

**Государственное образовательное учреждение высшего
профессионального образования
«Пятигорская государственная фармацевтическая академия
Федерального агентства по здравоохранению
и социальному развитию»**

И.Н. Зилфикаров, В.А. Челомбитько, А.М. Алиев

**Обработка лекарственного
растительного сырья сжиженными
газами и сверхкритическими
флюидами**

Под редакцией профессора В.А. Челомбитько

Пятигорск – 2007 г.

УДК 661.123

ББК 35.66

3-61

Рецензент: доктор фармац. наук, профессор Э.Ф. Степанова

Зилфикаров И.Н., Челомбитько В.А., Алиев А.М.

**3-61 Обработка лекарственного растительного сырья
сжиженными газами и сверхкритическими флюидами / И.Н.
Зилфикаров, В.А. Челомбитько, А.М. Алиев; под редакцией
В.А. Челомбитько. – Пятигорск, 2007. – 244 с.**

ISBN 978-5-94122-043-4

В монографии представлен материал, в котором обобщены сведения по применению сжиженных газов в технологии промышленной переработки растительного сырья. Сжиженные газы и сверхкритические флюиды (СКФ) сравнительно недавно нашли применение в различных областях, где востребованы высокотехнологичные процессы экстрагирования, фракционирования, сепарации, концентрирования, микронизации частиц, микрокапсулирования, низкотемпературной стерилизации и др. Преимущества и перспективы переработки растительного сырья, в том числе лекарственного, сжиженными газами связаны с отсутствием влияния высокой температуры, снятием проблемы остаточного растворителя, возможностью исчерпывающего экстрагирования сырья в одном замкнутом цикле и др. Сравнительно малоизученными в технологии биологически активных субстанций природного происхождения являются вопросы применения сверхкритических флюидов. Большие перспективы СКФ-технологии имеют в области создания лекарственных форм лабильных веществ, таких как белковые олиго- и полимеры, элементоорганические соединения, антибиотики, в том числе растительного происхождения.

Монография будет полезна студентам, научным сотрудникам и практикующим специалистам в области промышленной переработки растительного сырья и производства биологически активных веществ природного происхождения.

УДК 661.123

ББК 35.66

ISBN 978-5-94122-043-4

© Коллектив авторов, 2007

Содержание

Предисловие	6
Введение	9
Раздел 1. Теоретические основы и общая характеристика процессов обработки сырья сжиженными газами.....	15
Развитие теоретических представлений о растворимости веществ в сжатых и сжиженных газах	15
Кинетика массопереноса при экстрагировании сжиженными газами	20
Характеристика и физико-химические свойства сжиженных газов, используемых для экстракции.....	22
Характеристика сжиженного углерода (IV) оксида как экстрагента.....	26
Токсичность сжиженных газов	32
Общая характеристика экстракционных свойств сжиженных газов.....	33
Аппаратурное оформление процесса экстрагирования сжиженными газами.....	34
Влияние отдельных факторов на процесс экстракции сжиженными газами.....	47
<i>Температура, давление, вязкость</i>	<i>48</i>
<i>Степень измельчения сырья.....</i>	<i>50</i>
<i>Способ измельчения сырья. Измельчение сырья сжиженным газом</i>	<i>52</i>
<i>Время экстракции.....</i>	<i>56</i>
<i>Настаивание</i>	<i>59</i>
<i>Влажность экстрагируемого сырья.....</i>	<i>60</i>
<i>Роль гидродинамического фактора. Перемешивание</i>	<i>62</i>
<i>Множественный сброс давления.....</i>	<i>65</i>
Преимущества и недостатки экстракции сжиженными газами ...	66
Раздел 2. Сверхкритические флюидные технологии: теория, практика, перспективы	70
Определение сверхкритического флюида	70

Области практического приложения сверхкритических флюидных технологий	75
<i>Сверхкритическая флюидная экстракция (СКФЭ) из твердых материалов.....</i>	<i>77</i>
<i>Сверхкритическое флюидное фракционирование (СКФФ)</i>	<i>89</i>
<i>Препаративная сверхкритическая флюидная хроматография (СКФХ).....</i>	<i>104</i>
<i>Сверхкритическая флюидная реакция (СКФР).....</i>	<i>110</i>
<i>Химические реакции в сверхкритической флюидной воде</i>	<i>113</i>
<i>Проектирование (дизайн) частиц.....</i>	<i>114</i>
<i>Сверхкритическая флюидная стерилизация.....</i>	<i>119</i>
<i>Процедура СКФ-стерилизации.....</i>	<i>120</i>
 Раздел 3. Характеристика биологически активных веществ, полученных сжиженногазовыми экстрагентами	 130
Исследования состава и свойств экстрактов, масел и липофильных комплексов, полученных сжиженными газами	132
<i>Исследование CO₂-экстракта пихты сибирской</i>	<i>132</i>
<i>Токсикологическая характеристика CO₂-экстракта пихты. Острая токсичность.....</i>	<i>135</i>
<i>Хроническая токсичность CO₂-экстракта пихты.....</i>	<i>136</i>
<i>Эмбриотропное и тератогенное действие CO₂-экстракта пихты.....</i>	<i>138</i>
<i>Противоязвенная активность CO₂-экстракта пихты</i>	<i>138</i>
<i>Клиническое применение CO₂-экстракта пихты в дерматологии.....</i>	<i>141</i>
<i>Влияние углекислотного экстракта пихты на некоторые факторы иммунитета.....</i>	<i>141</i>
<i>Клиническое применение CO₂-экстракта пихты в артрологии ...</i>	<i>142</i>
<i>Исследование CO₂-экстрактов полыни эстрагон</i>	<i>143</i>
<i>Исследование сверхкритического флюидного CO₂-экстракта розмарина</i>	<i>148</i>
Исследование процессов экстракции жирных масел и липидных комплексов сжиженными газами.....	151

Исследования жирного масла и липофильной фракции из плодов облепихи, полученных экстракцией сжиженными газами	153
<i>Зависимость состава и качества облепихового масла от способа экстракции</i>	<i>156</i>
<i>Исследование состава облепихового масла, полученного экстракцией хладонами</i>	<i>163</i>
<i>Фракция неомыляемых липидов облепихового масла</i>	<i>169</i>
<i>Влияние экстрагента на стабильность облепихового масла</i>	<i>180</i>
<i>Сравнительное изучение и CO₂- и хладонового экстрактов из плодов облепихи кавказского и сибирского происхождения</i>	<i>181</i>
Сравнительный анализ липидных комплексов, липофильных фракций и сжиженногазовых экстрактов из масличных растительных объектов	187
<i>Экстракция хлопкового и подсолнечного масел сжиженным пропаном.....</i>	<i>192</i>
<i>Экстракция и рафинирование масла семян чернушки посевной сверхкритическим флюидным CO₂</i>	<i>194</i>
<i>Медицинские масла и масляные экстракты, получаемые традиционным путем и CO₂-экстракцией</i>	<i>201</i>
Сжижено-газовые экстракты в промышленной технологии лекарств	206
<i>Применение хладонов в переработке лекарственного растительного сырья и производстве суммарных фитопрепаратов</i>	<i>212</i>
<i>Методологические подходы к технологии фитопрепаратов с участием сжиженногазовых экстрагентов</i>	<i>217</i>
Заключение.....	228
Список использованной литературы	232

Предисловие

Развитие прогрессивных технологий, сберегающих энергетические, материальные и трудовые ресурсы, использующих замкнутые циклы и реализующих комплексную переработку ценного растительного сырья, является актуальной задачей. В этой связи особое значение приобретают исследования по созданию новых направлений промышленного экстракционного производства фитопрепаратов с привлечением современных и прогрессивных методологических подходов. Большой интерес для этого представляют процессы обработки лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами.

В настоящее время в производстве фитопрепаратов для извлечения природных веществ (особенно липофильного характера) из лекарственного растительного сырья широко используются органические растворители, большинство из которых огне- и взрывоопасны, токсичны и не всегда селективны. Из-за несовершенства отдельных стадий производства заметная часть их попадает с промышленными стоками в воду и с вентиляционными выбросами в атмосферу. Процесс экстрагирования продолжителен во времени, а для удаления растворителей из конечного продукта требуется создание высоких температур, влияющих на состав извлекаемого экстракта. Использование в качестве растворителей сжиженных газов дает возможность сократить продолжительность экстрагирования, получать безводные нативные извлечения, исключить воздействие высоких температур на стадии концентрирования и повысить тем самым качество целевых продуктов.

Еще в конце XIX века стало известно, что многие газы, при температурах выше их критических температур и повы-

шенных давлениях растворяют в себе различные вещества. Однако до сих пор газовые растворители изучены значительно слабее, чем жидкие. Объясняется это тем, что применение высокого давления, как в лабораторных, так и в промышленных условиях началось сравнительно недавно. При низких же давлениях газы не являются растворителями. Сжиженные газы, как растворители, обладают рядом интересных свойств, которые обуславливают все возрастающий к ним интерес. В настоящее время газовые растворы интенсивно изучаются во многих странах, и появляются патенты на проведение различных технологических процессов с их использованием. Сжиженные газы как растворители биологически активных веществ изучены недостаточно. Известно преимущественное их применение в пищевой и парфюмерно-косметической промышленности при получении высококачественных экстрактов из эфирномасличного и пряно-ароматического сырья. Обработка лекарственного и эфирномасличного растительного сырья сжиженными газами с целью извлечения отдельных компонентов относится к новым технологическим процессам.

Процесс экстракции сжиженными газами проводится под большим статическим давлением, что в технологическом отношении весьма важно, так как при снятии давления уже при нормальной температуре экстрагент легко и быстро улетучивается из извлеченного и отработанного сырья. В результате остается сумма экстрагированных веществ, не нуждающаяся в какой-либо дополнительной обработке. Каждый из сжиженных газов обладает индивидуальными физико-термодинамическими свойствами. Можно подобрать состав сжиженного газа, обладающего как гидрофильными, так и олеофильными свойствами. Это создает возможность вести экстракцию из сырья отдельных химических соединений, обладающих различной полярностью. Такое свойство сжижен-

ных газов позволяет вводить в технологический процесс фазу селективной экстракции растворителем, способным формировать заданное количество экстракта, извлекать по мере надобности отдельные вещества, комплексы или классы соединений, не затрагивая сопутствующие. Выход продукта при извлечении сжиженными газами может достигать 88-98% от потенциально возможного, что, как правило, гораздо выше, чем у известных способов: мацерации, перколяции, отгонки паром и др.

Введение

В начале 1940-х годов была выяснена роль сжатых газов в некоторых природных процессах и в какой-то мере определена область их использования в промышленности. В эти годы был открыт новый тип газонефтяных месторождений, так называемый газоконденсатный. В газе этих месторождений, залегающих обычно на глубине более 1,5-2 тыс. м, содержится в растворенном состоянии много жидких углеводородов. При снижении давления в траках на поверхности земли из газа выделяется углеводородная жидкость, так называемый конденсат, состоящий из бензиновых, керосиновых и даже легких масляных фракций нефти. Разработка таких месторождений вызвала необходимость изучения растворимости углеводородов в природных газах при повышенных температурах и давлениях.

В геологии хорошо известны факты переноса различных солей в водяном паре надкритических параметров. С этим явлением связывают образование некоторых рудных залежей, а также редких минералов. Есть все основания полагать, что в процессах образования скоплений нефти в земной коре большую роль играет процесс переноса в ней углеводородов в виде раствора в сжатом природном газе.

В технике с явлением растворимости веществ в газах встречаются в процессах очистки, сушки и конденсации. При сжатии в компрессоре газ растворяет масло, применяемое для смазки машин. Имеются данные, что с этим явлением связано отравление катализаторов в некоторых процессах синтеза, проводимых при высоких давлениях. Известно также, что сжатый водяной пар уносит с собой из паровых котлов высокого давления различные соли в растворенном состоянии, которые затем выделяются при снижении давления

пара на лопатках турбин, что осложняет эксплуатацию последних.

Характерной особенностью сжатых газов как растворителей является то, что их растворяющей способностью можно легко управлять, меняя степень сжатия газа. При изотермическом сжатии газ становится более сильным растворителем, а при изотермическом снижении его давления – более слабым. С изменением степени сжатия газа изменяются и его селективные свойства. Так как при низких давлениях газы не являются растворителями, то их регенерация из раствора может осуществляться лишь путем снижения давления до некоторой величины. При этом из газа выделяется все, что в нем было растворено. Легкость регенерации выгодно отличает газовые растворители от жидких. Газовые растворы изучаются также как объекты, в которых в наиболее простом виде проявляются силы молекулярного взаимодействия между компонентами раствора. Растворы эти дают возможность прямого измерения сил, действующих между неодинаковыми молекулами в газовой фазе. В последние годы в ряде стран широко развиваются теоретические методы расчета растворимости веществ в сжатых газах на основе учета сил взаимодействия между молекулами растворяемого вещества и газа. Все потенциальные возможности сжатых газов как растворителей в настоящее время еще не ясны. Этот вид растворителей имеет большое будущее.

Интерес к сжиженным газам связан в первую очередь с широкими возможностями варьирования термодинамическими параметрами экстрагирования (чаще всего это давление и температура), влияющими на состав извлекаемых веществ.

Возможность использования селективных свойств сжатых газов для экстракции из смеси определенной группы веществ и разделения смесей на фракции отмечались рядом ис-

следователей. В 1938 г. Годлевич описала применение такого метода для разделения минеральных масел. В 1947 г. Гамбург установил растворимость более легких фракций компрессорного масла и брайтстока в азоте и азото-водородной смеси при 50 и 150°C и давлениях 100-1000 атм. Он отметил возможность получения таким путем масел с наименьшей растворимостью в сжатых газах. В 1954 г. Жузе и Капелюшников опубликовали метод разделения на фракции тяжелых нефтяных остатков с помощью сжатых газов.

В 1955 г. Тодд и Элгин, изучая фазовое равновесие в системе этилен – высокомолекулярные органические соединения при температуре выше критической температуры этилена и давлениях до 100 атм., отметили, что газ в этих условиях растворял в значительных количествах относительно нелетучие вещества. В связи с этим авторы высказывали предположение о возможности разделения смесей с использованием газа как экстрагирующего растворителя.

Определяющим фактором для процесса экстрагирования является критическая точка, при которой происходит фазовый переход. В зависимости от выбранного режима различают субкритическую (околокритическую) экстракцию и сверхкритическую, одним из направлений которого является сверхкритическая флюидная экстракция.

В качестве сжиженных газов чаще всего используют углеводороды, их галогенопроизводные (фреоны), азот, но наиболее популярным и изученным в качестве растворителя в настоящее время является углерода (IV) оксид (CO_2 , диоксид углерода, углекислый газ, двуокись углерода, Carbon dioxide).

В Российской Федерации к настоящему времени разработаны оригинальные технические и технологические решения по использованию двуокиси углерода (в различных агрегатных состояниях) для интенсификации технологических

процессов. Из всех областей применения CO_2 в народном хозяйстве наиболее проработана и готова к широкому внедрению технология производства CO_2 -экстрактов из растительного эфирномасличного и пряно-ароматического сырья. Необходимость научных исследований в этом направлении, которые в нашей стране начались в 1953 году, появилась в пищевой отрасли, где особенно востребованы натуральные компоненты, определяющие вкус и запах продуктов питания. CO_2 -экстракты во многих случаях явились альтернативой добавлению в производимые изделия как сухих пряностей, ухудшающих внешний вид или микробиологическую чистоту нестерилизуемых продуктов, так и эфирных масел, которые, придавая пище характерный аромат, практически не влияют на его вкусовые качества.

В Краснодарском крае было организовано опытно-промышленное производство CO_2 -экстрактов на экспериментальном заводе Краснодарского НИИ пищевой промышленности, где впервые была теоретически обоснована и экспериментально доказана практическая возможность применения сжиженных газов, в частности жидкого CO_2 в качестве экстрагента ароматических, вкусовых и биологически активных веществ из натурального растительного и других видов сырья. Разработаны методика и аппаратура для исследования экстракции в лабораторных условиях, а также аппаратурное оформление процесса экстракции в опытно-промышленных и промышленных условиях. Проведены исследования по разработке новых способов подготовки растительного сырья и его аппаратурное оформление. Исследованы кинетика экстракции различных видов растительного сырья, влияние технологических факторов процесса экстракции: вида растворителя, температуры, степени и характера измельчения сырья, продолжительности процесса, соотношение сырья и раство-

рителя, перемешивания сырья – на выход и качество CO_2 -экстракта.

Дальнейшее развитие пищевой отрасли, биологической химии, фармации, профилактической медицины и других направлений, изучающих влияние природных веществ на организм человека, привело к формированию нового направления в целевой переработке растительного сырья сжиженным оксидом углерода (IV). В настоящее время значительно большее внимание в производстве CO_2 -экстрактов уделяется их биологической ценности, а именно наличию некоторой фармакологической активности, которая может быть либо сильно выражена, тогда CO_2 -экстракт применяется в косметологии, бальнеологии, курортологии и др., либо слабо выражена, в этом случае CO_2 -экстракт является биологически активным компонентом в составе пищи. Существенным моментом в развитии данного направления, на наш взгляд, является обоснованность привлечения фармацевтических научных кадров, особенно фармакологов, фитотехнологов, фармакогностов, специалистов в области стандартизации сырья и готовых форм. Это позволит, помимо значительного расширения потенциала практического использования данной технологии, разрабатывать на базе CO_2 -экстрактов полноценные лекарственные средства.

Продолжением развития сжиженногазовых технологий явилось совсем новое и малоизученное направление, связанное с использованием так называемых сверхкритического флюидного состояния вещества. Сверхкритические флюидные (СКФ) технологии продолжают находить сферы практического приложения, активно изучаются в области обработки природного сырья (экстракция, фракционирование), для проектирования и формирования частиц в технологии лекарств (например, есть положительные результаты по приданию инсулину формы, пригодной для введения через легкие), в це-

лях стерилизации материалов медицинского назначения, в химических реакционных процессах, в утилизации отходов ферментативных производств и др.

В нашей стране СКФ-технологии еще не получили должного практического применения, но также, как и в мире в целом, являются предметом научных исследований. Большая роль в них принадлежит изучению процессов экстрагирования и фракционирования природного (в основном, растительного) сырья и полупродуктов.

В использованных в монографии работах, посвященных сжиженногазовым технологическим процессам, авторы оперируют различными единицами измерения давления: фунты на квадратный дюйм, атмосферы, бары, кг/см² и паскали. Несмотря на рекомендации следовать принятой ИЮПАК системе единиц, большинство авторов избегают указывать давление в паскалях. В связи с этим в настоящей работе решено оставить авторские редакции без изменения, а в табл. 1 привести различные единицы давления и коэффициенты их пересчета.

Таблица 1 – Единицы измерения давления и коэффициенты их пересчета

Давление	кг/см²	атм.	бар	МПа
кг/см ²	1	0,9678	0,9807	0,09807
атм.	1,0332	1	1,0133	0,10133
бар	1,0197	0,9869	1	0,1
МПа	10,197	9,869	10	1

Раздел 1. Теоретические основы и общая характеристика процессов обработки сырья сжиженными газами

Развитие теоретических представлений о растворимости веществ в сжатых и сжиженных газах

Сжижение газов, переход вещества из глубокого газообразного состояния в жидкое, происходит при охлаждении их ниже критической температуры (T_k) и дальнейшей конденсации в результате отвода теплоты парообразования. Охлаждение газа ниже T_k необходимо для достижения термодинамической области, при которой газ может сконденсироваться в жидкость.

Графическое изображение идеального процесса сжижения газа представлено на рис. 1.

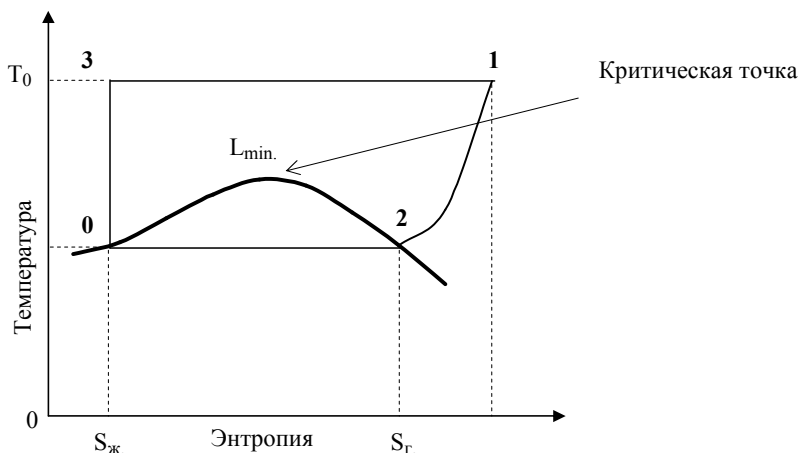


Рисунок 1 – Графическое выражение идеального цикла сжижения газов

Изобара 1-2 соответствует охлаждению газа до начала конденсации, изотерма 2-0 – конденсации газа, 1-3 – изотермическое сжатие газа, 3-0 – адиабатическое его расширение. Площадь ниже 1-2-0 эквивалентна количеству теплоты, которое необходимо отвести от газа при его сжижении, площадь внутри контура 1-2-0-3 характеризует минимальную работу $L_{\min.}$, необходимую для сжижения газа:

$$L_{\min.} = T_0 (S_{\Gamma} - S_{\text{ж}}) - (J_{\Gamma} - J_{\text{ж}}), \quad (1)$$

где T_0 – температура окружающей среды, °K; S_{Γ} , $S_{\text{ж}}$ – энтропии газа и жидкости, Дж/К; J_{Γ} , $J_{\text{ж}}$ – величины теплосодержания (энтальпии) газа и жидкости, Дж.

Идеальные газы состоят из молекул или атомов, движущихся в пространстве независимо друг от друга; их взаимодействие, за исключением упругих столкновений, пренебрежимо мало. Силы связи между молекулами (атомами) газа слишком слабы, чтобы влиять на какое-либо из макроскопических свойств газа. Кроме того, масса и химический состав компонентов не влияют на состояние идеального газа. При данной температуре оно полностью определяется числом частиц в единице объема. Реальные газы отличаются от идеальных тем, что их молекулы имеют определенный объем и между ними наблюдается взаимодействие. С повышением плотности реального газа, при его сжатии, влияние обоих факторов (и реальности объема и взаимодействия между молекулами) становится более заметным. При температурах ниже критической температуры сжатие реального газа приводит к его конденсации – явлению, не свойственному идеальному газу. При температурах же выше критической температуры газа конденсация его не происходит даже при достижении очень высоких плотностей. Многие реальные сжатые газы по некоторым свойствам приближаются к жидкостям, например, они растворяют жидкие и твердые вещества.

Еще в XIX веке Кайете в опытах по изотермическому сжатию смеси воздуха с углекислым газом заметил, что смесь легко сжижалась. При увеличении же давления до 140-200 атм. мениск, разделяющий фазы, исчезал, и образовывалась одна газовая фаза. Он пришел к заключению, что жидкость растворялась в газе. Хэнни и Хогард нагревали в закрытой трубке растворы иодидов калия и натрия в этиловом спирте до температуры выше критической температуры спирта. Они наблюдали, что соли растворялись в парах спирта. При снижении давления эти соли осаждались из паров и вновь растворялись при сжатии. В 1896 году Виллард наблюдал, что метан, сжатый до давления 150-200 атм., хорошо растворяет твердый парафин, йод, камфару и другие вещества. Франклин и Краус обнаружили, что электропроводные растворы ряда солей в жидком аммиаке оставались проводящими и при температурах выше критической температуры растворителя.

Существование зависимости давления насыщенного пара твердого вещества (жидкости) от величины наложенного внешнего давления находится в соответствии с правилом фаз Гиббса. Согласно этому правилу, для жидкости (твердого тела), находящейся в равновесии со своим паром и подвергающейся изотермическому сжатию, число параметров, определяющих состояние системы, надо брать равное трем, так как помимо давления насыщенного пара и температуры следует учитывать еще наложенное внешнее давление. Введение в систему газа, нерастворимого в жидкости, нарушает равновесие, установившееся при данной температуре между жидкостью и ее насыщенным паром. Дополнительное количество молекул жидкости переходит в паровую фазу, так как их концентрация в ней уменьшена из-за введения молекул инертного газа, но увеличение концентрации паров жидкости в сжатом газе может быть только следствием повышенного

давления насыщенного пара этой жидкости [15]. Увеличение давления насыщенного пара вещества в результате наложения внешнего давления на конденсированную фазу известно под названием эффекта Пойнтинга. Пойнтинг первым показал, что наложение внешнего давления увеличивает химический потенциал твердого вещества на некоторую величину, указанную уравнением (2):

$$\mu_2(\text{тв.}) = \mu_2^+(\text{тв.}) + PV_2^{\text{тв}}, \quad (2)$$

где μ_2^+ – стандартный химический потенциал; $V_2^{\text{тв}}$ – молярный объем твердого тела, а P – давление введенного постороннего газа.

