

Dariusz Łukaszyński

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności AR w Poznaniu

Zastosowanie technologii nadkrytycznych do ekstrakcji i analizy produktów spożywczych oraz substancji aktywnych biologicznie

Reakcje w warunkach nadkrytycznych znajdują coraz szersze zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, o czym może świadczyć wzrastająca liczba publikacji poświęconych tej problematyce. W ostatnich 10 latach pojawiło się także wiele artykułów na ten temat w czasopismach ekonomicznych [25].

Zainteresowanie procesami w warunkach nadkrytycznych związane jest z poszukiwaniem czystych, nietoksycznych technologii separacyjnych. Zastosowanie takiej proekologicznej technologii, zwłaszcza w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym, może istotnie poprawić właściwości żywieniowe oraz funkcjonalne produktu.

Już 170 lat temu baron Charles Cagniard de la Tour odkrył, że powyżej określonej temperatury pewne pojedyncze substancje nie ulegają ani procesowi parowania, ani kondensacji, lecz występują w formie specyficznego płynu [8]. Z czasem dla punktu, w którym ów stan powstaje (punkt krytyczny), zostały dokładnie określone wartości temperatury i ciśnienia.

Intensywne studia nad płynami w warunkach nadkrytycznych, prowadzone od lat sześćdziesiątych, doprowadziły do wyodrębnienia się dwóch podstawowych zastosowań [18]:

- ekstrakcji nadkrytycznej (SFE, Supercritical Fluid Extraction),
- chromatografii nadkrytycznej (SFC, Supercritical Fluid Chromatography).

Ekstrakcja nadkrytyczna ma wiele interesujących właściwości, istotnych dla procesów separacyjnych.

- 1) jest szybka, gdyż charakteryzuje się lepszym transferem masy, spowodowanym wyższą dyfuzyjnością i niższą lepkością nadkrytycznego płynu;
- 2) właściwości rozpuszczające nadkrytycznego płynu mogą być łatwo kontrolowane, albowiem rozpuszczalność zależy od temperatury i ciśnienia użytego do ekstrakcji płynu;
- 3) wiele związków stosowanych w ekstrakcji nadkrytycznej jest gazami, co niezmieśnie ułatwia proces separacji rozpuszczonego czynnika z ekstrahentu, a w chromatografii upraszcza proces analizy;

- 4) Niektóre związki stosowane jako ekstrahenty (np. CO₂) są szczególnie korzystne ze względu na istotne cechy prośrodowiskowe [13, 18].

Właściwości CO₂ przydatne w procesach prowadzonych w warunkach nadkrytycznych

Związkiem, który z pewnością może pretendować do miana rozpuszczalnika XXI wieku, jest dwutlenek węgla. Wśród wielu różnorodnych rozpuszczalników jako jedyny charakteryzuje się brakiem toksyczności, co w połączeniu z innymi cechami, jak niska temperatura krytyczna i niska cena, decyduje o jego potencjalnej wysokiej użyteczności w przemyśle rolno-spożywczym.

Temperatura krytyczna CO₂, wynosząca 31,1°C, jest dostatecznie niska dla przeprowadzania procesów separacji termowrażliwych substancji. Ta cecha CO₂ jest też szczególnie korzystna dla przebiegu reakcji enzymatycznych w warunkach nadkrytycznych, np. interestryfikacji triacylogliceroli [7].

Typowe procesy ekstrakcyjne prowadzone są z użyciem różnorodnych rozpuszczalników petrochemicznych. Zawierają one w swym składzie wiele substancji mutagennych i kancerogennych. Z tego też powodu ekstrakcja w nadkrytycznym CO₂ wydaje się być idealnym procesem przydatnym w przemyśle rolno-spożywczym oraz farmaceutycznym.

