



národní
úložiště
šedé
literatury

Extrakce beta-sitosterolu z kořenů kopřivy superkritickým CO₂

Sajfrtová, Marie
2013

Dostupný z <http://www.nusl.cz/ntk/nusl-161385>

Dílo je chráněno podle autorského zákona č. 121/2000 Sb.

Tento dokument byl stažen z Národního úložiště šedé literatury (NUŠL).

Datum stažení: 20.04.2024

Další dokumenty můžete najít prostřednictvím vyhledávacího rozhraní [nusl.cz](http://www.nusl.cz) .

Extrakce beta-sitosterolu z kořenů kopřivy superkritickým CO₂

M. Sajfrtová, M. Bártlová, H. Sovová

Ústav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6, Tel.: 220 390 234, E-mail: sovova@icpf.cas.cz

Abstrakt. Oddenky (tzv. kořeny) kopřivy obsahují řadu nepolárních i polárních biologicky aktivních látek. Z neutrálních lipidů kopřivy je nejvýznamnější β -sitosterol, užívaný v rostlinných výtažcích proti nadměrnému vypadávání vlasů a při benigní hyperplasii (zvětšení) prostaty. Suché oddenky kopřivy jsme extrahovali superkritickým oxidem uhličitým, nepolárním rozpouštědlem s variabilními vlastnostmi, při tlaku 15-60 MPa a teplotě 40-80 °C. Soxhletovou extrakcí *n*-hexanem byl stanoven obsah β -sitosterolu v oddencích 0,28 g/kg. Výtěžek β -sitosterolu superkritickou extrakcí byl v průměru o 11 % nižší, ale vlivem vyšší selektivity metody se jeho koncentrace oproti hexanovému extraktu zvýšila průměrně o 13 % na 3,8 % hm. Odděleným odběrem extraktu ve vhodně zvoleném časovém rozmezí lze získat frakce s dvojnásobnou i vyšší koncentrací. Matematický model kinetiky extrakce β -sitosterolu a celkového extraktu umožnil studium systému simulačními výpočty.

1. Úvod

Oddenky kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica*), v běžné řeči označované jako kořeny, jsou významným zdrojem několika biologicky aktivních látek, z nichž β -sitosterol působí jako antioxidant a regulátor činnosti řady enzymů. Největší význam má jako inhibitor enzymu 5-alfareduktázy, který provádí přeměnu testosteronu na dehydrotestosteron (DHT). Zvýšené množství DHT v krvi je dáno biologickým stárnutím a je vždy provázeno degenerativními změnami. Mezi nejvýznamnější z těchto změn patří zvětšení prostaty a zvýšené vypadávání vlasů (degenerace vlasových folikulů), zvýšené ukládání tuků a oslabení imunitního systému. Rostlinné výtažky obsahující β -sitosterol jsou proto žádaným doplňkem stravy.

V posledních letech na trhu potravinových doplňků a rostlinných výtažků pro použití v kosmetických produktech výrazně přibývají extrakty lipofilních látek získané superkritickým oxidem uhličitým, označované většinou jako CO₂ extrakty. Jde o rostlinné oleje ze semen rostlin bohaté na nenasycené mastné kyseliny, extrakty aromatických rostlin bohaté na vonné látky a extrakty z léčivých rostlin obsahující bioaktivní látky. Z definice jsou superkritické tekutiny látky v nadkritickém neboli superkritickém stavu, tedy při tlaku a teplotě nad kritickým bodem. Kritický bod oxidu uhličitého má parametry 7,4 MPa a 31,1 °C. Extrakce probíhá semikontinuálním způsobem, kde přes nehybnou vrstvu rostlinného materiálu protéká konstantním průtokem rozpouštědlo. I když superkritická extrakce vyžaduje oproti tradičním zavedeným metodám destilace silic vodní parou a extrakce rostlinných látek organickými rozpouštědly technicky náročnější a dražší vysokotlaké zařízení (pracovní tlaky jsou standardně do 30 MPa a pro rychlou, účinnou, ale méně selektivní extrakci i do 60 MPa), její přednosti stále více nad nevýhodami převažují. K jejím přednostem patří autentické přírodní složení extraktu beze stop organických rozpouštědel a s vysokou aktivitou, protože mírné teploty a inertní atmosféra chrání extrahované labilní bioaktivní látky před degradací, šetrnost extrakčního provozu k životnímu prostředí, která metodu řadí mezi „zelené“ technologie, nízká cena a snadná dostupnost rozpouštědla ve vysoké čistotě, jeho nehořlavost a nevybušnost, univerzální využití extrakčního zařízení vzhledem k možnosti vyladění rozpouštěcí schopnosti superkritického CO₂ pomocí tlaku a teploty, a konečně i fakt, že po extrakci je rostlinná matrice neporušená a může být využita například jako složka krmiva nebo nízkokalorické stravy.