При вводе этого уравнения принималось, что газ не растворяется в твердом теле и тело несжимаемо. Более удобное для расчетов эффекта Пойнтинга уравнение приведено у Карапетянца (1953). При повышении давления в системе жидкость – пар посторонним газом, обозначаемым «вн», на $dP_{\text{вн}}$ и вновь установившемся равновесии изменение термодинамического потенциала в газовой $dZ^{\text{г}}$ и жидкой $dZ^{\text{ж}}$ фазах будет одинаковым:

$$dZ^{\text{ж}} = dZ^{\text{г}}, \quad (3)$$

Учитывая, что $dZ^{\text{ж}}/dP_{\text{вн}} = V_{\text{ж}}$, а $dZ^{\text{г}}/dP = V_{\text{г}}$, уравнение (3) перейдет в

$$V_{\text{ж}} dP_{\text{вн}} = V_{\text{г}} dP, \quad (4)$$

где $V_{\text{ж}}$ и $V_{\text{г}}$ – молярные объемы вещества в конденсированном состоянии и в газовой фазе; dP – увеличение давления насыщенного пара вещества, вызываемое увеличением внешнего давления на $dP_{\text{вн}}$.

Из уравнения (4) следует, что

$$\frac{dP}{dP_{\text{вн}}} = \frac{V_{\text{ж}}}{V_{\text{г}}} \quad (5)$$

Если принять, что пар вещества в газовой фазе ведет себя как идеальный газ, то уравнение (5) примет вид:

$$\frac{d \ln P}{dP_{\text{вн}}} = \frac{V_{\text{ж}}}{RT} \quad (6)$$

В предположении $V_{\text{ж}} = \text{const}$, после интегрирования получают:

$$\ln \frac{P_2}{P_1} = \frac{V_{\text{ж}}}{RT} [(P_{\text{вн}})_2 - (P_{\text{вн}})_1] \quad (7)$$

или

$$\ln \frac{P'}{P} = \frac{V_{\text{ж}}}{RT} (P_{\text{вн}} - 1), \quad (8)$$

где P' и P – давление насыщенного пара жидкости (твердого тела) в присутствии и в отсутствие постороннего инертного газа.

Из уравнений (7) и (8) следует, что увеличение давления насыщенного пара жидкости (твердого тела) в присутствии постороннего газа не зависит от природы последнего. Результаты подсчетов P' по этим формулам дают, как правило, заниженные величины по сравнению с определяемыми экспериментально. Расхождение между ними зависит от природы введенного в систему постороннего газа и его давления. Влияние обоих факторов видно на рис. 2, на котором представлены результаты опытов Политцера и Штребля (1924), исследовавших системы H_2 - H_2O ; воздух- H_2O и CO_2 - H_2O . На оси ординат отложена пропорциональная давлению пара концентрация водяных паров в сжатом газе. Пунктирная кривая рассчитана по уравнению Пойнтинга.

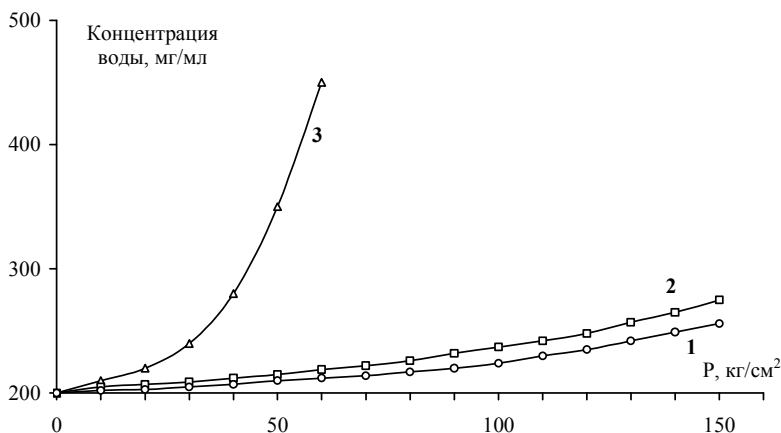


Рисунок 2 – Зависимость содержания водяного пара в газовой фазе от давления для различных систем при 70,2°C:
 1 – водород – вода; 2 – воздух – вода; 3 – углекислый газ – вода

Видно, что наибольшее отклонение от расчетной кривой обнаруживается в системе $\text{CO}_2\text{-H}_2\text{O}$, что объясняется существованием значительного взаимодействия между молекулами воды и углекислого газа. Наличие этого взаимодействия, а также ряд других свойств, и определили в дальнейшем широкое практическое применение диоксида углерода в экстракционных процессах.

Кинетика массопереноса при экстрагировании сжиженными газами

Экстрагирование веществ из лекарственного растительного сырья сжиженными газами математически описывается уравнением:

$$\ln \frac{x}{x_0} = km^n t + b \quad (9)$$

где x_0 , x – начальная и текущая концентрации извлекаемых веществ в сырье, характеризующие наклон кривой экстракции; m – отношение экстрагента к внутреннему соку, кг/кг; t – время экстракции, с; n – показатель степени (от 0 до 1); k – коэффициент пропорциональности (величина, постоянная для данного сырья); b – свободный член, характеризующий извлечение веществ из открытых клеток и пор измельченного сырья.

Обычно величина коэффициента скорости экстракции k для малоразрушенных клеток растительного сырья колеблется от 0,51 до 1,2. Соотношение сырье – экстрагент m^n мало влияет на движущую силу процесса, так как вследствие изменения расхода экстрагента концентрация извлекаемых веществ в нем очень далека от насыщения и практический показатель степени при m равен 0,1-0,6, но чаще всего он равен 0. Учитывая это, уравнение можно упростить до вида:

$$\ln \frac{x}{x_0} = kt + b \quad (10)$$

При выборе экстрагентов для пряно-ароматического, эфирномасличного и лекарственного растительного сырья руководствуются требованиями, предъявляемыми к промышленным растворителям и сводящимися в основном к следующим [41]:

- Высокая селективность и вместе с тем достаточная растворяющая способность;
- Химическая индифферентность по отношению к извлекаемым веществам и производственной аппаратуре;
- Отсутствие после отгонки постороннего запаха и вредных для человека веществ в извлеченном продукте;
- Однородный стабильный состав, постоянная и притом высокая температура кипения, наименьшие теплоемкость, теплота испарения и вязкость;

- Негорючесть и отсутствие взрывчатой смеси с воздухом;
- Отсутствие коллоидных систем;
- Бесцветность и гидрофобность;
- Безвредность для обслуживающего персонала;
- Дешевизна и доступность.

Характеристика и физико-химические свойства сжиженных газов, используемых для экстракции

Растворители для экстракции растительного сырья должны обладать определенными свойствами: быть высокоселективными по отношению к целевым компонентам; легко отгоняться из мисцеллы; для сохранения биоактивных лабильных веществ температура выпаривания растворителя должна быть не выше 50°C; упругость паров должна существенно превышать упругость пара самого низкокипящего целевого компонента. Следы растворителя в экстракте не должны оказывать вредного воздействия и сам растворитель должен быть нетоксичным, пожаро- и взрывобезопасным, чистым веществом, химически инертным. Кроме того, он должен обладать химическими свойствами, обеспечивающими интенсивный массообмен, и при рекуперации растворителя энергетические затраты должны быть минимальны.

Для экстракции природных веществ из растительного сырья, в основном, используются следующие сжиженные газы: оксид углерода (IV) (CO₂), пропан (C₃H₈), бутан (C₄H₁₀), хлор- и фторсодержащие углеводороды (хладоны, C(H,Cl,F)_{2n+2}). Указанные сжиженные газы, находящиеся под избыточным давлением, представляют собой бесцветные подвижные жидкости, растворимые в органических растворителях и практически нерастворимые в воде. При нормальных условиях они находятся в газообразном состоянии. Вязкость сжиженных газов значительно меньше вязкости обычных органических растворителей, что характеризует их как экстрагенты с наилучшими диффузионными свойствами. В химическом отношении они являются инертными веществами, проявляющими химическую индифферентность по отношению к извлекаемым из перерабатываемого сырья веществам и конструкционным материалам аппаратуры. Они не токсичны, не образуют взрывоопасных смесей с воздухом, пожаро- и взрывобезопасны (исключение составляют пропан и бутан).

Низкие значения теплоты парообразования и температуры кипения сжиженных газов указывают на сравнительно малые энергозатраты, тре-

буемые на испарение и конденсацию. Это позволяет быстро удалять газ из экстрактов уже при незначительном температурном воздействии и регулировать температуру отгонки растворителя. Мягкие температурные условия испарения растворителей из экстрактов позволяют сохранить от разрушения термолабильные соединения. Основные физико-химические свойства сжиженных газов (кроме CO_2) приведены в табл. 2.

Благодаря своим физико-химическим и термодинамическим свойствам, безвредности, стойкости, инертности, безопасности в пожарном отношении, сжиженные газы нашли широкое практическое применение как хладагенты в холодильной технике, а также в качестве пропеллентов для медицинских аэрозольных препаратов. К ним относится большая группа веществ, представляющих собой фтористые и хлористые производные предельных углеводородов. Эти галогенизированные газы известны в разных странах под различными названиями: Algeon, Algafrene, Freon, Fluruon, Frigedohn, Frigen, Areton, Genetron, Hludogen, Isceon, Isotron, Uson, Ledon, Refrigerant. В нашей стране эти растворители известны под названием хладоны (хлорфторпроизводные углеводородов).

В небольших количествах хладоны практически безвредны для здоровья человека и по запаху не ощутимы. Вредное воздействие хладоны могут оказывать только вследствие соприкосновения их с открытым огнем, а также при больших концентрациях. В результате воздействия пламени происходит разложение их с образованием хлористого и фтористого водорода и небольших количеств ядовитого газа – фосгена.

Растворимость воды в хладонах очень низкая, при температуре 21°C она составляет (%): 0,009 – для хладона-11, 0,008 – для хладона-12, 0,114 – для хладона-22 и 0,007 – для хладона-114. С обычными органическими растворителями, углеводородами, спиртами, кетонами и др. они смешиваются неограниченно.

Таблица 2 – Основные физико-химические свойства сжиженных газов (кроме CO₂)

Показатель	Хладон						Пропан C ₃ H ₈	Бутан C ₄ H ₁₀
	11 CCl ₃ F	12 CCl ₂ F ₂	22 CHClF ₂	114 C ₂ Cl ₂ F ₄	142 C ₂ H ₃ ClF ₃	C318 и-C ₄ F ₈		
Молекулярная масса	137,38	120,93	86,48	170,92	100,48	200,04	44,09	58,12
Давление критическое, МПа	4,350	4,060	4,900	3,250	4,200	2,800	4,200	3,747
Давление паров при 20°C, МПа	0,090	0,577	0,910	0,186	0,295	0,272	0,832	0,205
Динамическая вязкость, Па·с	0,444	0,260	0,238	0,400	0,334	0,425	0,108	0,177
Плотность критическая, кг/м ³	544	558	525	582	435	620	—	—
Плотность при 20°C, кг/м ³	1488	1329	1200	1472	1116	1517	501	579
Поверхностное натяжение (при 20°C), ×10 ⁻³ Н/м	19,60	9,12	8,00*	12,50*	10,98	7,84	12,00	15,70
Температура критическая, °C	198,00	112,00	96,00	145,70	136,50	115,30	96,80	152,10
Температура кипения, °C	23,80	-29,80	-40,80	3,60	-8,93	-5,80	-42,70	-0,50
Теплота испарения, ×10 ⁻³ Дж/г	181,83	167,07	232,32	136,68	219,45	117,04	—	—
Удельная теплоемкость, Дж/(кг·K)	869,44	852,72	1107,70	969,76	1333,42	1111,86	—	—

**Примечание: значения поверхностного натяжения при температуре 25 °C.*

Хладоны в основном относятся к неполярным и малополярным растворителям и имеют следующие величины диэлектрической постоянной: хладон-11 – 2,28 при температуре 29°C, хладон-12 – 2,13 при температуре 31°C, хладон-22 – 3,12 при температуре 24°C, хладон-114 – 2,17 при температуре 31°C, хладон-318 – 1,0034 при температуре 25°C. Отличительной особенностью хладонов является их химическая стойкость, а также то, что давление насыщенных паров этих растворителей значительно ниже (0,9-10 кгс/см²), чем жидкой двуокиси углерода (60 кгс/см²).

Пропан и бутан – углеводороды парафинового ряда, наиболее часто применяемые в производстве бытовых аэрозолей и в качестве бытового промышленного газа. Эти газы значительно дешевле хлорфторпроизводных углеводородов. Они растворяются в спиртах, хлороформе, метиленхлориде, эфире и в высших углеводородах, таких как пентан, гексан. Не полярны и не гидролизуются в воде. Обладают малой коррозионной стойкостью. Предельные углеводороды стабильны и инертны при обычных температурах и хранятся в течение длительного времени, не изменяя химического состава. При высоких температурах сгорают, образуя CO₂ и H₂O. Пропан и бутан относятся к сильным наркотикам. В газообразном состоянии легкие углеводороды в небольших концентрациях оказывают анестезирующее действие, а при концентрациях пропана и бутана в воздухе 10% наступает отравление. Одним из основных недостатков, сдерживающих их использование в качестве экстрагентов, является высокая воспламеняемость (в отличие от хлорфторпроизводных углеводородов и двуокиси углерода, которые могут использоваться также в качестве средств для тушения пожара).

Характеристика сжиженного углерода (IV) оксида как экстрагента

Сжиженный диоксид углерода обычно используется в качестве охлаждающего агента в холодильных машинах для создания сверхнизких температур, а также при производстве безалкогольных напитков, шипучих вин и пива. В медицинской практике сжиженный диоксид углерода нашел применение как анестезирующее и прижигающее средство при лечении некоторых кожных заболеваний. По сравнению с другими газами диоксид углерода растворяется в воде, а также реагирует со многими химическими веществами. Чистый диоксид углерода не реагирует с металлами и не имеет склонности к реакциям восстановления и окисления. Диоксид углерода – не токсичный и не раздражающий дыхательные пути газ, он нашел применение в качестве пропеллента в косметических, фармацевтических и пищевых аэрозолях. Жидкий диоксид углерода не огнеопасен, не дает в смеси с воздухом взрывоопасных смесей, относительно дешев и доступен.

В последние годы открылась новая чрезвычайно интересная область применения диоксида углерода – использование его в качестве растворителя для экстракции растительного сырья. Первые сведения о возможности использования диоксида углерода как экстрагента относятся к 1905 году, когда немецким автором А. Saks был запатентован способ извлечения жировых веществ и смол. Позднее два других французских патента предусматривали использование этого растворителя для получения эфирных масел и ароматических веществ.

В дальнейшем исследования по установлению экстрагирующей способности диоксида углерода полностью переместились в нашу страну. Так В.И. Ниловым было получено авторское свидетельство на способ извлечения пиретринов из

ромашки далматской [35]. В 1948 году И.С. Будько установлена растворимость в сжиженном диоксиде углерода ряда эфирных масел: розового, шалфейного, гераниевого и др. [11]. Ценные результаты в этой области были получены Б.С. Алаевым, установившим высокую экстрагирующую способность сжиженного диоксида углерода по отношению ко многим видам цветочного сырья [4]. Продолжением работ Б.С. Алаева явились исследования других отечественных авторов, направленные на выяснение возможности использования диоксида углерода для экстракции пряно-ароматического сырья.

Конечным итогом авторского коллектива Краснодарского НИИ пищевой промышленности явилось создание ряда лабораторных и полупромышленных установок, на базе которых в 1965 году впервые в мировой практике было осуществлено производство с помощью сжиженного диоксида углерода пряно-вкусовых и ароматических экстрактов из растительного сырья. По сведениям А.Ф. Прокопчук, CO_2 -экстракты из широкого ассортимента растительного сырья используются или испытываются в качестве биодобавок в кремы, лосьоны и т.п. на парфюмерно-косметических предприятиях. Таким образом, сжиженный диоксид углерода как экстрагент растительного сырья завоевывает всё большую популярность [7].

Сжиженный диоксид углерода – это бесцветная, легко подвижная жидкость, вязкость которой в 14 раз меньше вязкости воды, в 5 раз – этилового спирта, в 4 раза – фреона-142. Такие свойства диоксида углерода выделяют его как экстрагент с наилучшими диффузионными свойствами. Температура кипения сжиженного CO_2 в зависимости от давления насыщения паров лежит в пределах от $-56,6$ до $+31^\circ\text{C}$, что создает широкий диапазон регулирования низкотемпературной отгонки CO_2 из экстрактов практически без остатка. Это

свойство позволяет быстро удалять экстрагент из вытяжек уже при незначительном температурном воздействии и сохранять извлекаемые вещества в нативном состоянии.

Малые значения теплоты парообразования (конденсации) указывают на сравнительно малые энергозатраты, требуемые на испарение и конденсацию растворителя при использовании его в технологическом цикле.

В табл. 3 приведены некоторые термодинамические и физические свойства сжиженного CO₂.

Таблица 3 – Термодинамические и физические свойства сжиженного CO₂ на линии насыщения

Температура, °C	Критическое давление, МН/м ²	Плотность, кг/м ³	Общая теплота парообразования, кДж/кг	Вязкость, Нс/м ² ·10 ⁻⁷
31,0	74,96	463,9	0,000	3220
30,0	73,34	596,4	63,01	4300
25,0	65,59	705,8	119,45	5410
20,0	58,46	770,7	155,33	6330
15,0	51,93	817,9	180,33	7210
10,0	45,95	858,0	201,35	8135
5,0	40,50	893,1	219,18	9160
0,0	35,54	924,8	235,01	10280
-5,0	31,05	953,8	249,12	10866
-10,0	26,99	980,8	261,72	11310
-15,0	23,34	1006,1	273,24	11735
-20,0	20,06	1029,9	283,83	12070
-25,0	17,14	1052,6	293,67	12414
-30,0	14,55	1072,2	303,01	12774
-35,0	12,26	1094,9	311,97	—
-40,0	10,25	1115,0	320,64	—
-45,0	8,49	1134,5	329,05	—
-50,0	6,97	1153,5	337,30	—
-55,0	5,66	1172,1	345,42	—
-56,6	5,28	1177,9	348,02	—

В химическом отношении сжиженный CO_2 – прочное и инертное вещество, проявляющее полную химическую индифферентность по отношению к перерабатываемому сырью, извлекаемым веществам, конструкционным материалам аппаратуры. Он пожаро- и взрывобезопасен.

Сжиженный CO_2 при низких концентрациях (до 40%) оказывает сильное гомогенизирующее действие почти на любую пару частично смешивающихся жидкостей. При высоких концентрациях (70-80%) он уменьшает растворимость веществ. Указанные свойства в зависимости от концентрации растворителя позволяют вести экстракцию самых разнообразных химических групп биологически активных веществ.

Применение сжиженного CO_2 в качестве растворителя позволяет проводить процесс экстракции и дистилляции мицеллы в зоне температур от -40 до $+31^\circ\text{C}$.

Наибольший выход экстрактивных веществ отмечается в диапазоне температур от -10 до $+25^\circ\text{C}$. Максимумы выхода экстракта для каждого вида сырья при одних и тех же термодинамических условиях не совпадают. Это указывает на то, что растворимость, а также коэффициенты диффузии индивидуальных компонентов, входящих в состав экстракта, изменяются в зависимости от температуры и давления неодинаково. Так, для получения максимального количества эвгенола процесс экстракции бутонов гвоздики следует вести при 0°C , α -кислоты из хмеля – при $+10^\circ\text{C}$, карбонильных соединений из семян укропа- в интервале температур от $+10^\circ\text{C}$ до $+25^\circ\text{C}$, витамина K_1 и каротиноидов из листьев крапивы двудомной при $+20^\circ\text{C}$, изовалериановой кислоты из корней и корневищ валерианы и тауремизина из полыни таврической при 25°C [22,23,26,27,33].

В области отрицательных температур может отмечаться уменьшение выхода экстрактивных веществ за счет перехода

отдельных экстрагируемых компонентов в твердое состояние.

Важный показатель жидкой CO_2 , определяющий ее свойства как экстрагента, — диэлектрическая постоянная, отражающая силу взаимодействия между молекулами вещества. Известно, что чем ближе по величине силы взаимодействия между молекулами различных веществ, тем легче смешиваются эти вещества. Растворители для извлечения различных веществ подбирают исходя из этого правила.

Кроме диэлектрической постоянной экстрагента большое влияние на растворимость и скорость диффузии веществ в нем оказывают и другие физико-химические свойства, наиболее важные из которых — вязкость и поверхностное натяжение. Для жидкой CO_2 диэлектрическая постоянная при 10°C равна 2,60. Такое значение величины диэлектрической постоянной характерно в общем для неполярных растворителей, и это указывает на возможность извлечения жидкой CO_2 неполярных или слабополярных веществ. К ним относятся эфирные и жирные масла; карбонильные соединения; жирорастворимые витамины (A, D, K, E, F); стерины; алкалоиды в виде оснований; фурукумарины; фуранохромоны и др. Экстракция и отгонка растворителя при невысоких температурах (до 30°C) дают возможность извлекать эфирные масла, сохраняющие аромат исходного сырья, и биологически активные компоненты в нативном состоянии. Жидкая CO_2 не поддерживает жизнедеятельность микроорганизмов и плесневых грибов, что позволяет получать стерильные экстракты даже при использовании ее для сырья, обсемененного микроорганизмами. Жидкая CO_2 термически устойчива при обычных температурах, химически инертна, что также позволяет сохранять нативные свойства у извлекаемых ею продуктов. Экстракция в среде жидкой CO_2 исключает полностью окисление за счет отсутствия аэрации. Физико-хими-

ческие особенности растворителя способствуют извлечению веществ из растительного сырья практически без изменения их свойств. Дистилляция обеспечивается снижением давления, превращающим жидкую CO_2 в газообразное состояние, при этом выделяется CO_2 -экстракт.

Варьирование основных параметров экстракции – температуры, давления, продолжительности процесса, характера и степени измельчения сырья – позволяет вести экстракционный процесс так, чтобы получать продукт необходимого состава.

Исследование влияния температуры на эффективность экстракции сырья жидкой CO_2 проводили на измельченных семенах кориандра при температуре 20°C и минус 40°C при прочих равных условиях. С учетом сравнительно низкой критической температуры жидкой CO_2 , равной $31,1^\circ\text{C}$, представляет интерес практическое использование жидкой CO_2 на нижней температурном пределе, обуславливающим жидкофазное состояние растворителя и пониженное давление его паров. Полученные экспериментальные данные позволяют сделать предварительно такой вывод: понижение температуры резко снижает скорость экстракции и ее эффективность. При этом обращает на себя внимание возрастание избирательной способности растворителя, выражающееся в полном отсутствии жирного масла во всех пробах экстракции при температуре минус 40°C , чего нельзя сказать о пробах экстракции при 20°C . Поэтому, говоря о высокой избирательной способности жидкой CO_2 при экстракции растительного сырья, следует всегда помнить об относительности этого свойства растворителя. Исследования показали, что наибольший выход экстрактивных веществ достигается при температуре экстракции $15\text{--}20^\circ\text{C}$ и соответствующем давлении паров растворителя.

Двуокись углерода выпускается трех марок (в зависимости от области применения): сварочная, пищевая и техническая. Для экстракции можно применять только пищевую или сварочную двуокись углерода первого сорта. Техническая двуокись углерода для этих целей не пригодна, так как может обладать неприятным запахом и вкусом, содержать окись углерода.

Токсичность сжиженных газов

Не токсичным из сжиженных газов является диоксид углерода, применение которого как экстрагента исключает удаление остатков растворителя и необходимость контроля готового продукта на содержание растворителя. Кроме того, некоторая примесь двуокиси углерода в готовых продуктах оказывает консервирующее действие на лабильные вещества, препятствует прогорканию жиров, повышает срок хранения готовых экстрактов. Практически было замечено, что увеличение срока хранения СО₂-экстрактов до 4-5 лет не влияет на их качественные показатели.

