



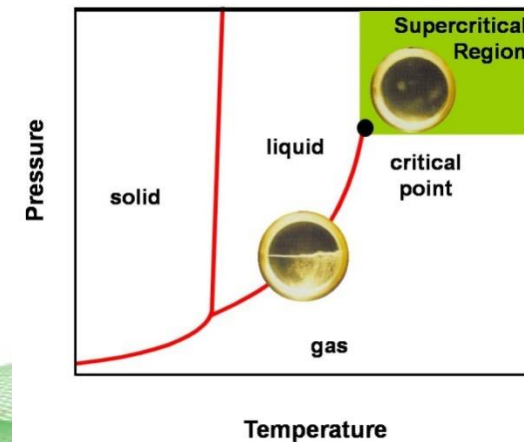
LITHUANIAN
RESEARCH CENTRE
FOR AGRICULTURE
AND FORESTRY



Euroopa Maaelu Arengu
Põllumajandusfond:
Euroopa investeringud
maapiirkondadesse

Superkriitilise fluidumi tehnoloogia funktsionaalsete toidutoodete arendamiseks

Dalia Urbonavičienė, Pranas Viškelis



Mai 2017

Sisukord

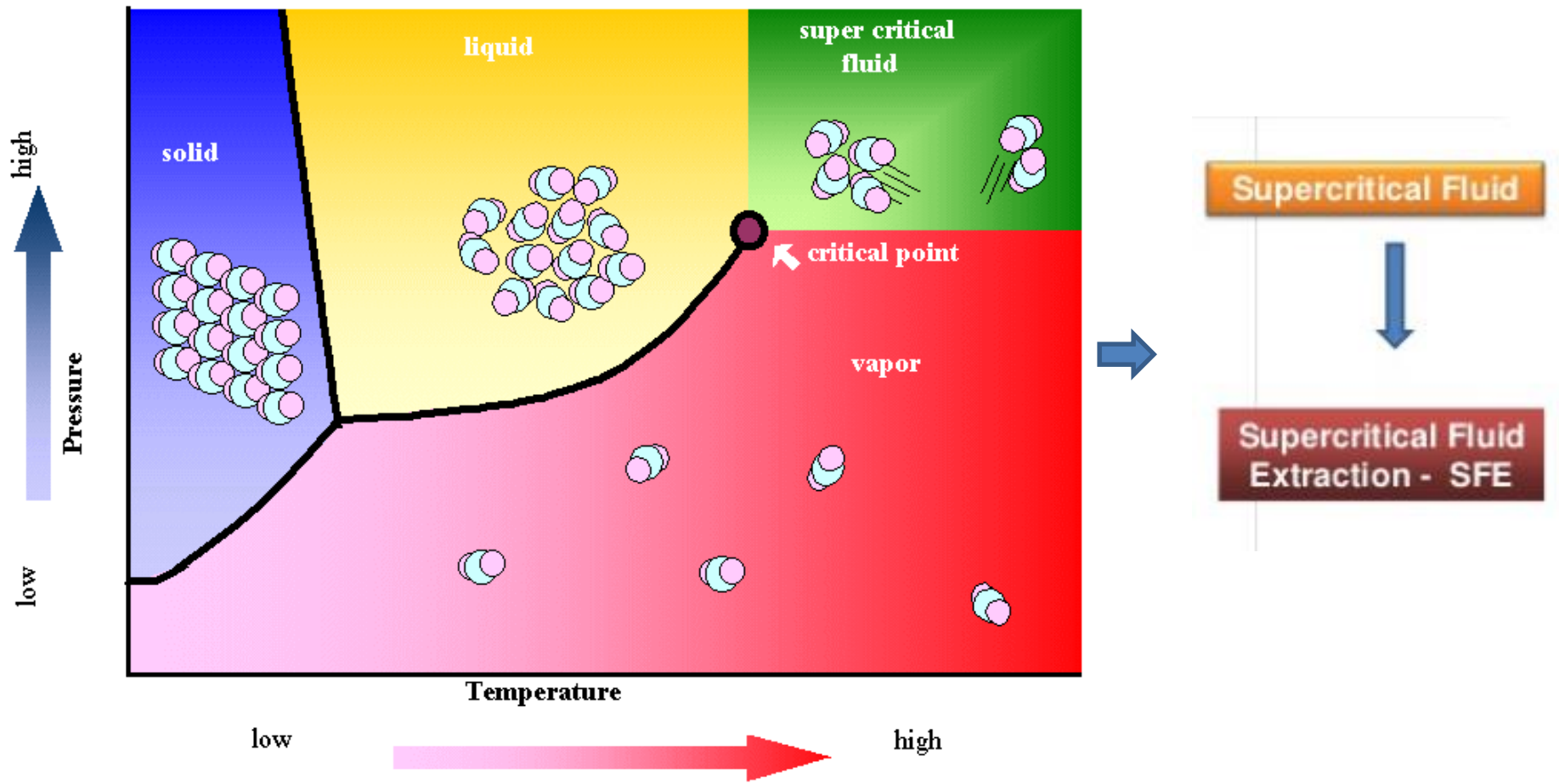


- Superkriitilise tehnoloogia tutvustus
 - Superkriitiline fluidum;
 - Superkriitilise fluidumi omadused;
 - Ajalooline taust.
- Superkriitilise fluidumi ekstraktsioon (SFE):
 - SFE osad;
 - Omadused;
 - SFE tehnoloogia.
- SFE meetodite arendamine;
- Kommertsialiseerimine;
- Eelised;
- Puudused;
- Kasutusvaldkonnad.

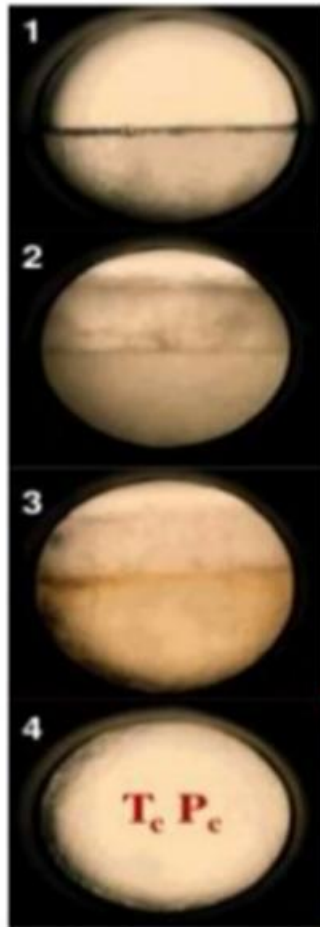
SISSEJUHATUS

Mis on superkriitiline fluidum?

- Superkriitiline fluidum on iga aine üle tema kriitilise temperatuuri ja rõhu; pole eristatav vedel ning gaasiline faas.
- Aine saavutab superkriitilise seisundi kui rõhk ja temperatuur on üle nende kriitilise väärtuse.
- Kui aine saavutab oma kriitilise väärtuse, tema gaasi ja vedelfaasi omadused ühilduvad ning need kaks faasi pole enam selgesti eristatavad.



SUPERCRITICAL CO₂



1. Here we can see the separate phases of carbon dioxide. The meniscus is easily observed.

2. With an increase in temperature the meniscus begins to diminish.

3. Increasing the temperature further causes the gas and liquid densities to become more similar. The meniscus is less easily observed but still exists.

4. Once the critical temperature and pressure have been reached, the two distinct phases of liquid and gas are no longer visible. The meniscus can no longer be seen. One homogenous phase called the "supercritical fluid" phase occurs.

