

RASTLINSKI IZVLEČKI EKSTRAKCIJE S SUPERKRITIČNIMI TEKOČINAMI IN NJIHOVA UPORABA SUPERCRITICAL FLUID PLANT EXTRACTS AND THEIR USE

AVTOR / AUTHOR:

Asist. Katja Kramberger, mag. farm.¹

Izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.²

¹ Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju,
Katedra za prehransko svetovanje - dietetiko,
Polje 42, 6310 Izola

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: katja.kramberger@fvz.upr.si

POVZETEK

Metoda ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami velja za relativno novo metodo pridobivanja rastlinskih izvlečkov. Je bolj učinkovita in selektivna ter okolju prijaznejša alternativa običajnim postopkom ekstrakcije. V članku navajamo postopek pridobivanja izvlečkov s superkritičnim CO₂ in prednosti njihove uporabe na področju farmacije, prehrane in kozmetike, podkrepljene s praktičnimi primeri.

KLJUČNE BESEDE:

ekstrakcija s superkritičnim CO₂, rastlinski izvlečki, bioaktivne spojine

ABSTRACT

Supercritical fluid extraction method is relatively new plant extraction method, which is more effective, selective and environment-friendlier alternative to conventional extraction procedures. In the article we present procedures for obtaining supercritical CO₂ plant extracts and advantages of their use in the field of pharmacy, nutrition and cosmetics, illustrated by practical examples.

KEY WORDS:

supercritical CO₂ extraction, plant extracts, bioactive compounds

1 UVOD

Bioaktivne spojine so v rastlinah navadno prisotne v majhnih koncentracijah, zato se znanstveniki še danes intenzivno ukvarjajo z razvojem bolj učinkovitih in selektivnih ekstrakcijskih metod (1). Čeprav so tradicionalni postopki tehnološko večinoma enostavni in uveljavljeni, je z njimi povezanih nekaj pomembnih slabosti: velike količine odpadnih topil, ki so pogosto toksična in vnetljiva, ter uporaba toplote, ki lahko privede do razpada termolabilnih molekul (2, 3). »Zelena kemija« se je za namene ekstrakcije pojavila v devetdesetih letih prejšnjega stoletja, s ciljem zmanjšanja porabe energije in zamenjave običajnih topil z naravi manj škodljivimi alternativami. Metoda ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami izpolnjuje oba navedena cilja (2).

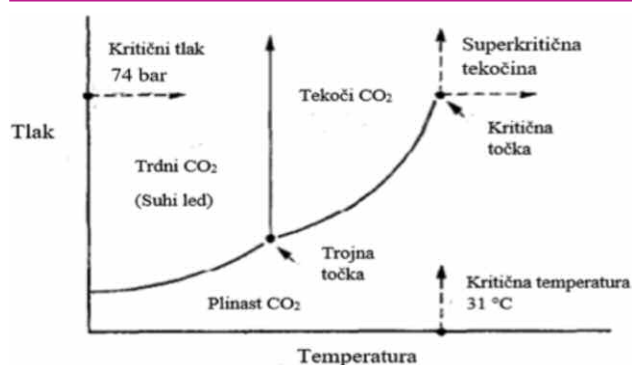
Ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami se je najprej pojavila v prehranski industriji za pridobivanje brezkofeinske kave,

nato pa se je uveljavila tudi za pridobivanje rastlinskih izvlečkov za farmacevtsko uporabo (4).

2 SUPERKRITIČNE TEKOČINE IN EKSTRAKCIJA

2.1. LASTNOSTI SUPERKRITIČNIH TEKOČIN

Superkritična tekočina nastane, kadar temperatura in tlak presežeta kritično točko spojine; slika 1 prikazuje primer ogljikovega dioksida (CO₂). Nad kritično temperaturo tekoče stanje ni več mogoče, ne glede na tlak. Parni tlak snovi pri njeni kritični temperaturi imenujemo kritični tlak (2, 5).



Slika 1: Fazni diagram ogljikovega dioksida, prirejeno po (6).
Figure 1: Phase diagram for carbon dioxide, adapted from (6).