Cílem této práce bylo optimalizovat podmínky superkritické extrakce β -sitosterolu z oddenků kopřivy. Experimenty navázaly na dřívější práci [1], kde byl zjišťován účinek přídatku etanolu jako modifikátoru CO₂ na extrakci β -sitosterolu a polárního skopoletinu. Protože etanol umožňuje extrakci

polárních látek, zvětšoval se celkový výtěžek extraktu, ale na rozdíl od skopoletinu nebyl vliv etanolu na výtěžek β -sitosterolu žádný nebo při vyšších koncentracích byl dokonce negativní. V této práci jsme se proto zaměřili na závislost kinetiky extrakce čistým CO₂ na extrakčním tlaku a teplotě.

2. Experimentální část

2.1 Materiál

Na vzduchu sušené oddenky kopřivy byly krátce před extrakcí umlety v mlýnku na kávu. Pomocí síťové analýzy byla vyhodnocena střední velikost částic $d_{32} = 0,26$ mm.

Oxid uhličitý potravinářské kvality (>99.9%) dodal Linde Technoplyn.. Rozpouštědla *n*-hexan a metanol byly od firmy Lach-Ner, Neratovice. Chromatografický standard byl β -sitosterol (>90%) od firmy Fluka BioChemika.

2.2 Superkritická extrakce

K extrakci bylo použito zařízení Spe-ed SFE (Applied Separations). Přibližně 10 g kopřivy, přesně zváženo, bylo umístěno do extraktoru, vysokotlaké kolony o objemu 24 ml. Rostlina byla vložena mezi vrstvy skleněných kuliček, zajišťujících rovnoměrnou distribuci toku rozpouštědla po průřezu extraktoru. Extraktor byl umístěn vertikálně do vzduchem temperovaného boxu a pomocí vysokotlakého čerpadla naplněn stlačeným oxidem uhličitým. Po ustavení extrakčního tlaku a teploty by otevřen elektricky vyhřívaný mikrometrický ventil na výstupu z extraktoru, přes který roztok rozpuštěných rostlinných látek v CO₂ vytékal do skleněné vialky, kde se při atmosférickém tlaku sbíral extrakt vysrážený z CO₂ během poklesu tlaku a odkud se plynný CO₂ prakticky prostý extraktu vedl do laboratorního plynoměru. Extrakční tlak byl v rozsahu 15-50 MPa a extrakční teplota 40-80 °C. Průtok CO₂ byl nastaven na 0,9 g/min, doba extrakce byla 7-12 h. Vialky se ve zvolených intervalech vyměňovaly, jejich obsah byl vážen a analyzován na β -sitosterol.

2.3 Soxhletova extrakce

Přibližně 10 g kopřivy, přesně zváženo, bylo vloženo do patrony Soxhletova přístroje a extrahováno 3 hodiny. Získaný roztok byl odpařen na rotační vakuové odparce a byla stanovena hmotnost extraktu, který byl potom rozpuštěn v metanolu a analyzován na β -sitosterol.

2.4 Stanovení β -sitosterolu

Vzorky extraktů byly rozpuštěny v metanolu a filtrovány. Jejich chemická analýza byla provedena na HPLC zařízení (dodavatel Watrex Praha) se dvěma kolonami řazenými za sebou: Nucleosil C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m, Watrex Praha) a Biospher PSI 200, C18 (250 x 4mm, 5 μ m, Labio). Mobilní fáze byla methanol – 2-propanol 80:20 (v/v), průtok 0,4 ml/min. K detekci byl použit evaporativní detektor rozptylu světla PL-ELS 2100 (Polymer Laboratories). Teplota odpařovací komory byla 50°C, teplota nebulizéru také 50°C, průtok nebulizačního plynu dusíku 1,6 slm.