W literaturze światowej wiele uwagi poświęcono procesom ekstrakcji barwników oraz substancji zapachowych z ziół i przypraw [5, 20, 22], separacji wolnych kwasów tłuszczowych z oleju rybiego [15], ekstrakcji i separacji glicerydów [3, 11, 15], separacji lecytyny z oleju sojowego [27, 35, 36], ekstrakcji cholesterolu z masła, słoniny, łożu i jaj [4, 25], frakcjonowaniu komponentów z olejów i tłuszczu [11, 12], dekofeinacji kawy [25, 29] oraz ekstrakcji chmielu [10, 25, 29].

Ekstrahowano także metabolity roślinne, takie jak: mevinolin [20], β-karoten [23] czy też ergosterol z grzybów [40].

Prowadzone są badania nad rozpuszczalnością i ekstrakcją takich naturalnych produktów, jak sterydy, alkaloidy, substancje o działaniu antynowotworowym, oleje roślinne i zwierzęce oraz kofeina [25]. Nadkrytyczne CO₂ testowany był także do ekstrakcji substancji toksycznych z żywności np. dioksyn z oleju ryb [16].

Dwutlenek węgla, jako rozpuszczalnik nadkrytyczny, posiada właściwości pośrednie pomiędzy właściwościami cieczy i gazu. W stanie nadkrytycznym CO₂ jest zasadą Lewisa o tendencjach protonowo-akceptorowych, co umożliwia oddziaływanie z wieloma substancjami [37]. Stwierdzono, że w miarę powiększania się liczby grup hydroksylowych i karboksylowych rozpuszczalność danej substancji w CO₂ maleje [33]. Efekt ten jest bezpośrednio związany z silnymi oddziaływaniami typu roztwór-roztwór, które nie mogą być przełamane przez CO₂. Duża liczba wiązań

wodorowych, występujących w cukrach i aminokwasach, nie pozwala więc na ekstrakcje tego typu związków w nadkrytycznym CO₂. Aby polepszyć polarność CO₂ (jako rozpuszczalnika), dodaje się do niego modyfikatory polarne, np. alkohol etylowy [11, 32]. Modyfikator wzmacnia zdolności rozpuszczające płynu nadkrytycznego, a tym samym rozszerza spektrum związków podlegających procesom ekstrakcyjnym w nadkrytycznym CO₂.

Wybrane przykłady zastosowania nadkrytycznego CO₂

Istniejące obecnie zakłady przemysłowe, używające technologii nadkrytycznych, umiejscowione są przede wszystkim w Europie Zachodniej i USA. Należą do nich HAG/General Foods, SKW Chemicals oraz Barth Hopfenextraction z Niemiec, specjalizujące się w procesach dekofeinacji kawy i herbaty oraz ekstrakcji chmielu, przypraw i substancji zapachowych. Technikę ekstrakcji nadkrytycznej w USA stosują Philip Morris, Kraft-General Foods and Pfizer Inc., zajmujące się ekstrakcją nikotyny z tytoniu, dekofeinacją kawy oraz ekstrakcją żywic chmielowych dla browarnictwa. Zakłady używające technik nadkrytycznych znajdują się także w Wielkiej Brytanii, Włoszech, Australii [5]. W Polsce jedyna instalacja laboratoryjna do ekstrakcji nadkrytycznej substancji naturalnych znajduje się w Instytucie Inżynierii Chemicznej PAN w Gliwicach (10).

Mimo intensywnych badań, poświęconych ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych, jedynie dwa procesy znalazły szersze zastosowanie komercyjne: dekofeinacja kawy i herbaty oraz ekstrakcja żywic chmielowych z chmielu [29].

Technologia procesu dekofeinacji oparta jest na recyrkulacji dwutlenku węgla w systemie naczyń ekstrakcyjnych i absorpcyjnych. Suchy CO₂ nie jest wystarczający dla właściwego przebiegu ekstrakcji, dlatego też kawa przed procesem ekstrakcji nawilżana jest wodą. Woda działa jako czynnik destabilizujący wewnętrzną strukturę kawy, tworzoną przez kwas chlorogenowy [25]. Redukcja dotyczy zawartości kofeiny z 0,7–3% do 0,02%, bez wpływu na aromat i barwę kawy.