Superkritična tekočina je homogena faza z lastnostmi tekočine (možnost raztapljanja, zanemarljiva površinska napetost) kot tudi plina (prodiranje v material) (7). Fizikalne lastnosti superkritične tekočine so vmes med lastnostmi plina in tekočine: gostota in stisljivost sta podobni kot pri tekočinah, plinom pa jo približata dobra difuzivnost in nizka viskoznost (preglednica I) (2, 5, 7).

Preglednica I: Primerjava gostote, difuzivnosti in viskoznosti plinov, superkritičnih tekočin in tekočin (5).

Table I: Comparison of density, diffusion coefficient and viscosity properties of gases, supercritical fluids and liquids (5).

Fizikalna lastnost	Faza		
	Plin	Superkritična tekočina	Tekočina
Gostota (g/cm ³)	(0,6–2) × 10 ⁻³	0,2–0,5	0,6–2
Difuzijski koeficient (cm ² /s)	(1–4) × 10 ⁻¹	10 ⁻³ –10 ⁻⁴	(0,2–2) × 10 ⁻⁵
Viskoznost (g·cm ⁻¹ ·s ⁻¹)	(1–3) × 10 ⁻⁴	(1–3) × 10 ⁻⁴	(0,2–3) × 10 ⁻²

Posledica nizke viskoznosti in visoke difuzivnosti superkritičnih tekočin je dobra sposobnost raztapljanja. Lažje prodrejo v porozne snovi kot tekočine in hitrost prenosa mase je večja (1). S spreminjanjem temperature in tlaka spreminjamo njihovo gostoto – če tlak pri kritičnih pogojih povežemo štirikrat, se gostota približno podvoji in približa gostoti tekočin, difuzivnost in viskoznost pa ostaneta takšni, kot ju imajo plini (2).

Možnost spreminjanja moči raztapljanja vodi do visoke selektivnosti v ekstrakciji ciljanih spojin, ki jo lahko dosežemo v precej krajšem času kot pri običajnih metodah ekstrakcije (1, 2). Sveža superkritična tekočina med dinamično ekstrakcijo nenehno teče skozi vzorec in s tem omogoča bolj kvantitativno in popolnejšo ekstrakcijo, zato so izkoristki zelo dobri. Zaoznanje topil ni, saj superkritična tekočina enostavno preide v plinasto stanje ob znižanju tlaka, nastali izvlečki pa so tudi zelo koncentrirani (1). Zaradi popolne ločitve faz je uplinjeno topilo čisto in ga lahko ponovno uporabimo. Ekstrakcija poteka pri nizki temperaturi in je predvsem primerna za pridobivanje spojin, občutljivih na visoko temperaturo (1, 2).

2.2. SUPERKRITIČNI CO₂

Izmed vseh topil najpogosteje uporabljamo CO₂, saj ima ugodne kritične konstante (T_c = 31,1 °C in P_c = 73,8 bar), je brez vonja in okusa, visoke stopnje čistote, netoksičen, nevnetljiv in cenovno dostopen (7). Zaradi svoje nepolarosti zelo dobro raztaplja lipofilne snovi, kot so trigliceridi (rastlinska olja in masla), eterična olja in lipofilni vitamini. Večina bioaktivnih spojin v rastlinah je bolj polarnih od CO₂, zato je za ekstrakcijo hidrofilnih snovi potrebno k superkritični fazi dodati polarne organske modifikatorje, kot sta etanol ali metanol (1, 4), ali tudi voda (7). Pri tem velja poudariti, da polarni modifikatorji spremenijo kvalitativno in kvantitativno sestavo izvlečka. Da se izognemo polarnim modifikatorjem, je smiselno namesto CO₂ uporabiti bolj polarno superkritično tekočino. Voda kot topilo ne pride v poštev, saj je kritična točka pri veliko ostrejših pogojih (374 °C, 221 bar), pri katerih že nastopi korozivnost (7). Dovolj polarna snov z ugodnimi konstantami je npr. didušikov ok-



sid (N_2O), ki so ga uporabili za izolacijo paklitaksa. Njegova uporaba je omejena, saj lahko ob prisotnosti organskih spojin pride do eksplozij (1).