3. Výpočet průběhu extrakce

Pro vyhodnocení průběhu extrakce celkového extraktu a β -sitosterolu jako jeho vedlejší složky z mletých oddenků jsme upravili dnes už zavedený matematický model superkritické extrakce oleje z umletých semen.

3.1 Model extrakce oleje

Model /2/ předpokládá, že extrahovaná látka je uložena v celách (dutinách), jejichž stěny jsou poměrně špatně prostupné, a tyto cely jsou rovnoměrně rozděleny v objemu extrahovaného materiálu.

Mletím semen vzniknou částice, které uvnitř obsahují neporušené cely, ale u povrchu částic byly stěny cel při mletí mechanickým namáháním porušeny a materiál v nich je snadno přístupný k extrakci. Čím účinnější je mletí, tedy čím menší jsou částice, tím větší je podíl otevřených cel. V modelu označíme podíl otevřených cel G , $0 < G < 1$.

Tok rozpouštědla vrstvou částic v extraktoru můžeme modelovat myšleným rozdělením vrstvy po výšce na n ideálních mísičů. Nastavitelným počtem mísičů pak simulujeme různou míru zpětného promíchávání, kde $n = 1$ odpovídá dokonalému promíchávání rozpouštědla v celé vrstvě a $n \rightarrow \infty$ simuluje pístový tok. Z bilance rychlosti změn množství extrahované látky v tekuté fázi, v otevřených celách a v uzavřených celách j -tého mísiče vyplývá

$$\begin{aligned} \frac{dy_j}{dt} &= n \frac{y_{j-1} - y_j}{t_r} + \frac{y_j^+ - y_j}{t_f}, \\ G \frac{dx_j}{dt} &= -\gamma \frac{y_j^+ - y_j}{t_f} + \frac{\bar{x}_j - x_j}{t_i}, \\ (1-G) \frac{d\bar{x}_j}{dt} &= -\frac{\bar{x}_j - x_j}{t_s} \quad \text{pro } j = 1, 2, \dots, n, \end{aligned} \quad (1)$$

kde koncentrace v tekuté fázi jsou vyjádřeny jako hmotnostní poměry v jádře tekutiny y_j (g/g CO₂) a na fázovém rozhraní na povrchu částic y_j^+ (g/g CO₂), a koncentrace v rostlině jsou hmotnostní podíly x_j (g/g části rostliny s otevřenými celami) a \bar{x}_j (g/g části rostliny s uzavřenými celami). Doba extrakce je t (min), doba prodloužení rozpouštědla ve vrstvě částic je t_r (min), časová konstanta s povrchu do jádra tekutiny je t_f (min), časová konstanta difúze v částici s uzavřenými celami je t_s (min), a konečně γ (g CO₂/g rostliny) je poměr hmotnosti CO₂ v mezerách mezi rostlinnými částicemi k hmotnosti částic v extraktoru.

Přenos hmoty s povrchu částic do jádra proudící tekutiny je rychlý, protože viskozita superkritických tekutin obecně je menší než u kapalin a difuzivita látek v nich rozpuštěných je vysoká. Naopak difúze stěnami neporušených cel je pomalá, takže platí $t_f \ll t_s$, a obvykle také $t_f < t_r$. Proto se zpočátku relativně rychle extrahují látky z otevřených cel a rychlost extrakce závisí zejména na rovnovážné koncentraci y_j^+ , která je funkcí x_j . Když se extrakt z otevřených cel vyčerpá, extrakce zpomalí a je řízena vnitřní difúzí v částicích.

Označíme-li x_u (g/g rostliny) počáteční obsah extrahované látky v rostlině a e (g/g rostliny) extrakční výtěžek, v každém okamžiku platí celková bilance

$$x_u = e + \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n [\gamma y_j + G x_j + (1-G) \bar{x}_j] \quad (2)$$

Platí i pro $t = 0$, kdy $e = 0$ a vzhledem k pomalé difúzi z uzavřených cel předpokládáme $\bar{x}_j = x_u$ pro všechna j , a počáteční podmínka je potom pro všechna j

$$G x_u = \gamma y_j + G x_j \quad \text{pro } t = 0. \quad (3)$$

Protože do extraktoru přitéká čisté rozpouštědlo, okrajová podmínka je $y_{j-1} = 0$ pro $j = 1$.