Pozyskiwanie ekstraktu żywic chmielowych jest drugą szerzej stosowaną technologią, wykorzystującą nadkrytyczny CO₂ jako medium ekstrakcyjne. W konwencjonalnych procesach ekstrakcyjnych jako rozpuszczalnik stosowany jest dichlorometan lub chlorek metylenu. Konsekwencją tego jest konieczność usunięcia resztek rozpuszczalnika przez odparowanie. Zastosowanie nadkrytycznego CO₂ ułatwia odzyskanie kofeiny z rozpuszczalnika, co osiąga się przez redukcję ciśnienia. Technologia ekstrakcji żywic chmielowych polega na zmieleniu szyszek chmielowych i uformowaniu z nich granulek, które umieszczone w ekstraktorze poddawane są działaniu nadkrytycznego CO₂. Otrzymany ekstrakt zawiera 99% żywic chmielowych zawartych w chmielu [14, 29].

Oprócz powyższych zastosowań opublikowano szereg danych, odnoszących się do badań przeprowadzanych w skali laboratoryjnej oraz półtechnicznej z użyciem innych surowców, których ekstrakcja składników oraz ich analiza w warunkach nadkrytycznych wydaje się być szczególnie interesująca. Jednym z ważnych zastosowań jest ekstrakcja olei jadalnych.

Zastosowanie nadkrytycznego CO₂ dla ekstrakcji oleju w porównaniu z tradycyjnie używanymi rozpuszczalnikami, np. heksanem, daje wiele korzyści. Przede wszystkim eliminuje się występowanie toksycznych pozostałości rozpuszczalnika oraz zastępuje energochłonną destylację prostym zbieraniem ekstraktu na zasadzie redukcji ciśnienia, wskutek czego dochodzi do wytracenia się ekstrahowanego składnika.

Rozpuszczalnik jest regenerowany i przeprowadzony ponownie w stan nadkrytyczny, wraca do ekstraktora, a wydzielona substancja jest usuwana z komory separacyjnej [10]. Ma to także istotne znaczenie w kontekście ograniczenia procesów utleniających. W produkcji oleju sojowego proces ekstrakcji poprzedzony jest rozdrobnieniem nasion soi, które umieszcza się w kolumnie ekstrakcyjnej, po czym przepuszcza się CO₂. Mieszanina CO₂ – olej po opuszczeniu kolumny rozpręża się, w wyniku czego oddziela się olej sojowy, natomiast CO₂ zostaje ponownie sprężony i skierowany do obiegu. W temperaturze 80°C i pod ciśnieniem 825 barów dwutlenek węgla i triacyloglicerole z soi stają się wzajemnie rozpuszczalne. Odzyskanie oleju następuje przez redukcję ciśnienia jedynie o 70–140 bar [25].

Nadkrytyczny CO₂ był także testowany w procesach ekstrakcji innych olei roślinnych, np. z nasion słonecznika, rzepaku, zarodków pszennych i kukurydzianych, oliwek i orzechów ziemnych [25, 29].

Liczne badania przeprowadzono także nad ekstrakcją i separacją olejów rybich. Stanowią one szczególnie bogate źródło wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Badania kliniczne dowiodły znaczenia diety rybnej, zwłaszcza dla osób cierpiących na schorzenia układu krążenia. Badania te odnoszą się głównie do dwóch kwasów wielonienasyconych, tj. kwasu eikosopentainowego (EPA) oraz dokosoheksainowego (DHA). Oba kwasy mają wysoki stopień nienasycenia, lecz w wyniku tradycyjnej obróbki, przeprowadzanej pod wysokim ciśnieniem i w wysokiej temperaturze, może dochodzić do degradacji tych związków. Przeprowadzenie ekstrakcji olejów w warunkach nadkrytycznych oprócz ochrony przed degradacją zapewnia także możliwość koncentracji EPA, nawet do 95% [25, 39].