PROPERTIES OF SCF

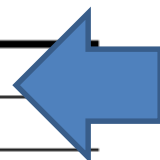
- Physical and thermal properties of SCFs are in between pure liquid and gas, hence can also be known as '**Compressible liquids**' or '**dense gases**'
- Changes in properties are for a SCF are as follows:
 - Liquid like densities (100-1000 times greater than gases)
 - Diffusivities higher than liquids (10^{-3} and 10^{-4} cm²/s)
 - Good solvating power
 - Reduction in surface tension
 - Low viscosity (10-100 times less than liquid)
 - Gas like compressibility propertiesTherefore they possess high penetrating power

Superkriitilised lahustid

Kõige sagedamini kasutatakse süsinikdioksiidi (CO₂) kui „rohelist lahustit“ superkriitilise fluidumina

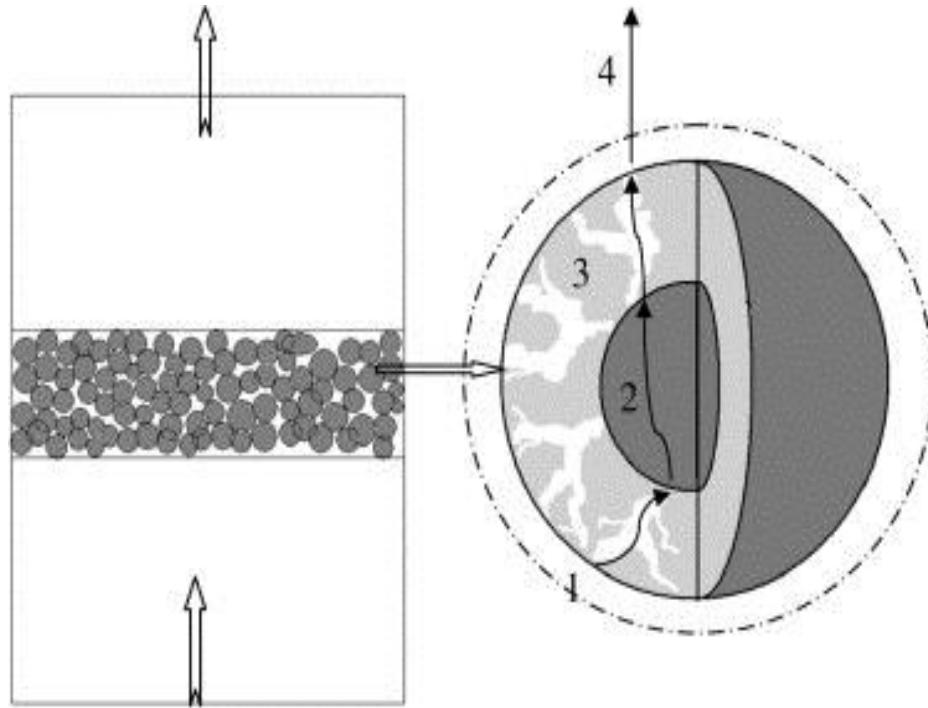
Table 2.2. Critical properties of substances most commonly used in supercritical conditions (Brunner, 2005)

Component	Critical temperature T _c (°C)	Critical pressure (MPa)	P _c	Critical density ρ (g/ml)
Carbon dioxide	31.1	7.38		0.47
Ethane	32.3	4.87		0.2
Propane	96.8	4.25		0.22
n-Hexane	234.5	3.01		0.23
Acetone	235.1	4.70		0.28
Methanol	239.6	8.09		0.27
Ethanol	240.9	6.14		0.28
Water	374.1	22.06		0.32



SC-CO₂ kasutamise eelised:

- madal töötlemistemperatuur;
- bioaktiivsete ühendite minimaalne lagunemine;
- ekstraktsiooni solvendi lihtne eraldamine;
- lõpp-produktis puuduvad lahusti jäägid;
- CO₂ keskkonnas töötlemine minimeerib soovimatuid oksüdatsiooni reaktsioone;
- on eriti kasulik tundlike bioaktiivsete ühendite (steroolid, tokoolid, karotenoidid, polüküllastamata rasvhapped) ekstraktsioonil (Temelli et al., 2014).



Joonis. Superkriitilise ekstraktsiooni protsess:

1. Superkriitilise fluidumi difusioon maatriksisse (substraat)
2. Ekstraheeritava ühendi lahustumine superkriitilises lahustis
3. Superkriitilise fluidumi difusioon substraadi välisele pinnale
4. Superkriitilise fluidumi ja substraadi segu lendumine maatriksist (Zhao, Zhang, 2013)

SFE technologija



COMPONENTS OF SFE

1. *Fluid reservoir* (gas cylinder in case of CO₂)
2. *Pump*
 - Reciprocating pump
 - Syringe pump (pulse-free flow at large range of flow rates)
3. *Extraction cell/column (stationary phase)*
 - Usually stainless steel Chamber or vessel in compartment
 - Capable of withstanding high pressure (300-600 atm) [for solids]
 - Open tubular capillary columns or packed columns [liquids]

