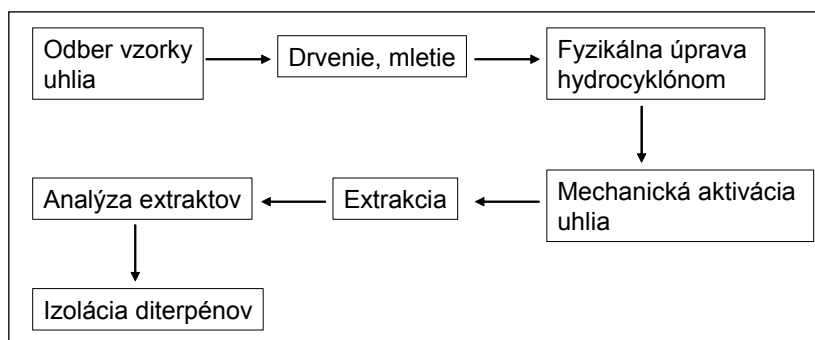
Rozpúšťadlo bolo odparené zo všetkých 4 frakcií a tieto frakcie boli analyzované tenkovrstvovou chromatografiou a plynovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (GC/MS).

Schéma celého procesu extrakcie a izolácie diterpénov zo slovenského hnedého uhlia je znázornená na obr. 1.

Výsledky a diskusia

Fyzikálna úprava v hydrocyklóne

Hydrocyklónovou úpravou sa zo základnej vzorky uhlia (Z1) získali tri produkty: ľahký produkt na prepade (P1) pri hmotnostnom výnose 29,37 %, ďalej ťažký produkt na výtoku (21,91 %) a kal zrnitosti pod 250 μ m ako obehová vsádzka (48,72 %). Hodnotené boli vzorky Z1 a P1. Výsledky ich analýzy sú uvedené v tab. I. Ľahký produkt P1 mal podstatne nižší obsah popola ako základná vzorka Z1. Hydrocyklónovou úpravou sa tak v tomto produkte podstatne znížil obsah popolovín ako SiO₂, Fe a S_T, pričom došlo k jeho nabohateniu spáliteľnými, organický-



Obr. 1. Schéma separačného postupu pre získanie diterpénov z uhlia

Tabuľka I
Výsledky analýz hnedého uhlia z lokality Handlová

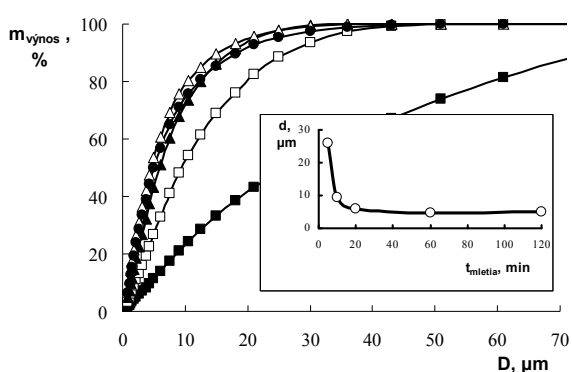
Produkt	A ^d [%]	V ^d [%]	C ^d [%]	H ^d [%]	N ^d [%]	O ^d [%]	S _T [%]	SiO ₂ [%]	Fe _T [%]	As [ppm]
P1	7,70	32,52	61,33	5,57	0,68	23,56	1,16	3,33	0,93	73,40
Z1	39,65	22,32	42,92	3,86	0,50	12,00	1,17	21,25	3,45	90,11

A – popol, V – prchavé látky, ^d – v sušine, _T – celkový obsah, O^d – podľa vzorca 100 – (A^d + C^d + H^d + N^d + S^d)

mi látkami ($C^d - 61,33\%$, $H^d - 5,57\%$). Z predchádzajúcich experimentov^{4,16} je zrejme, že produkt P1 obsahuje najväčšie množstvo diterpénov, preto táto vzorka bola vybraná ako najvhodnejšia pre všetky extrakčné experimenty.

