

## 1. Doel van die ondersoek

### 1.1. Inleiding

Francisco Hernández, in opdrag van Koning Phillip II van Spanje om die medisinale plante van "Nuwe Spanje" te gaan bestudeer, het die gebruike, name en botaniese eienskappe van meer as 3000 verskillende plante tussen 1570 en 1576 opgeteken. Hernández se werk is verskeie kere sedert 1587 in Latyn en Spaans gepubliseer. In die Latynse uitgawe van 1651 word verwys na die medisinale gebruike van 'n plant wat bo alle redelike twyfel *Lippia dulcis* Trev. is (Compadre, Robbins *et al*, 1986).

Bg. voorbeeld dien ter illustrasie van die intensiewe medisinale benutting van die plantgenus *Lippia* Hout. (familie *Verbenaceae* Juss.) deur die eeue oor die wêreld heen, bv. die Amerikas (Maisch, 1885) en Afrika (Kokwaro, sine anno; Ayensu, 1978).

Gedrag- en ekologiese studies wat vir meer as 22 jaar in Tanzanië se Mahale Nasionale Park uitgevoer is toon dat selfs diere hierdie plantgenus medisinaal benut. Gedurende hierdie tydperk is voldoende bewyse verkry dat die Mahale en Gombe sjimpansees van Westelike Tanzanië spesifieke plante as medisyne aanwend, waaronder *Lippia plicata* Baker (Takasaki & Hunt, 1987).

In Suider-Afrika word verskeie *Lippia* spesies medisinaal gebruik (Watt & Breyer-Brandwijk, 1962). Só word die na-endemiese *Lippia scaberrima* Sond. (Beukesbossie) reeds eeue lank deur verskeie bevolkingsgroepe in Suid-Afrika benut. Hierdie wydverspreide tradisionele aanwendings het gelei tot 'n ondersoek na die medisinale potensiaal van *L. scaberrima* met spesifieke verwysing na die essensiële olie-inhoud daarvan (Terblanché, 1995). Die studie het aangetoon dat die essensiële olie van *L. scaberrima* oor besliste antifungale aktiwiteit teen *Candida albicans* beskik, maar aktiewe komponent(e) is nie geïsoleer nie.

## **1.2.Probleemstelling**

### **1.2.1.Essensiële olie**

#### **1.2.1.1.Karakterisering van die essensiële olies**

Daar bestaan geen metode wat die absolute essensiële olie-inhoud van botaniese materiaal kan bepaal nie (Franklin & Keyzer, 1962; Whish, 1996). Ten einde die effektiwiteit van enige (nuwe) produksiemetode te bepaal moet die produk daarvan vergelyk word met dié verkry deur gebruikmaking van 'n bestaande produksiemetode soos waterdistillasie (Whish, 1996).

Essensiële olies wat verkry word vanuit voorheen onbekende biologiese bronne (soos in dié geval), moet fisies en chemies gekarakteriseer word ten einde standarde daar te stel waarvolgens olie vervaardig kan word. Fisiese en chemiese eienskappe van watergedistilleerde olie van *L. scaberrima* is vergelyk met olie verkry deur enkelladingsmikrogolfdistillasie ten einde te bepaal waar oliesamestellingsverskille gesetel is. Hier verteenwoordig waterdistillasie 'n algemeen toegepaste olie- ekstraksiemetode en mikrogolfdistillasie die gekose metode vir uiteindelijke produksie.

Vir bepaling van die eienskappe is die Internasionale Standaard Organisasie (ISO) se riglyne vir essensiële olies so noukeurig as moontlik gevolg. Deur die twee produksiemetodes só te vergelyk is 'n variasie op die klassieke essensiële olie vervaardigingsproses teenoor waarskynlik die mees moderne vervaardigingsmetode gestel. Insig aangaande die invloed van mikrogolfstraling op essensiële olies vloei voort vanuit vergelyking van die twee produksiemetodes se produkte.

Waardes vir die fisiese en chemiese eienskappe geld slegs vir dié bepaalde plantpopulasie waarvan monsters geneem is tydens die ondersoek. Geografiese verspreiding en klimatologiese wisselings het 'n beslisse invloed op die samestellings van essensiële olies. Die eksperimentele waardes bied egter goeie aanduidings van ordegroottes wat die waardes van bepaalde eienskappe oor die verspreidingsgebied heen kan aanneem. Sodanige ondersoek is, sover bekend, nog nooit

op 'n Suid-Afrikaanse *Lippia* spesie uitgevoer nie.