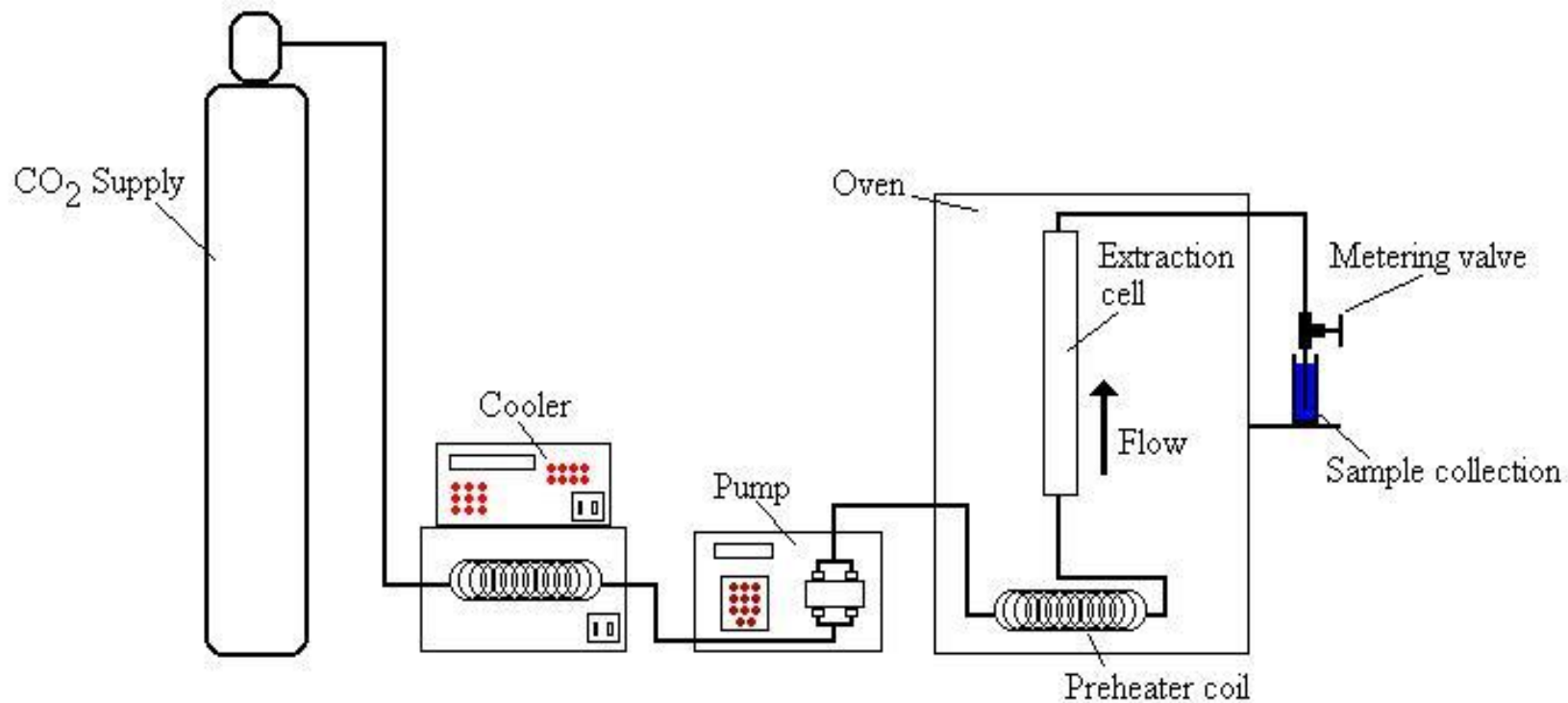


4. *Restrictor*

- Maintaining pressure change inside the extraction vessel
- Two types-
- fixed (linear restrictor, tapered restrictor, integral restrictor, ceramic frit restrictor, metal restrictor)
- Variable (variable nozzle, back pressure regulator)

5. *Collector (trapping system)*

6. *Detectors* (flame ionization detector of gas chromatography)

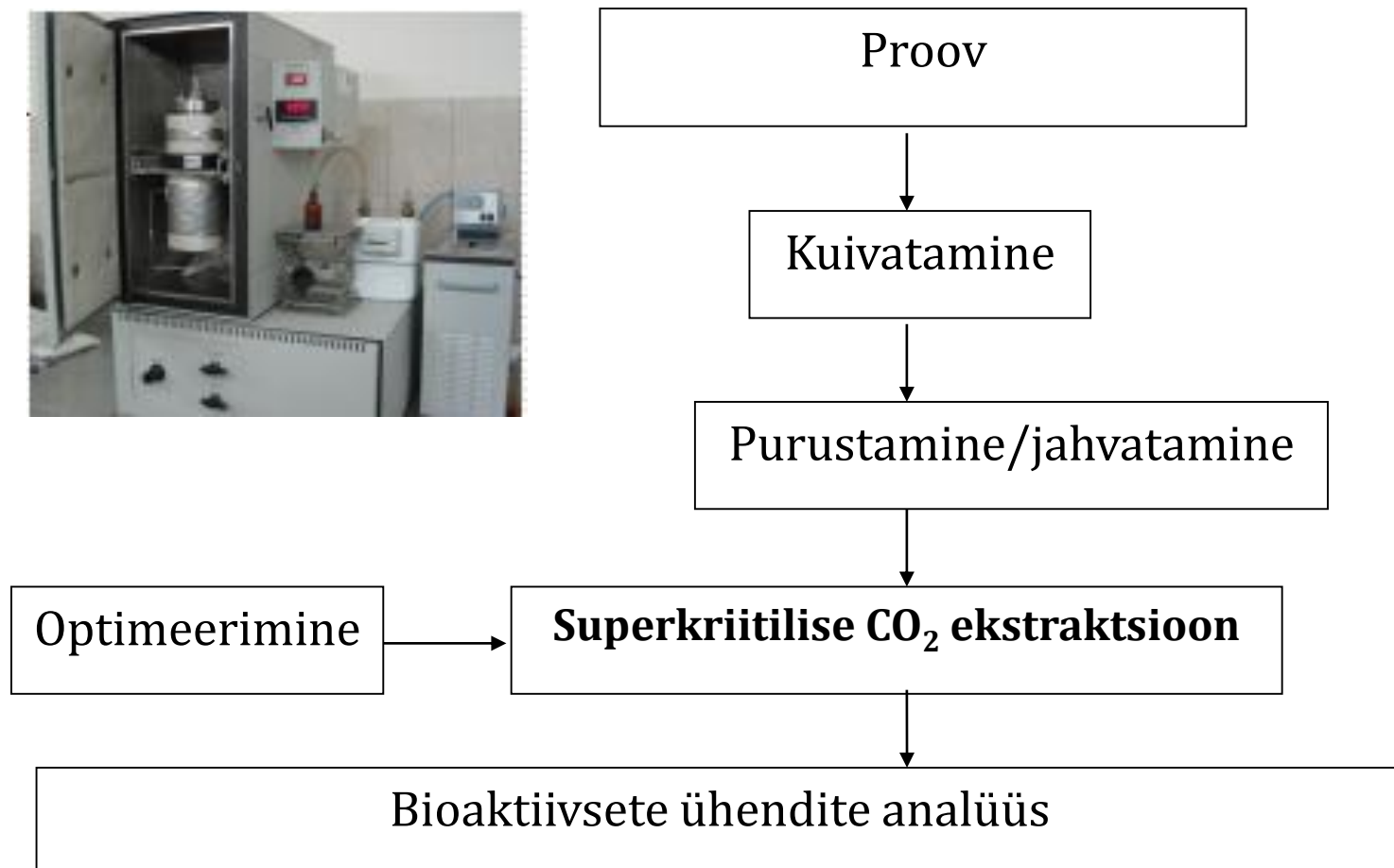


Joonis. Superkriitilise ekstraktsiooni aparatuuri skeem



30–40%





SFE kasutusvaldkonnad toiduainete tootmisel:

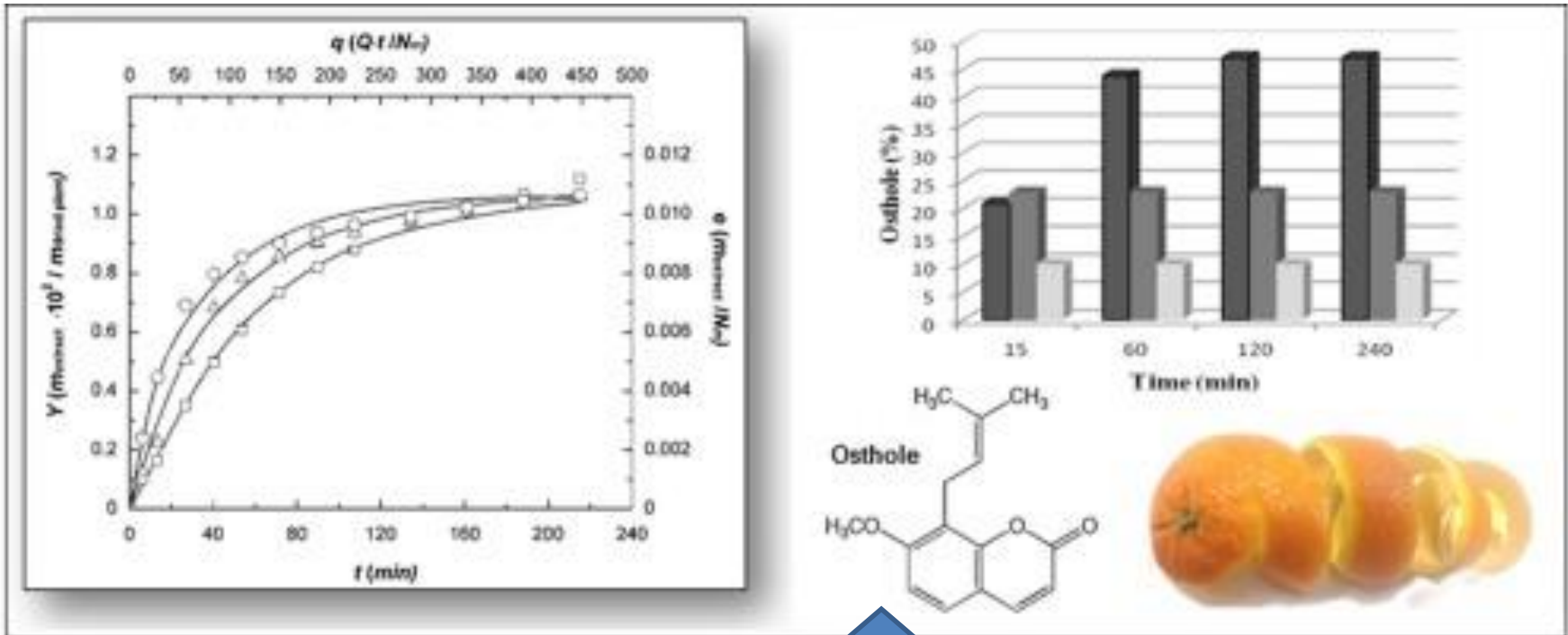
- kofeiinivaba kohvi ja tee tootmine,
- vürtside ekstraktsioon (eeterlikud õlid),
- õlide ja rasvade lõhnastatumine,
- taimsete õlide eraldamine teraviljadest,
- lõhna- ja maotseained, parfüümid
- humala ekstraktsioon,
- ekstraktsioon ravimtaimedest,
- marjamahlade stabilisatsioon,
- lanoliini tootmine villast,
- rasvavaba kiirtoidu tootmine,
- kolesterooli eraldamine munakollasest ja loomsetest kudedest,
- antioksüdandid taimsest materjalist,
- värvainete eraldamine taimedest,
- nikotiinivaba tubaka tootmine,
- õlide puhastamine...