Problematyce rozpuszczalności poszczególnych kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli poświęcono wiele publikacji [11, 15]. Badania obejmują również ekstrakcje polarnych lipidów (fosfatydylocholina) za pomocą dwutlenku węgla wzbogaconego o modyfikator (5-procentowy etanol) [31].

Enzymatyczne reakcje w nadkrytycznym CO₂

Faza ciekła nadkrytycznego CO₂ może być zastosowana jako medium dla reakcji enzymatycznych. Do zalet tego medium należą: dobra dyfuzyjność oraz lepkość zbliżona do gazów, co prowadzi do znacznego polepszenia kontaktu substratu z enzymem.

Biokatalizatory i produkty reakcji enzymatycznych odznaczają się dużą termolabilnością. Temperatura krytyczna CO₂ (31,1°C) jest na tyle niska, że umożliwia prace z wieloma termowrażliwymi enzymami [7].

Reakcje enzymatyczne w nadkrytycznym CO₂ są intensywnie badane od 1985 roku, kiedy to Nakamura przeprowadził interesteryfikację triacylogliceroli za pomocą lipazy [24]. Według niektórych autorów możliwości wykorzystania nadkrytyczności w reakcjach enzymatycznych napotykają jednak pewne ograniczenia. Taniguchi [33] stwierdził niestabilność lipazy w nadkrytycznym CO₂, zawierającym etanol jako modyfikator procesu. Randolph [28] testował oksydazę cholesterolową i wykazał jej szybką dezaktywację termiczną. Rezultaty badań wskazują, że utrata aktywności enzymatycznej w nadkrytycznym CO₂ może być spowodowana termiczną denaturacją w nadmiernie wilgotnym środowisku. Kasche [19] sugeruje inny mechanizm deaktywacji, według którego strukturalne zmiany białek są powodowane przez zbyt szybki proces rozprężania CO₂. Pomimo pewnych trudności część badaczy wyjątkowo pozytywnie ocenia efekty uzyskiwane poprzez przeprowadzanie reakcji enzymatycznych w nadkrytycznym CO₂ [11, 21, 24, 33]. Dla przemysłu rolno-spożywczego mogą być również interesujące badania nad enzymatyczną hydrolizą skrobi w nadkrytycznym CO₂ [21], frakcjonowanie i separacja olejów oraz tłuszczów w celu wyodrębnienia najwartościowszych składników [11, 12, 15] czy też oczyszczanie biologi-

Tabela 1. Wybrane reakcje enzymatyczne w nadkrytycznym CO₂ [8]

Proces	Substraty	Enzym
Utlenianie	cholesterol	oksydaza cholesterolowa
	4-chlorofenol	oksydaza polifenolowa
Estryfikacja	kwasy laurowy – butanol	lipaza
	kwasy mirystynowy – etanol	lipaza
	kwasy oleinowy – etanol	lipaza
Interesteryfikacja	kwasy stearynowy – trójoleinian	lipaza
	kwasy palmitynowy – trójlauryl	lipaza
Transestryfikacja	octan etylu – alkohol isoamylowy/nonylowy	lipaza
	kwasy asparaginowy – estry L-feniloalaniny	termolizyna
	etanol – ester N-acetylo L-feniloalaniny chlo-roetylu	subtylizyna

cznie czynnych substancji [17]. Istotnym czynnikiem ograniczającym rozwój tego typu procesów może okazać się wysoki koszt inwestycji aparaturowych.

Chromatografia w warunkach nadkrytycznych

Obiecująco wygląda połączenie ekstrakcji i technik chromatograficznych do analiz różnorodnych związków (zwłaszcza termolabilnych) w warunkach nadkrytycznych.