Geen standaardspesifikasie(s) is daargestel nie, alhoewel die metodes wat gevolg is toegepas kan word oor 'n gekose verspreidingsgebied van die plant ten einde sodanige spesifikasie te skryf. Die doel met hierdie deel van die ondersoek was slegs om produkte verkry met twee essensiële olie produksiemetodes te vergelyk op grond van die volgende fisiese en chemiese eienskappe:

- Vriespunt
- Kookpuntgebied
- Soortlike gewig
- Refraksie-indeks
- Viskositeit
- Optiese rotasie
- pH
- Mengbaarheid met etanol
- Fenol-inhoud
- Karbonielgetal
- Suurgetal
- Estergetalle (voor en na asetilering)
- Inhoud van vry en totale alkohole
- Residu na verdamping

Gaschromatografiese en massaspektroskopiese (GC/MS) ondersoeke op water- sowel as mikrogolgedistilleerde essensiële olies van *L. scaberrima* is in die literatuur (Terblanché, 1995; Terblanché, Kornelius *et al*, 1998) beskikbaar.

#### **1.2.1.2. Enkelladingsmikrogolfdistillasie**

Die klassieke metode om essensiële olies te herwin vanuit biologiese materiaal is stoomdistillasie. 'n Variasie van stoomdistillasie, nl. waterdistillasie, is vergelyk met enkelladingsmikrogolfdistillasie t.o.v. olie obrengste verkry vanuit *L. scaberrima* (Terblanché,

1995).

Klassieke essensiële olie herwinningstegnieke se mees ernstige tekortkominge kan gevind word in die mate van tegnologiese ontwikkeling wat beskikbaar was toe sodanige prosesse as produksiemetodes aanvaar is. Met tegnologiese ontwikkeling het verskeie variasies van stoomdistillasie ontstaan. Voordele van essensiële olie herwinning m.b.v. mikrogolwe in vergelyking met ander produksiemetodes is in die literatuur beskryf (Terblanché, 1995:38–39). Bv., die ekstraksietyd benodig kan tot duisendvoudig verminder word in vergelyking met konvensionele ekstraksiemetodes (Terblanché, 1995:38).

Literatuur oor die herwinning van essensiële olies m.b.v. mikrogolwe is uiters beperk aangesien hierdie toepassing van mikrogolfstraling relatief nuut is. Die meeste artikels vergelyk mikrogolfekstraksie bloot met 'n ander ekstraksieproses (bv. Soxhlet ekstraksie) t.o.v. opbrengste verkry en/of tydsduur benodig (Terblanché, 1995:35–39; Chen & Spiro,1994). 'n Verdere rede is dat slegs 'n klein aantal wetenskaplikes mikrogolfekstraksietegnologie verbandhoudend met biologiese materiaal ondersoek.

Die doel van hierdie ondersoeksegment is identifisering en bestudering van veranderlikes wat 'n belangrike invloed uitoefen op die verkryging van maksimum olie-opbrengs tydens enkelladingsmikrogolfdistillasie. Die volgende veranderlikes is ondersoek:

- Irradiasietydsduur
- Verhouding water (oplosmiddel) tot plantmateriaal gebruik
- Voginhoud van plantmateriaal net voor distillasie
- Hersirkulering van afgedistilleerde water
- Fisiese grootte van die ekstraheerbare materiaal
- Byvoeging van 'n oppervlakspanningsmodifiseerder
- Voorafbehandeling van plantmateriaal nl. weking
- Ladingsgrootte
- Distillasiekinetika
- Alternatiewe oplosmiddel

Die volgende veranderlikes, wat wel as sodanig geïdentifiseer is, is om bepaalde redes nie ondersoek nie:

- 'n Huishoudelike tipe mikrogolfoond is gebruik a.g.v. verskeie redes, waaronder die kapitaaluitleg verbonde aan 'n industriële mikrogolfoond. Aangesien essensiële olies hoë waarde lae volume produkte is en relatief min produk benodig word vir enige gegewe toepassing, is 'n huishoudelike mikrogolfoond meer geskik as die industriële tipe vir kleinskaalvervaardiging.
- Die mikrogolffrekwensie ondersoek (2450 MHz) is deur die vervaardiger van die oond gespesifiseer.
- Die invloed van die verspreidingsgebied van die plant t.o.v. oliesamestelling en/of olie-opbrengs is nie ondersoek nie. Slegs plante verteenwoordigend van 'n klein gebied is gebruik om interpretasie van resultate te vereenvoudig.
- Klimatologiese en geografiese veranderlikes soos die seisoenale variasie wat met oestyd gepaard gaan is nie bestudeer nie aangesien die invloed van hierdie veranderlikes beperk is tot kommersiële belang en nie bydra tot die effektiwiteit van distillasietoerusting nie. Soortgelyk is geen bergingsveranderlikes ondersoek nie.
- Verskillende posisies van die distillasieapparaat binne die mikrogolfoond tydens enkelladingsbedryf sowel as die geometrie van die apparaat is nie bestudeer nie. Indien hierdie twee veranderlikes ondersoek wil word sal die elektromagnetiese eienskappe van mikrogolfstraling deeglik bestudeer moet word en aanbevelings dan vanuit 'n teoretiese benadering verskaf moet word, wat buite die bestek van die ondersoek val.
- Die aard van die oplosmiddelpolariteit is grootliks beperk tot dié van water omrede water gebruik is a.g.v. o.a. farmaseutiese vereistes en gesondheidsredes.
- Die bedryfsdruk was deurgaans die heersende atmosferiese druk in Pretoria.
- Lugdroë *L. scaberrima* plantmateriaal is in die ondersoek gebruik as gevallestudie en die interpretasie van resultate is ooreenkomstig die eienskappe van hierdie plantmateriaal uitgevoer. Die apparaat is met geen ander biologiese materiaal geëvalueer nie alhoewel dit tot 'n groot mate algemeen toepaslik is.

Om die veranderlikes wat 'n invloed het gedurende distillasie te ondersoek is die enkelladingseksperimente uitgevoer; die resultate verkry is gebruik om bedryfsveranderlikes vir kontinue mikrogolfdistillasieapparaat te kwantifiseer.

### **1.2.1.3.Kontinue mikrogolfdistillasie**

Tydens enkelladingsbedryf is verskillende veranderlikes afsonderlik ondersoek en optima vir elkeen só bepaal. Hierdie inligting is gebruik om aanbevelings te maak rondom kontinue mikrogolfdistillasie vir die herwinning van essensiële olies. Slaggate tydens die ontwerp en bou van 'n prototipe kontinue apparaat is geïdentifiseer en geanaliseer. Bv., om 'n prototipe vanaf 'n huishoudelike tipe mikrogolfoond te bou is nie haalbaar as van 'n hoogs polêre oplosmiddel soos water gebruik gemaak wil word nie a.g.v. die termiese effektiwiteit van sodanige oonde, afsnygolfgeleierdiameter, ens. Geen kontinue mikrogolfdistillasieapparaat is eksperimenteel geëvalueer nie.

Vir enige spesifieke biologiese materiaal kon die invloed van 'n aantal belangrike mikrogolfdistillasie veranderlikes, afsonderlik bestudeer en vergelyk met olie-opbrengs of -kwaliteit, nie in die literatuur gevind word nie. Inligting rakende moontlike teenstrydige effekte van verskillende veranderlikes in mikrogolfsisteme kon ook nie opgespoor word nie. Geen lys van die veranderlikes betrokke tydens essensiële olie herwinning vanuit plantmateriaal m.b.v. enige produksiemetode kon gevind word nie, alhoewel individuele veranderlikes wel deur sekere navorsers as sodanig geïdentifiseer is. Sodanige ontwikkelingswerk is noodsaaklik vir suksesvolle ontwerp en vervaardiging van kontinue mikrogolfdistillasieapparaat, en hierdie studie poog om daardie leemte te vul.

Mikrogolfdistillasie as produksiemetode van essensiële olies kan 'n waardevolle bydrae lewer tot die benutting van essensiële olies in medisynepreparate of as smaak- of geurmiddels.