Mechanická aktivácia uhlia pre extrakčné experimenty

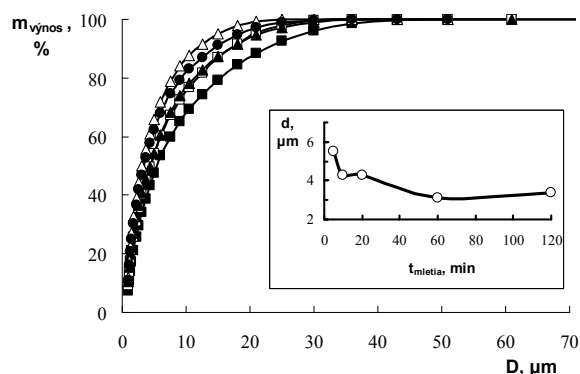
Je známe, že niektoré organické zlúčeniny sú zadržované na uhoľnom polymernom matrici¹⁷. Vychádzalo sa z predpokladu, že pri mechanickej aktivácii uhlia dôjde k zdobneniu materiálu a tým k sprístupneniu molekuly rozpúšťadla ku uhoľnému matrixu a ďalej k porušeniu štruktúry uhlia^{3,13}, prípadne priamo k uvoľneniu jednotlivých molekúl zo štruktúry uhlia. Preto po úprave v hydrocyklóne boli jednotlivé vzorky mechanicky aktivované vysoko intenzívnym mletím a následne pomocou granulometrie a meraním špecifického povrchu bola vyselektovaná optimálne pomletá vzorka. Počas mechanickej aktivácie uhlia bola sledovaná distribúcia častíc pri rôznych časoch mletia, jednak u vzorky P1 (obr. 2) s porovnaním so základnou vzorkou Z1 (obr. 3). U vzorky P1 došlo k najväčšiemu poklesu stredného priemeru zrna d (vnútorný obr. 2) počas mechanickej aktivácie v čase 20 min na hodnotu $5,9\ \mu\text{m}$. Kumulatívne krivky P1 20 min, P1 60 min a P1 120 min majú podobný tvar a hodnoty stredného priemeru zrna sa už veľmi nelíšia. Kumulatívne krivky pre základnú vzorku hnedého uhlia Z1 sú zobrazené na obr. 3. Už pri 5minútovom mletí uhlia Z1 stredný priemer zrna dosiahol hodnotu $5,5\ \mu\text{m}$ (vnútorný obr. 3), čo je v porovnaní s ľahkým produktom P1 markantný rozdiel ($d_{50}(P1)$ bol $26\ \mu\text{m}$). Ďalším mletím sa hodnota stredného priemeru zrna uhlia Z1 pomaly zni-



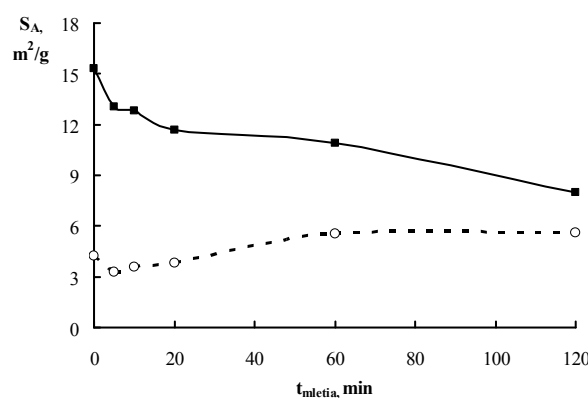
Obr. 2. Kumulatívna krivka podsitného podielu častíc po mechanickej aktivácii uhlia (P1) pri rôznych časoch mletia: 5 min (■), 10 min (□), 20 min (▲), 60 min (Δ), 120 min (●); m_{vynos} – hmotnostný výnos. Vnútrobný obrázok: Závislosť stredného priemeru zrna (d_{50}) od času mechanickej aktivácie (t_{mletia})

žuje až na hodnotu d_{50} $3,1\ \mu\text{m}$.

Priebeh kriviek, ktoré znázorňujú závislosť špecifického povrchu S_A od času mechanickej aktivácie u vzoriek Z1 a P1 je zobrazený na obr. 4. U vzorky P1 dochádza po 5minútovom mletí najskôr k poklesu hodnoty S_A v porovnaní s neaktivovanou vzorkou a potom k postupnému nárastu S_A s časom mletia. Tento jav môže byť spôsobený napríklad agregáciou zrn, resp. častíc. U vzorky Z1 s vysokým obsahom popola dochádza k pozvoľnému poklesu hodnoty S_A s časom mletia. Ale aj tak má vzorka Z1 vo všetkých prípadoch vyššiu hodnotu špecifického povrchu v porovnaní so vzorkou P1.



Obr. 3. Kumulatívna krivka podsitného podielu častíc po mechanickej aktivácii uhlia (Z1) pri rôznych časoch mletia: 5 min (■), 10 min (□), 20 min (▲), 60 min (Δ), 120 min (●); m_{vynos} – hmotnostný výnos. Vnútrobný obrázok: Závislosť stredného priemeru zrna (d_{50}) od času mechanickej aktivácie (t_{mletia})



Obr. 4. Závislosť špecifického povrchu (S_A) od času mletia (t_{mletia}) pri vzorkách P1 (○) a Z1 (■)

Na základe uvedených meraní bola vybratá optimálne mletá vzorka P1 20 min so stredným priemerom zrna $d_{50} = 5,9 \mu\text{m}$, $S_A = 3,78 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. 20 minút je z hľadiska spotreby energie a času a zlepšení parametra vzorky najvýhodnejší čas mletia. Takto aktivovaná vzorka P1 bola používaná pre extrakčné experimenty.