2.3. POSTOPEK EKSTRAKCIJE

Ekstrakcija s superkritičnimi tekočinami je petstopenjski proces. Tekoči CO_2 s pomočjo visokotlačne črpalke črpamo skozi izmenjevalec toplote v ekstrakcijsko posodo (slika 2). V izmenjevalcu toplote zaradi vpliva tlaka in temperature CO_2 preide v superkritično stanje. Superkritični CO_2 nato preide v ekstrakcijsko posodo, kjer se nahaja suh in zdrobljen rastlinski material. Med ekstrakcijo superkritično topilo prehaja skozi rastlinski material in raztaplja topne spojine. Tlak v ekstrakcijski posodi vzdržuje regulator tlaka. Zmes topljenca in superkritične tekočine vodimo v odstavne posode, kjer tlak postopoma popuščamo. Zaradi nižanja tlaka postopoma pada tudi moč raztapljanja in topljenec izpade iz topila. Na koncu tlak zmanjšamo do te mere, da CO_2 preide v plin, ki nima več moči raztapljanja. Nato ga ponovno shladimo in utekočinimo v sistemu recikliranja plina ali pa ga s pomočjo plinskih »boosterjev« in črpalke neposredno vrnemo v sistem (7).

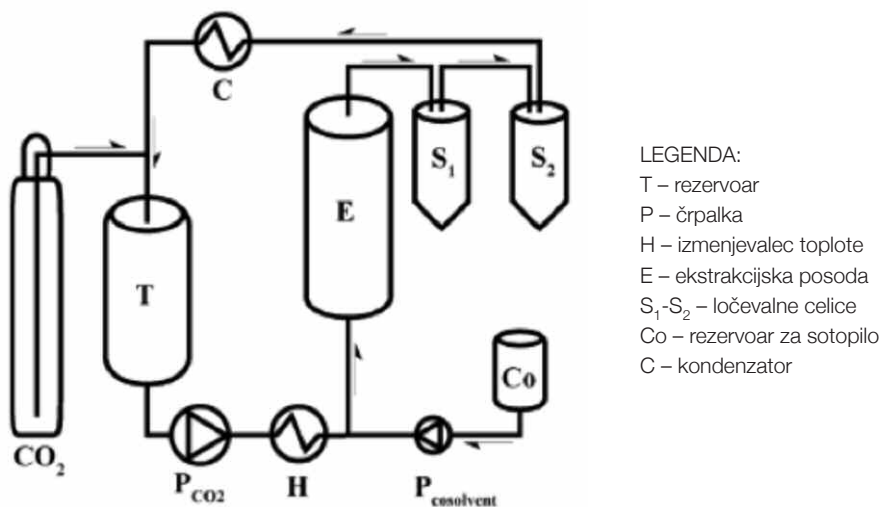
2.4. PREDNOSTI IN SLABOSTI EKSTRAKCIJE

Nekaj pozitivnih lastnosti ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami smo že izpostavili, vendar ima metoda tudi druge

prednosti, ki so bolj operativnega značaja (preglednica II). Napravo je mogoče sklopiti s kromatografskimi metodami, kot so HPLC in GC ter njuni sklopitvi z MS. Ekstrakcijo je mogoče izvesti v različnih obsegih: od analitskih (nekaj gramov), preparativnih (nekaj sto gramov) do velikih industrijskih (tone rastlinske droge). Posebnost metode je tudi ta, da daje več informacij o postopku ekstrakcije in njenem mehanizmu, saj ekstrakcijske razmere zelo natančno nadzorujemo. Na podlagi teh podatkov je mogoče oceniti učinkovitost ekstrakcije in jo ustrezno nadalje optimizirati (1). Kot vsaka metoda pa ima tudi metoda superkritične ekstrakcije slabosti (preglednica II). Najpomembnejša je zagotovo cena, saj je investicijski strošek zelo visok (2, 8).

3 UPORABA V FARMACIJI, KOZMETIKI IN PREHRANI

Z razvojem sodobnih kromatografskih in spektroskopskih metod se je izboljšalo razumevanje kemije snovi rastlinskega izvora, s tem pa se je povečalo tudi zanimanje za raziskovanje teh snovi za uporabo npr. kot zdravila, prehranska dopolnila, kozmetični izdelki ali pesticidi. Najbolj zanimivo in aktivno področje raziskav je ravno farmacevtsko, predvsem z vidika odkrivanja in proučevanja novih spojin kot potencialnih zdravilnih učinkovin (1). Podroben pregled uporabnosti ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami podajamo v preglednici III.