Mendiola et al. (2013) ülevaade bioaktiivsete ühendite eraldamisest looduslikest materjalidest



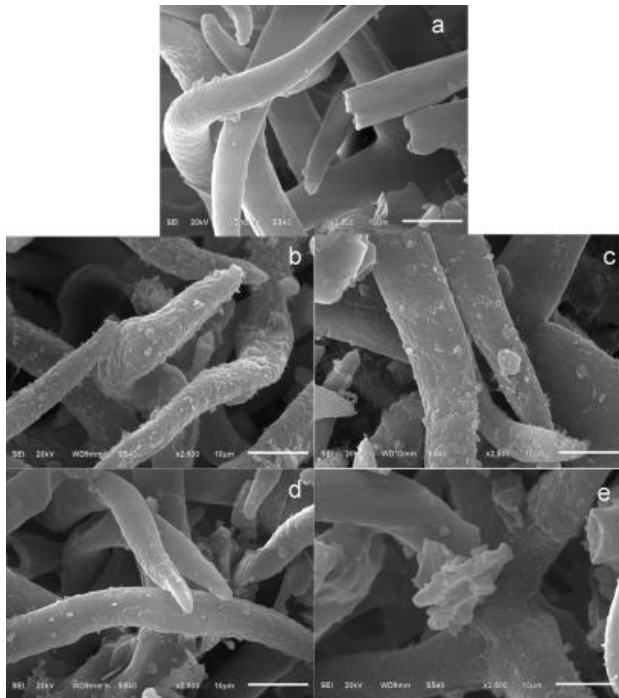
Kasutusvaldkonnad

Bioaktiivsed ühendid

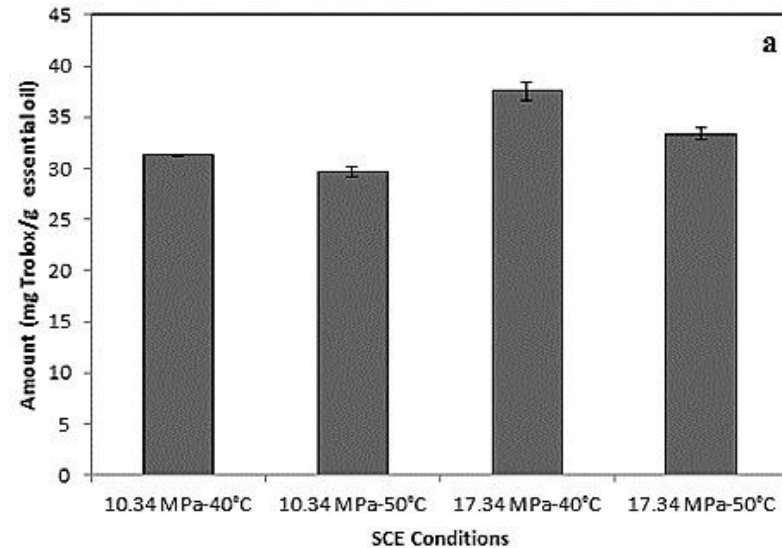


Eeterlikud õlid

CO₂-superkriitiline ekstraktsioon rosmariinist (*Rosmarinus officinalis*)



Terve rosmariini mikropilt superkriitilisel ekstraktsioonil
A) Töötlemata, b) 10.34 MPa, 40 °C, c) 10.34 MPa, 50 °C, d) 17.24 MPa, 40 °C, e) 17.24 MPa, 50 °C.



Rosmariini eeterliku õli antioksidatiivne aktiivsus superkriitilisel ekstraktsioonil valitud temperatuuridel ja rõhkudel