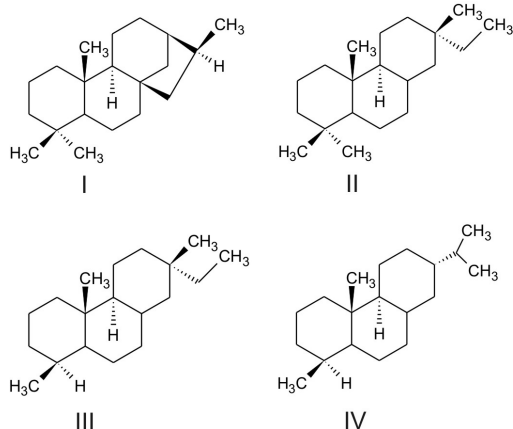
Porovnanie jednotlivých extrakčných metód pre extrakciu tetracyklických diterpénov

Po separácii extraktov v kolóne boli frakcie analyzované tenkovrstvovou chromatografiou. Vo frakciách F1 bola identifikovaná iba jedna škvrna s retenčným faktorom (R_F) = 0,91. Jedná sa o nepolárne saturované uhľovodíky. V ostatných frakciách táto škvrna nebola identifikovaná. Vo frakcii F2 nebola pozorovaná žiadna škvrna. Vo frakcii F3 a F4 boli identifikované polárnejšie látky s $R_F = 0,48$ resp. 0,33. GC/MS analýza potvrdila, že frakcia F1 všetkých extraktov získaných rôznymi metódami je rovnaká a obsahuje 4 diterpény (obr. 5). Tetracyklický diterpén – $16\alpha(H)$ -fylokkladán (82,5 %) a tricyklické diterpény – izopimarán (11,4 %), 18-norizopimarán (4,0 %) a abietán (2,1 %). Hlavná zložka ($16\alpha(H)$ -fylokkladán) bola potvrdená pomocou HR-MS, ^{13}C NMR, ^1H NMR a GC-IR (cit.¹⁸).

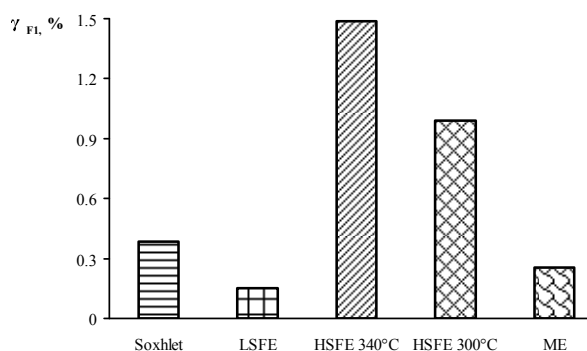
Účinnosť jednotlivých extrakčných techník na extrakciu $16\alpha(H)$ -fylokkladánu bol sledovaný pomocou určenia hmotnosti frakcie F1 (m_{F1}) s prepočtom na percentuálny hmotnostný výnos (γ_{F1}), ktorý sa vzťahuje na pôvodnú hmotnosť uhlia:

$$\gamma_{F1} = m_{F1} \times 100 / m_{\text{uhlie}}$$

Z experimentálnych výsledkov vyplýva (obr. 6), že najlepšou extrakčnou metódou je vysokoteplotná superkritická fluidná extrakcia. Potvrdzujú to výnosy frakcie F1 pri



Obr. 5. Štruktúrne vzorce diterpénov izolovaných z Handlovského hnedého uhlia¹⁸. Identifikované zložky: $16\alpha(H)$ -fylokkladán (I), isopimarán (II), 18-norizopimarán (III), abietán (IV)



Obr. 6. Hmotnostný výnos frakcie F1 po Soxhletovej extrakcii, LSFE, HSFE pri 300 °C a 340 °C a 20minútovej mikrovlnnej extrakcii s dichlórmetánom (ME); extrahovaná bola vzorka uhlia P1

obidvoch teplotách (300 °C a 340 °C). Výnos frakcie F1 z HSFE 340 °C je približne o 0,5 % vyšší ako pri HSFE, ktorá prebiehala pri 300 °C. Výnosy z ostatných typov extrakcie sú výrazne nižšie. Výnos F1 po Soxhletovej extrakcii bol 0,386 % a po mikrovlnnej extrakcii 0,254 %. Najnižší výnos poskytla metóda LSFE.