Slika 2: Shema naprave za ekstrakcijo s superkritičnimi tekočinami (7).
 Figure 2: Supercritical fluid extraction apparatus scheme (7).

Preglednica II: Prednosti in slabosti ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami.

Table II: Advantages and disadvantages of supercritical fluid extraction.

PREDNOSTI	SLABOSTI
Selektivnost	Visok investicijski strošek
Učinkovitost	Velikost naprave
Kratek čas ekstrakcije	Potreba po organskih sotoptilih
Energetsko varčna in okolju prijazna metoda (majhna poraba energije med delovanjem, netoksična topila in možnost ponovne uporabe topila)	Zahtevnost rokovanja z napravo (visoko usposobljen kader)
Dobljeni izvlečki so koncentrirani (ločitev topila z uplinjenjem oz. odparevanjem)	
Primernost za termolabilne spojine	
Možnost sklopitve s kromatografskimi metodami	
Možnost natančne prilagoditve dejavnikov ekstrakcije in optimizacije postopka	

3.1. IZOLACIJA SPOJIN ZA RAZISKOVALNE NAMENE

Ekstrakcijo s superkritičnimi tekočinami pogosto uporabljamo v raziskovalne namene, torej za pridobivanje rastlinskih izvlečkov kot vzorcev za nadaljnjo fitokemijsko karakterizacijo (npr. s kromatografskimi, spektrometričnimi in gravimetričnimi metodami) (9). Bioaktivne spojine so razširjene v zdravilnih rastlinah, sadju, zelenjavi in tudi v odpadku, nastalem po pridelavi hrane (10). Prvi primer predstavljajo polifenoli, ki so spojine z antioksidativnim delovanjem. V primerjavi z običajnimi postopki ekstrakcije so imeli izvlečki, pridobljeni s superkritičnim CO₂, v večini primerov, kljub nižjim izkoristkom, podobne ali boljše antioksidativne lastnosti (11). Razlog je v izoliranem širšem spektru spojin, ki navadno delujejo sinergistično (11, 12). Izolacija antioksidantov je bolj učinkovita, če se poslužimo zaporedne ekstrakcije: v prvi stopnji se pod milejšimi razmerami ekstrahirajo hlapne spojine (eterična olja), nato pa v drugi stopnji z višanjem tlaka in dodajanjem organskega modifikatorja ekstrahiramo še bolj polarne spojine (polifenoli) (11). Primer tovrstne uporabe ekstrakcije s superkritičnim CO₂ je optimizacija ekstrakcijskih razmer pri ekstrakciji zeli šentjanževke (*Hypericum perforatum* L.), kjer so raziskovalci poskušali povečati delež hiperforina v izvlečkih. Ta je zaradi svoje lipofilnosti v običajnih etanolno-vodnih izvlečkih prisoten le v manjšem obsegu, medtem ko je njegov delež v rastlini precej večji. Z optimizacijo ekstrakcijskih razmer so povečali delež hiperforina v izvlečku do 35 % (4).

3.2. IZOLACIJA ZDRAVILNIH UČINKOVIN

Metoda ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami je uporabna za izolacijo redkih spojin, ki so v rastlinah prisotne v majhni količini, ravno zaradi velike selektivnosti in učinkovitosti. Čeprav je ekstrakcija redkih spojin s superkritičnimi tekočinami učinkovita, pa za pridobivanje zdravilnih učinkovin v industrijskem merilu pogosto ni primerna. Viri rastlinskega materiala so namreč omejeni, zato je velikokrat potrebno spojine pripraviti sintezno. Tak primer je izolacija protirakave učinkovine paklitaksela, ki se nahaja v lubju pacifiške tise (*Taxus brevifolia* L.) v zelo majhnih količinah (50–100 mg/kg skorje) in bi za zdravljenje enega bolnika potrebovali dve do tri 60-letna drevesa (13). Drugače je z rastlinami, ki jih lahko širše umetno gojimo za namene izolacije spojin. Čeprav je možna totalna sinteza antimalarika artemizina, je izolacija iz listov (gojenega) enoletnega pelina (*Artemisia annua* L.) cenovno ugodnejša, kljub temu, da so izkoristki zgolj okoli 1 % mase suhe rastline (14). Ekstrakcija s superkritičnim CO₂ omogoča kvantitativno izolacijo artemizina in preprečuje njegov termični razpad (14, 15).