Токсичность хладонов незначительна и в определенной мере связана с количеством токсических примесей. Поэтому с совершенствованием технологии получения хладонов токсичность будет уменьшаться. Она зависит и от элементного состава: при количестве атомов фтора, составляющих более половины замещенных, хладоны практически не токсичны. Более токсичны бромхладоны. По степени опасности хладоны относятся к веществам малотоксичным – 4 класс соединений. Разработанные Институтом гигиены труда и профессиональных заболеваний предельно-допустимые концентрации (ПДК) хладонов в рабочей зоне помещений более чем в 2 раза превышают рекомендованные и утвержденные ПДК в связи с общими требованиями на загрязненность воздушной среды. Один из крупнотоннажных хладонов – хладон-11,

разрешен Министерством здравоохранения и социального развития к прямому контакту с пищевыми продуктами. Хладоны менее опасные вещества, чем традиционные растворители.

Общая характеристика экстракционных свойств сжиженных газов

Двуокись углерода и хладоны по специфическому взаимодействию растворителя с растворенным веществом относятся к группе неполярных соединений, не способны образовывать водородные связи.

В классификации жидкостей по водородным связям двуокись водорода и хладоны можно отнести к 5 классу. К этой же группе относятся углеводороды, сероуглерод, сульфиды и ряд галогенопроизводных, не содержащих фтор. Подобные жидкости являются растворителями с неспецифической сольватацией, взаимодействие их с растворенным веществом слабое. С точки зрения энергетического подхода взаимодействие этих растворителей определяется двумя независимыми свойствами среды, выраженными через функцию в зависимости от диэлектрической проницаемости и показателя преломления.

Большая часть сжиженных газов в нормальных условиях находится при избыточном давлении. Они проявляют высокую селективность к целевым компонентам, легко удаляются из экстрактов, находясь в равновесных условиях, интенсифицируют массообмен.

Сжиженные газы образуют ряд растворителей с меняющимися свойствами. Особенно это относится к хладам. Их многообразие позволяет выбрать наиболее оптимальный по теплофизическим свойствам растворитель.

Аппаратурное оформление процесса экстрагирования сжиженными газами

Экстракция сжиженными газами позволяет комплексно перерабатывать растительное сырье. Это особенно важно в целях рационального использования природных растительных ресурсов. Развитие этого направления приводит к формированию новых прогрессивных производств, существенно отличающихся от традиционных и существующих в настоящее время. Основанием этому служит богатый положительный опыт обработки эфирномасличного, пряно-ароматического и лекарственного растительного сырья, успешное применение полученных экстрактов для различных целей. Характерной особенностью использования сжиженных газов является то, что процесс экстрагирования проводится при давлениях, превышающих атмосферное. В связи с этим возникла необходимость в создании специального оборудования, позволяющего проводить экспериментальные работы в условиях избыточного давления.

Установки для проведения экстракции можно разделить на 4 группы:

1. Установки для экстракции растительного сырья сжиженными газами при докритических параметрах.
2. Установки для экстракции растительного сырья сжиженными газами при сверхкритических параметрах.
3. Установки для экстракции растительного сырья сжатыми газами при сверхкритических параметрах. Установка состоит из одного или нескольких экстракторов (каскадные), одного или нескольких конденсаторов, системы циркуляции экстрагента, теплообменника, одного или нескольких сепараторов (испарителей).
4. Сложные процессы и установки, которые подразделяются на:

а) установки многоступенчатого фракционирования посредством изменения параметров экстракции и изменения параметров осаждения (установка для разделения восков, а также двухстадийного экстрагирования и многостадийного фракционирования);

б) установки для фракционирования посредством последовательной экстракции различными газами;

в) установки с использованием газов с соразтворителями;

г) установки с использованием последовательно сжиженных, а затем сжатых газов, т.е. сжиженных газов сверхкритических параметров;

д) специализированные установки (например, для отделения солей из водных растворов).

На рис. 3 представлена лабораторная установка для экстракции сжиженным газом. Она состоит из аппарата типа «Сокслет» (4), заключенного в стальной корпус (14), рассчитанный на высокое давление. Верхняя часть аппарата снабжена легко снимаемой крышкой-люком (1). Установка имеет электронагреватель (9), который подогревает колбу (8) для сбора экстрагируемых веществ и поддерживает термодинамические параметры растворителя. Имеется также сливная воронка (3) со змеевиком для конденсации газа (2). Через конденсатор протекает охлаждающий агент – фреон. Поданная в аппарат жидкая двуокись углерода протекает через патрон с сырьем (6), обогащается экстрактивными веществами и попадает в колбу (8). Испаряясь, экстрагент поднимается вверх и конденсируется в виде жидкой CO_2 и вновь стекает в экстрактор. В колбе (8) остается чистый экстракт. Через штуцеры (12) и (13) жидкий диоксид углерода подается в установку, через штуцер (5) отводится из нее. Манометры (7) и (11) контролируют термодинамический режим работы, визуальный контроль осуществляется через «смотровой» люк (10). Процесс истощения сырья протекает так же, как и в аппара-

тах типа «Соксет», работающих при атмосферном давлении. Продолжительность экстракции сырья в установке до 20 ч. [33].

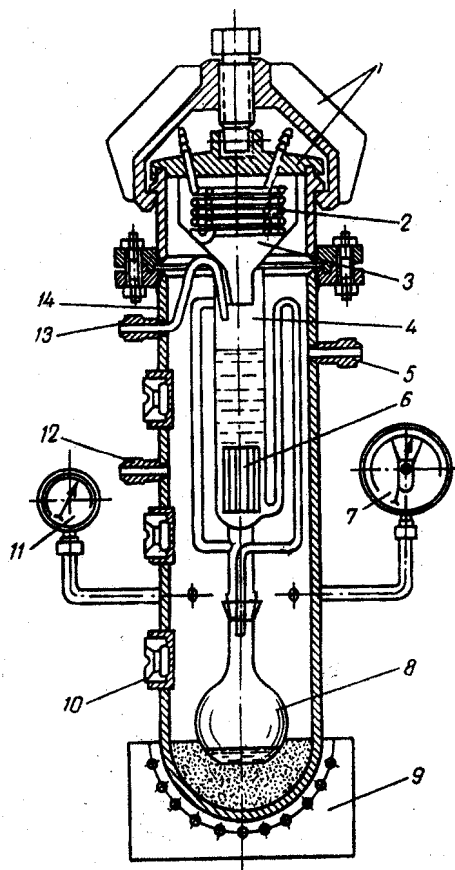
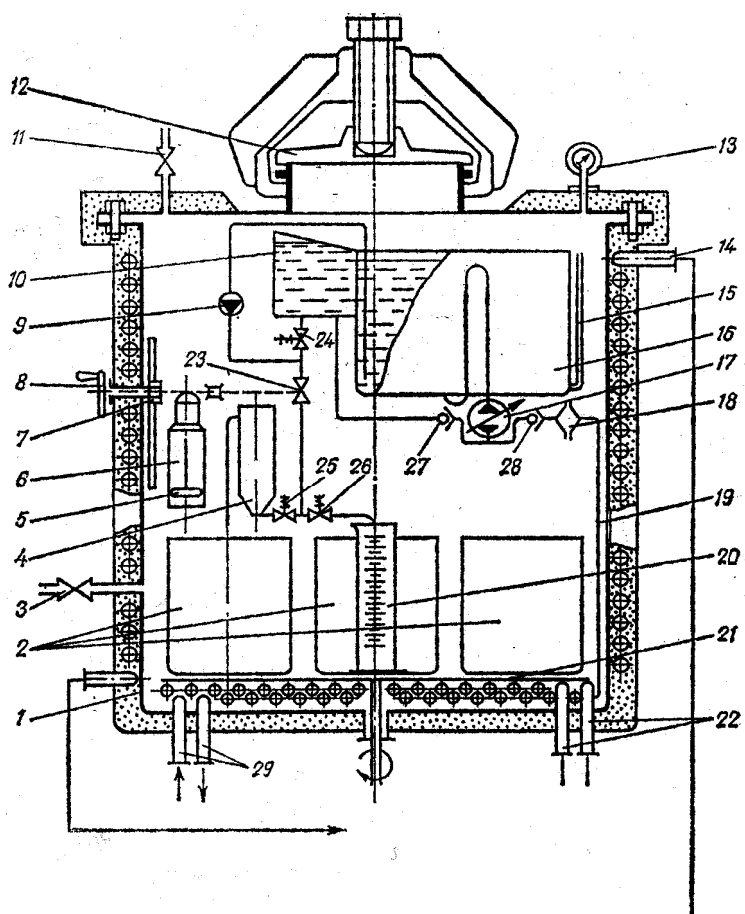


Рисунок 3 – Лабораторная установка для экстракции растительного сырья сжиженным диоксидом углерода

Аппаратурное оформление периодического процесса экстракции растительного сырья сжиженным газом впервые в нашей стране было предложено Б. Алаевым [4]. Опытные конструкторские работы, проведенные во ВНИИ синтетических жирозаменителей (ВНИИСЖИМЗ) и Краснодарском НИИ пищевой промышленности (КНИИПП) позволили создать ряд установок непрерывного действия для экстракции растительного сырья, в том числе и лекарственного. Одна из таких установок была внедрена на Краснодарской фармацевтической фабрике и представлена на рис. 4. Она состоит из сосуда с теплоизоляцией (1), охлаждаемого с внутренней и внешней поверхностями змеевиками, наполненными фреоном 22 (14, 22). Через герметически закрывающийся люк, выдерживающий давление до 10 МПа (контроль – манометром 13), осуществляется загрузка и разгрузка аппарата.

На специальном поворотном устройстве (21), снабженном спиральным трубчатым теплообменником, служащим для нагревания жидкого газа, установлено шесть сборников (2) экстракта, который поступает из экстрактора (4), снабженного сифонной трубкой (в случае проведения процесса способом перколяции), или же из сетчатой кассеты (6) с мешалкой (5), опускаемых с помощью подъемного приспособления (7, 8) в сборник (2) (при проведении процесса настаиванием). На линии подачи растворителя из емкости (10) в экстрактор и мерный цилиндр (20) смонтированы электромагнитные задвижки (24, 25, 26), обратный клапан (27). По трубке (19) растворитель перекачивается насосом (17) в сборники (10 и 16). Емкость сборника (16) составляет около 4200 мл и рассчитана на заполнение шести сборников экстракта с подкачкой насосом (9) через кран (23). Уровень экстрагента в ней контролируется уровнемером (15). Через штуцер (3) вводится, а через штуцер (11) выводится жидкая двуокись углерода.



**Рисунок 4 – Установка для получения экстрактов лекарственных растений
сжиженным диоксидом углерода**

При создании внутри сосуда (1) условий конденсации паров CO_2 (температура от $+10$ до $+31^\circ\text{C}$, давление до 10 МПа) жидкий экстрагент со дна сосуда насосом перекачивается в емкость (16), проходя по трубопроводу через фильтр

(18) и обратный клапан (28), а затем направляется для экстракции в сборники – экстракторы поочередно. После сбрасывания давления внутри рабочей камеры газообразная двуокись углерода через штуцер (11) выводится на регенерацию [33].

На рис. 5 изображена схема непрерывно действующей установки для получения в заводских условиях экстрактов из растительного сырья сжиженным CO_2 , в которой имеются устройства для: подготовки растительного перед экстракцией способом взрывного разрушения; экстракции растительного сырья; дистилляции мисцеллы и регенерации растворителя; отгонки растворителя из шрота.

Основным элементом установки является вертикальная колонка, состоящая из ряда последовательно соединенных камер (1, 2, 4, 5, 8). Камера (1) для замачивания сырья сжиженным CO_2 ; камера (2) пониженного давления для взрывного разрушения сырья; экстрактор (4); испаритель (5) для освобождения шрота от CO_2 ; камера (8) пониженного давления для удаления из шрота остатков растворителя. По концам колонны и между камерами имеются трубы, являющиеся узлами разобщения и герметизации камер. Внутри колонны снизу вверх движется непрерывная цепь контейнеров с сырьем (7). Перемещение контейнеров осуществляется прерывисто от специального гидропривода (11). Растительное сырье, подлежащее экстракции, дозированными порциями загружается в сетчатые корзины, которые вставляются в контейнеры. Последние входят в уплотнительную трубу камеры (1), где происходит пропитка растительного сырья сжиженным CO_2 , поступающим из сборников растворителя (15). Насыщенное экстрагентом сырье через разделительную трубку переходит в камеру (2), где поддерживается пониженное давление.

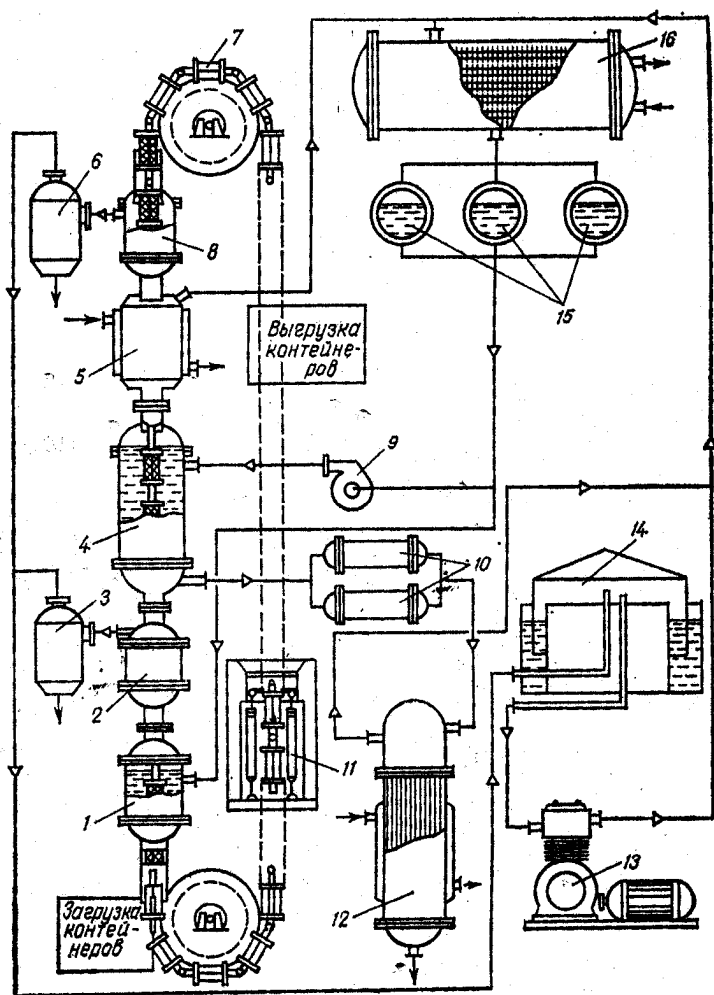


Рисунок 5 – Заводская установка для непрерывной экстракции сырья сжиженным CO_2

В результате резкого изменения давления сжиженный газ, содержащийся в сырье, резко изменяя агрегатное состоя-

ние, вызывает разрушение сырья и понижение его температуры. Пары CO_2 отводятся через циклон (3) и газгольдер (14). Измельченное растительное сырье через уплотнительную трубу переходит в экстрактор (4), где осуществляется противоточный контакт сырья с растворителем. Растворитель подается в экстрактор (4) из сборников (15) насосом (9), а полученная вытяжка отводится сначала в фильтр (10), затем в дистиллятор (12). Из него пары CO_2 поступают на сжижение в конденсатор (16), а экстракт периодически отбирается на дистилляторе через нижний вентиль.

Растительное сырье после экстракции перемещается из экстрактора (4) через разделительную трубку в камеру (5), где осуществляется испарение из шрота остатков сжиженного CO_2 перегретым водяным паром, подаваемым в рубашку камеры (5). Пары CO_2 из испарителя отводятся в конденсатор (16). Оставшиеся в шроте пары CO_2 в камере (8) сбрасываются через циклон (6) и газгольдер (14), откуда компрессором (13) подаются на сжижение в конденсатор (16). После выхода контейнеров из колонны на опускающейся ветви цепи происходит их разгрузка [33].

На основе конструкции, разработанной Краснодарским НИИ пищевой промышленности, в ГНЦЛС (Украина, г. Харьков) создана установка для экстрагирования лекарственного растительного сырья сжиженными хладагентами [12]. Установка (рис. 6) состоит из автоклава (1), снабженного крышкой (2) с манометром (3), смотровыми окнами (4), поворотным столиком (5), спиральным теплообменником (6) и электрической лампочкой для подсветки (7). Внутри автоклава размещаются сборники (8) для сбора экстракта и экстрактор (9). Кроме того, установка включает напорную емкость (10), конденсатор (11), охлаждаемый холодильным агрегатом (12), и баллон (13). Основные узлы смонтированы на

раме и соединены трубопроводами и соответствующей арматурой.

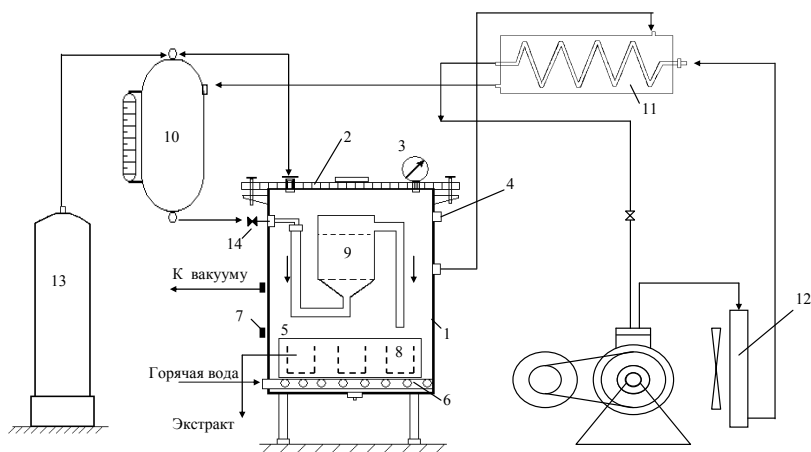


Рисунок 6 – Установка ГНЦЛС для экстракции сжиженными хладагентами

Методика экстрагирования заключается в следующем. Предварительно взвешенные и пронумерованные сборники устанавливают на поворотный столик автоклава. В экстрактор загружают исследуемую навеску сырья, помещают в автоклав и герметично закрывают крышкой. Из автоклава вакуумированием удаляется воздух, затем создается давление насыщенных паров используемого газа из баллона и конденсатора. После наступления равновесия давлений в системе установки в экстрактор через регулировочный вентиль (14) из напорной емкости подают сжиженный газ. Сжиженный газ, пройдя слой сырья, извлекает растворимые компоненты и сливается в сборник. По заполнении первого сборника столик поворачивается, и под выводной трубкой экстрактора устанавливают очередной сборник.

По окончании процесса экстрагирования подачу сжиженного газа прекращают, и газообразный растворитель из автоклава поступает на регенерацию в конденсатор, где создается низкая температура охлаждением змеевика конденсатора холодильным агрегатом, а соответственно – и низкое давление. Вследствие создания разности давлений в автоклаве и конденсаторе растворитель из сборников и экстрактора испаряется. Для более интенсивного испарения растворителя из экстракта, находящегося в сборниках, последние подогреваются путем циркуляции горячей воды через спиральный теплообменник, установленный под поворотным столиком. Регенерированный газ из конденсатора возвращают в напорную емкость и используют повторно. Таким образом, растворитель в системе установки находится в замкнутом цикле, что позволяет сократить потери растворителя и использовать его многократно.

Количество продукта, оставшегося в сборниках, определяют по разности масс сборников до- и после экстрагирования. Процесс экстрагирования осуществляется при комнатной температуре и соответствующем давлении паров используемого газа. Контроль давления в системе установки осуществляется манометром.

На приведенной выше лабораторной установке можно изучать кинетику процесса экстрагирования, а также определять влияние отдельных факторов: способа и степени измельчения, направления и скорости движения растворителя, влажности сырья и др. на выход извлекаемых веществ и продолжительность процесса.

Поскольку режимы, отработанные на лабораторной установке, не могут быть механически перенесены в производство, в ГНЦЛС была разработана опытно-промышленная установка, позволяющая уточнять технологические параметры в условиях установившегося производства. Она представляет

собой замкнутую систему и состоит из следующих основных узлов (рис. 7): экстрактов (1), баллона (2) с используемым газом, напорной емкости (3), оснащенной указателем уровня, манометром и предохранительным клапаном, холодильной машины (8) для охлаждения змеевика конденсатора, трубопроводов и арматуры.

Принцип работы установки следующий: в экстракторы (1) через загрузочный штуцер при помощи вакуума загружают измельченное сырье. Из системы удаляют воздух вакуумированием и заполняют газообразным хладоном из баллона (2). После достижения равновесия давлений в системе в экстракторы подают сжиженный хладон из напорных емкостей (3). Растворитель проходит сквозь слой сырья, извлекает растворимые компоненты и через фильтр (5) сливается в испаритель (6). В испарителе экстракт подогревается, пары растворителя отделяются и вследствие разности давлений поступают в конденсатор (7), охлаждаемый холодильным агрегатом (8), где конденсируются и растворитель возвращается в напорные емкости (3).

Таким образом, растворитель находится в замкнутом цикле, осуществляя проточную экстракцию, и используется повторно. Скорость подачи экстракта в испаритель и отгонка растворителя подобраны таким образом, чтобы не происходило переполнения рабочего объема испарителя. Извлеченный продукт остается в испарителе и сливается. По окончании процесса экстрагирования подачу в экстракторы прекращают, его остаток сливают из экстракторов в испаритель и отгоняют из шрота. Шрот после удаления растворителя выгружают из экстракторов. Контроль давления в системе и количества растворителя, подаваемого в экстракторы, осуществляют по манометрам и указателям уровня.

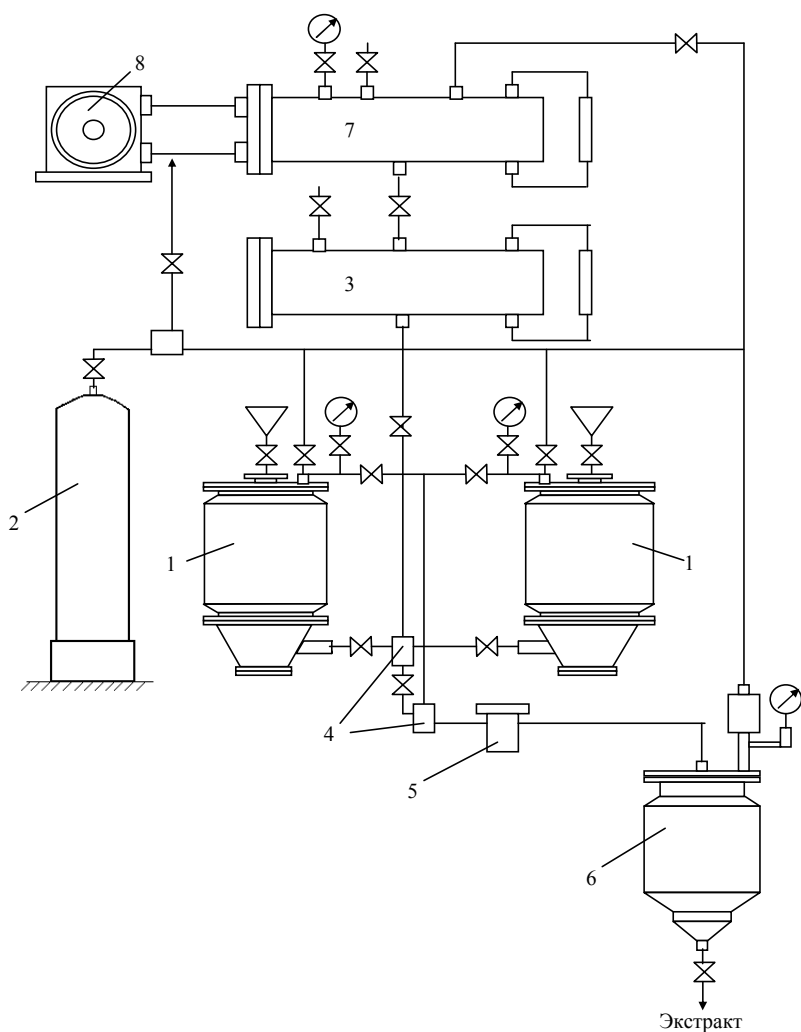


Рисунок 7 – Опытно-промышленная установка ГНЦЛС для экстрагирования природных веществ сжиженными хладагентами

Еще одним вариантом промышленной установки периодического действия является «Каскад». Впервые установка каскадного типа была предложена на Сухумском опытном заводе углекислотных экстрактов. Затем на ее основе специалистами КНИИПП были разработаны установки «Каскад-2», «Полукаскад» и «Мини-Каскад». Полукаскадом считается замкнутая ветвь «Каскада», работающая автономно, «Мини-Каскад» – опытно-промышленный вариант, схожий по конструкции с остальными, но значительно меньших габаритов. Установки каскадного типа реализованы на нескольких специализированных производственных предприятиях в Краснодарском крае, в частности на заводе ООО «Компания Караван».