#### 1.2.1.4. Benutting van die olie

Suid-Afrika beskik oor talryke plantspesies waarvan die essensiële olies moontlike kommersiële potensiaal besit (Van der Riet, 1933; Piprek, Graven *et al*, 1982; Terblanché, 1995). In 1932 is alreeds meer as 15 kg boegoe-olie uit die R.S.A. uitgevoer (Van der Riet, 1933).

Met die huidige oplewing in die verkope en aanwending van medisyne van botaniese oorsprong (Rawls, 1996) raak die benutting en ekstrahering van o.a. essensiële olies al hoe belangriker. In die essensiële olie van *Lippia multiflora* is bv. verbindings wat oor antimalaria-aktiwiteit beskik (Valentin, Pelissier *et al*, 1995). Al hoe meer gebruike vir essensiële olies word ook gevind bv. benutting van oliekomponente as natuurlike antioksidante is *in vitro* geëvalueer (Dorman, Deans *et al*, 1995). Bg. bevestig die steeds groeiende aanvraag na voorheen onbekende of onbenutte essensiële olies en die medisinale moontlikhede van *L. scaberrima* olie moet deeglik bepaal word.

Die essensiële olie afkomstig vanaf *L. scaberrima* staan sentraal tot verskeie potensiële gebruike van die plant, en dit mag derhalwe ekonomies belangrik wees in die toekoms a.g.v. benutting daarvan as samestellende komponent in die volgende:

- Lugverfrisserformulerings.
- Handreiniger- en algemene skoonmaakmiddelformulerings.
- Antiseptiese middels.
- Skoonheids- en velsorgprodukte vir die gesondheidsbewuste, t.w. room, salf, vogmiddels, sjampoe, tandepasta, ens.
- 'n Oplossing waarin hout- en keramiek eetgerei geweek word om 'n skoon, vars geur daaraan te verleen.
- Gedroogde blare en/of blomhofies of die olie kan toegevoeg word as smaak- of geurmiddel vir koffie, botter, roomkaas en vleisgerigte.
- 'n Mondspoelmiddel vir aanwending teen *Candida albicans* infeksies kan klinies geëvalueer en as farmakologiese geneesmiddel geregistreer word. 'n Room vir topikale vaginale aanwending kan ook vervaardig en bemark word.

- Dit kan dien as bron van 'n (gesuiwerde) oliekomponent wat daarin voorkom (Terblanché, 1995), bv. sineool, limoneen, endo-borneol, ens.
- Dit kan vermeng word saam met ander welriekende verbindings in die parfuumbedryf.
- As komponent van insekafweermiddels teen bv. muskiete.
- As preserveermiddel vir o.a. voedsel.

Al bg. toepassingsmoontlikhede van die olie is nie ondersoek nie ten einde te verhoed dat bemarking deel van die ondersoek word. Die ander Suid-Afrikaanse *Lippia* spesies kan verder bestudeer word om te bepaal of sodanige olies nie meer/ook geskik sal wees vir bg. toepassings nie.

### 1.2.2.Kruietee

Verskeie *Lippia* spesies word oor die wêreld heen as tee benut, bv. *L. scaberrima* in Suid-Afrika (Terblanché, 1995), *L. pseudo-thea* Schau. in Brasilië (Hedrick, 1972), *L. citriodora* Kunth. regdeur Afrika (Thonner, 1915; Van Wijk, 1986) en *L. javanica* (Burm. F.) Spreng. in Suid-Afrika (Van Wijk, 1986).

As verdere voorbeeld van die ekonomiese potensiaal van *L. scaberrima* is 'n geskikte vervaardigingsmetode vir die bereiding van tee ontwikkel. Tee berei van hierdie plant word tradisioneel veral deur Tswanas en Blankes geniet (Terblanché, 1995).

Omrede elke plant waarvan 'n tee gemaak wil word uniek is, moet die vervaardigingsproses vir 'n nuwe tee eksperimenteel bepaal word. Dit behels o.a. die bepaling van toepaslike waardes vir die veranderlikes wat betrokke is, bv. drogingstyd, fermentasietyd, ens. Die gewaarwording dat 'n tee aangenaam is, is 'n uiters subjektiewe bepaling, en soveel te meer vir 'n onbekende produk. Hier word gevolglik nie na 'n optimum vervaardigingsmetode verwys nie, aangesien sodanige optimum metode jare van intensiewe navorsing en voortdurende verbetering sal verg. Daar word slegs bedoel dat verskillende vervaardigingsmetodes ondersoek is en dat geskikte gebiede vir die betrokke veranderlikes geïdentifiseer is, sover moontlik.