Extrakcia superkritickým fluidom je z technického hľadiska veľmi náročná. V laboratórnych podmienkach je relatívne jednoduchá mikrovlnná extrakcia a Soxhletova extrakcia. Mikrovlnná extrakcia v porovnaní s ostatnými technikami má jednu veľkú výhodu a to, že je oveľa rýchlejšia. Soxhletovou extrakciou sa podarilo pripraviť len o 0,133 % viac F1 ako v prípade 20minútovej mikrovlnnej extrakcie. Teoreticky sa za 72 hodín môže zopakovať 20minútová mikrovlnná extrakcia 216krát.

Neprehliadnuteľným a dôležitým údajom je získané množstvo $16\alpha(H)$ -fylokkladánu z handlovského uhlia. Z extrakcie 20 g uhlia P1 20 min dichlórmetánom sa odseparovalo 50,8 mg frakcie F1, t. j. teoreticky 40,4 mg $16\alpha(H)$ -fylokkladánu (výnos 0,202 %). V porovnaní s literárnymi údajmi uvedenými pre štruktúrne podobné látky z rastlín je to relatívne vysoký údaj. Napríklad, extrakciou 10 kg *Oryza sativa* sa získalo iba 10 mg orizaterpenolu (fylokklad-15-én-6β-14βdiól) (výnos 0,0001 %)¹⁹. Alebo z 21 kg *Pseudognaphalium vira vira* (Asteraceae) sa získalo 7,8 g kyseliny *ent*-16-kaurén-19-ovej (výnos 0,0370 %) a 6,2 g kyseliny *ent*-3β-hydroxy-16-kaurén-19-ovej (výnos 0,0295 %)²⁰. Hou a spol.²¹ izolovali 8 kauránových diterpénov z *Isodon xerophilus*. Hmotnostný výnos po extrakcii a izolácii bol v rozsahu 0,00042 až 0,0398 %. Dá sa konštatovať, že extrakcia tetracyklického diterpénu zo slovenského hnedého uhlia je v porovnaní s extrakciou podobných zlúčenín z rastlín omnoho efektívnejšia a aj o dosť jednoduchšia. Z praktického hľadiska je v našich podmienkach možné izolovať veľké množstvo $16\alpha(H)$ -fylokkladánu v relatívne krátkom čase, čo dáva možnosti nielen pre ďalšie experimentálne štúdium biologickej aktivity, ale aj nové možnosti pri organickej syntéze

různých fyklokladánových derivátov z základného tetra-
cyklického skeletu.

Záver

Z porovnania jednotlivých extrakčných techník vyplýva, že najlepšou extrakčnou metódou z hľadiska výnosu tetracyklického diterpénu – 16 α (H)-fyklokladánu je vysokoteplotná superkritická fluidná extrakcia. Ostatné techniky sú síce menej účinné, ale niektoré z nich sa možno lepšie uplatnia v praxi. Napríklad mikrovlnná extrakcia je technicky aj časovo menej náročná. Pri extrakcii, separácii a izolácii tetracyklického diterpénu z handlovského hnedého uhlia bol dosiahnutý relatívne veľký výnos, čo naznačuje ďalšie možné využitie pri syntéze nových fyklokladánových derivátov s následným testovaním biologickej aktivity. Jedná sa o prvý výsledok, kde bol z fyzikálne upraveného a mechanicky aktivovaného handlovského hnedého uhlia izolovaný tetracyklický diterpén fyklokladánového typu. Tento výsledok môže napomôcť aj k bližšiemu poznaniu slovenského hnedého uhlia z pohľadu identifikácie biomarkerov a k objasneniu flóry, z ktorého toto uhlie vznikalo.

Autori ďakujú F. Czechovskému, M. Stolarskému, K. Venturovi a V. Ježovej za umožnenie, odbornú pomoc pri realizácii superkritickej fluidnej extrakcie. Táto práca bola podporovaná grantovým projektom VEGA č. 2/0114/13, grantovým projektom GAČR P206/12/1093 a výskumným zámerom RVO 61388963.