Popularność płynów nadkrytycznych w badaniach analitycznych stopniowo wzrasta. Sprzyja temu szereg zalet tych metod, jak redukcja czasu przygotowywania próbek i samej analizy oraz małe zużycie rozpuszczalnika. Analiza przeprowadzana jest w sposób bezpośredni. Dzięki temu możliwość zakażenia próbek w trakcie procesu minimalizuje się. Istnieje także możliwość frakcjonowania substancji w trakcie kolekcjonowania próbek.

Ekstrakcje w warunkach nadkrytycznych można łączyć z różnymi technikami chromatograficznymi, jak chromatografia cienkowarstwowa, gazowa, nadkrytyczna, HPLC [13, 36].

Chromatografia nadkrytyczna staje się popularną techniką badawczą. Oprócz zastosowań przedstawionych w tabeli 2 metoda ta została wykorzystana do analizy kwasów tłuszczowych i ich estrów u grzybów [32], analizy mitomycyny C [26], separacji i identyfikacji cyklosporyny, witamin i antybiotyków jonowych [38], alkaloidów z *Catharantus roseus* [6] i mikotoksyn [30]. Za pomocą chromatografii w warunkach nadkrytycznych badano także ekstrakty gum do żucia, pieprzu, miodu, różnorodnych warzyw i owoców [6].

Rozszerzeniem zastosowań procesów chromatograficznych jest nadkrytyczna chromatografia preparatywna, zapoczątkowana badaniami Tswetta nad frakcjonowaniem chlorofilu [34].

Proces preparatywnej, chromatograficznej elucji oparty jest na zasadach podobnych do innych procesów chromatograficznych. O ile procesy preparatywne w

Tabela 2. Przykłady wykorzystania analiz on-line do celów analitycznych [13]

Materiał	Analizowany komponent
Tkanki roślinne i zwierzęce	steroidy, witaminy, pozostałości leków
Woda	fenole
Owoce cytrusowe	terpeny, aldehydy, alkohole
Przyprawy	związki aromatyczne
Kawa	kofeina, zw. aromatyczne
Masło, sery, tłuszcze	kwasy tłuszczowe, triacyloglicerole
Liście drzew	terpeny, oksyterpeny

mniejszej skali zostały już częściowo opisane, to wciąż niewiele jest informacji na temat chromatografii w skali półtechnicznej [2, 9].

W praktyce napotyka się wiele problemów praktycznych, jak: recyrkulacja eluentu, proces separacji produkt–eluent, okresowe iniekcje czy kolekcjonowanie frakcji. W skali półtechnicznej procesy te stwarzają szereg problemów opanowanych już w skali laboratoryjnej. Obiecujące rezultaty uzyskali Berger i Perrut [2]. Wybudowali oni w pełni zautomatyzowaną jednostkę pilotową z kolumną długości 1 m i średnicą wewnętrzną do 6 cm. Recyrkulujący eluent osiąga przepływ do 50 kg/h. Oczyszczali oni witaminy w kolumnie 60 × 6 cm średnicy wewnętrznej, używając CO₂ wzbogaconego alkoholem. W wyniku procesu otrzymano produkt, którego czystość sięgała 99%, jednak wydajność procesu była relatywnie niska.

Przeprowadzano także frakcjonowanie estrów kwasów tłuszczowych w celu otrzymania czystych kwasów EPA i DHA, osiągając czystość odpowiednio 90% i 80% [1].

Podsumowanie

Ekstrakcja naturalnych substancji za pomocą nadkrytycznego CO₂ wydaje się obiecującym rozwiązaniem technologicznym w czasach szeroko pojętych działań proekologicznych. Narastający problem zanieczyszczenia środowiska i związana z nim alergizacja życia wymusza poszukiwanie i zastosowanie nowych, bezpiecznych dla środowiska technologii. Za szczególnie atrakcyjne zastosowanie technologii nadkrytycznych należy uznać separację wartościowych składników, będących komponentami leków. Separacja składników żywności za pomocą nadkrytycznego CO₂ poprawia ich czystość, a co za tym idzie właściwości funkcjonalne produktu. Jest to szczególnie ważne w żywieniu dzieci, alergików, osób starszych. Składniki uzyskane tą drogą, są pozbawione alergizujących pozostałości i mogą być wykorzystywane do produkcji nieszkodliwych i czystych produktów spożywczych, jak również farmaceutycznych.