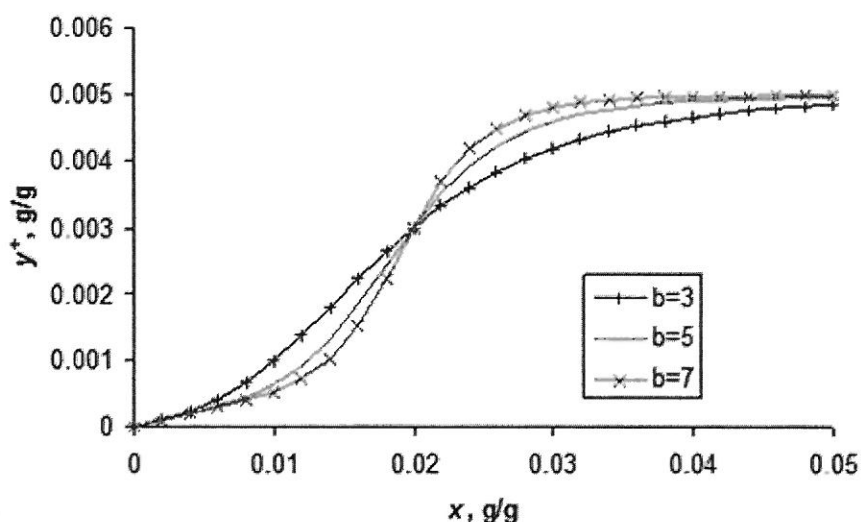
Pro průběh extrakce je zásadní fázová rovnováha, která silně závisí na tlaku a teplotě v extraktoru. Při dostatečně vysokém obsahu v rostlině je rovnovážná koncentrace extrahovaných látek v CO₂, která se nazývá zdánlivá rozpustnost, rovna jejich termodynamické rozpustnosti. Když ale v průběhu

extrakce obsah látky v rostlině poklesne, zdánlivá rozpustnost se sníží, protože se začne projevovat adsorpce látky na rostlinnou matici. Při nízké koncentraci v rostlině je zdánlivá rozpustnost dána adsorpční izotermou. Jak ukázali del Valle a Urrego /3/, tato závislost se dá vyjádřit vztahem

$$y^+ = Kx + \frac{x^b}{x_t^b + x^b} (y_s - Kx) \quad (4)$$

$$y^+ = Kx + \frac{1}{1 + (x_t/x)^b} (y_s - Kx) \quad (4)$$

kde y_s je termodynamická rozpustnost, K je koeficient lineární adsorpční izoterm, x_t je koncentrace v rostlině, při které dochází k příkrému přechodu mezi oběma typy rovnováhy, a exponent b řídí příkrost tohoto přechodu (viz obr. 1).



Obr. 1. Zdánlivá rozpustnost v CO_2 při superkritické extrakci z rostliny při parametrech rovn. (4) $K = 0,05 \text{ g rostliny/g CO}_2$, $y_s = 0,005 \text{ g/g CO}_2$, $x_t = 0,02 \text{ g/g rostliny}$.

3.2 Model extrakce směsi

Uvedeme zde rovnice extrakce binární směsi, které lze snadno rozšířit na vícesložkovou směs. Výše uvedené bilanční rovnice platí beze změny pro každou složku jednotlivě:

$$\begin{aligned} \frac{dy_{j,i}}{dt} &= n \frac{y_{j-1,i} - y_{j,i}}{t_r} + \frac{y_{j,i}^+ - y_{j,i}}{t_f}, \\ G \frac{dx_{j,i}}{dt} &= -\gamma \frac{y_{j,i}^+ - y_{j,i}}{t_f} + \frac{\bar{x}_{j,i} - x_{j,i}}{t_i}, \\ (1-G) \frac{d\bar{x}_{j,i}}{dt} &= -\frac{\bar{x}_{j,i} - x_{j,i}}{t_s} \quad \text{pro } j = 1, 2, \dots, n, i = 1, 2 \end{aligned} \quad (1a)$$