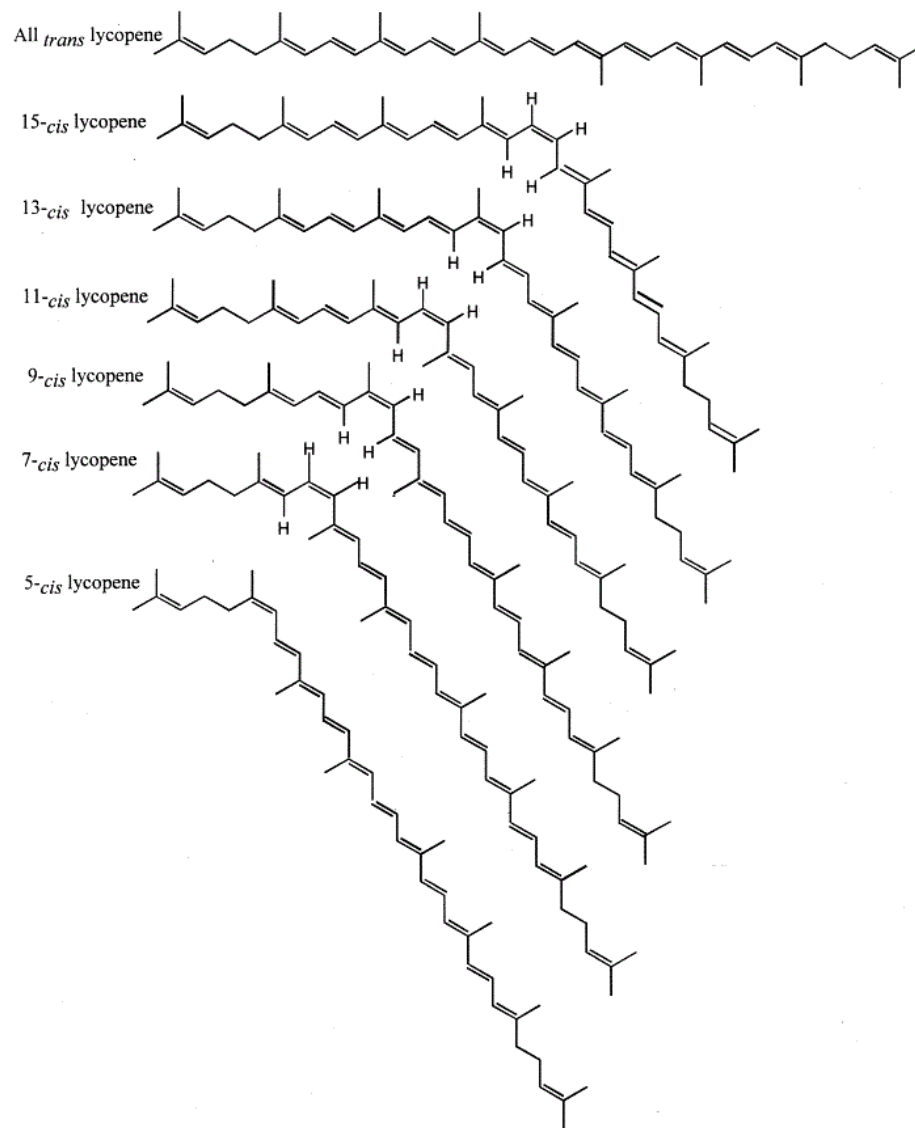
Tomat ning selle kõrvalproduktid



- tomati töötlemisel tekib palju jääkprodukte (koor, viljaliha, seemned)
- jääke on võimalik kasutada toidu-, kosmeetika- ja farmaatsiatööstuses.
- karotenoide on võimalik kasutada lisanditena toidus, et pikendada säilivusaega.
- tomatid ning nende jääkproduktid on suure lükopeeni sisaldusega.
- lükopeen ja β -karoteen on lubatud kasutada looduslike pigmentidena toidus.

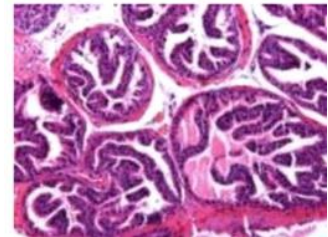
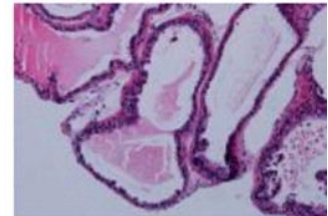
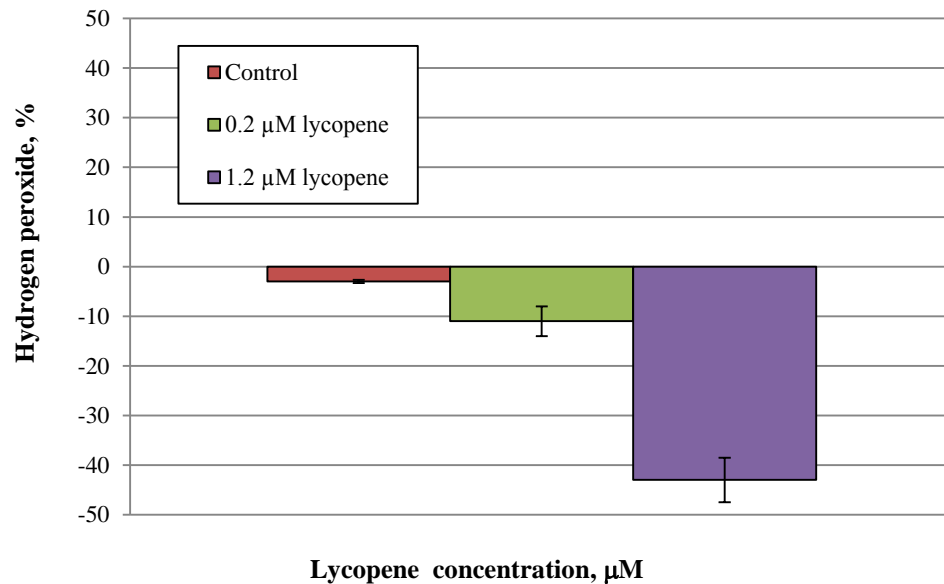
□ Inimeste kehavedelikes ning kudedes esineb lükopeen 25-70% ulatuses cis-isomeeri vormis. (Dewanto et al., 2010).

□ Lükopeeni cis-isomeeri vormide kõrge kontsentratsioon on viinud arvamusele, et cis-isomeerid on paremini omastatavad.

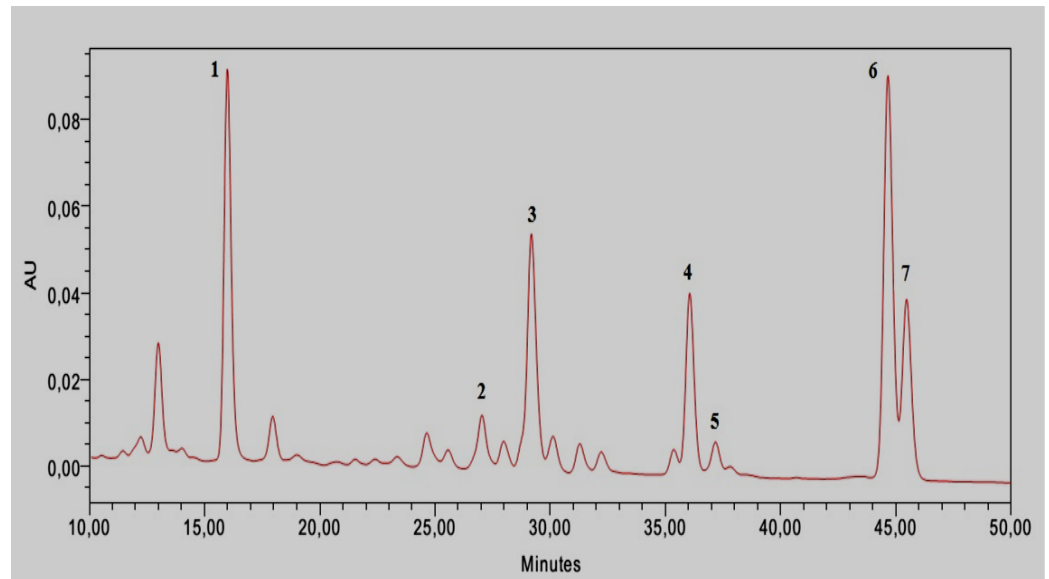


Joonis. 2 . Lükopeeni isomeeride struktuurid
(Chasse et al., 2001)

Lükopooni-rikkaid preparaate (60% cis-isomeeri kontsentratsiooniga) võiks kasutada farmakoloogiliste toimeainetena, sest omavad põletiku- ja proliferatsioonivastast toimet.

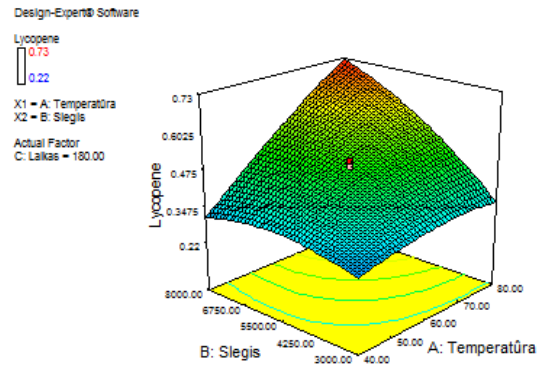


HPLC lükopeeni isomeeride analüüs



Joonis 3. HPLC analüüs (UV detektor 473 nm) lükopeeni erinevate isomeeride ja β -karoteeni lahutamisel tomati ekstraktist: 1 – *trans*- β -karoteen; 2 – 15-*cis*-lükopeen; 3 – 13-*cis*-lükopeen; 4 – 9-*cis*-lükopeen; 5 – 7-*cis*-lükopeen; 6 – *trans*-lükopeen; 7 – 5-*cis*-lükopeen

Meetodid



Superkriitilise CO₂ optimeerimine tomati jääproduktidest

- **Katse ülesehitus** võimaldab hinnata erinevate faktorite vahelisi seoseid (rõhk, temperatuur, aeg) kasutades piiratud arvu katseid
- Ekstraktsiooni tingimuste optimeerimisel on kasutatud erinevaid katseskeeme sealhulgas vastavusfunktsiooni hindamismetoodika (**RSM**).