Literatura

- [1] Berger C. 1989. Thesis. Institut National Polytechnique de Lorraine. Nancy.
- [2] Berger C., Perrut M. 1990. Preparative Supercritical Fluid Chromatography. *J. of Chromatography* 505: 37–43.
- [3] Bott T.R. 1980. Supercritical Gas Extraction. *Chemistry and Industry* 15 March.
- [4] Bradley R. L. 1989. Removal of Cholesterol from Milk Fat Using Supercritical Carbon Dioxide. *J. Dairy Sci.* 72: 2834–2840.
- [5] Carbonell E. S. 1991. Extraction of Flavors with Supercritical Carbon Dioxide, *Cereal Foods World.* 935–937.

- [6] Chester T., Pinkston J. 1990. Supercritical Fluid Chromatography. *Anal. Chem.* 62: 394R–401R.
- [7] Chi Y., Nakamura K., Yano T. 1988. Enzymatic Interesterification in Supercritical Carbon Dioxide. *Agric. Biol. Chem.* 52(6): 1541–1550.
- [8] Clifford T., Bartle K. 1993. Chemistry Goes Supercritical. *Chemistry in Britain*, 499–502. June.
- [9] Flamant Y., Keller U. 1988. Proceedings of the 1st International Symposium on Supercritical Fluids. Nice. October 381–388.
- [10] Grajek W., Łukaszyński D. 1993. Ekstrakcja składników żywności dwutlenkiem węgla w warunkach nadkrytycznych. *Przem. Spoż.* 11.
- [11] Hammam H. 1994 Thesis. Lipids in Supercritical Carbon Dioxide. University of Lund.
- [12] Hammam H., Soderberg I., Sivik B. 1991. Physical properties of Butter Oil Fractions Obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction. *Fat Sci. Technol.* 10: 374–378.
- [13] Hawthorne S. 1990. Analytical Scale Supercritical Fluid Extraction. *Analytical Chemistry* 62(11): 633A–642A. June.
- [14] Hubert P., Vitzthum O.F. 1978. Extraction of Hops, Spices and Tobacco with Supercritical Gases. *Agnew. Chem. Int. Ed. Engl.* 17: 710.
- [15] Jakobsson M., Sivik B., Separation of Free Fatty Acids from Cod Liver Oil with Supercritical Carbon Dioxide in Counter Current Extraction. *Fat Sci. Technol* (w druku).
- [16] Jakobsson M., Sivik B. 1991. Extraction of Dioxin from Cod Liver Oil by Supercritical Carbon Dioxide. *The J. of Supercritical Fluids* 4: 118–123.
- [17] Jarzębski A., Lachowski A., Maślińska-Solich J., Wenzel H. 1990. Purification of the biologically Active Copolymers of Maleic Anhydride by Supercritical Fluid Extraction. *Makromol. Chem.* 11: 349–35.
- [18] Jinno K., Saito M. 1991. Coupling of Supercritical Fluid Extraction with Chromatography. *Anal. Sci.* 7: 361–369, June.
- [19] Kasche V., Schlothauer R., Brunner G. 1988. Enzyme denaturation in supercritical CO₂: stabilizing effect of S-S bonds during the depressurization step. *Biotechnol. Lett. Z.* 10: 569–574.
- [20] Larson K. A., King M. L. 1986. Evaluation of Supercritical Fluid Extraction in the Pharmaceutical Industry. *Biotechnology Progress* 2(2): 73–82, June.
- [21] Lee H., Lee W., Park S. 1993. Starch Hydrolysis Using Enzyme in Supercritical Carbon Dioxide. *Biotechnology Techniques* 7(4): 267–270.
- [22] Ma X., Yu X., Zheng Z., Mao J. 1991. Analytical Supercritical Fluid Extraction of Chinese Herbal Medicines. *Chromatographia* 32(1/2): 40–44, July.
- [23] Marsili R., Callahan D. 1993. Comparison of a Liquid Solvent Extraction Supercritical Fluid Extraction for the Determination of Caroten in Vegetables. *J. Chromatographic Sc.* 31: 422–428.
- [24] Marty A., Chulalaksananukul W., Willemot R., Condoret J. 1992. Kinetics of Lipase-Catalyzed Esterification in Supercritical CO₂. *Biotechnol. and Bioeng.* 39: 273–280.
- [25] McHugh M.A., Krukonis V.J. 1989. Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice. Butterworths, Stoneham, MA.
- [26] Niessen W., Bergers P., Tjaden U. Van der Greef J. 1988. *J. Chromatogr.* 454: 243–251.
- [27] Peter S., Schneider M., Weidner E., Ziegelitz R. 1987. *Chem. Eng. Technol.* 10: 37–42.
- [28] Randolph T.W., Blanch H.W., Prausnitz J.M. 1988. Enzyme-catalyzed Oxidation of Cholesterol in Supercritical Carbon Dioxide. *AIChE J.* 34(8): 1354–1360.
- [29] Rizvi S.S.H., Daniels J.A., Benado A.L., Zollweg J.A. 1986. SFE: Operating Principles and Food Applications. *Food Technology*: 57–64, July.
- [30] Roach J.A., Sphon J.A., Easterling J.A., Calvey E.M. 1989. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* 18: 64–70.
- [31] Sivik B., Gunnlaugsdottir H., Hammam H., Łukaszyński D. 1993. Supercritical Extraction of Polar Lipids by Carbon Dioxide and a Low Concentration of Ethanol, poster, Dep. of Food Technology, Lund Univ.
- [32] Stahl E., Quirin K.-W. Gerard D. 1988. Dense Gases for Extraction and Refining, Springer-Verlag: Berlin.