На рис. 8 представлена общая схема установки каскадного типа, которая состоит из двух экстракторов (1), в которые загружается перерабатываемое сырье; испарителей (2), где происходит отделение CO_2 -экстракта от экстрагента; кожухотрубных конденсаторов (3) и накопителей (4), из которых экстрагент подается в экстракторы. Емкость экстракторов составляет 120 л, время экстрагирования от 2 до 6 часов, в зависимости от свойств сырья. Все оборудование смонтировано на металлической стойке (5) и снабжено всем необходимым для проведения экстракционного процесса в непрерывном замкнутом цикле – трубопроводами газовой и жидкой фазы, CO_2 -экстракта, холодной и горячей воды, манометрами давления, указателями уровня, вентилями высокого давления, смотровыми окнами и др.

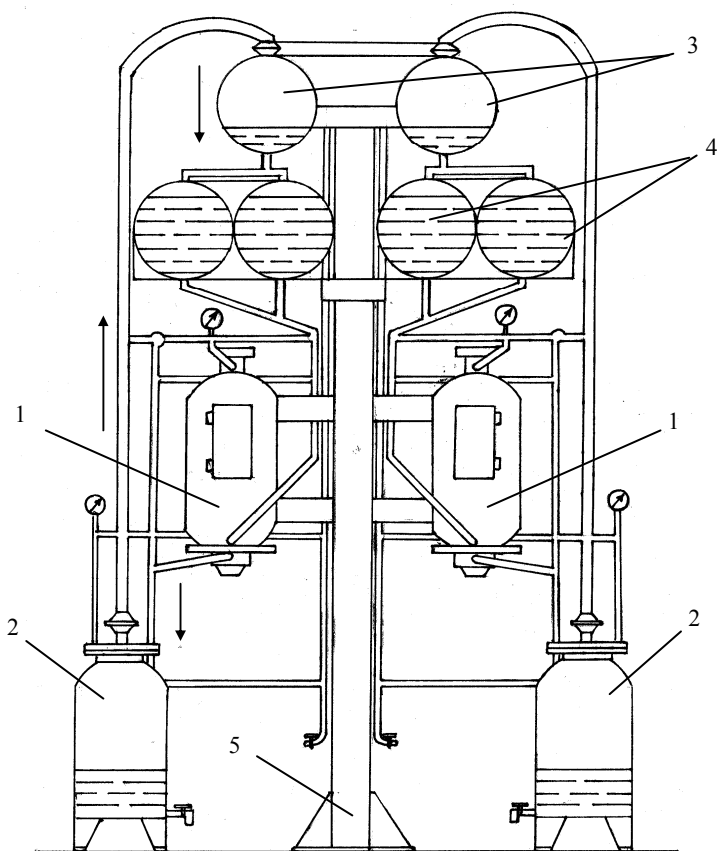


Рисунок 8 – Общая схема промышленной установки каскадного типа для экстракции растительного сырья сжиженным газом

Влияние отдельных факторов на процесс экстракции сжиженными газами

Накопленные к настоящему времени экспериментальные данные позволяют составить представление о кинетике процесса, влиянии температуры, гидродинамических условий,

внутренней структуры частиц растительного сырья и других факторов как на ход массопередачи, так и на качественный состав получаемых экстрактов.

Общие закономерности экстракции сжиженными газами изучены на сырье с различной морфолого-анатомической характеристикой. В настоящее время получено более 100 различных экстрактов из растительного сырья, различной гистологической структуры: травы и корней с корневищами валерианы лекарственной; листьев лавра и крапивы; плодов кориандра, фенхеля, цветов ромашки аптечной, календулы; бутонов гвоздики; травы полыни таврической; шишек хмеля, зверобоя, тысячелистника; корневищ аира, имбиря и других лекарственных и ароматических растений. Основными показателями, характеризующими как количественную, так и качественную сторону, были: суммарный выход экстракта, жирных и эфирных масел, неомыляемых и омыляемых веществ, сесквитерпеноидов, карбонильных соединений, спиртов, углеводов, органических, свободных жирных кислот, витаминов, т.е. тех основных компонентов, которые входят в состав обычных экстрактов исследуемых растений.

Основными факторами, влияющими на экстракцию растительного сырья сжиженными газами являются: температура и давление, вязкость экстрагента, степень измельчения и влажность сырья, время настаивания, длительность и гидродинамика процесса и др. [33].

Температура, давление, вязкость

Для каждого исследуемого класса соединений, независимо от вида сырья, существуют единые условия, в которых возможно наиболее полное извлечение или формирование экстрактов заданного качества с преобладанием в их составе того или иного вещества. В основе экстракции сжиженными газами лежат диффузионные процессы, где скорость суммарного массопереноса определяется величинами коэффици-

ентов диффузии на каждом этапе, иначе говоря, зависит от их диффузионных сопротивлений. Общее сопротивление массопереносу ($R_{\text{общ.}}$) складывается из внутреннего сопротивления ($R_{\text{внутр.}}$), сопротивления диффузионного слоя (под-
слоя) ($R_{\text{диф. сл.}}$) и конвективного сопротивления ($R_{\text{конв.}}$):

$$R_{\text{общ.}} = R_{\text{внутр.}} + R_{\text{диф. сл.}} + R_{\text{конв.}} \quad (11)$$

Величины $R_{\text{диф. сл.}}$ и $R_{\text{конв.}}$ (второй и третий этапы экстракции) невелики и зависят от гидродинамических условий среды. На эффективность же экстракции на первом этапе решающее значение имеют вязкость экстрагента, температура, внутренняя структура, размер частиц экстрагируемого материала и другие факторы. Таким образом, скорость суммарного массопереноса определяется совокупностью многих условий, знание и целенаправленное использование которых позволяет оптимизировать экстракционный процесс в требуемом направлении. Физические свойства растворителей такие, например, как вязкость, оказывают большое влияние на диффузионный процесс и в частности на внутреннее сопротивление, уменьшая или увеличивая его.

Сжиженные газы, обладая низкой вязкостью (на 1-2 порядка меньше, чем у спирта и воды), хорошей смачивающей и проникающей способностью, в большей степени, чем другие жидкие растворители, влияют на скорость диффузии и растворимость внутриклеточного содержимого. Эта зависимость может быть объяснена тем, что с уменьшением значения вязкости пропорционально увеличивается коэффициент диффузии (D) в уравнении Эйнштейна:

$$D = \frac{k \times T}{6 \times \pi \times \eta \times r}$$

где k – постоянная Больцмана (1,3805), Дж/К; T – абсолютная температура, °К; π – 3,14; η – вязкость жидкой среды, Па·с; r – радиус диффундируемых частиц, м.

Другие термодинамические параметры растворителя, его температура и давление при экстракции растительного сырья жидким диоксидом углерода в состоянии насыщения, в значительной степени определяют химический состав и количественный выход извлечений.

Известна зависимость повышения эффективности экстракции от роста температуры процесса, когда ускоряется тепловое движение молекул и снижается вязкость жидких компонентов системы [41]. Графически она выражается в экспоненциальном виде. Тем не менее, имеющиеся данные могут быть лишь частично отнесены к экстракции, например, жидким CO_2 , так как здесь процесс протекает в области близкой к критической точке при давлении, равном 74,9 атм., температуре 31,1°C (давление в системе в состоянии насыщения определяется температурой процесса).

Исходя из положения термодинамики, что критическая точка бинарной смеси характеризуется превращением в нуль первой и второй производных от химических потенциалов компонентов, и из того, что они являются движущей силой изотермической молекулярной диффузии, предпочтительным развитием в этой точке является значительное замедление процесса экстракции. Градиент концентрации компонента в критической точке бинарного раствора не сопровождается градиентом химического потенциала, так как здесь изменяется энергия активации процесса, а диффузия прекращается.

Степень измельчения сырья

При проточном экстрагировании со скоростью, соответствующей свободному протеканию растворителя через экстрагируемое сырье, выход извлекаемых веществ при прочих равных условиях может быть увеличен в 1,5-3 раза и сокращен во времени в результате уменьшения размера частиц

растительного сырья. Для эффективности процесса экстрагирования растительного сырья сжиженногазовыми экстрагентами степень измельчения сырья имеет принципиальное значение. Для каждого вида сырья и экстрагента оптимальный размер частиц определяется экспериментальным путем, однако уже установлено, что в большинстве случаев степень измельчения сырья для данного процесса значительно выше, чем для традиционных способов экстрагирования. К примеру, для оценки влияния размера и формы частиц плодов шиповника на эффективность извлечения суммы липофильных веществ, было проведено исследование, в котором обработке сжиженным оксидом углерода (IV) подвергается сырье со строго определенными линейными параметрами. Результаты, представленные в табл. 4, показывают, что выход извлекаемых веществ резко снижается с увеличением размера частиц шиповника. Следовательно, величина размера частиц существенно влияет на скорость экстрагирования. Сравнительный анализ крупки размером 0,25 мм, полученной на дисковой дробилке и лепестка полученного комбинированным способом измельчения, показал, что выход извлекаемых веществ выше при комбинированном способе измельчения [34].

Таблица 4 – Влияние размера частиц на выход экстрактивных веществ из плодов шиповника

Размер частиц, мм	Выход, %
0,20 (лепесток)	98,6315
0,25 (крупка)	96,7725
0,35 (крупка)	89,7145
0,65 (крупка)	65,0066
1,00 (крупка)	55,8745

Таким образом, можно заключить, что измельчение плодов шиповника, предназначенных для экстракции сжиженным газом, целесообразно проводить до размера частиц 0,1-0,2 мм, с последующим лепесткованием. Это справедливо

во и для большинства других видов растительного сырья. В целях интенсификации процесса в промышленных условиях используются мелкоизмельченные листья, цветы, трава, плоды, корни растений с максимально разрушенной структурой. Рациональная степень мелкости, дающая оптимальный выход веществ, равна 0,25-0,5 мм. Так при размерах частиц сырья 0,25 мм выход экстрактивных веществ из листьев крапивы составляет 99,89%, из корней валерианы – 79,96%. При измельченности сырья до 1 мм выход экстрактивных веществ соответственно равен 41,75 и 58,53%. В целом максимальный выход суммы экстрактивных веществ наблюдается из сырья с размером частиц не более 0,5 мм.

При сравнении процессов экстракции из сырья в виде лепестка и крупки, соизмеримых по величине по величине их поверхности и объема, предпочтение было отдано лепестковой структуре, обеспечивающей при прочих равных условиях наиболее полное извлечение. Этому, в частности, способствует то, что лепестковая вторичная структура по сравнению с крупкой обладает более высокими дренажными свойствами, а усредненный размер частиц обеспечивает почти равномерное прохождение растворителя. Лепесток достаточно прочен и меньше отпрессовывается (слеживается), чем крупка. Наиболее приемлема толщина лепестка, лежащая в пределах 0,10-0,20 мм. Экспериментальные данные также показали, что еще одним важным фактором, существенно влияющим на эффективность экстракции, является степень разрушения клеточной структуры в процессе измельчения сырья.

Способ измельчения сырья. Измельчение сырья сжиженным газом

Способ измельчения растительного сырья оказывает существенное влияние на количественный выход экстракта.

С внедрением в производственную практику сжиженно-газовых экстракционных процессов появился принципиально

новый способ измельчения растительного сырья, отличающийся от изрезывания, раздавливания, истирания, раскалывания и других способов тем, что деформация сырья осуществляется взрывом (деформацией на расстоянии). В основе способа лежит способность сжиженных газов при снятии давления очень быстро испаряться из всего объема обрабатываемого сырья [16].

Если цельное или крупноизмельченное воздушно-сухое сырье с частицами размером 2-3 см поместить в герметическую камеру с температурой 18-25°C и подать в камеру сжиженный газ под давлением 5,8-6,0 МН/м², то спустя 1,5-3 мин сырье полностью будет пропитано этим растворителем. Затем, если с помощью специального клапана давление в камере резко сбросить до атмосферного, то в результате интенсивного испарения сжиженного газа из сырья образуется разность давлений внутри частиц (твердой фазы) и на их поверхности (с поверхности испарение протекает быстрее). В результате резкого изменения удельных объемов жидкости и пара (примерно в 4260 раз) кусочки сырья как бы «взрываются» изнутри, распадаясь на более мелкие фрагменты. Такому измельчению способствуют также одновременное образование в порах и трещинах сырья кристалликов льда из воды и экстрагента, что также способствует увеличению удельного объема сырья.

Метод измельчения «взрывом» особенно выгодно использовать при обработке ценного, легко пылящего (затрудняющего технологический процесс) или обугливающегося сырья. В некоторых случаях только этим способом можно получить готовый продукт, отличающийся во всех отношениях лучшими свойствами, чем при измельчении другими способами. Например, при измельчении морской капусты заводским способом содержание частиц размером 1-3 мм достигает 59%, с помощью миксера – 82%, а «взрывом» – 99%,

причем большинство частиц имеют размеры до 1 мм. Сырье, измельченное в заводских условиях, имеет темно-бурый или черный цвет, в изломе сероватый, частицы с рваными, острыми краями. При «взрыве» – это порошок светло-бурого цвета с серыми прожилками, с округлыми краями, в основном монодисперсного состава. Под микроскопом в таком порошке на фоне большого количества микропор и капилляров просматриваются вскрытые клетки и межклеточные структуры. В отдельных местах видны обрывки клеточных оболочек и частиц содержимого клеток.

Общий вид установки для взрывного разрушения лекарственного растительного сырья приведен на рис. 9. Основной частью установки является камера (3) высокого давления, оборудованная быстросъемным затвором (1), клапаном (4), перекрывающим отверстие с уплотнением (7), указателем уровня жидкости (8), манометром (9), вентилем (2). Клапан (4) с помощью гидропривода связан с силовым гидроцилиндром (6). С помощью золотникового устройства и шестеренного насоса (на рисунке не обозначен) в гидропривод подается рабочая жидкость (веретенное масло) под давлением 8 МН/м². Контроль объема сжиженного СО₂ в камере производится с помощью указателя уровня (8), а давление паров СО₂ измеряется манометром (9). Снятие давления в камере осуществляется за счет быстрого открытия клапана (4) путем подачи масла в силовой гидроцилиндр под поршень. В момент нажатия поршня на шток происходит «подрыв» клапана (4) в гнезде (7), что мгновенно приводит к снижению давления в камере (3). Разрушенное сырье после обработки удаляется из камеры (3) вместе с парами СО₂ через патрубок (5) в сборник [33].

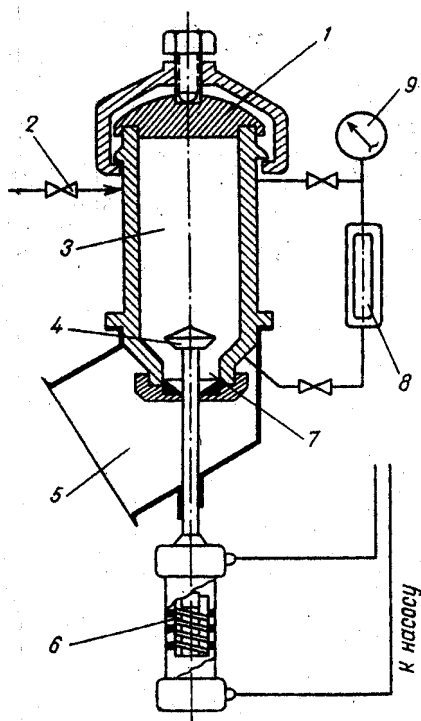


Рисунок 9 – Установка для взрывного разрушения растительного сырья сжиженным газом

Несмотря на очевидные преимущества, способ измельчения сырья «взрывом» не всегда приемлем. Это зависит от многих факторов, в том числе от морфолого-анатомического строения сырья. Было проведено сравнительное изучение влияния различных факторов и способов измельчения растительного сырья на эффективность экстракции. В качестве модельного сырья исследовались почки (бутоны) гвоздики, шишки хмеля и трава с соцветиями ромашки аптечной. Измельчение различного по характеру внутренней и внешней

структуры растительного сырья осуществляли плющением, ударным и взрывным способами. Для каждого вида сырья были достигнуты соизмеримая дисперсность частиц, построены кривые экстракций, описываемые уравнением $q/q_0=f(\tau)$ при различных способах измельчения, вычислены величины сопротивления твердой фазы и соответствующие им коэффициенты диффузионной массопроводности. Анализ кривых экстракций и полученных данных показывает, что разрушение клеточной структуры растительного сырья перед экстрагированием сжиженными газами – важнейшее условие проведения процесса. Взрывной способ измельчения предпочтителен для хмеля и ромашки аптечной. При этом отмечается значительное уменьшение диффузионного сопротивления и содержания трудно извлекаемых экстрактивных веществ. После полуторачасового настаивания отмечается увеличение выхода экстракта при взрывном измельчении сырья в сравнении с лепестковым: для хмеля – на 1,7%, для ромашки – на 2,4%. Для сырья гвоздики наибольшая скорость и глубина экстракции отмечается при его плющении в лепесток, особенно с толщиной частиц 0,42 мм, когда не происходит капсулирования веществ в результате сильного сдавливания (слипания) стенок клеток, капилляров, микропор. При ударном и взрывном измельчении гвоздики вскрытие клеток незначительное [33].

Время экстракции

Любой производственный процесс эффективен, если он непродолжителен. На количественный выход суммы экстрактивных веществ или индивидуального вещества оказывает влияние не только степень измельчения сырья, но и время проведения процесса. Для каждого вида сырья при всех остальных равных условиях эта величина индивидуальна. Изучение кинетических закономерностей процесса экстрагирования сжиженными газами дает представление о ско-

рости извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья. В работе [34] с целью определения скорости извлечения биологически активных веществ из плодов шиповника, предварительно было определено их содержание в исходном сырье. Условия проведения опытов, были следующие: навеска сырья – около 500,0 г (точная навеска); размер частиц – не более 0,2 мм; давление при экстракции – 5 кгс/см²; температура экстракции 18-20°C; соотношение сырья к растворителю 1:7; общая продолжительность экстрагирования – 45 минут. Сырье для экстрагирования было подготовлено комбинированным способом измельчения. В процессе экстрагирования отбирали пробы по 50 мл через каждые 5 минут. После удаления растворителя определяли выход извлекаемых веществ весовым методом. По материальному балансу рассчитывали содержание извлекаемых веществ в сырье (табл. 5) и строили графические зависимости изменения содержания извлекаемых веществ в сырье от времени экстрагирования, представленные на рис. 10.

Таблица 5 – Изменение содержания извлекаемых веществ в сырье в процессе экстрагирования диоксидом углерода (n=5)

Время экстрагирования, мин	Содержание извлекаемых веществ в плодах шиповника, %
0	100
5	12,6494
10	7,8398
15	6,4195
20	5,6213
25	4,9549
30	4,3603
35	3,9236
40	3,6191
45	3,3685

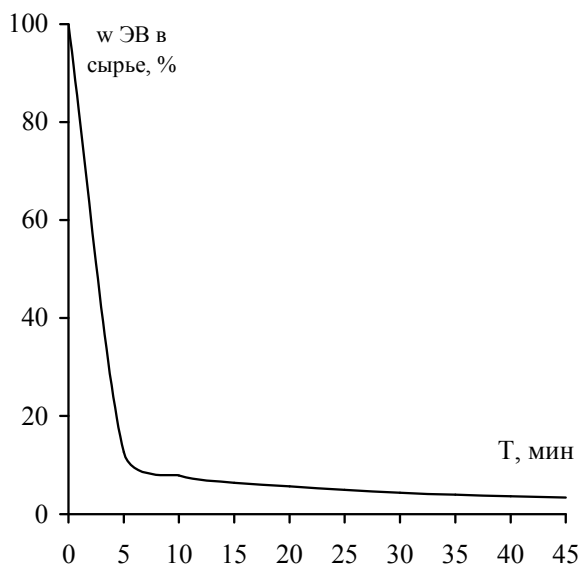


Рисунок 10 – Зависимость изменения массовой доли экстрактивных веществ (w, ЭВ) в плодах шиповника от продолжительности экстракции

Анализируя зависимость изменения содержания извлекаемых веществ в сырье от продолжительности экстрагирования, можно выделить два периода процесса экстрагирования. Первый – период быстрой экстракции, в течение которого процесс протекает с наибольшей скоростью и второй период – медленной экстракции, скорость которого значительно меньше. В период быстрой экстракции, продолжительность которого составляет 5-10 минут, извлекается от 85 до 96% веществ, содержащихся в сырье. Этот период характеризуется извлечением веществ, находящихся на поверхности сырья [34].

Второй период, продолжительность которого составляет 35-40 минут, характеризуется извлечением веществ, содер-

жащихся в микрокапиллярах и внутри неразрушенных клеток. За время второго периода извлекается 5-10% веществ, оставшихся в сырье. Основным показателем зависимости, представленной на рис. 10, для периодов быстрой и медленной экстракции является угол наклона касательной к данной точке кривой экстрагирования по отношению к оси абсцисс. Чем больше угол наклона касательной, тем большей скорости процесса соответствует эта кривая, и тем выше так называемый коэффициент вымывания. Высокие значения коэффициента вымывания, который рассчитывается экспериментальным путем, указывает на хорошую степень разрушенности (вскрытости) растительной ткани, а также на то, что основная масса извлекаемых веществ переходит в растворитель в период быстрой экстракции за счет смыва. Следовательно, при оптимальной подготовке растительного сырья для экстрагирования можно ограничиться первым периодом экстракции. Процесс диффузии веществ из неразрушенных клеток сырья происходит медленно, поэтому скорость экстракции в этом случае определяется коэффициентом диффузии, который зависит от внутреннего строения растительной клетки, изменения содержания веществ во времени, изменения клеточной структуры и концентрации диффундирующих веществ в процессе экстрагирования, от свойств экстрагента и экстрагируемого вещества, а также от температуры и гидродинамических условий процесса. Величина коэффициента диффузии внутри частицы представляет интерес для периода медленной экстракции.

Настаивание

На количественный выход суммы экстрактивных веществ или индивидуального вещества оказывает влияние не только степень измельчения сырья, но и время проведения процесса. Для каждого вида сырья при всех остальных равных условиях эта величина индивидуальная. Известно, что

технология многих галеновых препаратов предполагает стадию замачивания и набухания сырья, которая осуществляется путем настаивания сырья в среде экстрагента в течение 1-8 часов. В ряде случаев длительное настаивание может ухудшить процесс экстрагирования. Аналогичная картина наблюдается и при экстрагировании сжиженными газами. Низкая вязкость экстрагента, большое число разрушенных клеток (вследствие того, что в большинстве случаев степень измельчения сырья 0,25-0,50 мм) приводит к тому, что с увеличением времени настаивания внутрь клеток проникает не чистый экстрагент, а концентрированный густой раствор клеточного содержимого. При этом возникает эффект обратной диффузии растворенных веществ внутрь клеточных структур. Этот раствор, проходя через каналы, трещины, капилляры, как бы замазывает, закупоривает их. В дальнейшем, при протекании сжиженного газа через массу таких набухших клеток, лишь через довольно продолжительное время (до 1 ч) растворителю удастся растворить вязкую консистенцию, обволакивающую клетки, и восстановить ход диффузионного процесса в его естественном виде.

Влажность экстрагируемого сырья

На количественный выход суммы экстрактивных и биологически активных веществ при экстракции сжиженными газами существенно влияет влажность исходного сырья. Чем меньше влажность материала, тем больше выход экстрактивных веществ, особенно при использовании гидрофобного растворителя, каким являются большинство сжиженногазовых растворителей, включая оксид углерода (IV). Сырье, содержащее влагу, значительно хуже измельчается и оказывает значительное сопротивление проникновению экстрагента. Влияние влажности на выход экстрактивных веществ можно проследить на примере тех же плодов шиповника, с которы-

ми были соответствующие опыты [34]. Результаты эксперимента представлены в табл. 6 и на рис. 11.