Osakeste suurus

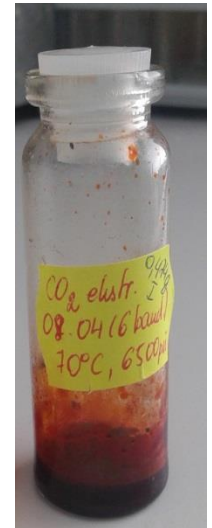
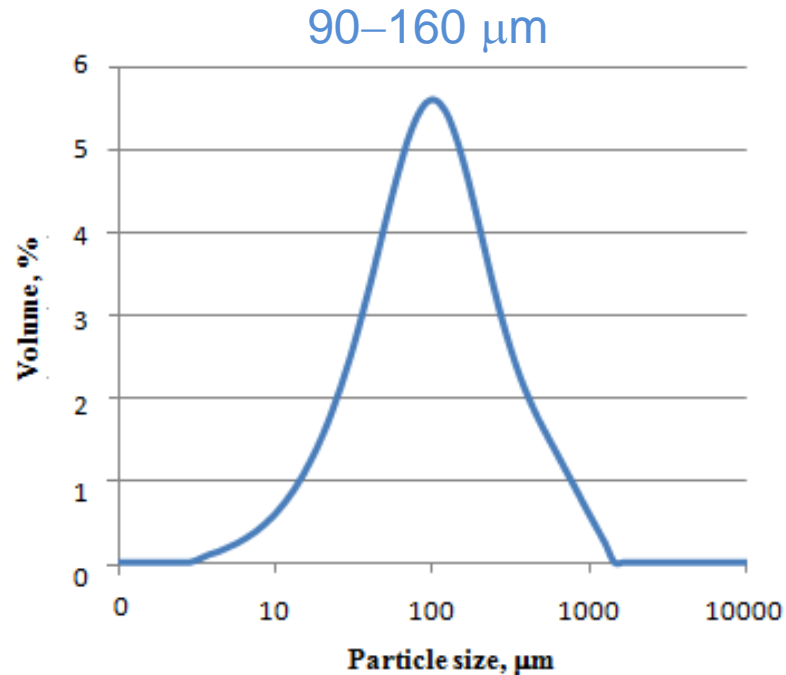
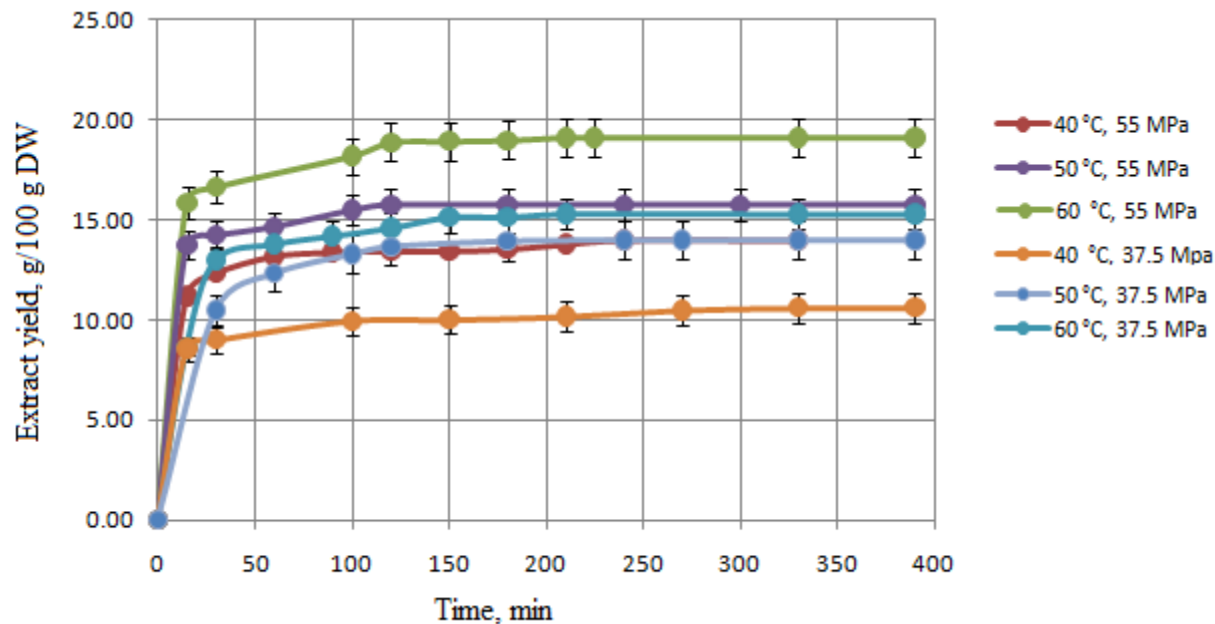


Table 1. Particle size parameters of freeze-dried tomato by-products after juice preparation^a

Fractions	d (0.1)	d (0.5)	d (0.9)	D [4,3]	D [3,2]
Freez dried tomato by-products	40.5±1.66	315.5±8.27	849.1±23.34	388.0±8.90	94.7±3.63

a - the values are expressed in terms of percent (%) as mean \pm standard deviation of six determinations. D [4, 3] - volume weighted mean, D [3, 2] - surface weighted mean.



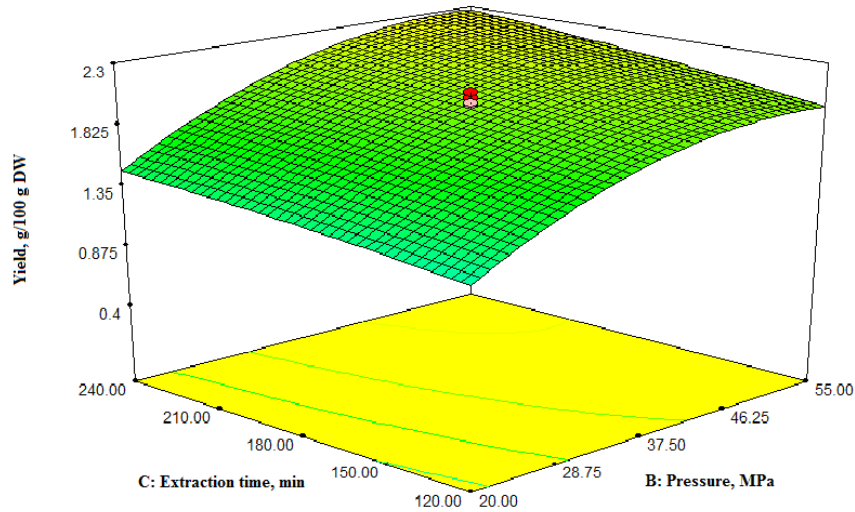
Jooni 5. Katses kasutatud muutujate mõju ekstraktsiooni saagisele