3.3. IZOLACIJA HLAJNIH SPOJIN

Hlapne spojine v aromatičnih rastlinah poznamo kot eterična olja. Kemijsko gre za zmesi mono- in seskviterpenov ter njihovih oksigeniranih derivatov (alkoholi, aldehidi, ketoni, kisline, fenoli, oksidi, laktoni, estri in etri) ali fenilpropanoidov. Poudariti moramo, da so prava eterična olja le tiste hlapne



spojine, ki jih pridobimo z destilacijo in stiskanjem. Izraz eterično olje za izvlečke, pridobljene z ekstrakcijo s superkritičnimi tekočinami, zato ni najbolj primeren, čeprav vsebujejo po kemizmu enak oz. podoben profil spojin. Med postopkom destilacije lahko poleg izgube hlapnih spojin pride tudi do kemijskih sprememb (oksidacija, hidroliza) in raztapljanja bolj polarnih hlapnih spojin v vodni fazi (hidrolat). Pri ekstrakciji s superkritičnimi tekočinami topil ni potrebno odparevati, zato hlapne spojine v izvlečku ohranimo (7). Izvlečki s hlapnimi spojinami, pridobljeni s superkritičnim CO₂, so po sestavi najbolj podobni esenci rastline (16). So torej boljše kakovosti, predvsem v smislu aromatičnosti, na katero vplivamo s spreminjanjem ekstrakcijskih razmer (temperature, tlaka, pretoka, vrste in deleža organskega modifikatorja) (7). Izvlečki s hlapnimi spojinami rožmarina (*Rosmarinus officinalis* L.), kumine (*Cuminum cyminum* L.), janeža (*Pimpinella anisum* L.) in timijana (*Thymus serpyllum* L.) so imeli boljše antioksidativno delovanje, ko so jih pridobili z ekstrakcijo s superkritičnim CO₂ (17). Tovrstni rastlinski izvlečki oz. v njih prisotne hlapne spojine so izkazovali tudi dobro protibakterijsko (npr. karvakrol, α-pinen in germakrolid), protiglavno (npr. 1,8-cineol, kariofilenoksid in

kafra) in insekticidno aktivnost (npr. skvalen in kampesterol) (7).

3.4. IZOLACIJA TRIGLICERIDOV (RASTLINSKIH OLJ) IN VITAMINOV

Metoda ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami je uporabna tudi za izolacijo, frakcioniranje lipidov in njihovo predelavo do industrijskih izdelkov (6). Nerafinirana trigliceridna olja, izolirana s superkritičnimi tekočinami, veljajo za bolj kakovostna, saj vsebujejo več antioksidantov (polifenolov in tokoferolov), ki zavirajo oksidativno kvarjenje olj. V primerjavi z običajnim pridobivanjem rastlinskih olj in masel poteka postopek ekstrakcije pri nizki temperaturi in v okolju z omejenim dostopom kisika, kar prav tako pripomore k ohranjanju njihove oksidativne stabilnosti (18). Tak način ekstrakcije je pomemben predvsem za izolacijo nestabilnih olj kot je laneno olje (19). Pogosto optimiziramo ekstrakcijske razmere za povečanje izkoristka olja in vsebnosti tokoferolov. Tokoferole lahko ekstrahiramo tudi neposredno iz rastlinskega materiala – npr. iz semen vinske trte (*Vitis vinifera* L.) ali iz listov oljke (*Olea europaea* L.) (20).

Preglednica III: Primeri uporabe ekstrakcije s superkritičnimi tekočinami na področjih farmacije, prehrane in kozmetike.

Table III: Examples of supercritical fluid extraction use in the fields of pharmacy, food and cosmetics.