Таблица 6 – Влияние влажности плодов шиповника на выход веществ, извлекаемых диоксидом углерода

Влажность сырья, %	Выход веществ, в % по отношению	
	к сырью	к содержанию их в сырье
5	4,20	97,20
7	3,85	94,19
10	3,72	90,45
12	3,41	82,80
15	3,04	73,55

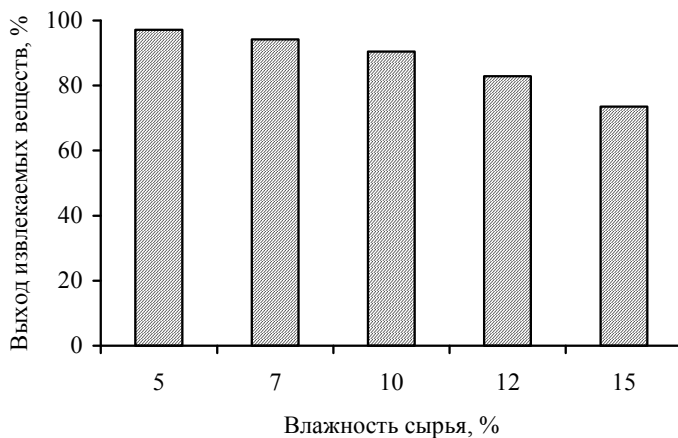


Рисунок 11 – Зависимость выхода веществ, извлекаемых сжиженным диоксидом углерода, от влажности плодов шиповника

Из представленных данных видно, что влажность исходного сырья существенно влияет на выход веществ, извлекаемых диоксидом углерода. С увеличением содержания влаги в сырье выход извлекаемых веществ снижается. Измельчение сырья на валковой дробилке с влажностью более 10% приво-

дит к образованию плотных по структуре лепестков и экстрагирование веществ из такого сырья затруднительно. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости максимального разрушения клеточной структуры и целесообразности использования сырья с влажностью не более 10%. В тех случаях, когда сырье нельзя сушить до воздушно-сухого состояния экстракция сжиженными газами может вестись в присутствии инертного наполнителя (прокаленный песок, толченное стекло, окись алюминия (хч) и др.), содержание которого должно быть не менее 1/3 от массы сырья.

Роль гидродинамического фактора. Перемешивание

Известно, что величина коэффициента суммарного массопереноса веществ зависит от гидродинамических условий экстракционного процесса. Чем выше скорость движения растворителя, тем большее количество веществ переносится с помощью конвективной диффузии. Одновременно с этим увеличение скорости движения растворителя способствует снижению диффузного сопротивления второго этапа за счет уменьшения толщины диффузного пограничного слоя. В связи с этим необходимо отметить, что диффузионное сопротивление второго этапа при прочих равных условиях значительно зависит от свойств используемого экстрагента, поскольку растворитель с более низкой вязкостью обуславливает меньшую толщину пограничного слоя и одновременно с этим оказывает меньшее сопротивление движению молекул диффундирующих веществ. Например, диффузионное сопротивление второго этапа для дихлорэтана в 1,5-2,0 раза больше, чем для бензина, что находится в хорошем согласии с соотношениями величин вязкости этих экстрагентов. Влияние диффузного сопротивления при экстрагировании диоксидом углерода изучено для плодов шиповника [34], измельченных до размера частиц 0,3-0,5 мм (табл. 7).

**Таблица 7 – Влияние скорости движения растворителя
на выход извлекаемых веществ**

Время экстракции, мин	Выход извлекаемых веществ (%) при раз- личной скорости движения (см ³ /мин)	
	5	10
45	3,73	3,79

Как видно из данных таблицы, при скорости движения растворителя 10 см³/мин выход извлекаемых веществ несколько выше, чем при скорости 5 см³/мин, что указывает на положительное влияние этого фактора. Однако при скорости 5 см³/мин расходуется 230 см³ растворителя, а при скорости 10 см³/мин – 500 см³, т.е. в два раза больше. Отсюда следует, что увеличение скорости движения растворителя влечет за собой увеличение соотношения сырья к растворителю, при этом увеличение выхода незначительно.

Как уже отмечалось ранее, извлечение веществ в первом периоде экстракции осуществляется за счет конвективной диффузии их с наружных поверхностей частиц сырья и свободной молекулярной диффузии изнутри разрушенных клеток. Поэтому, чем больше конвективность потока растворителя, тем большее количество веществ уносится им в единицу времени. Во втором же периоде экстракции извлечение идет только за счет внутренней диффузии веществ из глубины частиц экстрагируемого материала к их наружной поверхности, скорость которой очень мала и поэтому роль гидродинамического фактора резко падает. Малая разница скорости извлечения веществ в первом периоде при скоростях движения растворителя 5 и 10 см³/мин свидетельствует о том, что толщина диффузионного пограничного слоя, образуемая при этих условиях, отличается незначительно, вследствие чего диффузионные сопротивления второго этапа приобретают приблизительно равные значения. Таким образом, увеличение скорости движения растворителя положитель-

ным образом сказывается на эффективности экстракционного процесса, хотя влияние этого фактора и не столь существенно по сравнению с влиянием измельчения сырья. Оптимальной следует признать максимально возможную скорость движения диоксида углерода – $5 \text{ см}^3/\text{мин}$, т.е. свободное протекание его через слой экстрагируемого материала. Снижение скорости движения с целью экономии расхода растворителя нерационально, поскольку промышленные установки осуществляют регенерацию, и в ходе экстракции участвует один и тот же объем растворителя.

Анализ влияния соотношения сырье : экстрагент показал, что количество свежего растворителя не оказывает существенного влияния на остаточное содержание экстрактивных веществ в сырье, в отличие от, например, степени измельчения сырья. Установлено также, оптимальное соотношение растворитель – сырье неодинаково для различных видов сырья, что может быть объяснено анатомической структурой сырья, внутренней структурой подготовленного для экстракции материала и различием свойств экстрагируемых веществ.

Большое значение имеет также плотность укладки сырья в экстракторе, при повышении которой может резко возрастать поперечная неравномерность движения растворителя в застойные зоны, в которых растворитель либо не движется совсем, либо движется с небольшой скоростью, что замедляет экстрагирование в этих зонах. В связи с тем, что экстракция лекарственного растительного сырья сжиженными газами является достаточно продолжительным (до нескольких часов) процессом, на практике реализуется несколько способов ускорения выхода извлекаемых веществ. Основными из них являются перемешивание и многократный сброс давления, которые изменяют гидродинамические условия процесса, влияющие на массопередачу как внутри частиц сырья, так

и в экстрагенте. Известно, что скорость массопередачи веществ из растительной клетки тем больше, чем меньше величина диффузного приграничного слоя. Перемешивание значительно уменьшает толщину приграничного слоя, увеличивает коэффициент внешней диффузии и объемную скорость движения сжиженного газа. В промышленных экстракторах эффективное турбулентное движение экстрагента достигается перемешиванием среды (40–60 об/мин) с помощью обычных мешалок. При перемешивании устраняются негативные факторы поперечной неравномерности движения экстрагента, создаются тем самым оптимальные гидродинамические условия контакта экстрагента с поверхностью сырья, обеспечивается сохранность структуры экстрагируемого сырья (кроме случаев образования пылевидной крупки).

Многократный сброс давления

Способ взрывного измельчения сырья с помощью сброса давления в экстракторе, когда происходит быстрое испарение сжиженного экстрагента, позволил использовать этот принцип для интенсификации экстракционного процесса путем многократного сброса давления в рабочей камере. При создании мгновенного нерелаксируемого избыточного давления медленный молекулярный массоперенос веществ заменяется мощным переносом растворенного вещества, то есть имеет место так называемая молярная фильтрация. Аналогичное явление происходит при терморadiационном нагреве влажных материалов, обработке их высокочастотными полями, при использовании в качестве растворителя жидкостей, перегретых относительно параметров окружающей среды. Сброс давления вызывает сдвиг термодинамического равновесия системы клетка – растворитель. При этом за счет возникновения гидродинамического сопротивления скелета растительного сырья при вскипании растворителя вокруг клеток возникает избыточное давление. Вследствие разности

давлений внутри растительных клеток и снаружи создается парожидкостный поток, который способствует не только разрыву (измельчению) частиц сырья, но и выносу с потоком наружу вымытого и растворенного внутриклеточного содержимого. Процесс сброса давления может быть как однократным, так и периодически повторяющимся. При этом возможно или восстанавливать первоначальное давление в рабочей камере, или ступенчато уменьшать его от сброса к сбросу. Выбор режима экстрагирования зависит от свойств взятого растительного сырья: плотности, пористости, морфолого-анатомических особенностей строения, от формы связи основных действующих веществ со скелетом клеток и т.д. [33].

Преимущества и недостатки экстракции сжиженными газами

Исходя из реальной доступности и эффективности процессов экстракции лекарственного растительного сырья, наиболее перспективными экстрагентами являются диоксид углерода и ряд хладонов, как в докритических, так и в сверхкритических состояниях. Более широкие возможности характерны для сверхкритического диоксида углерода. Хладоны следует подбирать в зависимости от конкретных задач, что также справедливо по отношению к смесям растворителей.

Среди преимуществ экстракции сжиженными газами следует отметить следующие:

- возможность широкого варьирования параметров экстрагента путем изменения температуры и давления, регулируемая селективность и высокий коэффициент диффузии растворителя;
- отсутствие токсичности у фреонов и CO_2 как растворителей, что позволяет использовать их в пищевой и фармацевтической промышленности;

- высокая степень извлечения целевых компонентов из сырья;
- высокое качество получаемого продукта и высокое содержание в нем биологически активных веществ,
- возможность получения как суммарных экстрактов, состоящих из многих классов соединений, так и разделения их на фракции с высокой степенью очистки при регулировании селективной способности растворителей;
- возможность последовательной экстракции несколькими экстрагентами различной природы, что недостижимо в большинстве традиционных способов;
- простота разделения экстракта и растворителя, снятие тем самым проблемы остаточных растворителей в конечных продуктах;
- безвредность, инертность растворителей к извлекаемым веществам;
- пожаро- и взрывобезопасность экстрагента (в большинстве случаев);
- сравнительно невысокая стоимость CO_2 и большинства других газов, пригодных для сжижения и экстракции; возможность циркуляции экстрагента;
- возможность избирательно фракционировать липиды с целью получения высококачественных продуктов с низким содержанием свободных жирных кислот;
- большинство сжиженных газов, обладая низкой полярностью, позволяют уже на первой стадии выделить наиболее «проблемный» с точки зрения фитотехнологии класс липофильных веществ и упрощает процесс выделения других целевых продуктов; это также справедливо, когда целевым является именно липофильный комплекс;

- сжиженногазовые технологии позволяют значительно сократить объем и длительность стадий, связанных с переработкой крупнотоннажного растительного сырья, то есть весь процесс может быть унифицирован, вплоть до стадии утилизации шрота, что автоматически способствует снижению издержек производства;
- сжиженный диоксид углерода обладает бактерицидными и антиоксидантными свойствами, что создает возможность извлечения термо- и оксилабильных веществ, повышающих биологическую ценность экстрактов;
- диоксид углерода не вызывает загрязнения окружающей среды.

Сдерживающим фактором для широкого внедрения экстракции растительного сырья сжиженными и сжатыми газами является недооценка биологической ценности получаемых продуктов и отсутствие специально разработанного стандартного оборудования, систем управления и безопасности данных процессов. Среди других недостатков наиболее часто упоминаются следующие:

- необходимость работы при высоких давлениях требует наличия дорогостоящего на сегодняшний день оборудования и обуславливает специальное аппаратное оформление;
- установки периодического действия не позволяют получать большой выход продукта, то есть рентабельность производства значительно выше у оборудования непрерывного действия;
- для монтажа, обслуживания и эксплуатации установок требуется высокая квалификация рабочих.

При приближении веществ к критической точке меняется механизм взаимодействия молекул, что приводит к флуктуации плотности, если мы имеем дело с чистым сжиженным

газом, или концентрации, если используют бинарные смеси. Сжиженный или сжатый газ с растворенными в нем экстрактивными веществами можно также рассматривать как псевдобинарную систему. Результат неоднородности плотности вещества при переходе критической точки объясняется действием гравитационных сил. Переход через критическую точку является переходом второго рода, не сопряженным с поверхностной энергией, что исключает переохлаждение или перегревание смеси. В критической точке свойства обеих фаз – жидкой и газообразной – одинаковы; она является границей перехода двухфазного состояния в однородное и обратно. Вблизи критической точки давление на кривой фазового равновесия является линейной функцией, изоэнтропическая сжимаемость при подходе к ней обращается в бесконечность. Теплоемкость в критической точке возрастает и становится бесконечно большой, поверхностное натяжение в обращается в нуль. Вязкость не претерпевает существенных изменений при переходе через критическую точку. Все эти явления приходится учитывать при применении сжиженных и сжатых газов в качестве экстрагентов.

Раздел 2. Сверхкритические флюидные технологии: теория, практика, перспективы

Определение сверхкритического флюида

В критической точке восприимчивость системы к внешним воздействиям максимальна. Вблизи критической точки появляются и многие другие уникальные особенности критического состояния вещества, обусловленные аномальным развитием флуктуаций и устремлением радиуса их корреляции в бесконечность. Другое важное явление, наблюдающееся по мере приближения к критической точке, – т.н. «обезличенность» вещества. Характер проявляемых свойств определяется степенью приближения к критическим условиям, а не индивидуальностью вещества и даже не типом фазового равновесия. Сочетание этих двух особенностей создает уникальные возможности для реализации различных путей извлечения, разделения и концентрирования с использованием критических фаз, что составляет основу для создания безреагентных, а соответственно и безотходных путей переработки [6,61].

В многокомпонентных системах с приближением термодинамических параметров к критической точке растворителя начинается предкритическое межфазное перераспределение вещества, которое можно использовать для целей извлечения, разделения и концентрирования. В предкритической области параметров состояния вещества многокомпонентные системы можно разделить на составляющие компоненты простым изменением давления и температуры [14,28]. Это явление нашло себе применение для процессов разделения таких сложных систем как комплексы биологически активных веществ, разделение сырой нефти на ее составляющие и т.д.

В литературе встречается много работ посвященных околокритической экстракции [21,22,23,37,38,60]. Среди процессов с участием веществ, находящихся в состоянии, вызванном переходом через критическую точку, наибольшее распространение получили процессы сверхкритической флюидной экстракции (СКФЭ).

Определение сверхкритического флюида можно дать исходя из фазовой диаграммы (рис. 12), на которой выделены области, соответствующие твердому, жидкому и газообразному состояниям вещества. При температуре выше критической пар и жидкость имеют одну и ту же плотность и флюид нельзя перевести в жидкое состояние посредством повышения давления. Область, соответствующая сверхкритическому состоянию, т.е. такому состоянию, при котором не происходит смены фаз, заштрихована. Таким образом, определение сверхкритического флюида является произвольным, поскольку по мере повышения температуры при постоянном давлении (т.е. переход через вертикальную линию на рис. 12) происходит непрерывный переход жидкость – сверхкритический флюид, а по мере увеличения давления при постоянной температуре (т.е. переход через горизонтальную линию на рис. 12) имеет место непрерывный переход газ – сверхкритический флюид [48].

В табл. 8 указаны некоторые вещества, пригодные для сверхкритической флюидной экстракции. Помимо критических температур и давлений важными являются также такие свойства сверхкритических флюидов, как плотность и вязкость. Выше критической точки по плотности и растворяющей способности вещество приближается к жидкости, по вязкости оно ближе к газу, а его коэффициент диффузии имеет промежуточное значение между соответствующими величинами для газа и жидкости (табл. 9).

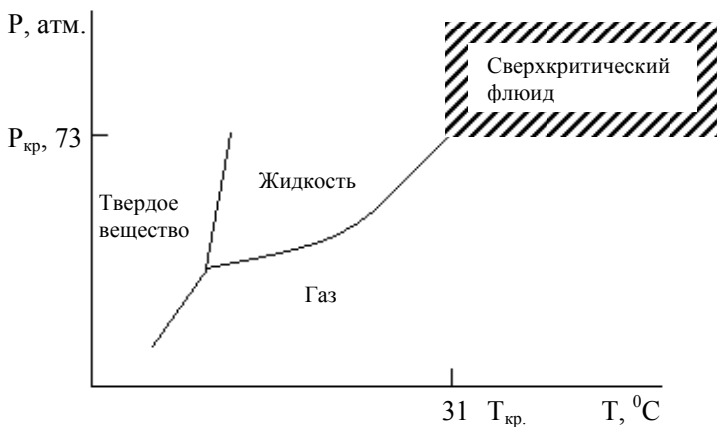


Рисунок 12 – Фазовая диаграмма диоксида углерода

Таблица 8 – Физические параметры некоторых соединений, применяющихся в сверхкритической флюидной экстракции

Флюид	Критическая температура $T_{кр}, ^\circ\text{C}$	Критическое давление $P_{кр}, \text{атм.}$	Критическая плотность $\rho_{кр}, \text{г/см}^3$	Плотность при 400 атм. $\rho_{400}, \text{г/см}^3$	Плотность жидкости $\rho_{ж}, \text{г/см}^3$
CO ₂	31,3	72,9	0,47	0,96	0,93 (63,4 атм., 25 °C)
CCl ₂ F ₂	111,8	40,7	0,56	1,12	1,53 (нас., -45,6 °C)
CHF ₃	25,9	46,9	0,52	—	1,51 (нас., -100 °C)

Таблица 9 – Зависимость физических параметров вещества от агрегатного состояния

Подвижная фаза	Плотность, г/см ³	Вязкость, Па	Коэффициент диффузии, см ² /с
Газ	$\sim 10^{-3}$	$0,5-3,5 (\times 10^{-4})$	0,01-1,0
Сверхкритический флюид	0,2-0,9	$0,2-1,0 (\times 10^{-3})$	$3,3-0,1 (\times 10^{-4})$
Жидкость	0,8-1,0	$0,3-2,4 (\times 10^{-2})$	$0,5-2,0 (\times 10^{-5})$

Поскольку межмолекулярные взаимодействия в них достаточно сильны, сверхкритические флюиды способны растворять и извлекать ряд веществ, даже если они имеют высокую молекулярную массу и слабую летучесть [3,13,36,84].

Термодинамические причины повышения растворяющей способности по мере приближения к критической точке удобно рассмотреть на примере простейшей бинарной системы, где растворителем является газ. В этом случае для растворения чистого вещества в газе в изотермических условиях (в зависимости от давления P) растворимость второго компонента (N_2) меняется в соответствии с уравнением:

$$\left(\frac{\partial N_2}{\partial P}\right)_{T,s} = \frac{v_2^0 - \left[v - (1-N_2) \frac{(\partial P / \partial N_2)_{T,v}}{(\partial P / \partial v)_{T,N_2}} \right]}{(\partial \mu_2 / \partial N_2)_{T,P}} \quad (12)$$

где μ_2 – химический потенциал растворенного вещества, v – мольный объем раствора. Индекс s означает дифференцирование вдоль кривой сосуществования.

Уравнение (1) следует из обобщенного уравнения Гиббса-Дюгема [30]. Это уравнение описывает возрастание растворяющей способности сверхкритической фазы в рамках классической термодинамики, обусловленное стремлением к нулю производных $(\partial P / \partial v)_{T,N_2}$ и $(\partial \mu_2 / \partial N_2)_{T,P}$ в критической точке. Наиболее замечательна при этом роль производной $(\partial P / \partial v)_{T,N_2}$. Стремление ее к нулю на пути к критической точке чистого растворителя зависит от пути, благодаря чему и термодинамические свойства таких растворов, в частности, парциальные мольные объемы, также зависят от пути. В работе [30] рассматривается стремление $(\partial P / \partial v)_{T,N_2}$ к нулю вблизи критической точки чистого растворителя в условиях предельного разбавления. Вне этих условий, даже на кривой

газ – растворенное вещество производная $(\partial P / \partial v)_{T, N_2}$ отлична от нуля. Однако из установленного современной флуктуационной теорией единства природы любых критических явлений и увеличения сжимаемости в любых критических условиях следует стремление $(\partial P / \partial v)_{T, N_2}$ если не к обращению в нуль, то к уменьшению. Это приводит к росту растворяющей способности любых критических фаз. Число максимумов растворимости в системе равно числу критических точек в нем [61].

На эффективность процесса экстракции оказывает влияние направление потока растворителя, по которому сделаны следующие выводы: во-первых, независимо от направления потока, скорость экстракции увеличивается почти линейно со скоростью потока и, таким образом, наряду с растворимостью, внешняя массоотдача должна рассматриваться как важный параметр системы. Во-вторых, несмотря на сильную зависимость от скорости потока, гравитация, помогающая потоку, усиливает значительно скорость экстракции. Этот эффект проявляется более явно при низких числах Рейнольдса и при давлениях ближе к критическому давлению CO_2 . Это поведение связано с присутствием свободной конвекции. Эффект интенсификации экстракции направлением потока растворителя, совпадающим с гравитацией интересен с практической точки зрения. Скорости экстракции могут быть значительно увеличены только за счет изменения направления потока, если процесс происходит при восходящем потоке, при низком числе Рейнольдса и близко к критическому давлению [45,78].

По образному выражению видного ученого-исследователя критического состояния вещества М.А. Анисимова: «...явления, происходящие в окрестности критической точки, могут поразить воображение любого. Достаточно представить объект, в котором взаимная диффузия компонентов

практически прекращается, звук полностью затухает, пройдя расстояние, равное лишь нескольким длинам волн, лазерный луч диффузно рассеивается, не успевая выйти из оптической кюветы, становятся бесконечно большими теплоемкость и изотермическая сжимаемость, а тепловой импульс не рассеивается в течение многих часов или даже суток...» [14].

Области практического приложения сверхкритических флюидных технологий

Фармация и фармацевтическое производство традиционно сталкивается со множеством проблем. Это поиск новых биологически активных субстанций, создание новых препаратов, усовершенствование подходов к технологии лекарственных форм, снижение рисков от применения опасных экстрагентов и растворителей и др. Учитывая, что в настоящее время поиск биологически активных субстанций ведется, в основном, среди природных источников, становится актуальным использование современных технологий, позволяющих вести экстрагирование и фракционирование безреагентным и экологически приемлемым методом [17,19]. К ним, в частности, относится сверхкритические флюидные технологии, которые достаточно хорошо изучены в отношении пищевых продуктов, например, в процессах декофеинизации кофе или чая и экстракция шишек шмеля.

Несмотря на то, что СКФ-технологии требуют специального оборудования, предназначенного для операций под довольно высоким давлением (до 300 атм.), сжиженные газы в сверхкритическом состоянии в чистом виде или в смеси с растворителями имеют несомненное преимущество перед большинством так называемых «органических» растворителей. Они соответствуют лозунгу «Натуральные продукты нуждаются в натуральном растворителе» (Natural product needs a natural solvent) [81]. Сверхкритическая флюидная экс-

тракция (взаимодействие твердое тело – жидкость) и сверхкритическое флюидное фракционирование (жидкость – жидкостное взаимодействие) активно изучаются также с целью удаления токсичных примесей из твердых и жидких биологически-активных субстанций. Сверхкритические флюидные технологии весьма привлекательны для создания принципиально новых терапевтических единиц, состоящих как из чистых соединений, так из смесей активных и сопутствующих веществ. Важно отметить, что оптимизация «формулы» лекарства (сочетания определенного состава и лекарственной формы для достижения конкретного терапевтического эффекта) призвано снизить нежелательные эффекты и принести больше комфорта для пациента. В данной связи необходимо отметить некоторые проблемы, которые призваны решать СКФ-технологии:

- очень ограниченная растворимость большинства биологически активных молекул в воде и физиологических жидкостях;
- трансформация (метаболизм) веществ в пищеварительном тракте;
- доставка к месту назначения нестабильных биомолекул (белки, ферменты, гормоны и др.);
- пролонгированное распределение в организме (коррекция фармакокинетики и фармакодинамики высокоактивных препаратов);
- замена инъекционного метода доставки неинвазивным (без повреждения тканей), например пульмонологическая доставка инсулина.

Проектирование формулы терапевтической единицы с использованием сверхкритических флюидов может осуществляться путем сочетания нескольких различных процессов, выбор которых может зависеть от целевой структуры частиц

лекарственного вещества, его формы и размеров, а также масштабов производства.

В последние десятилетия промышленное приложение СКФ-технологий получает в пищевой отрасли, фарминдустрии, химическом анализе и химическом синтезе, при этом наибольшее развитие имеют такие способы их применения, как экстракция, фракционирование, хроматография, дизайн частиц, стерилизация и др. [69,81].