Tabel 1. Sõltumatute muutujate tase

Variatsiooni tase	Muutujad		
	Ekstraktsiooni temperatuur (°C)	Ekstraktsiooni rõhk (MPa)	Ekstraktsiooni aeg(min)
Madal tase(-1)	40	20	120
Max tase (+1)	80	55	240
Keskmine tase(0)	60	37.5	180

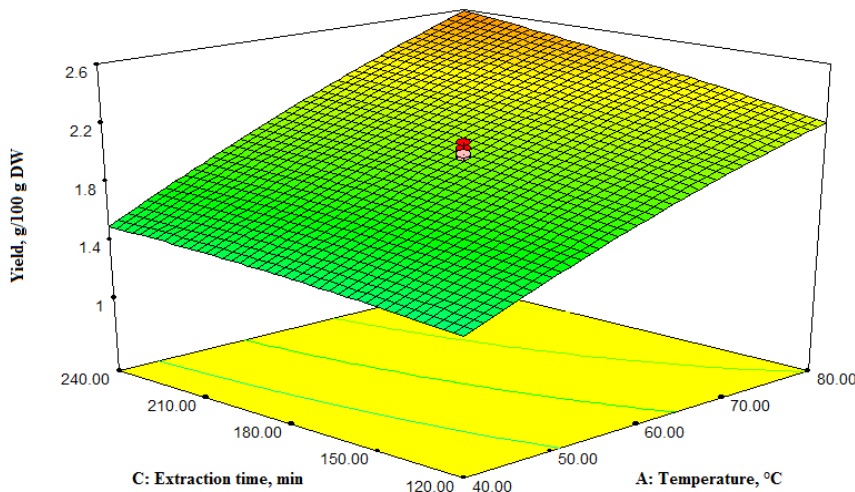
A: Constant extraction temperature, 60 °C

Effect of pressure and extraction time



B: Constant extraction pressure, 37.5 MPa

Effect of temperature and extraction time



C: Constant extraction time, 180 min

Effect of temperature and pressure

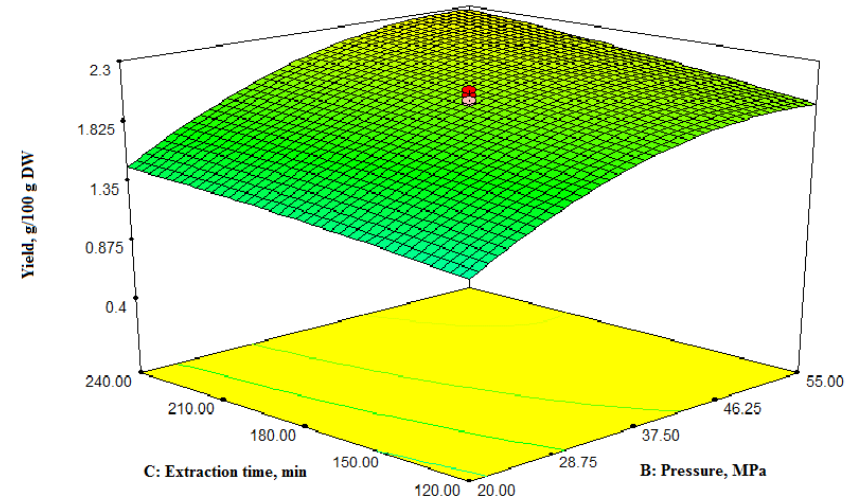


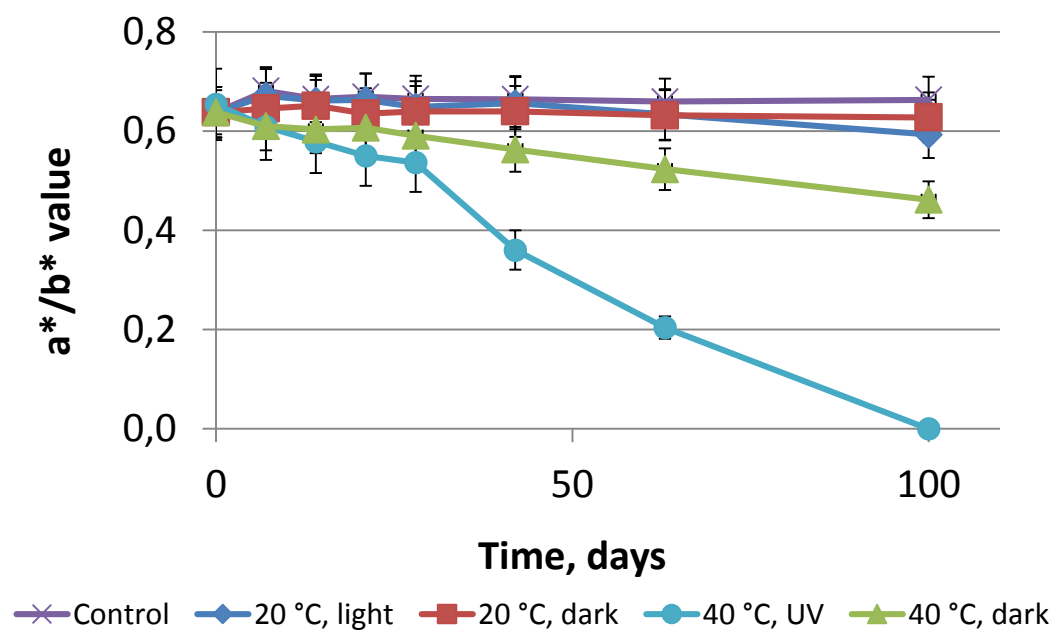
Fig. 3D response surface plots of SFE- CO₂ for the extract yield of tomato by-products

Kõrge saagise optimaalsed parameetrid: temperatuur **80°C**, rõhk **55 MPa** ning aeg **120 min**. Ekstrakti mittepolaarne fraktsioon optimaalsetel tingimustel oli **2.92±0.05 g/100 g DW**, 59 % saagis.

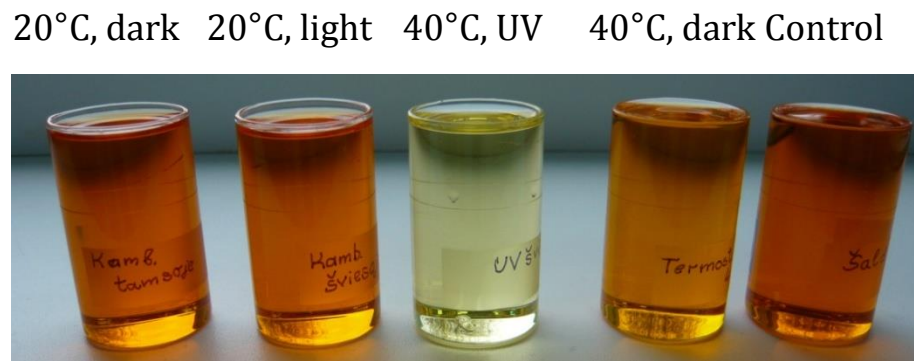
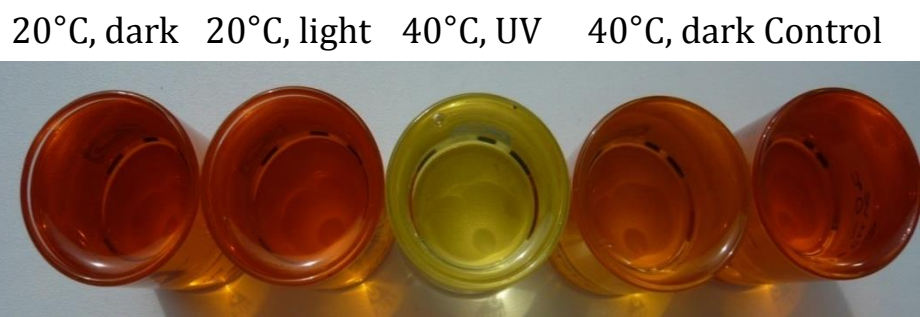
Nr.	Temperatuur, °C	Rõhk, MPa	Aeg, min	<i>trans</i> -LYC	Kogu <i>cis</i> -LYC
1	40	20	120	55.12	44.88
2	40	37.5	120	46.73	53.27
3	40	55	120	37.58	62.42
4	50	20	120	50.5	49.50
5	50	37.5	120	49.78	50.22
6	50	55	120	44.75	55.25
7	60	20	120	49.65	50.35
8	60	37.5	120	45.37	54.63
9	60	55	120	42.11	57.89