Področje uporabe	Opis postopka ekstrakcije	Vrsta spojine	Namen/pomen ekstrakcije
Farmacija	Optimizacija izolacije partenolida iz listov belega vratiča (<i>Tanacetum parthenium</i> L.)	Seskviterpensi laktoni	Proučevanje protimigrenskega delovanja partenolida (16)
	Odstranjevanje nečistot v pomožnih snoveh	Različne spojine	Pridobivanje pomožnih snovi visoke stopnje čistosti (8)
	Odstranjevanje pesticidov iz rastlinskih zdravil kitajske tradicionalne medicine	Kloroalkani	Razvoj metode za detekcijo pesticidov (21)
	Izolacija faradiola iz cvetov ognjiča (<i>Calendula officinalis</i> L.)	Triterpensi alkoholi	Povečevanje deleža spojine s protivnetnim delovanjem (16)
	Ekstrakcija česna (<i>Allium sativum</i> L.)	Žveplave spojine	Izolacija spojin s protimikrobnim delovanjem (7)
Farmacija/ prehrana	Izolacija bioaktivnih spojin rozmanola in karnozola iz rožmarina (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) in žajblja (<i>Salvia officinalis</i> L.)	Diterpeni	Odstranjevanje hlapnih substanc z neprijetnim vonjem od bioaktivnih spojin (16)
	Izolacija β-karotena iz sladkega krompirja (<i>Ipomoea batatas</i> L.)	Karotenoidi	Optimizacija ekstrakcijske metode (9)
	Izolacija absintina iz pelina (<i>Artemisia absinthium</i> L.)	Seskviterpensi lakton	Izolacija grenčine brez prisotnosti β-tujona (16)

Prehrana	Izolacija flavonoidov iz eksokarpa pomela (<i>Citrus grandis</i> L.)	Flavonoidi	Testiranje metode za ekstrakcijo (22)
	Ekstrakcija konopljinega olja (<i>Cannabis sativa</i> L.)	Trigliceridi/ tokoferoli	Pridobljeno olje s povečano vsebnostjo tokoferolov (23)
	Odstranjevanje holesterola iz mleka	Steroli	Zmanjševanje deleža holesterola (9)
	Izolacija grenčin iz hmelja (<i>Humulus lupulus</i> L.)	Fluoroglucinoli	Za ojačevanje arome piva (7)
	Izolacija hlapnih spojin z antioksidativnim potencialom iz črnega popra (<i>Piper nigrum</i> L.)	Oleorezin	Primerjava metod za pridobivanje izvlečkov za zaviranje kvarjenja mlete svinjine (24)
Prehrana/ kozmetika	Optimizacija metode za pridobivanje ričkovega olja (<i>Camelina sativa</i> L.)	Trigliceridi	Pridobivanje bolj kakovostnega deviškega olja v primerjavi z ekstrakcijo s topili (25)
Kozmetika	Izolacija aromatične spojine sklareola iz muškatne kadulje (<i>Salvia sclarea</i> L.)	Diterpeni	Uporaba v parfumih, ojačevalcih vonja hrane (16)
	Pridobivanje izvlečka arnike (<i>Arnica montana</i> L.)	Seskviterpenski laktoni	Odstranjeni seskviterpenski laktoni, ki povzročajo kontaktni dermatitis (16)

4 SKLEP

Z metodo ekstrakcije s superkričnimi tekočinami lahko pripravimo izvlečke z različno sestavo in iz raznolikega rastlinskega materiala. Metoda ima številne tehnološke prednosti, med katerimi izstopata selektivnost in prilagodljivost ekstrakcijskih razmer. Kljub številnim raziskavam možnosti uporabe te »zelene« metode, je prostora za izboljšave še veliko, zlasti na področju odkrivanja zdravilnih učinkovin (7). Predvsem je pomembna uveljavitev ekstrakcije s superkričnimi tekočinami kot metode izbora z vidika ekološke trajnosti.