Сверхкритическая флюидная экстракция (СКФЭ) из твердых материалов

Сверхкритическая флюидная экстракция – это способ, который можно использовать разносторонне. Сюда относятся экстракция и фракционирование пищевых жиров и масел, сепарация токоферолов и других антиоксидантов, очистка и дезинфекция растительных препаратов и пищевых продуктов от пестицидов, детоксикация, концентрирование и др. СКФЭ доказала свою эффективность при извлечении эфирных масел для использования в пищевой, косметической и фармацевтической отраслях. Продукты, получаемые из растений этим методом, являются более сильными антиоксидантами по сравнению с экстрактами, полученными классическими методами. Это связано с сохранением в нативном состоянии практически всего спектра извлекаемых веществ, поскольку их контакт с кислородом в процессе переработки сырья максимально ограничен.

Наиболее развитыми с точки зрения промышленного применения сверхкритических флюидов на сегодняшний день являются процессы декофеинизации кофе и получения хмелевого экстракта. Изучаются способы получения ароматических, красящих, витаминных концентратов из природного сырья. Очень перспективными являются направления по удалению пестицидов из растительного материала (например, корня женьшеня), органических растворителей из синтетических субстанций или обезжириванию костей. В на-

стоящее время в мире функционирует около 100 единиц промышленных установок для СКФЭ, при этом ежегодный прирост их числа составляет примерно 10% [81].

Сверхкритическая флюидная CO_2 -экстракция – хорошая технология для производства летучих и ароматических веществ из растительных материалов. Эфирные масла, как известно, состоят преимущественно из терпеноидов (моно- и сесквитерпенов), которые в свою очередь подразделяются на углеводородные и кислородсодержащие. Традиционные методы получения эфирных масел, такие как перегонка с водяным паром (дистилляция), экстракция органическим растворителем или анфлераж имеют в каждом случае свои недостатки (воздействие высокой температуры, участие воды, низкая селективность, необходимость дополнительной очистки и др.). Поэтому, как правило, эфирные масла, полученные традиционными способами, содержат лишь какую часть исходного спектра летучих соединений. Экстракция сжиженными газами, включая СКФЭ, как сравнительно новый метод получения эфирных масел, может вестись при значительно более низких (вплоть до отрицательных) температурах, без воздействия воды и кислорода, что позволяет сохранить извлекаемые вещества в нативном состоянии, то есть эфирные масла имеют естественный (природный) запах и исходную фармакологическую активность [58,72]

В работе [67] описаны результаты исследования СКФЭ летучих веществ из листьев вербены (*Lemon verbena*) и цветков календулы (*Calendula officinalis* L.). Целью работы было получение СКФЭ концентратов летучих веществ из вербены и календулы, а также ксантофилла лютеина из цветков календулы. Для экстракции во всех экспериментах использовали CO_2 , пригодный для пищевой, фармацевтической и парфюмерной отраслей производства.

Вербена – растение происходящее из тропиков Америки, широко произрастает в Южной Америке, культивируется в Северной Африке и Южной Европе. Его название связано с лимонным запахом, исходящим от листьев при их растирании. Отвар из его надземной части используется как жаропонижающее, спазмолитическое, диуретическое и стимулятор пищеварения. Эфирное масло содержится в эфирномасличных железках, находящихся в листьях, оно является желто-зеленой жидкостью, которая имеет выраженный запах цитраля. Основными компонентами, найденными в составе масла, являются нераль и гераниаль (10-40%), лимонен, цинеол, гераниол, бета-кариофиллен и спатуленол. Соотношение этих веществ различается в зависимости от места агрокультуры, климатических условий и времени заготовки. Биосинтез многих летучих веществ следует сезонному ритму в соответствии с развитием растения: нераль, геранилацетат, альфа-куркумин продуцируются только в период цветения (начало лета), затем продуцируются лимонен, а в течение сухого сезона – линалоол, δ -терпинеол, альфа-терпинеол, спатуленол и альфа-копаен.

Календула – широко культивируемое лекарственное растение, которое в некоторых странах используется как источник пищевого красителя и для ароматизации блюд (Италия). Цветки содержат эфирное масло (количество эфирного масла варьирует в соответствии с расположением и типом цветков, от 0,64% (трубчатые цветки) до 0,024% (краевые цветки)), жирные кислоты, органические кислоты, горькие вещества, слизь, смолы, резиноиды, холестероловые эфиры, сапонины, тритерпеновые спирты, аскорбиновую кислоту и смесь натуральных красителей. Главным красителем является ксантофилл лютеин ($C_{40}H_{56}O_2$). Он имеет химическую структуру, похожую на β -каротин, является гидроксикаротином. Лютеин, особенно если он чистый, придает желтый цвет. Он более

стабилен в отношении окисления, чем другие каротиноиды, при нагревании (но не под действием солнечного света), поэтому лютеин хорошо подходит в качестве пищевого красителя.

Экстракция исследуемых объектов велась на лабораторной установке, принципиальная схема которой представлена на рис. 13.

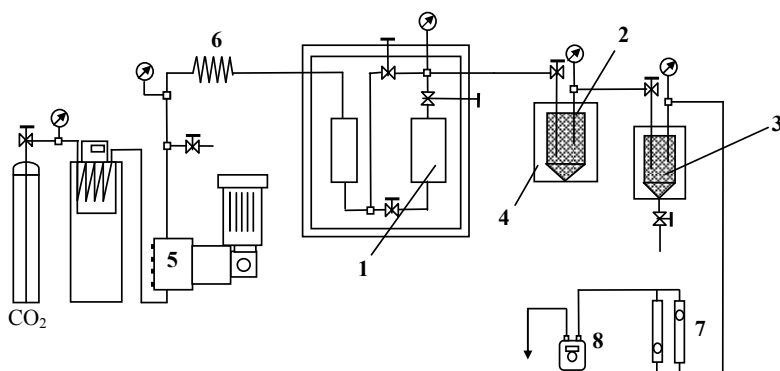


Рисунок 13 – Принципиальная схема лабораторной установки СКФЭ (объяснения в тексте)

Несмотря на то, что растворимость кутикулярных восков, длинноцепочных углеводов, кислот и спиртов в сверхкритическом флюидном CO_2 значительно ниже, чем у терпеноидов, составляющих основу эфирного масла, в экстракт их переходит от 10 до 30% вследствие их поверхностного расположения в растительном сырье. Поэтому, если их присутствие в конечном продукте нежелательно, возникает задача их удаления. Проблема эта решается применением сепарации, при которой «тяжелые» фракции осаждаются вымораживанием при температуре 0°C . Таким образом, после экстракции эфирного масла из сырья на первой стадии сепарации производится вымораживание восков, на второй – отделение целевого продукта достаточно заметным сбросом дав-

ления, который тоже должен быть контролируемым в целях избегания потерь эфирного масла с испаряющимся CO_2 .

Установка СФЭ действует в режиме одного прохода CO_2 через зафиксированный пласт растительных частиц и снабжена экстракционной камерой (1) объемом 400 см³. Воски и эфирное масло были отделены в двух сепараторных камерах (2, 3), соединенных последовательно (объемом 300 и 200 см³). Охлаждение первого сепаратора достигалось использованием термостатирующей ванны (4) (с точностью 0,1°C). Второй сепаратор допускал возможность выгрузки жидкого продукта при необходимости время от времени. Диафрагмальный насос высокого давления (5) имеет максимальную возможность перекачки жидкого CO_2 – 6 кг/ч. CO_2 затем нагревался до температуры экстракции в термостате (6) (с точностью до 0,02°C). Экстракция была проведена способом, при котором камера с сырьем периодически перегружалась, а поток растворителя был непрерывным. Поток CO_2 отслеживался калиброванным ротаметром (7), расположенным после второго сепаратора. Общее количество CO_2 , использованное в течение тестирования (испытания) процесса экстракции было оценено специальным измерителем (Dry test meter) (8). Температура и давление в экстракционном аппарате измерялась термопарой и манометрами. Давление регулировалось ручным управлением клапанов высокого давления.

Концентраты летучих веществ из листьев вербены и цветков календулы были получены СФЭ при $P=90$ бар и $T=50^\circ\text{C}$ (плотность CO_2 – 0,287 г/см³). Для осаждения всех восков в первом сепараторе были созданы следующие условия: давление 90 бар, температура – -5°C , в этих условиях летучие вещества показывают высокую растворимость в CO_2 . И в самом деле, во втором сепараторе были обнаружены только концентраты летучих веществ, которые были проанализированы газовой хроматографией с масс-спектраль-

ным детектированием и сравнивались с образцами эфирных масел, полученных из исследуемых растений паровой перегонкой. Экстракция лютеина из цветков календулы была выполнена путем дальнейшей экстракции обработанного сырья при более высоком давлении (320 бар) и температуре 50°C и с использованием одного сепаратора.

В результате в составе летучего концентрата, полученного из СФЭ вербены, были обнаружены: фитол (11,64%), спатуленол (7,09%), кариофилленоксид (5,6%), метил-9,12,15-октадекатриеноат (5,56%) и альфа-куркумен (4,58%). Эфирные масла вербены, полученные как СФЭ, так и гидродистилляцией, содержат сравнительно немного углеводородных терпеноидов (менее 10%), значительно больше в них представлены кислородные производные (40%). Выход всего летучего концентрата был 0,2% по массе от загруженного в экстрактор сырья. Выход масла, полученного гидродистилляцией, составил 0,15%. В нем главными компонентами были те же, что обнаружены в масле СФЭ, но в другом процентном отношении: спатуленол (23,15%), кариофилленоксид (следы), альфа-куркумен (7,7%), гераниаль (3,18%), неролидол (3,75%) и нераль (2,19%).

СФЭ цветков календулы проводилась в две стадии. На первой стадии, условия которой были такие же, что в случае экстракции листьев вербены, было получено эфирное масло (концентрат летучих веществ) в количестве 0,18% от массы сырья. В составе концентрата летучих веществ календулы обнаружены: метилгексадеканат (23,75%), метиллинолеат (18,57%), метил-9,12,15-октадекатриеноат (17,15%), метилоктадеканат (4,79%), метилтетрадеканат (4,65%), гамма-кадинен и кубенол (4,04%), δ -кадинен (3,23%), альфа-кадинол (1,83%), оплопанон (1,27%). Масло, полученное гидродистилляцией, имело выход 0,11% от массы сырья, в его составе были обнаружены сесквитерпеновые спирты,

родственные муурололу и кадиолу, главным образом альфа-кадиол.

На второй стадии, которая проводилась при давлении 320 бар и температуре 50°C, из цветков календулы был получен продукт, содержащий лютеин, воски, высокомолекулярные спирты, кислоты и др. Выход лютеина от массы исходного сырья составил всего 0,01%, в то время как при экстракции растворителем (ацетон – гексан 1:1) в аппарате Сокслета его было получено 0,04%. Это связано с тем, что если молекула каротиноида содержит полярные группы, его растворимость в СК CO₂ резко уменьшается. К примеру, бета-каротин при 320 бар экстрагируется практически полностью (более 95%) за короткое время, а лютеина, несмотря на более длительное время экстракции, извлеклось всего 25-30%. Для получения удовлетворительного выхода (больше 70%) необходимо операцию проводить при высоком давлении (прим. 700 бар). Столь заметное различие в растворимости каротиноидов в СК CO₂ может быть объяснено теорией растворимости: наибольшая растворимость достигается тогда, когда вещество и растворитель имеют одинаковые или похожие расчетные параметры, характеризующие их поведение в процессе растворения. Рассчитанная авторами величина этого параметра для бета-каротина была 8,71 cal^{1/2}/cm^{3/2}, для лютеина – 10,01 cal^{1/2}/cm^{3/2}, для СК CO₂ – 5,57; 8,20 и 9,12 cal^{1/2}/cm^{3/2} при 100, 320 и 700 бар, соответственно, то есть при 320 бар β-каротин и СК CO₂ имеют схожие параметры, способствующие лучшей растворимости, наилучшие условия для хорошей растворимости лютеина – 700 бар.

Сверхкритическая экстракция аномально чувствительна к введению третьего компонента (соразтворителя) и к химическому взаимодействию (даже весьма слабому) экстрагируемого вещества с этим компонентом [61,71,80,84,86]. На процесс экстракции, также влияют вещества, находящиеся в

растительном сырье. В работе [21] отмечается, например, что если в состав растительной смеси, предназначенной для CO_2 -обработки, входит сырье, содержащее эвгенол (базилик эвгенольный, гвоздика, перец душистый), то общий выход экстрактивных веществ существенно увеличивается (в 1,2-1,5). Эффект соэкстракции наблюдается при смеси CO_2 с фенолоподобными органическими соединениями, с высшими спиртами, кетонами и другими соединениями: тимол, карвакрол, лимонен, линаллилацетат, прохамазулен. СК CO_2 хорошо растворяет неполярные соединения. Для облегчения СК CO_2 -экстракции полярных соединений используют модификаторы (соразтворители). В качестве модификаторов могут быть использованы многие химические соединения, в том числе вода, метанол, бензол и др. Чаще всего для некоторого увеличения полярности СК CO_2 используется этанол [5].

Например, в работе [76] исследуются процессы экстрагирования эфирного масла и его отдельных компонентов сверхкритическим флюидным CO_2 с соэкстрагентом (этанолом) и без. В ней также проводится сравнение эффективности флюидной экстракции с некоторыми другими подходами к выделению эфирного масла, а именно экстракцией этанолом, эфиром, а также способом, сочетающим перегонку с водяным паром (паровую дистилляцию) и экстракцию. Объектом исследования является кожура цитрона (*Citrus junos*), культивируемого в Южной Корее. В процессе производства сока, остается много кожуры, которая выбрасывается. В то же время кожура корейского цитрона содержит большое количество лимонена, имеющего очень специфический освежающий запах, то есть она является перспективным источником эфирного масла, пригодного для парфюмерии и пищевых технологий.

Динамика извлечения эфирного масла, как функция давления, показана на рис. 14, где изображены изотермы выхода целевого продукта в зависимости от условий экстракции и скорости подачи соэкстрагента.

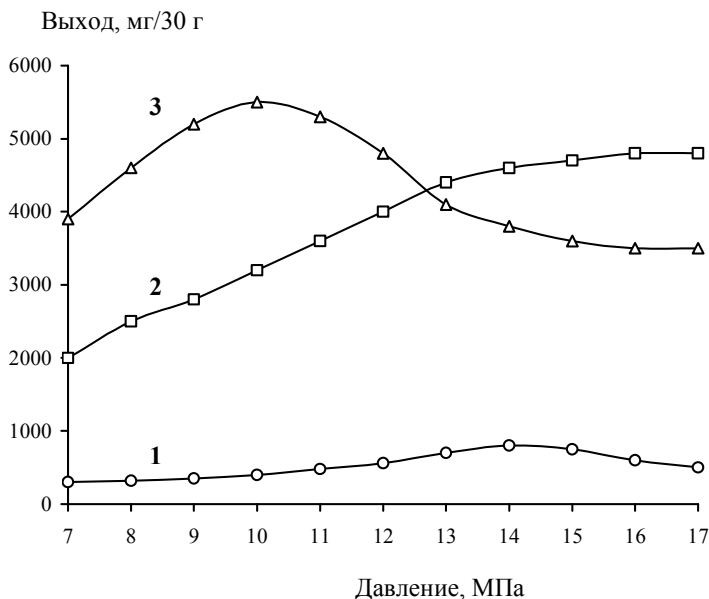


Рисунок 14 – Экстракция эфирного масла из кожуры цитрона сверхкритическим CO_2 при различных условиях с соэкстрагентом и без него. Условные обозначения: 1 – при 40°C без соэкстрагента; 2 – при 45°C с потоком соэкстрагента (этанола) 0,2 мл/мин; 3 – при 35°C с потоком соэкстрагента (этанола) 0,4 мл/мин.

Использование чистого СК CO_2 позволило получить максимум 26,2 мг эфирного масла из 1 г образца (или 2,62 %) при давлении 13,8 МПа. С соизвлекателем (со скоростью потока 0,2 мл/мин и при температуре 45°C) при давлении так же 13,8 МПа из 1 г образца было получено масла 161,4 мг/г (или 16,14%). Увеличение пропорции соэкстрагента до 0,4

мл/мин и снижение температуры до 35°C сместило максимум извлечения до 180,5 мг/г при давлении 10,3 МПа.

Этанол, как соэкстрагент, имеет как полярные, так и неполярные характеристики, которые повышаются неполярной природой СК CO₂. Сорастворитель увеличивает экстракцию через модификацию физических свойств CO₂, однако растворимость этанола в СК CO₂ невысокая и поэтому имеются ограничения концентрации этанола в СК CO₂, в пределах которых возможно его использование.

В сверхкритической области повышение давления в изотермическом режиме приводит к увеличению плотности экстрагента, что в свою очередь способствует извлечению менее летучих соединений, таких как смолы (олеорезины), парафины и воски, которые легче экстрагируются и тем самым снижают концентрацию летучих веществ. Соэкстрагент, как показано на рис. 14 и 15, позволяет извлекать большее количество масла при меньшем давлении и соответственно меньшей плотности экстрагента, поэтому конечный продукт содержит меньше нелетучих примесей. Похожим образом на экстракционный процесс оказывает влияние температура. На рис. 15 показана зависимость от температуры количества масла, экстрагированного из образцов кожуры цитрона при различных давлениях с постоянной концентрацией соэкстрагента.

На рис. 16 показаны количества индивидуальных веществ эфирного масла, которые экстрагируются из образцов кожуры цитрона при 40°C при различных давлениях без соэкстрагента. Схожим образом рис. 17 показывает экстракцию тех же веществ с соэкстрагентом (этанолом), подаваемым со скоростью 0,4 мл/мин.

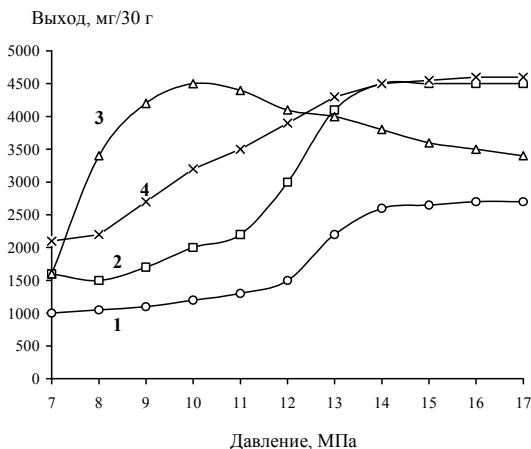


Рисунок 15 – Динамика экстрагирования кожуры цитрона СКФ CO_2 при различных температурах и давлении (Время экстракции – 60 мин, скорость потока соэкстрагента (этанола) – 0,4 мл/мин.). Условные обозначения: 1 – при 30°C; 2 – при 35°C; 3 – при 40°C; 4 – при 45°C

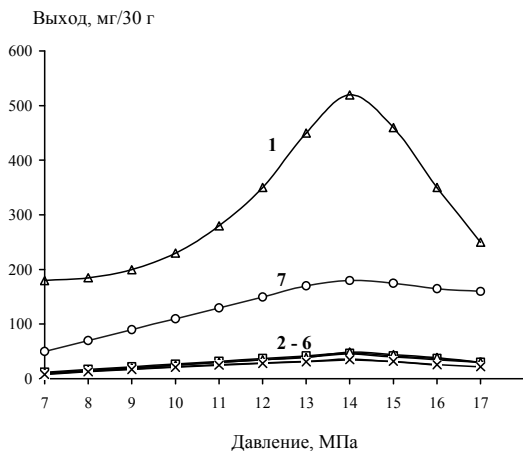


Рисунок 16 – Экстрагирование индивидуальных компонентов эфирного масла цитрона сверхкритическим CO_2 при различных давлениях (Время экстракции – 100 мин, температура – 40°C). Условные обозначения: 1 – D-лимонен; 2-6 – линалилоол, мирцен, α-пинен, β-пинен, α-терпинен; 7 – γ-терпинен

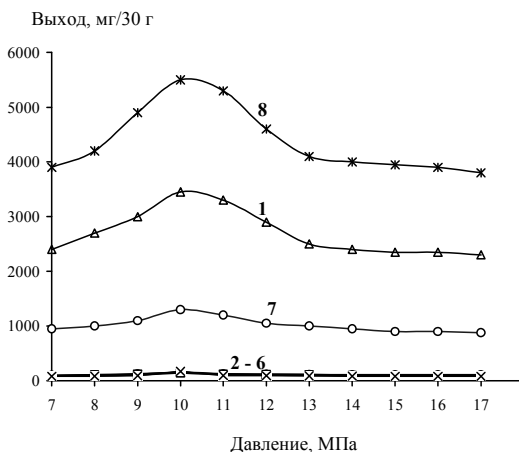


Рисунок 17 – Экстрагирование индивидуальных компонентов эфирного масла цитрона сверхкритическим CO₂ при различных давлениях в присутствии созкстрагента (Время экстракции – 60 мин, температура – 40°C, скорость потока созкстрагента – 0,4 мл/мин). Условные обозначения: 1 – D-лимонен; 2-6 – линалоол, мирцен, α-пинен, β-пинен, α-терпинен; 7 – γ-терпинен; 8 – общая сумма веществ

Как и на предыдущих графиках, здесь также видно, что без созкстрагента максимум экстрагирования происходит при давлении 13,8 МПа, а с созкстрагентом – при 10,3 МПа, к тому же наличие созкстрагента увеличивает степень извлечения почти в 7 раз. Вдобавок, созкстрагент увеличивает растворимость летучих компонентов более эффективно, чем это происходит при повышении давления чистого CO₂.

В табл. 10 сравниваются результаты получения эфирного масла цитрона несколькими методами. Традиционные органические растворители, этанол и эфир, оказались эффективнее, чем сочетание паровой дистилляции и экстракции, но использование СК CO₂ с соразтворителем является наилучшим подходом, в 1,4 раза увеличивающим эффективность по сравнению с экстракцией этанолом.

Таблица 10 – Сравнительные данные получения эфирного масла цитрона (мг/30 г образца) различными методами

Вещество	Метод получения				
	Экстракция растворителем		Паровая дистилляция + экстракция	СО ₂ -экстракция (13,8 МПа, 40°С)	
	этанолом	эфиром		без соэкстрагента	с этанолом (0,4 мл/мин)
D-лимонен	94,40	60,01	25,14	16,94	114,70
линалоол	8,88	7,41	6,38	1,24	9,64
мирцен	1,92	1,24	0,79	0,36	2,53
α-пинен	4,38	2,46	1,18	0,69	6,19
β-пинен	4,47	2,88	1,22	0,82	5,76
α-терпинен	0,60	0,39	0,30	0,07	0,76
γ-терпинен	34,90	22,63	8,58	6,11	40,97
Всего	149,56	97,01	43,58	26,22	180,56

Сверхкритическое флюидное фракционирование (СКФФ)

Предназначено для извлечения веществ из жидкой фазы, а также для разделения различных групп веществ из одного источника в пределах одного процесса (фракционирование в сочетании с экстракцией). СКФФ особенно выгодно применять при высокой селективности экстрагента в отношении извлекаемых веществ. Ряд производств используют этот метод для ароматизации ферментированных дистиллированных напитков, деалкоголизации вин [85], фракционирования полиненасыщенных жирных кислот, полярных липидов (керамиды, сфинголипиды, гликолипиды), фитостеролов, токоферолов [48]. В ближайшее время ожидается налаживание весьма перспективного процесса СКФ-фракционирования активных компонентов из ферментативных бульонов [82].

Фракционирование с применением сверхкритического флюида может быть направлено как на экстракцию целевых, так и на удаление нежелательных сопутствующих веществ. Для этого в одном процессе могут последовательно соче-

таться экстракция, фракционирование, осаждение, сепарация и др. Например, SAS-технология (SAS – сверхкритический антисольвент), которая ниже будет рассматриваться как техника формирования частиц, позволяет с помощью сверхкритического флюида осаждать вещества определенной группы и отделять их от целевых веществ сепарированием.

В работе [83] приведены данные исследований по удалению белковых веществ и аминокислот из листьев табака, используемого для сигарет. Задача заключалась в том, чтобы вещества, «загрязняющие» табачный дым, были удалены, а никотин и ароматические вещества, определяющие потребительские свойства сигарет, сохранились в нативном виде. Как оказалось, традиционные технологии и растворители для решения этой задачи оказались непригодны, поэтому было предложено сочетание экстракции и SAS-осаждения. Принцип метода заключается в том, что вещество (или группа веществ), которое требуется осадить, растворяется в органическом растворителе или экстрагируется им из сырья, и раствор распыляется в сверхкритическом флюиде, который выступает как антисольвент. Вещество, растворимое в CO_2 , в условиях процесса остается во флюидной фазе, в то время как нерастворимые вещества осаждаются, и тем самым достигается очень эффективное фракционирование.