Joonis 9. *trans*- ja *cis*-isomeeride üldsisaldus temperatuuril 40-60°C ja 20-55 MPa





Joonis 5. Proovi värvimuutus säilitamisel, väljendatud a*/b*





NATURE'S
ELEMENT



Urbonavičienė, D., Bobinaitė, R., Viškelis, J., Viškelis, P., & Bobinas, Č. (2016, January). CHARACTERISATION OF TOMATO JUICE AND DIFFERENT TOMATO-BASED JUICE BLENDS FORTIFIED WITH ISOMERISED LYCOPENE EXTRACT. In *International scientific conference RURAL DEVELOPMENT 2015*.

Tomati-ūnāmahla segu 85:15, 75:25 ja 65:35, v/v (TApl15%, TApl25%, TApl35%):



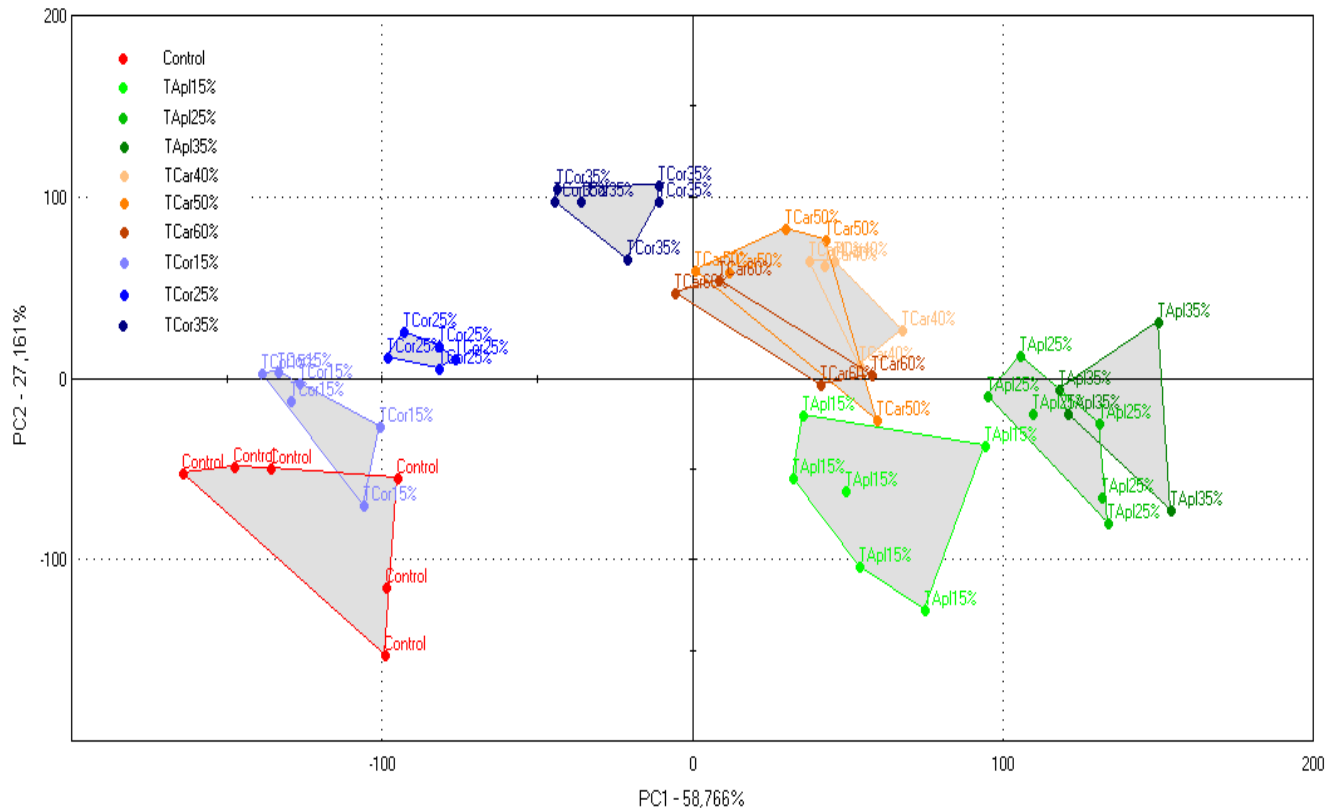
Tomati-porgandimahla segu 60:40, 50:50 ja 40:60, v/v (TCar40%, TCar50%, TCar60%):



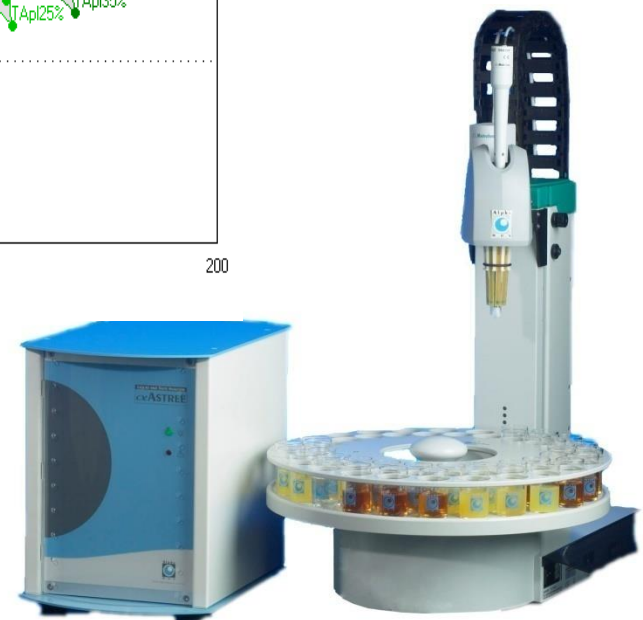
Tomati-magusa maisi mahla segu 85:15, 75:25 and 65:35, v/v (TCor15%, TCor25%, TCor35%):



Kõige sobilikuma maitsega tunnistati tomati-õunamahla segu (35% õunamahla) ja tomati-porgandimahla segu (40% porgandimahla) lisatud cis-lükopeeniga.



Peakkomponentide analüüsi (PCA) kasutati, et määrata mahlaproovid sarnase maitsega

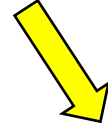




Chaenomeles japonica
(Jaapani ebaküdoonia)



SUPERKRIITILINE CO₂ EKSTRAKTSIOON



תודה
 Dankie Gracias
 Спасибо شكراً
 Köszönjük Merci Takk
 Grazie Dziękujemy Terima kasih
 Ďakujeme Vielen Dank Paldies
 Kiitos Täname teid 谢谢
Thank You Tak
 感谢您 Obrigado Teşekkür Ederiz
 Σας ευχαριστούμε 감사합니다
 Bedankt Děkujeme vám
 ありがとうございます
 Tack