- [33] Taniguchi M., Kamihara M., Kobayashi T. 1987. Effect of Treatment with Supercritical Carbon Dioxide on Enzymatic Activity. *Agric. Biol. Chem.* 51(2): 593–594.
- [34] Tswett M.S. 1906. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 24: 315–323.
- [35] Van der Meeren P., Vanderdeelen J., Huys M., Baert L. 1990. Optimization of the Column Loadability for the Preparative HPLC Separation of Soybean Phospholipids. *JAOCS* 67(11): 815–820.
- [36] Vannoort R.W., Chervet J.P., Lingeman H., De Jong G.J., Brinkman U.A. 1990. Coupling Extraction with Chromatographic Techniques. *J. of Chromatography* 505: 45–77.
- [37] Witkiewicz Z. 1992. Podstawy chromatografii, Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- [38] White C.M., Gere D.R., Boyer D., Pacholec F., Wong L. 1988. HRCCC, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 11: 94–98.
- [39] Yongmanitchai W., Ward O.P. 1989. Omega-3 Fatty Acids: Alternative Sources of Production, *Process Biochemistry*, August 117–125.
- [40] Young J.C., Games D. E. 1993. Supercritical Fluid Extraction and SFC of Fungal Ergosterol. *J. Agric. Food Chem.* 41: 577–581.

The use of supercritical technologies for extraction and analysis of food products and biologically active compounds

Summary

The last 15–20 year has been a period in which considerable interest has developed in the use of supercritical fluid (SCF). Supercritical fluids, are receiving attention as a medium for extraction processes as well for enzymatic reaction or chromatographic processes, because of advantages such as high diffusivity and low viscosity. Carbon dioxide is particularly attractive because it is nontoxic, a potential advantage for processes yielding food or pharmaceuticals. Functional application like decaffeination, aroma and oil recovery, fish oil separation, enzymatic catalysis and others have been reviewed. Developments using supercritical CO₂ in analytical and preparative chromatography have been described.