Особенностью аппарата, использованного в данном эксперименте, является наличие специальной камеры высокого давления, заполняемой сверхкритическим флюидным CO_2 . Раствор, предназначенный для фракционирования преципитацией (осаждением), подается в рабочую камеру через отверстия сопла (из нержавеющей стали) диаметром 60 мкм. В результате мгновенного перехода жидкого сольвента в сверхкритический флюид происходит осаждение веществ, нерастворимых в СКФ- CO_2 . Сольвентом в эксперименте являлся этанол с 1% содержанием калия гидроксида, с помо-

щью которого были получены экстракты листьев табака, подвергшиеся СКФ-фракционированию.

Выбор параметров процесса (табл. 11) был основан на ожидаемых растворимостях в СКФ-СО₂ различных веществ, входящих в состав экстракта. Этанол сравнительно легко растворяется в СКФ-СО₂, поэтому пригоден для данного процесса. Протеины и их производные (аминокислоты) практически нерастворимы в СКФ-СО₂. Подтверждением этому являлось также то, что известны примеры целевого выделения белковых соединений и аминокислот антисольвентом. Кутикулярный воск, ароматические компоненты и никотин легко растворимы в СКФ-СО₂, особенно при высокой плотности экстрагента.

Таблица 11 – Условия экспериментов по СКФ-фракционированию экстрактов табака

Эксперимент	I	II	III
Растворитель (сольвент)	Этанол с 1% КОН	Этанол с 1% КОН	Этанол с 1% КОН
Антисольвент	СО ₂	СО ₂	СО ₂
Давление, бар	150	200	200
Температура, °С	40	40	40
Концентрация раствора, мг/мл	100	100	100
Скорость подачи раствора, мл/мин	2	2	2
Количество поданного раствора, мл	50	20	100
Общее количество поданного экстракта (сухого вещества, г)	5	2	10

Этанольный экстракт был эффективно фракционирован во всех экспериментах. Макроскопические результаты отражены на фото (рис. 18), на котором изображен преципитат, полученный в конце 1-го эксперимента: было собрано боль-

шое количество светло-желтого преципитата. Как показал анализ, значительная доля в нем принадлежит калия карбонату, который образовался из калия гидроксида в среде флюидного CO_2 , однако из азотсодержащих соединений исходного экстракта табака в преципитате обнаружены только аминокислоты и белковые вещества. В сепараторе была также выделена окрашенная и ароматная (сильно пахнущая) фракция, содержащая алкалоиды и эфирное масло табака.

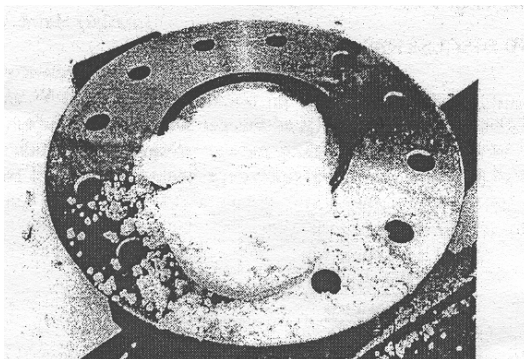


Рисунок 18 – Преципитат, полученный SAS-осаждением в СКФ- CO_2 этанольного экстракта из листьев табака

Химический анализ выделенных фракций показал, что выход осажденного материала составил около 40% (от массы экстракта) в каждом эксперименте. Количества (мг/100 мг массы преципитата) протеинов, аминокислот и алкалоидов представлены в табл. 12, где P1, P2, P3 – преципитаты, полученные в 1-м, 2-м и 3-м эксперименте, а ЭР1, ЭР2 и ЭР3 – их этанольные остатки.

Между образцами при более глубоком исследовании состава не было значимых различий. Особенно важным фактом является полное отсутствие никотина в преципитатах.

Таблица 12 – Результаты анализа фракций, выделенных из спиртовых экстрактов СКФ-фракционированием

Фракция	Протеинов, %	Аминокислот, %	Алкалоидов, %
P1	1,32	0,76	0
P2	1,36	0,80	0
P3	1,30	0,68	0
R1	—	—	6,22
R2	—	—	7,88
R3	—	—	8,59

Проведенная работа иллюстрирует потенциальную возможность выделения тех или иных целевых веществ в пределах одного процесса, варьированием условий экстрагирования и фракционирования. Необходимо также отметить, что все операции осуществляются при достаточно низких температурах, что позволяет сохранить в неизменном виде термолабильные вещества.

Технологически более доступным способом фракционирования является комбинированный подход, когда из одного растительного объекта, применяя различные параметры СКФ-экстракции, дробно (ступенчато) извлекается несколько фракций, значительно отличающихся друг от друга физико-химическими параметрами и соотношением основных классов веществ. В работе [53] приводятся некоторые результаты фракционирования листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L. сем. *Lamiaceae*) дробным способом. В ней исследуется взаимосвязь между условиями процесса СКФ-экстракции листьев шалфея и химическим составом полученного СКФ-СО₂-экстракта, разделенного на три фракции. Целью работы был сравнительный анализ полученных продуктов и поиск технологии рациональной переработки листьев шалфея с сохранением нативного состава субстанций. СКФ-экстракция листьев шалфея осуществлялась на опытной лабораторной установке [6]. Основными парамет-

рами экстрагирования были следующие: экстрагент – оксид углерода (IV) во флюидном состоянии; рабочее давление – 10, 20 и 30 МПа; температура – 31,5°C; масса образца сырья – 0,1 кг; остаточная влажность измельченного сырья – не более 5%; степень измельчения сырья – не более 0,2 мм; степень экстрагирования – до истощения (визуально и по отсутствию прироста массы продукта). Химический анализ полученных фракций проводился методом газовой хроматографии с масс-спектральной и УФ детекцией на приборе Saturn-2000 (Varian) на колонке Stabilvax длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 0,5 микрон.

Экстракция осуществлялась в изотермическом режиме в три стадии, в результате чего были выделены СКФ-СО₂-экстракты, которые заметно отличались количественно, по внешнему виду и органолептическим признакам. При давлении 10 МПа было получено 2,65 г первой фракции, представляющей собой подвижную прозрачную жидкость желто-коричневого цвета с выраженным запахом шалфейного эфирного масла. Далее из того же образца сырья при давлении 20 МПа была получена вторая фракция массой 1,99 г – густая малоподвижная масса коричневого цвета с запахом шалфейного масла. Третья фракция, полученная при давлении 30 МПа, массой 0,45 г, представляла собой густую мазеобразную массу темно-коричневого цвета со слабым шалфейным запахом. Степень истощения сырья методом дробного трехстадийного СКФ-экстрагирования после двух первых стадий составила 91,16% при сумме экстрактивных веществ, извлекаемых сверхкритическим флюидным СО₂ – 5,09% (рис. 19).

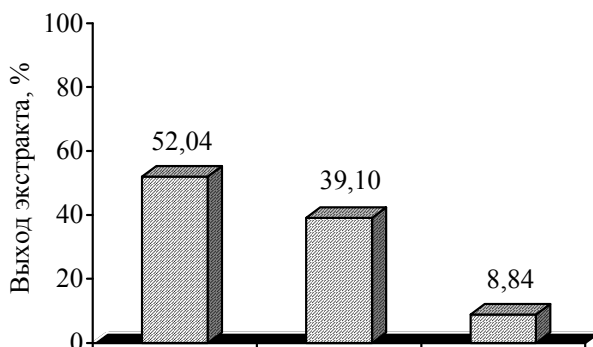


Рисунок 19 – Динамика истощения листьев шалфея лекарственного СКФ-СО₂-экстракцией в три стадии при давлениях 10, 20 и 30 МПа

Сравнительный химический анализ полученных СКФ-СО₂-экстрактов показал, что дробное экстрагирование позволяет выделить несколько продуктов, различающихся, главным образом, соотношением компонентов (табл. 13).

Таблица 13 – Химический состав по фракциям СКФ-СО₂-экстракта шалфея лекарственного

Соединение	Содержание, %		
	Фракция 1	Фракция 2	Фракция 3
манол	17,726	22,256	20,734
α -туйон	17,615	9,857	7,443
камфора	9,099	6,520	5,418
1-циклопропилазулен-4-ол	6,145	7,365	6,314
азулен	5,936	4,865	4,186
кариофиллен	4,722	3,842	3,322
1,8-цинеол (эвкалиптол)	4,334	3,282	2,243
β -туйон	3,834	2,667	2,001
борнеол	2,569	2,307	1,963
α -пинен	1,804	0,978	1,117
октадекатриеновая кислота	1,560	2,110	3,117
н-гексадекановая кислота	1,322	2,077	3,704
борнилацетат	1,238	0,851	0,808

Соединение	Содержание, %		
	Фракция 1	Фракция 2	Фракция 3
камфен	1,209	0,364	0,106
12-оксибицикло[9.1.0]додека-3,7-диен	0,910	0,754	0,737
глауциловый спирт	0,665	1,118	1,007
октадеценовая кислота	0,638	1,209	1,572
лимонен	0,642	0,297	0,132
β -пинен	0,602	0,190	0,072
тотарол	0,546	1,171	1,438
кариофиллен-оксид	0,544	0,501	0,466
9(1H)-фенантренон	0,539	0,661	1,018
декагидро-1,1,4а-триметилнафтален	0,476	0,427	0,347
октадекадиеновая кислота	0,438	0,659	1,406
6,6-диметил-бицикло[3.1.1]гептан	0,401	0,109	0,029
п-цимол	0,390	0,237	0,234
аромандрен-оксид	0,324	0,306	0,332
линалоол	0,306	0,210	0,163
цис- α -санталол	0,296	0,134	0,054
миртенол	0,263	0,200	0,126
фитол	0,255	0,267	0,444
этил-гексадеканоат	0,244	0,194	0,141
нимбиол	0,212	0,360	0,570
аромадендрен	0,184	0,144	0,141
ацетофенон	0,167	0,114	0,104
1,2,2,3-тетраметилциклопентен-3-енол	0,160	0,132	0,102
изотуйол	0,140	0,117	0,091
этил-9,12,15-октадекатриеноат	0,138	0,104	0,120
α -терпинен	0,135	0,054	0,036
γ -терпинен	0,134	0,061	0,066
терпинолен	0,127	0,077	0,077
пинанон-3	0,119	0,083	0,116
тимол	0,105	0,100	0,101
бензиловый спирт	0,091	0,152	0,349
нафталин	0,091	0,127	0,293
1,2,3,5,6,8а-гексагидронафталин	0,086	0,050	0,026
гексадека-2,6,10,14-тетраен-1-ол	0,084	0,163	0,173
спатуленол	0,074	0,102	0,114

Соединение	Содержание, %		
	Фракция 1	Фракция 2	Фракция 3
этил-линолеат	0,057	0,025	0,032
α -терпинеол	0,056	0,047	0,036
аллоаромадендрен-оксид	0,056	0,032	0,018
тетрацикло[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]тридекан	0,054	0,051	0,054
3-карен	0,048	0,080	0,086
карвон	0,047	0,035	0,046
этил-олеиноат	0,047	0,033	0,081
метилэвгенол	0,042	0,033	0,011
5-метил-2-(1-метилэтил)-циклогексанол	0,029	0,027	0,048
d-пинандиол	0,021	0,006	0
каламенен	0,017	0,008	0,012
насыщенные углеводороды	8,042	17,838	22,043
неидентифицированные соединения	1,806	1,858	1,589

Сгруппировав вещества по основным классам, можно проследить динамику их извлечения сверхкритическим флюидом (рис. 20) и основные различия в составе фракций (рис. 21).

Данные анализа показывают значительное различие в соотношении компонентов по фракциям. В химическом составе первой фракции СКФ-СО₂-экстракта шалфея значительно доминируют компоненты эфирного масла – моно- и сесквитерпеноиды (суммарно около 63% по массе). Вторая фракция характеризуется примерно равным соотношением эфирного масла и высокомолекулярных спиртов. В третьей, наряду с эфирным маслом и спиртами, заметно возрастает массовая доля насыщенных углеводородов. Кроме того, важно отметить, что от стадии к стадии возрастает массовая доля ароматических веществ и циклических углеводородных производных, в то время как доля сложных эфиров остается практически неизменной.

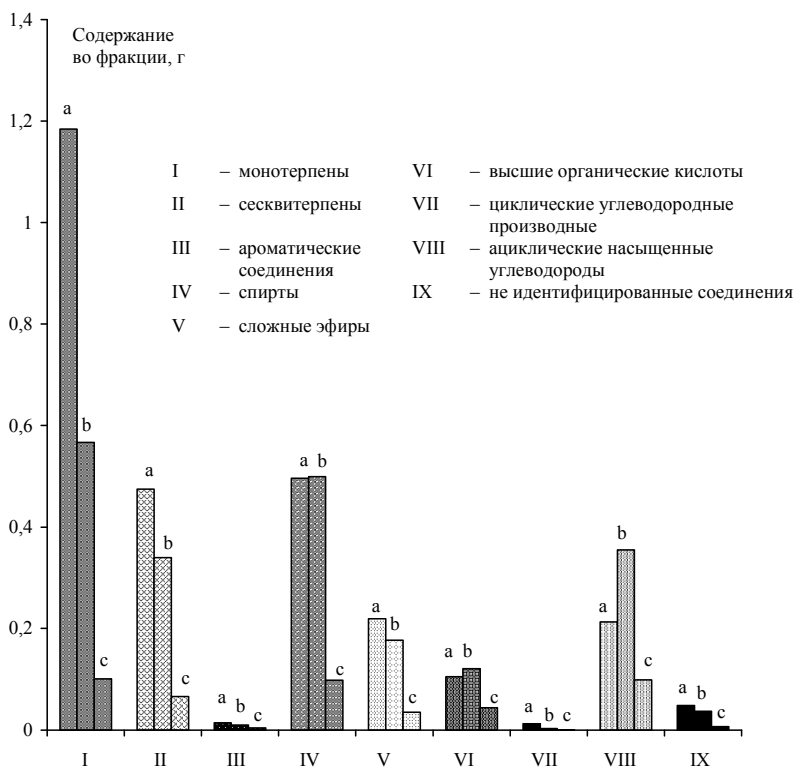


Рисунок 20 – Динамика экстрагирования различных классов соединений из листьев шалфея сверхкритическим флюидным CO₂ при 10 (a), 20 (b) и 30 (c) МПа

Исходя из суммарного выхода каждой фракции, можно заключить, что для получения целевого биологически активного экстракта шалфея методом СКФ-экстракции достаточно с самого начала применить условия второй стадии экстрагирования (P=20 МПа) до полного истощения сырья.

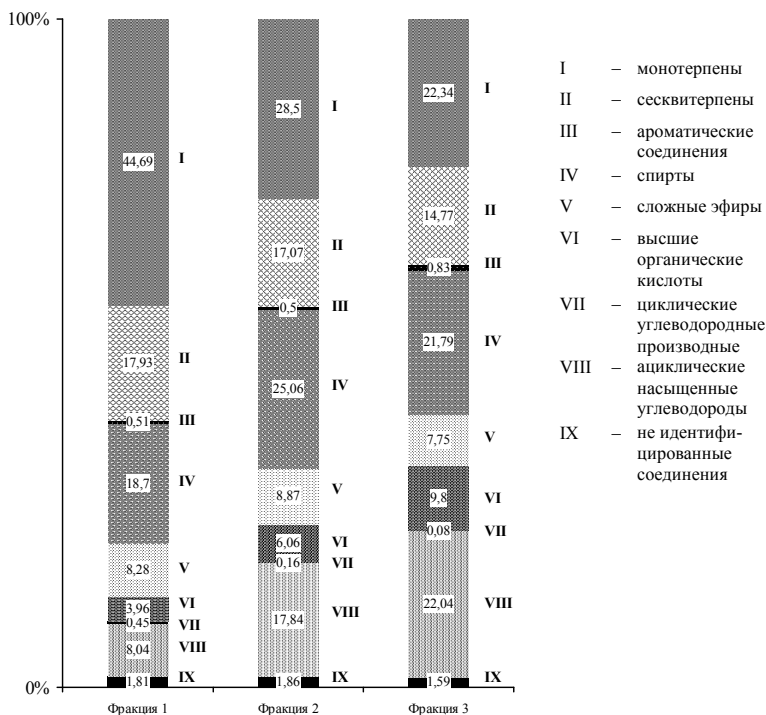


Рисунок 21 – Соотношение компонентов во фракциях СКФ-СО₂-экстракта шалфея

Применение более высокого давления целесообразно как способ удаления липофильных примесей, оказывающих мешающее влияние в технологии суммарного полифенольного комплекса из шрота листьев шалфея, остающегося после экстракции сверхкритическим флюидом.

СКФ-СО₂-экстракт шалфея был также объектом испытания другой установки, созданной в Институте физики ДНЦ РАН и позволяющей вести визуальное наблюдение процессов, происходящих в растворе смеси веществ в сверхкрити-

ческом флюиде [63]. Принципиальная схема установки, в которой основным устройством является визуальная (или измерительная) ячейка, представлена на рис. 22. Основным узлом экспериментальной установки является сапфировая трубка высокого давления (1), в которой возможно вести визуальное наблюдение за процессами, происходящими в исследуемой жидкости (6) (например, растворе CO_2 -экстракта в сверхкритическом флюидном CO_2) в зависимости от температуры и давления. Трубка зажимается между двумя фланцами (2) и (8), сделанными из нержавеющей стали. Нижний фланец (8) представляет собой поршень с резиновыми кольцами (9), который вставлен в основание (11). Он может двигаться вверх-вниз под давлением масла (10), подача которого осуществляется из резервуара (12) при помощи ручного пресса (17).

Для герметичности между сапфировой трубкой и фланцами вставлены фторопластовые прокладки (5), которые, при необходимости, могут заменяться на более термостойкие прокладки. Сапфировая трубка нагревается специальным нагревателем (3), который изготовлен из меди для равномерного распределения температуры. По всей длине внутри медного кожуха вставлено шесть нагревательных элементов. В нагревателе (3) сделаны окна для наблюдения и освещения сапфировой трубки, герметично заклеенные прозрачными стеклами (4). Для быстрого термостатирования зазор между сапфировой трубкой и нагревателем заполняется дистиллированной водой (7).

Температура внутри сапфировой трубки измеряется медно-константановой термопарой (Т). Исследуемое вещество в измерительную ячейку подается прессом (16) из резервуара (14). Одновременно из баллона (13) в рабочую ячейку при помощи того же ручного пресса подается сжиженный CO_2 .

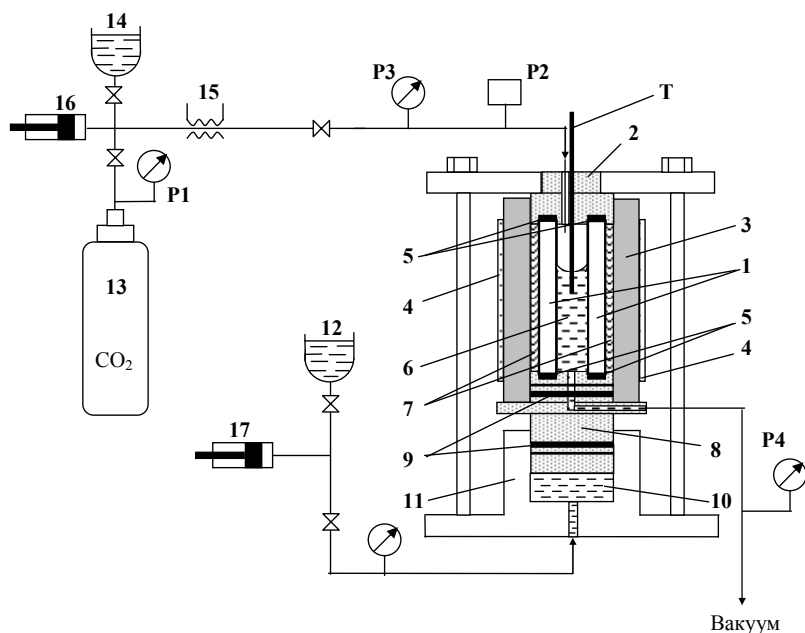


Рисунок 22 – Принципиальная схема экспериментальной установки для исследования процессов СКФ фракционирования

Исследуемая жидкость в смеси с диоксидом углерода нагревается нагревателем (15) до температуры, необходимой для перехода жидкости в сверхкритическое флюидное состояние. Давление в измерительной ячейке измеряется специальным электронным преобразователем давления (P2). Образцовые манометры (P1) и (P3) показывают давление в баллоне с CO₂ и в системе гидравлического обжима сапфировой трубки. Перед началом исследований в системе создается вакуум, который контролируется вакуумметром (P4).

На рис. 23 представлено фотоизображение сапфировой трубки измерительной ячейки, на которой видно фракционирование СКФ-CO₂-экстракта шалфея. Фракции от I до VI

различаются цветом и плотностью, достаточно хорошо различимы границы раздела фракций.

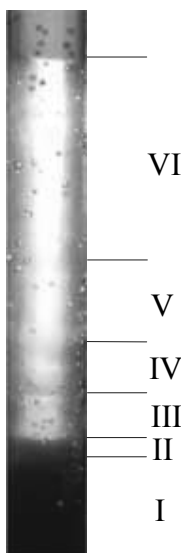


Рисунок 23 – Фракционирование сверхкритического флюидного CO_2 -экстракта шалфея в визуальной измерительной трубке экспериментальной установки

Фракция I – предположительно смолы (высокомолекулярные спирты и кислоты), ди- и тритерпеноиды. Среди них для шалфея наиболее характерна карнозоловая кислота (сальвин), ее производные, тритерпеновые кислоты (урсоловая и олеаноловая). В этой фракции также представлены высшие кислоты и спирты (насыщенные и ненасыщенные), среди них октадекатриеновая кислота (1,56%), октадеценовая кислота (0,64%), *n*-гексадекановая кислота (1,32%) и др. Из спиртов доминирует манол (более 17%).

Фракции I-II – обе эти фракции содержат ациклические насыщенные углеводороды (парафины). Они не активны с фармакологической точки зрения, но существенно влияют на

биодоступность остальных веществ. Среди них в основном фракции от $C_{10}H_{22}$ до $C_{18}H_{38}$.

Фракция II – исходя из молекулярной массы, очень вероятно, что это сесквитерпены. Группа веществ, чрезвычайно интересных с фармакологической точки зрения. Среди сесквитерпенов (вообще) обнаружены соединения, обладающие противоопухолевой активностью. У шалфея можно отметить азулен (5,94%), 1-циклопропилазуленол-4 (6,15%), кариофиллен (4,72%), кариофиллен-оксид (0,54%) и др.

Фракция III – по молекулярной массе, вероятно, это сложные эфиры (эфиры кислот, в т.ч. высокомолекулярных, и спиртов, в т.ч. высокомолекулярных).

Фракции IV, V и VI – во всех фракциях основная доля принадлежит монотерпенам (основному классу соединений в составе эфирного масла). Возможно, что фракция IV принадлежит монотерпеновым спиртам, например борнеолу и эвкалиптолу (или иначе цинеолу), а также ароматическим спиртам, например миртенолу, эвгенолу и др. Здесь также присутствуют компоненты из фракции III, имеющие сопряженные двойные связи (придают слабо-желтое окрашивание).

Фракция V – монотерпеновые кетоны. Это преобладающие вещества, как в составе эфирного масла шалфея, так и в составе CO_2 -экстракта. Здесь оба изомера (альфа- и бета-) туйона и камфора. Туйон обладает противопаразитарной активностью, но также немного токсичен при длительном (более 2-х месяцев) воздействии на ЦНС человека. Камфора обладает выраженным свойством возбуждать дыхательный и другие центры головного мозга человека (аналептик).

Фракция VI – смесь α -туйона (доминирующего изомера) и остальных непредельных монотерпенов – α - и β -пинена, камфенаа, лимоненаа, терпиноленаа и др. Все эти соединения обладают фитонцидными, антимикробными, противовирусными свойствами, придают характерный хвойно-шалфейный

запах, легколетучие, т.е. при открытом хранении экстракта их содержание заметно снижается.

Препаративная сверхкритическая флюидная хроматография (СКФХ)

Применяется для окончательного фракционирования очень схожих по структуре веществ. Масштабные производства с применением препаративной СКФХ существуют пока только в отношении липидов (в частности для разделения полиненасыщенных жирных кислот). Этот метод выглядит весьма перспективным, поскольку дешевизна элюента, возможность его регенерации, легкость управления процессом и ряд других преимуществ способны быстро компенсировать дороговизну оборудования и позволяют применять данный метод в отношении широкого спектра природных веществ.