Vzájemná interakce složek se projevuje ve vztahu pro rovnováhu. Když Shen a kol. /4/ vyhodnocovali průběh superkritické extrakce sójových otrub, dělili změřenou počáteční rovnovážnou koncentraci extrahované i -té složky v CO_2 jejím hmotnostním zlomkem v hexanovém extraktu z rostliny, aby získali veličinu srovnatelnou s termodynamickou rozpustností složky v CO_2 . V souladu s tím jsme do rovnovážného vztahu zavedli hmotnostní podíl i -té složky v rostlině

$$z_i = \frac{x_i}{\sum_{i=1}^2 x_i} \quad \text{pro } i = 1,2 \quad (5)$$

a rovnovážnou koncentraci složky i v CO_2 počítáme podle rovnice

$$y_i^+ = K_i x_i + \frac{x_i^b}{(x_i z_i)^b + x_i^b} (y_{si} z_i - K_i x_i) \quad \text{pro } i = 1,2 \quad (4a)$$

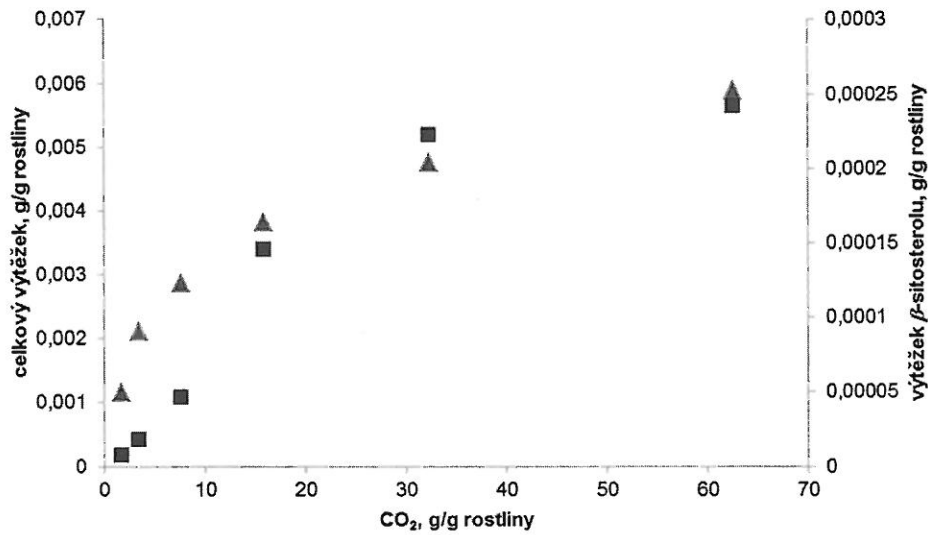
kde parametry y_{si} , K_i , x_{ii} jsou rovnovážné parametry čisté složky i .

4. Výsledky a diskuse

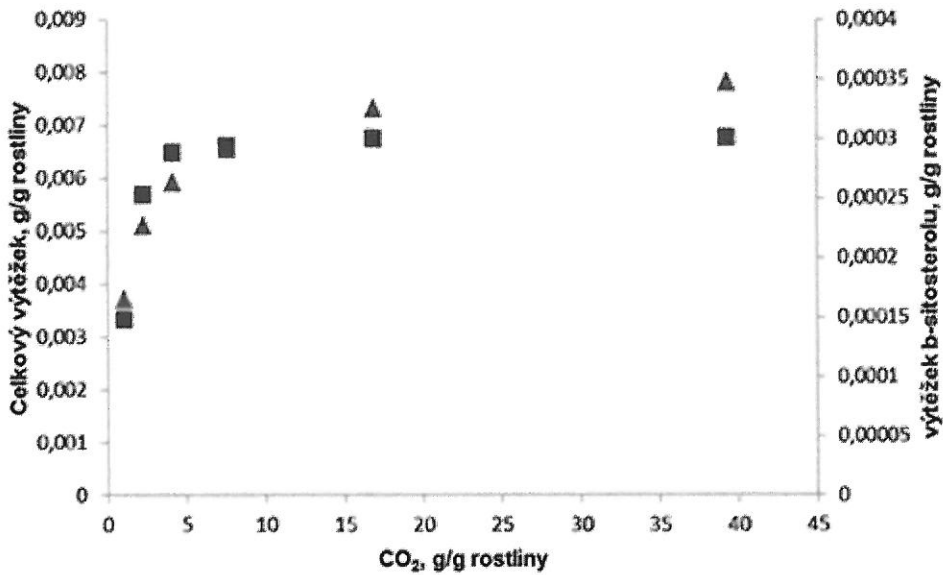
Obsah β -sitosterolu v suchých oddencích 0,28 mg/g byl stanoven extrakcí hexanem, přičemž celkový výtěžek byl 8,3 mg/g rostliny a koncentrace β -sitosterolu v extraktu byla 3,4 % hm. Podmínky pokusů se superkritickou extrakcí jsou vyčísleny v tabulce 1. Časové rozpětí mezi prvním a posledním pokusem bylo 4 měsíce. Průběh těchto experimentů byl znázorněn graficky formou extrakčních křivek, tj. závislosti extrakčního výtěžku na době extrakce nebo na množství extraktorem proteklého rozpouštědla vztaženého na hmotnost extrahované rostliny. První způsob je vhodný při větším odporu proti přenosu hmoty, když je extrakce řízena difuzí v rostlinných částicích, a druhý způsob, použitý v této práci (obr. 2, 3), při převládající extrakci z otevřených cel, kdy z extraktoru vytéká téměř nebo zcela nasycený roztok. Z tabulky i obrázků je zřejmé, že se počáteční rozpustnost a tím i rychlost