Zoznam skratiek a symbolov

A ^d	obsah popola v sušine
BET	metóda merania špecifického povrchu založená na základe teórie Brunauera, Emmetta a Tellera
D	veľkosť zrna
d ₅₀	stredný priemer zrna
F	frakcia po kolónovej chromatografii
HSFE	vysokoteplotná superkritická fluidná extrakcia (High-Temperature Supercritical Fluid Extraction)
LSFE	nízokoteplotná superkritická fluidná extrakcia (Low-Temperature Supercritical Fluid Extraction)
ME	mikrovlnná extrakcia
P1	ľahký produkt – hydrocyklónový prepad
P1 X min	vzorka uhlia P1, ktorá je mechanicky aktivovaná po dobu X minút
R _F	retenčný faktor
S _A	špecifický povrch
SPE	extrakcia tuhou fázou (Solid Phase Extraction)
V ^d	obsah prchavých látok v sušine
W ^a	obsah vody, analytický

Z1	základná – fyzikálne neupravená vzorka uhlia, ako podanie do hydrocyklónu (vstup)
γ	percentuálny hmotnostný výnos

LITERATÚRA

- Schobert H. H., Song C.: *Fuel* 81, 15 (2002).
- Patney H. K., Nordlund Ch., Moy A., Rose H., Young B., Wilson M. A.: *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.* 7, 941 (1999).
- Turčániová E.: *Úprava uhlia – Clean Coal Technology*. Štrobek, Košice 2002.
- Zubrik A.: *Doktorandská dizertačná práca*. Ústav geotechniky SAV, Košice 2007.
- Given P. H.: *Prog. Energy Combust.* 10, 149 (1984).
- Given P. H.: Gorbaty M. L., Larsen J. W., Wender I. (ed.): *Coal Science* 3. Academic Press, New York 1984.
- Given P. H., Marzec A., Barton W. A., Lynch L. J., Gerstien B. C.: *Fuel* 65, 155 (1986).
- Solomon P. R., Best P. E., Yu Z. Z., Charpenay S.: *Energ. Fuel* 6, 143 (1992).
- Haenel M. W., Collin G., Zande, M.: *Erdöl Erdgas Kohle* 105, 71 (1989).
- Speight J. G.: *The Chemistry, Technology of Coal*. Marcel Dekker, New York 1994.
- Sheng G., Simoneit B. R. T., Lief R. N., Chen X., Fu J.: *Fuel* 71, 523 (1992).
- Zubrik A., Lauková A., Gábelová A., Valovičová Z., Turčániová E., Cvačka J.: *Chem. Listy* 102, 534 (2008).
- Zubrik A., Turčániová L., Ježová V., Čuvanová S., Skybová M.: *J. Alloys Compd.* 434-435, 837 (2007).
- Welham J., Chapman P. G.: *Fuel Process. Technol.* 68, 75 (2000).
- Hredzák S.: *Gospod. Surowcami Miner.* 15, 221 (1999).
- Zubrik A., Hredzák S., Turčániová E., Lovás M., Bergmann I., Becker K. D., Lukčová M., Šepelák V.: *Fuel* 89, 2126 (2010).
- Czechovski F., Stolarski M., Simoneit B. R. T.: *Fuel* 81, 1933 (2002).
- Zubrik A., Šaman D., Vašíčkova S., Simoneit B.R.T., Turčániová E., Lovás M., Cvačka J.: *Org. Geochem.* 40, 126 (2009).
- Chung I. M., Ali M., Hahn S. J., Siddiqui N. A., Lim Y. H., Ahmad A.: *Chem. Nat. Compd.* 41, 182 (2005).
- Rezende M. C., Urzua A., Bortoluzzi A. J., Vasquez L.: *J. Ethnopharmacol.* 72, 459 (2000).
- Hou A. J., Zhao Q. S., Li M. L., Jiang B., Lin Z. W., Sun H. D., Zhou Y. P., Lu Y., Zheng Q. T.: *Phytochemistry* 58, 179 (2001).

A. Zubrik^a, M. Lovás^a, S. Dolinská^a, S. Hredzák^a, E. Turčániová^a, J. Cvačka^b, and V. Vrkoslav^b (*^aInstitute of Geotechnics, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic, ^bInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*): **Extraction Processes in Isolation of Diterpenes from Coal**

The paper deals with the extraction of a tetracyclic diterpene from Slovak sub-bituminous coal. The extraction procedures used were Soxhlet, microwave-assisted, low-temperature supercritical fluid and high-temperature supercritical fluid (HSFE). The yield of the diterpene fraction containing 82.5 % of 16a(*H*)-phyllocladane was used to determine the efficiency of extraction procedures. HSFE seems to be the best though demanding procedure. The yield of the diterpene fraction obtained by Soxhlet and microwave-assisted extraction was 0.386 % and 0.254 %, respectively. Microwave-assisted extraction is much shorter compared with the other ones (min vs. days).