5 LITERATURA

- Lang Q, Wai CM. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. *Talanta*. 2001 Jan;53(4):771–82.
- Khaw K-Y, Parat M-O, Shaw PN, Falconer JR. Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review. *Mol Basel Switz*. 2017 Jul;22(7).
- Kočevar Glavač N. Pridobivanje in vrednotenje rastlinskih izvlečkov. *Farm Vestn*. 2018 Oct; 69(4):259–64.
- Römpp H, Seger C, Kaiser CS, Haslinger E, Schmidt PC. Enrichment of hyperforin from St. John's wort (*Hypericum perforatum*) by pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci*. 2004 Mar;21(4):443–51.
- Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Supercritical Fluid Chromatography and Extraction. In: *Principles of Instrumental Analysis*. 6 edition. Belmont, CA: Brooks Cole; 2006. p. 856–66.
- J.W K. Supercritical Fluid Technology for Lipid Extraction, Fractionation, and Reactions. In: *Lipid Biotechnology*. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc.; 2002. p. 663–687.
- Capuzzo A, Maffei ME, Occhipinti A. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Mol Basel Switz*. 2013 Jun;18(6):7194–238.
- Girotra P, Singh SK, Nagpal K. Supercritical fluid technology: a promising approach in pharmaceutical research. *Pharm Dev Technol*. 2013 Feb;18(1):22–38.
- Modey WK, Mulholland DA, Raynor MW. Analytical Supercritical Fluid Extraction of Natural Products. *Phytochem Anal*. 1996 Jan;7(1):1–15.
- Putnik P, Lorenzo J, Barba F, Roohinejad S, Režek Jambrak A, Granato D, et al. Novel Food Processing and Extraction Technologies of High-Added Value Compounds from Plant Materials. *Foods*. 2018 Jul;7(7):106.

11. Díaz-Reinoso B, Moure A, Domínguez H, Parajó JC. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 2006 Apr;54(7):2441–69.
12. Vági E, Rapavi E, Hadolin M, Vásárhelyiné Perédi K, Balázs A, Blázovics A, et al. Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. *J Agric Food Chem.* 2005 Jan;53(1):17–21.
13. Jennings DW, Deutsch HM, Zalkow LH, Teja AS. Supercritical extraction of taxol from the bark of *Taxus brevifolia*. *J Supercrit Fluids.* 1992 Mar;5(1):1–6.
14. Kohler M, Haerdi W, Christen P, Veuthey JL. Extraction of artemisinin and artemisinic acid from *Artemisia annua* L. using supercritical carbon dioxide. *J Chromatogr A.* 1997 Oct;785(1–2):353–60.
15. Su X, Miller LH. The discovery of artemisinin and Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Sci China Life Sci.* 2015 Nov;58(11):1175–9.
16. Simándi B, Kéry Á. Supercritical Fluid Extraction of Terpenoids and Steroids from Plants. [internet] Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/f0b3/ca05f3828b68ae7a28b7608638247ae461.pdf>
17. Topal U, Sasaki M, Goto M, Otlés S. Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation. *Int J Food Sci Nutr.* 2008 Dec;59(7–8):619–34.
18. Khattab RY, Zeitoun MA. Quality evaluation of flaxseed oil obtained by different extraction techniques. *LWT - Food Sci Technol.* 2013 Sep;53(1):338–45.
19. Kramberger K. Vpliv izbranih izvlečkov ekstrakcije s superkritičnem ogljikovim dioksidom, dodanih lanenemu olju, na njegovo peroksidno in anizidinsko število. Ljubljana: Univeza v Ljubljani; 2018. 68 p.
20. Malekbala MR, Soltani SM, Hosseini S, Eghbali Babadi F, Malekbala R. Current technologies in the extraction, enrichment and analytical detection of tocopherols and tocotrienols: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017 Sep;57(14):2935–42.
21. Ling YC, Teng HC, Cartwright C. Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides in Chinese herbal medicine. *J Chromatogr A.* 1999 Mar;835(1–2):145–57.
22. He J-Z, Shao P, Liu J-H, Ru Q-M. Supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peel and their antioxidant activity. *Int J Mol Sci.* 2012 Oct;13(10):13065–78.
23. Aladić K, Jarni K, Barbir T, Vidović S, Vladić J, Bilić M, in sod. Supercritical CO₂ extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Ind Crops Prod.* 2015 Dec;76:472–8.
24. Tipsrisukond N, Fernando LN, Clarke AD. Antioxidant Effects of Essential Oil and Oleoresin of Black Pepper from Supercritical Carbon Dioxide Extractions in Ground Pork. *J Agric Food Chem.* 1998 Oct;46(10):4329–33.
25. Belayneh HD, Wehling RL, Cahoon E, Ciftci ON. Extraction of omega-3-rich oil from *Camelina sativa* seed using supercritical carbon dioxide. *J Supercrit Fluids.* 2015 Sep;104:153–9.