Tabulka 1. Vliv extrakčních podmínek na počáteční koncentraci extraktu v CO_2

tlak, MPa	teplota, °C	hustota CO_2 , kg/m ³	poč. koncentrace extraktu, g/g CO_2	konc. β -sitosterolu v extraktu, % hm.
15	40	781,2	0,0010	4,48
30	40	910,6	0,0036	3,19
50	40	991,8	0,0044	3,13
15	60	605,6	0,0006	4,10
20	60	724,5	0,0015	4,49
30	60	830,4	0,0028	4,28
60	60	968,4	0,0041	3,25
30	80	746,1	0,0033	3,84



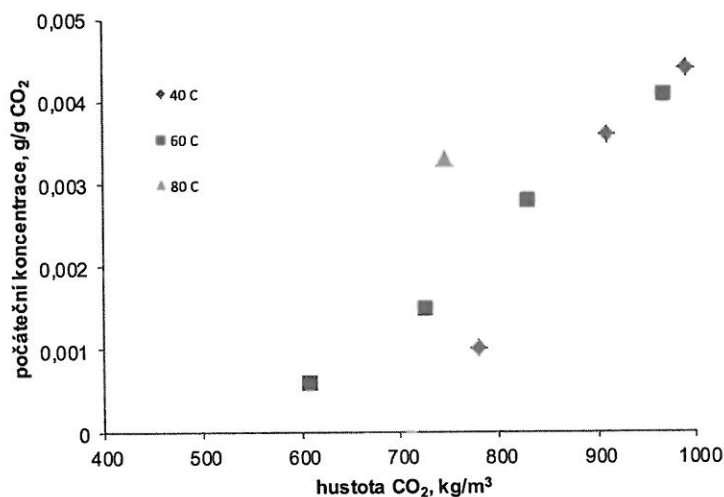
Obr. 2. Extrakční křivky naměřené při 15 MPa a 60 °C. ▲ celkový extrakt, ■ β-sitosterol.



Obr. 3. Extrakční křivky naměřené při 30 MPa a 80 °C. ▲ celkový extrakt, ■ β-sitosterol.

extrakce zvyšuje s rostoucím extrakčním tlakem a zároveň se tvary extrakčních křivek celkového extraktu a β-sitosterolu sblíží, tedy selektivita procesu klesá. Přesněji řečeno, celková rozpustnost roste s rostoucí hustotou a s teplotou, jak naznačuje obr. 4. Tabulka 1 ukazuje i celkovou koncentraci β-sitosterolu v extraktu na konci pokusu, která byla nejvyšší při mírných extrakčních podmínkách, kdy

byl menší celkový výtěžek, protože se ještě nestačily plně vyextrahovat nejméně rozpustné složky extraktu. Počáteční koncentrace extraktu v CO₂ odečtené přímo z experimentálních dat pro β -sitosterol byla zatížena větší experimentální chybou, a proto jsme další vyhodnocení provedli pomocí experimentálními dat proložených křivek vypočtených matematickým modelem. Proudění v extraktoru jsme modelovali řadou pěti mísičů.