Die vervaardiging van die tee was daarop gemik om 'n aanvaarbare produk te verkry. Die doel was nie om die mees bemerkbare tee te vervaardig nie, aangesien behoorlike marknavorsing en terugvoering oor bv. die organoleptiese kwaliteit nodig is vir sodanige studie. *L. scaberrima* tee word al eeue lank tradisioneel benut, en daar wou o.a. bepaal word of die tradisionele bereidingsmetode die enigste aanvaarbare produksiemetode is. Die tee vervaardiging vanaf *L. scaberrima* uitgevoer in hierdie studie word gesien as eerste iterasie vir die verkryging van 'n kommersieel haalbare tee.

Geen chemiese karakterisering van *L. scaberrima* tee het plaasgevind nie, en geen in diepte ondersoek rakende die chemiese samestelling daarvan is uitgevoer nie. Daar sal uiteraard eers op 'n geskikte vervaardigingsmetode besluit moet word, waarna die kafeïeninhoud, fluoriedinhoud, ens. van die resulterende tee bepaal kan word. Die takson se alkaloïed- en tannieninhoud is reeds bepaal (Power & Tutin, 1907).

Aangesien kliniese toetse om die medisinale moontlikhede van 'n tee te bevestig omvattend en duur is, is 'n ander roete gevolg om beperkte medisinale potensiaal van die tee te bewys. 'n Ekstrak is bv. ondersoek t.o.v. anti-fungale aktiwiteit sowel as sitotoksiteit. Sitotoksiteit is waarskynlik die belangrikste veranderlike wat die tee se kommersiële potensiaal en bemerkbaarheid bepaal; dus is bepaling daarvan vroeg uitgevoer.  $\beta$ -Karoteen byvoegings is gedoen ten einde kleurmanipulering van die tee's te ondersoek.

Sensoriese beoordeling van die tee met statistiese ontleding daarvan is in beperkte mate uitgevoer m.b.t. die eienskappe aroma, kleur en smaak van die verskillende bereide tee's.

### **1.2.3.Ander benuttingsmoontlikhede**

Bo en behalwe tradisionele medisinale aanwendings (Terblanché, 1995) en gebruike genoem in paragrawe 1.2.1.4. en 1.2.2., kan die takson as volg benut word:

- As sierlike tuinplant, in gebiede waar dit sal vestig. Die geurige aard van *L. scaberrima* en die feit dat dit 'n meerjarige kruid is maak dit uiters geskik hiervoor.

- In 'n kruietuin.
- Uitgedistilleerde plantmateriaal kan as kompos verwerk word, veral omrede die essensiële olie verwyder is en afbraak daarvan vinniger sal plaasvind.
- Blare en/of blomhofies as toevoegings gemaak tot potpourri. Dit kan dien as geurmiddel vir linne, en word reeds in beperkte mate op die platteland uitgevoer (Palmer, 1985:49). Hierby word mottesakkies, kruiekussings, ens. ingesluit.
- Die moontlikhede as geur- en/of smaakmiddel m.b.t. voedsel is bykans onbeperk, bv. kruiebrood, kruiejellie, kruie-olie, slaai-olie, kruie-asyne, kruieslaai, in kaas, sous, pasteideeg, sop, ens.
- Gedroogde plante kan benut word in blommeranskikkings.
- 'n Kruie-likeur kan daarvan berei word.

Al bg. benuttingsmoontlikhede kan vanselfsprekend nie bestudeer en behandel word nie, maar daar is gepoog om haalbare projekte en/of produkte te identifiseer waar slegs 'n mate van ontwikkelingswerk nodig geag is voordat bemarking in aanvang kan neem. Enkele van bogemelde gebruike kan geïdentifiseer en ekonomies gerealiseer word terwyl verdere moontlikhede voortdurend ondersoek word.

Die kommersiële benutting van *L. scaberrima* hang af van die inisiatief en motivering van die individu wat sodanige projek bestuur, omrede die moontlikhede bykans onbeperk is en die fondasie van wetenskaplike ondersoek reeds gelê is.