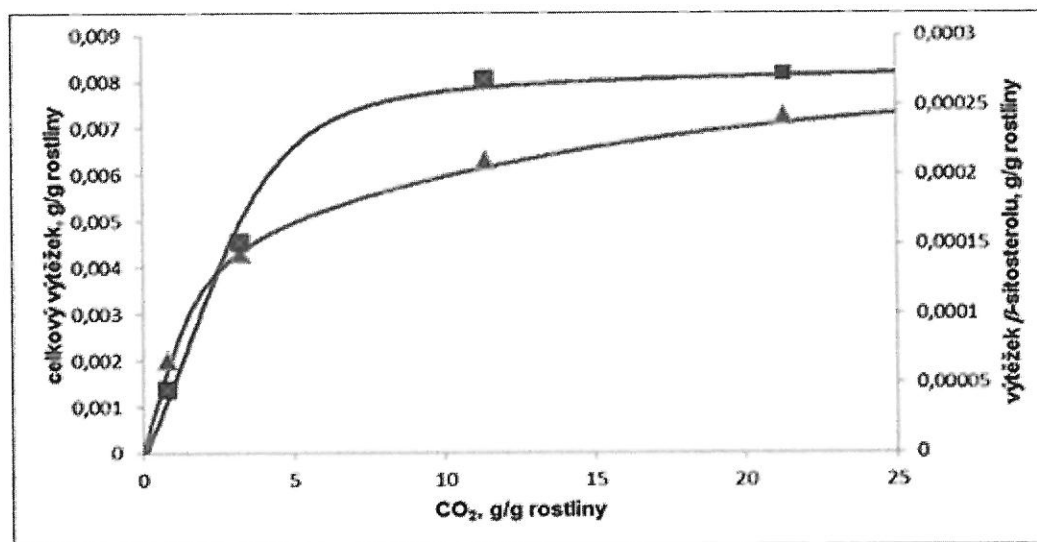
Obr. 4. Závislost počáteční koncentrace extraktu v CO₂ na teplotě a hustotě superkritické tekutiny.

Tyto výpočty ukázaly, že odpor proti přenosu hmoty byl malý a rychlost extrakce zcela závisela na poměrně nízké rozpustnosti extrahovaných látek. Obměna časových konstant kolem hodnot $t_f = 2$ min a $t_i = 400$ min neměla vliv na vypočtené extrakční křivky, zvláště když podíl otevřených cel byl blízký jedné, což je v souladu s tím, že oddenky byly umlety na prášek. Celkový obsah extrahovatelných látek v rostlině vyhodnocený modelem mírně klesal s dobou skladování materiálu z $x_u = 7,7$ mg/g na $x_u = 6,7$ mg/g, což je o 19 % méně než výtěžek z extrakce hexanem, provedené ve stejnou dobu. Obsah β -sitosterolu v rostlině vyhodnocený modelem z extrakčních křivek kolísal bez zřetelného vlivu tlaku a teploty a bez vlivu doby skladování mezi $x_{u2} = 0,19$ a $x_{u2} = 0,30$ mg/g s průměrnou hodnotou 0,25 mg/g, což je o 11 % méně než výtěžek β -sitosterolu extrahovaného hexanem. Rovnovážné parametry vyhodnocené modelem z průběhu výtěžků extraktu bez β -sitosterolu jako složky 1 a β -sitosterolu jako složky 2 jsou uvedeny v tabulce 2. Při výpočtech jsme použili exponent $b = 7$ v rovnici (4a) pro výpočet rovnováhy. V tabulce je vidět nejen trend růstu rozpustností obou složek s rostoucím tlakem a při tlaku 30 MPa v případě β -sitosterolu i s teplotou, ale i pokles parametru x_t s rostoucím tlakem, to znamená, že při vyšších tlacích váže rostlinná matrice méně extrahovaných látek. S rostoucím tlakem roste i distribuční koeficient K , vazba látek na matici je tedy slabší. Ve dvou případech byl vliv adsorpce β -sitosterolu na průběh proložených extrakčních křivek β -sitosterolu tak slabý, že nebylo možné parametry K a x_t vyhodnotit.

Tabulka 2. Parametry rovnováhy podle rovnice (4a) při superkritické extrakci dvou složek, extraktu bez β -sitosterolu (1) a β -sitosterolu (2)

tlak, MPa	teplota, °C	y_{s1} , g/g	x_{t1} , g/g	K_1 , g/g	y_{s2} , g/g	x_{t2} , g/g	K_2 , g/g	separační faktor
15	40	0,0017	0,0051	0,008	0,0006	0,003	0,05	0,35
30	40	0,0040	0,0055	0,060	0,0014	0,003	0,05	0,35
50	40	0,0040	0,0026	0,050	0,0022	0,002	0,20	0,55
15	60	0,0011	0,0060	0,014	0,0002	-	-	0,18
20	60	0,0015	0,0050	0,025	0,0016	0,003	0,08	0,67
30	60	0,0030	0,0026	0,085	0,0020	0,001	0,10	0,67
60	60	0,0050	0,0023	0,050	0,0024	-	-	0,48
30	80	0,0035	0,0035	0,070	0,0032	0,002	0,08	0,91

Separační faktor β -sitosterolu ke zbytku extraktu je počítán jako poměr rozpustností y_{s2}/y_{s1} . Protože β -sitosterol je méně rozpustný v CO_2 než hlavní složky extraktu, je hodnota separačního faktoru menší než 1, a ze sledovaných podmínek by ty nejlepší pro zvýšení koncentrace β -sitosterolu v extraktu superkritickým CO_2 na protiproudé koloně byly 15 MPa a 60 °C. Pro superkritickou extrakci to ale vhodné podmínky nejsou, protože příliš nízké rozpustnosti by vyžadovaly velké množství rozpouštědla. I když oxid uhličitý ve výrobním zařízení obíhá, takže jeho spotřeba neroste, rostou náklady na jeho stlačování, ohřev a chlazení.



Obr. 5. Extrakční křivky naměřené při 30 MPa a 40 °C a vypočtené modelem. ▲ celkový extrakt, ■ β -sitosterol.

Zvýšení koncentrace v extraktu je možno dosáhnout už během superkritické extrakce z rostlin využitím takzvané frakcionace v čase, tj. změny složení extraktu v průběhu extrakce, odběrem extraktu odděleně ve vhodně zvoleném intervalu. Na obr. 5 je znázorněn průběh extrakce při tlaku 30 MPa a

teplotě 40 °C. Protože za této teploty je extrakce některých složek extraktu značně pomalejší než extrakce β -sitosterolu, včasným ukončením extrakce se zabrání jeho zbytečnému ředění v extraktu. Spojením druhého a třetího odběru vznikla frakce s dobrým výtěžkem β -sitosterolu 0,24 mg/g rostliny a s koncentrací 5,2 % hm., o 15 % vyšší než při extrakci hexanem. Jak ukazují výpočty, při odběru se zadaným výtěžku β -sitosterolu 0,14 mg/g rostliny, tedy polovičním výtěžkem oproti výtěžku hexanem, při odběru mezi relativním množstvím CO₂ 1,9 a 6,0 g/g rostliny získat frakci s koncentrací 7,5 % hm. β -sitosterolu.

5. Závěr

Prokázali jsme, že superkritická extrakce je vhodná metoda pro výrobu doplňků stravy z oddenků kopřivy. Při standardizaci obsahu β -sitosterolu v produktu lze s výhodou využít frakcionaci extraktu v čase. Vliv tlaku a teploty na rychlost extrakce a na separační faktor β -sitosterolu vzhledem k majoritním lipidům, považovaným za pseudosložku extraktu, byl vyhodnocen pomocí modelu superkritické extrakce směsi látek.

Poděkování. Autoři děkují TAČR za finanční podporu této práce (projekt č. TA01010578).

Literatura

1. M. Sajfrtová, H. Sovová, L. Opletal, M. Bártlová: Near-critical extraction of β -sitosterol and scopoletin from stinging nettle roots. *J. Supercritical Fluids* 35 (2005) 111-118.
2. H. Sovová: Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. *J. Supercritical Fluids* 33 (2005) 35-52.
3. J.M. del Valle, F.A. Urrego: Free solute content and solute-matrix interactions affect apparent solubility and apparent solute content in supercritical CO₂ extractions. A hypothesis paper," *J. Supercritical Fluids* 66 (2012) 157-175.
4. Z. Shen, M.V. Palmer, S.S.T. Ting, R.J. Fairclough: Pilot scale extraction of rice bran oil with dense carbon dioxide. *J. Agric. Food Chem.* 44 (1996) 3033-3039.