Кроме фракционирования, хроматографическое разделение веществ сверхкритическими флюидами нашло применение и в анализе. Особенно привлекательным выглядит совмещение нескольких процессов (экстракции, фракционирования и анализа) в одном процессе с применением одного флюида. В СКФЭ фракционирование проводят, как правило, путем изменения температуры и (или) давления. Для выделения компонентов из смеси предложено также использовать адсорбционную колонку, т.е. хроматографический метод. Хотя существующие промышленные системы для СКФЭ сильно отличаются от таковых для СКФХ, они имеют и много общего, а в препаративной области применения этих систем они перекрываются (табл. 14).

Система для СКФЭ в принципе состоит из насоса высокого давления, сосуда для экстракции, регулятора противодавления и сосуда для выделения. По методам выделения экстрагируемых веществ из экстракционной среды существуют три основных типа систем для СКФЭ (рис. 24).

Таблица 14 – Современные области использования сверхкритических флюидов

Метод	Техника разделения	Применение
Экстракция	Изменение давления Изменение температуры Колонка с адсорбентом	Фракционирование
Хроматография	Насадочные колонки Капиллярные колонки	Препаративная СКФХ Аналитическая СКФХ

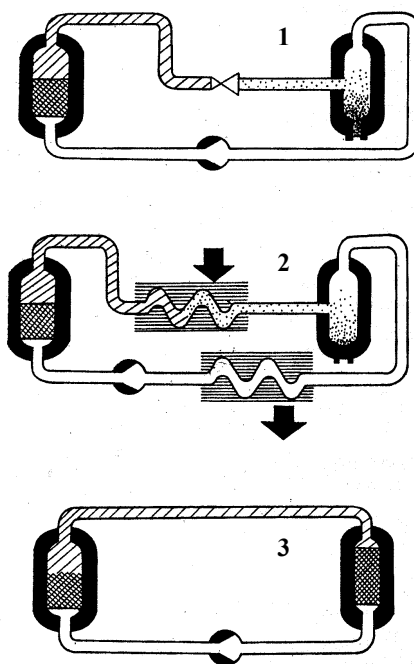


Рисунок 24 – Основные способы выделения экстрагированных веществ при СКФЭ: 1 – Изменение давления; 2 – Изменение температуры; 3 – Адсорбция на колонке. (Слева – стадия экстрагирования, справа – стадия выделения)

В одном случае (1) выделение экстрагируемых веществ из экстракционной среды происходит при снижении давления, в другом (2) – в результате изменения температуры, в третьем случае (3) – разделение основано на адсорбции растворенных веществ. Следует отметить, что растворимость в сверхкритических флюидах зависит не только от температуры, но и от давления. Поэтому понижение температуры не всегда вызывает уменьшение растворимости. На практике разделение экстрагируемых веществ осуществляют путем одновременного изменения температуры и давления и путем адсорбции.

На рис. 25 представлены схемы систем для ВЭЖХ и СКФХ. В общем, эти схемы очень похожи, однако в последней имеется очень важное устройство, которое обуславливает принципиальное ее отличие от системы ВЭЖХ. Этим устройством является регулятор противодавления, который поддерживает давление в системе на уровне выше критического давления флюида на участке от насоса до детектора, включающем дозатор и хроматографическую колонку.

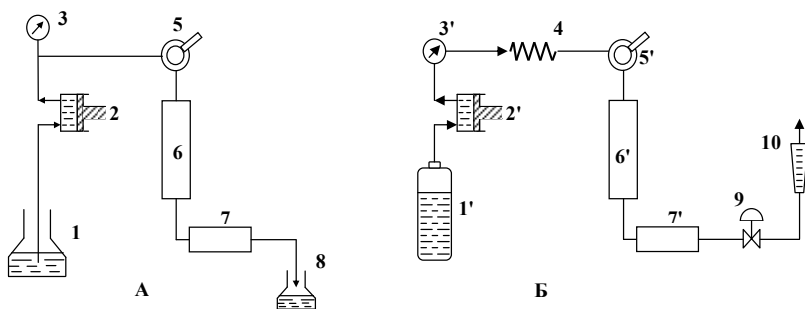


Рисунок 25 – Схема систем для ВЭЖХ (А) и для СКФХ (Б). Условные обозначения: 1 – резервуар для растворителя; 1' – баллон с газом; 2, 2' – насос; 3, 3' – манометр; 4 – теплообменник; 5, 5' – дозатор; 6, 6' – хроматографическая колонка; 7, 7' – детектор; 8 – резервуар для слива; 9 – регулятор противодавления; 10 – измеритель расхода газа

Таким образом, давление в системе падает, главным образом, после регулятора давления, в то время как в системе для ВЭЖХ давление постепенно снижается до атмосферного по мере прохождения по колонке растворителя, являющего подвижной фазой. Кроме регулятора противодавления, в системе СКФХ предусмотрен нагреватель колонки, который поддерживает температуру подвижной фазы на уровне, превышающем критическую температуру флюида.

В работе [48] приводятся данные по выделению суммы токоферолов в составе масла из ростков пшеницы с помощью системы, позволяющей вести после СКФ-экстракции фракционирование методом препаративной СКФ-хроматографии. Хорошо известно, что масло, полученное из ростков пшеницы, содержит токоферолы, которые чрезвычайно высоко ценятся в фармацевтической промышленности. В качестве экстракционной среды для растительных масел может служить сверхкритический диоксид углерода. Для того, чтобы эффективно экстрагировать токоферолы из измельченной массы ростков пшеницы, необходимо оптимизировать условия экстракции, т.е. температуру и давление. Для этого очень полезна система для микро-СКФ-экстракции, снабженная многоволновым УФ детектором, позволяющим работать в реальном времени, а также регулятором противодавления с малым мертвым объемом (10 мкл), позволяющим эффективно вести фракционирование. Авторами была разработана такая система (рис. 26) и изучена экстракция токоферолов из измельченной массы ростков пшеницы.

Диоксид углерода подается насосом (2) и через шестиходовой кран переключения потоков (4) попадает в сосуд для экстракции (1); при другом положении крана сосуд отключен от потока. Сверхкритический диоксид углерода, содержащий растворенные вещества, направляется экстрактора через датчик давления (6) на регулятор противодавления (7).

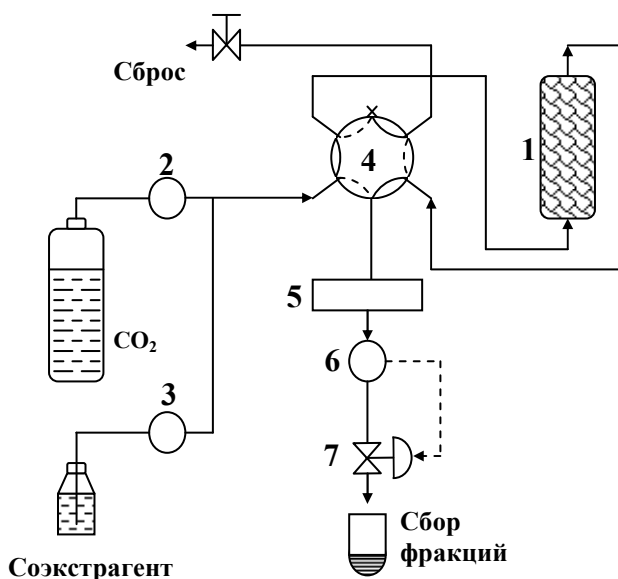


Рисунок 26 – Гидравлическая система микро-СКФЭ, снабженная регулятором противодействия с переключением потока и многоволновым УФ детектором. Условные обозначения:
1 – сосуд для экстракции; 2 – насос для подачи диоксида углерода; 3 – насос для подачи вытесняющего растворителя;
4 – шестиходовой кран переключения потока; 5 – УФ детектор;
6 – датчик давления; 7 – регулятор противодействия

УФ детектор (5), который находится между краном и датчиком давления, позволяет наблюдать за процессом в реальном времени, что необходимо для выявления влияния длительности экстракции на ее эффективность. После прохождения через регулятор давления давление диоксида углерода падает до атмосферного, что снижает растворимость практически до нуля, то есть растворенные во флюиде вещества осаждаются и выводятся из выходного отверстия регулятора противодействия, к которому присоединен стеклянный сборник. Если необходима экстракционная среда боль-

шей растворяющей способности, в систему можно с помощью второго насоса (3) подавать соэкстрагент.

В исследовании процесса экстракции токоферолов в экстракционную камеру помещали 10 г измельченной массы ростков пшеницы. Экстракцию проводили диоксидом углерода при различных давлениях и постоянной температуре 40°C. Динамику экстрагирования отслеживали в режиме реального времени УФ детекцией при длине волны 295 нм, характерной для токоферолов. В результате было установлено, что при давлении 150 кг/см² экстрагируются только липидные компоненты, поглощающие в УФ области только при длинах волн меньших 220 нм, а токоферолов экстрагируется лишь незначительное количество. Далее давление в экстракционной системе было поднято до 200 кг/см². Экстракционный профиль, полученный при экстрагировании в новом режиме, позволял предположить, что началась экстракция токоферолов. При экстрагировании такого же образца при 250 кг/см² токоферолы хорошо экстрагируются, и на соответствующей зависимости поглощения от времени наблюдается сначала быстрый подъем кривой, которая затем образует широкое плато, после чего медленно снижается.

Масла, полученные при давлениях 150, 200 и 250 кг/см², незначительно различаются по цвету, но имеют специфический запах, что обусловлено различным составом липидных компонентов масел, экстрагируемых при различных давлениях. В табл. 15 сравниваются количества α-, β- и δ-токоферолов, выделенные при различных давлениях. Для каждого вещества в первой строке таблицы представлена концентрация токоферола в экстрагированном масле, выраженная в мг/мл, во второй строке показано полное количество токоферола, экстрагированное из 10 г ростков пшеницы. Легко заметить, что выход при экстракции сильно зависит от давления, увеличиваясь с повышением последнего. При давлениях

ниже 150 кг/см² заметной экстракции токоферолов не происходит. Из приведенных данных следует, что оптимальными условиями экстракции токоферолов являются следующие: давление 250 кг/см² и температура 40°C.

Таблица 15 – Зависимость выхода токоферолов от давления при СКФ-экстракции из ростков пшеницы

Соединение	Единица измерения	Давление, кг/см ²		
		150	200	250
α-Токоферол	мг/мл	0,80	3,30	5,30
	мг	0,42	2,31	3,87
β-Токоферол	мг/мл	0,20	0,80	1,10
	мг	0,11	0,56	0,80
δ-Токоферол	мг/мл	—	0,16	0,27
	мг	—	0,11	0,20

В результате выполненной работы авторами было показано, что в системе для микро-СКФЭ, снабженной регулятором противодействия, можно успешно экстрагировать из примерно 10 г ростков пшеницы несколько сот микролитров масла. Это означает, что микро-СКФЭ может использоваться не только как средство оптимизации условий экстракции на промышленных установках, но и как метод проведения экстракции в лабораторных условиях.

Сверхкритическая флюидная реакция (СКФР)

Многообещающие результаты получены для процесса селективной гидрогенизации липидов в среде сверхкритического флюида. Отмечается, что скорость и полнота реакции достигаются с использованием минимального количества реагентов, поскольку процесс протекает в условиях полной гомогенизации исходных и конечных продуктов, участвующих в реакции [81]. Химических реакции в условиях высокого давления сильно зависят от вещества, образующего флюидную фазу, и от присутствия воды; они могут протекать с большей или меньшей выраженностью и должны учитывать-

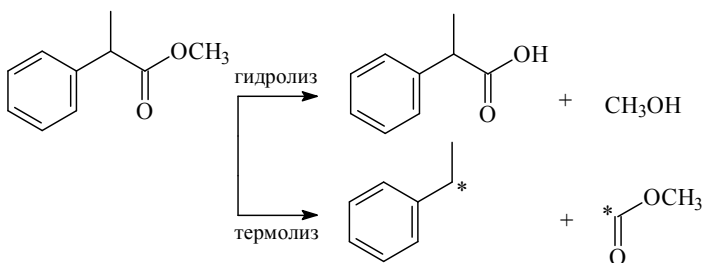
ся в оценке продуктов СКФЭ и СКФФ. СКФР с участием молекул воды может носить как целевой характер (например, при гидролизе), так и побочный, а использование сильных окислителей (в частности, озона O_3) в среде СК- H_2O рассматривается как технология будущего для утилизации промышленных отходов, обеззараживания канализационных стоков, устранения загрязнений окружающей среды и т.д.

В работе [74] изучаются некоторые механизмы реакций, протекающих в воде в сверхкритическом состоянии, в основе которых лежат эффекты взаимодействия растворенного вещества и растворителя, полярные эффекты с участием исходных, промежуточных и конечных форм, влияние давления на скорость реакции и др. Отмечается, что растворимость вещества в сверхкритическом флюиде определяет как статические, так и динамические свойства растворенной молекулы.

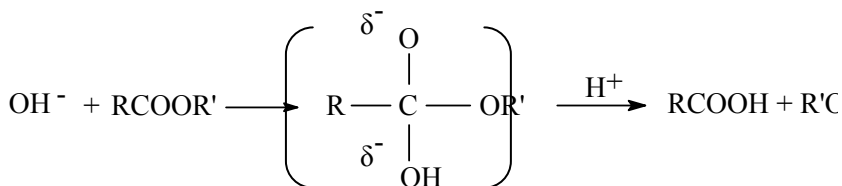
Различие между СКФ- CO_2 и СКФ- H_2O , как растворителями, в том, что в последнем случае близ критической точки наблюдается образование кластерных групп, определяющих скорость и характер взаимодействия между веществом и флюидом. Кластерные эффекты реакций в сверхкритических флюидах возникают при столкновениях между молекулами растворителя и растворенного вещества в соответствии с диэлектрической постоянной реакционной среды. Следствием кластерных образований являются, локальные скачки давления, которые увеличивают как число столкновений, так и локальную диэлектрическую постоянную, которые в свою очередь, ускоряют или замедляют реакцию в зависимости от ее характера. Когда молекулы флюида участвуют в реакции, образование кластеров обычно облегчает реакцию, как это происходит в случае гидролиза сложных эфиров в СКФ-воде.

Для оценки влияния на реакцию диэлектрической постоянной растворителя, автором были рассмотрены примеры

гидролиза сложного эфира – метилового эфира 2-фенилпропионовой кислоты (или метилфенилпропионата (МФП)), и хлорпроизводного углеводорода – дихлорметана. В первом случае реакция протекала при температуре 390°C в сверхкритической воде при различных давлениях. При этой температуре от 10 до 90% МФП превращалось в 2-фенилпропионовую кислоту и другие продукты, которые образовывались в зависимости от давления. Как считает Kajimoto [74], реакция распада МФП в среде сверхкритической воды может быть описана двумя основными путями – гидролизом и термолизом:

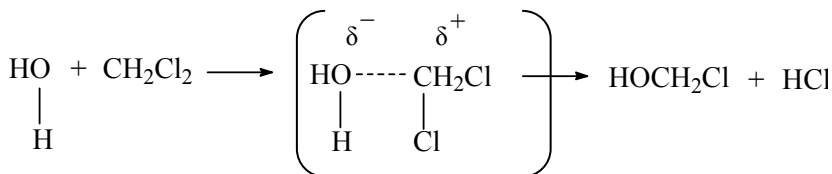


По так называемому эффекту полярности (оценивающему полярность исходных, промежуточных и конечных веществ – участников реакции), гидролиз сложных эфиров, таких как МФП, Kajimoto относит к первой категории, в которой исходные и конечные соединения более полярны, чем интермедиат, в образовании которого участвует гидроксид-анион:



Начальным моментом реакции является атака углерода карбонильной группы отрицательным ионом OH^- , а в интермедиате отрицательный заряд распространяется на всю еще целую молекулу. Пока полярная среда в большей степени стабилизирует структуру, сконцентрировавшую заряд, стабильность исходного состояния будет больше, чем промежуточного состояния, дальнейшая трансформация которого требует большую энергию активации в полярной среде. Для реакций данной категории, протекающих в сверхкритической флюидной воде, увеличение давления, которое увеличивает величину диэлектрической постоянной, приводит к сдвигу равновесия влево, то есть к уменьшению скорости реакции.

Типичный пример для реакций второй категории – гидролиз дихлорметана CH_2Cl_2 . Считается, что эта реакция катализируется H_2O , но не OH^- , следовательно переходное состояние более полярное, чем исходные участники реакции:

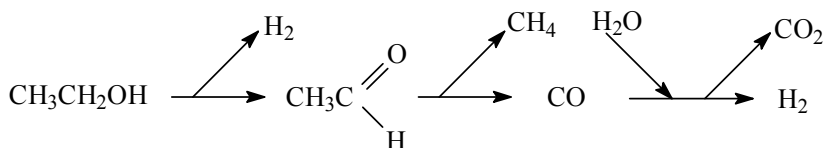


В таком случае в полярной среде уменьшается энергия активации со сдвигом равновесия вправо, то есть возрастание давления способствует ускорению реакции. На практике и в эксперименте для этой реакции характерно значимое уменьшение показателей диэлектрической постоянной выше критической температуры и значимо быстрое уменьшение давления воды в изобарических условиях.

Химические реакции в сверхкритической флюидной воде

В исследованиях химических реакций, протекающих в сверхкритической флюидной воде было обнаружено, что при разложении этанола происходит образование молекул водо-

рода. Хотя была изучена только первая стадия (из-за проблемы безопасности реактора высокого давления), было обнаружено, что этанол эффективно продуцировал H_2 в СКФ-воде (без кислорода и какого-либо катализатора). В эксперименте реакция протекала в очень чистой в запечатанной кварцевой трубке с образованием водорода, ацетальдегида, метана, CO и CO_2 , а при наибольшей температуре с небольшими количествами этана и этилена. Исходя из стехиометрии продуктов реакции, был предложен следующий механизм реакции:



где $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ сначала распадается на молекулы водорода и ацетальдегида. Ацетальдегид далее распадается на CH_4 и CO , в финале реакция газового сдвига образует H_2 из CO и H_2O . Внедрение реакции в промышленных масштабах может быть использовано для получения H_2 , при условии, что насыщенные углеводороды или спирты можно было бы нагревать в субкритической воде до 300°C с металлическими катализаторами, такими как Cu или Ni . При получении водорода может быть использовано частичное окисление, так как без катализатора или источника радикалов, например кислорода, довольно трудно разрушить этанол до метана и водорода даже при температуре 500°C , так как для этого требуется большая энергия активации.

Проектирование (дизайн) частиц

Процессы формирования твердых частиц с заданными характеристиками с использованием сверхкритических

флюидов являются сейчас предметом возрастающего интереса, особенно в фармацевтической отрасли. Дизайн частиц биологически активных веществ находит применение при достижении следующих целей: увеличение биологической доступности малорастворимых молекул; создание терапевтических систем (формул) пролонгированного высвобождения действующих веществ; развитие альтернативных парентеральному путей введения лекарств (оральный, пульмонологический, трансдермальный).

Значительные трудности связаны с лекарственными субстанциями белковой природы, так как они очень неустойчивы и легко распадаются, имеют низкую степень проникновения. Воздействие сверхкритического флюида на морфологию твердого тела может привести к следующим изменениям: средний размер частиц, их форма и порозность, специфические пространственные особенности и растворимость могут значительно отличаться от исходных показателей. Несмотря на такие изменения, они не касаются кристаллической решетки, о чем свидетельствуют опубликованные данные рентгено-структурного анализа [77,81].

В настоящее время отработано несколько технологических подходов к формированию частиц с применением сверхкритических флюидов.

Быстрое расширение сверхкритических растворов (Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS)). Заключается в распылении раствора препарата в сверхкритическом флюиде в камеру низкого давления. Этот процесс может найти ценное приложение в коммерческих масштабах только тогда, когда растворимость продукта в сверхкритическом флюиде (предпочтительно CO_2) не является слишком малой (>1 г на кг раствора), процесс ограничен тем, что приложим только к неполярным и малополярным соединениям. На рис. 27 представлен пример RESS-распыления ловастатина,

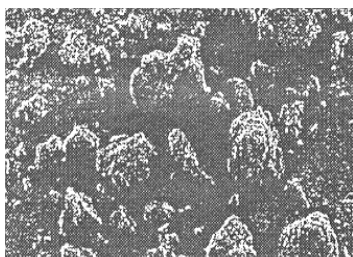
антихолестеринового препарата, который слабо растворим в CO_2 . Морфология частиц определяется геометрией распыляющего сопла – от длинных стержней, генерируемых капиллярным соплом, до сферических частиц, генерируемых очень мелкими отверстиями, просверленными лазером.



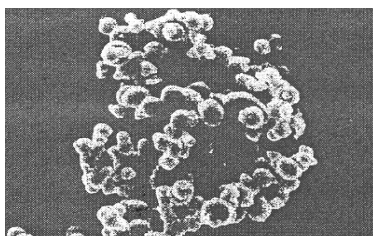
Рисунок 27 – Микронизация ловастатина распылением сверхкритического раствора (RESS-микронизация)

Сверхкритический антисольвент (Supercritical Anti-Solvent (SAS)) применяется для большинства молекул, хорошо растворимых в органических растворителях. Сверхкритический флюид используется как антисольвент, который вызывает осаждение вещества, растворенного в жидкости. В большинстве случаев реализуется концепция «экстракции» растворителя из аэрозоля (Aerosol Solvent Extraction System (ASES)) [71,81], по которой раствор распыляется через отверстие в виде тонких капель в диоксид углерода в сверхкритическом флюидном состоянии. Растворение сверхкритического флюида в каплях сопровождается одновременным расширением и, следовательно, уменьшением силы межмолекулярного взаимодействия растворителя и растворенного в нем вещества. В результате образуются одинаковые по форме частицы, размер которых зависит от размера капель подаваемого в камеру аэрозоля. Для соблюдения формы и размера частиц предлагается использование специальных отвер-

ствий. Совсем недавно была разработана система, предназначенная специально для получения очень тонких мелкодисперсных препаратов, пригодных для доставки через легкие. Она открывает блестящее будущее проектированию и созданию новых типов материалов, ведущее к наночастицам (50-500 нм) или микрочастицам (500-5000 нм) или пустым «баллонам» (5-50 мкм), сделанным из наночастиц, и обеспечивающее значительное увеличение биодоступности малорастворимых в воде лекарств или микросфер, содержащих лекарства, пригодных для устойчивого и постепенного высвобождения действующих веществ. На рис. 28 показаны два фотоизображения частиц малорастворимого в воде антихолестерольного препарата ловастатина с параметрами размера частиц до и после ASES-микронизирования.



Исходный материал
(размер частиц от 42 до 150 нм)



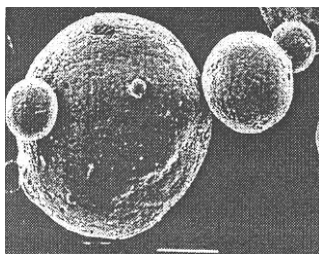
Микронизированный материал
(размер частиц от 1,1 до 2,8 нм)

Рисунок 28 – Микронизация ловастатина «экстракцией» растворителя сверхкритическим флюидом (ASES-микронизация)

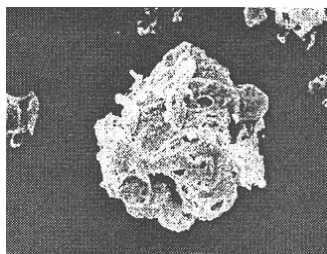
Микроинкапсулирование (Micro-encapsulation). Может быть выполнено несколькими способами с использованием СКФ в соответствии с предшествующей концепцией (RESS, SAS), или некоторыми другими прогрессивными вариантами создания липосом или транспортных депо путем варьирования условий давление/температура. Но наиболее привлека-

тельным выглядит процесс получения капсул из т.н. газонасыщенных растворов (Particles from Gas-Saturated Solutions (PGSS)) [81], где сверхкритический диоксид углерода используется как уменьшающий вязкость агент, что имеет сходство с некоторыми технологиями, связанными с распылением (нанесение красок и адгезивов, продукция с сухим покрытием красок и др.).

Типичная PGSS-технология позволяет формировать микрокапсулы из субстанций, которые способны поглощать высокие концентрации флюида и, следовательно, «плаваются» и разбухают при температуре значительно ниже своей температуры плавления (от +10 до +50°C). Сложные микрокапсулы могут также быть получены распылением мелкодисперсной суспензии, состоящей из лекарства, распределенного в носителе (эксципиенте), растворенном в свою очередь в сжатом газе вблизи его критического давления. Распыление, которое приводит к мгновенному снижению давления, порождает микрокапсулы вследствие «захвата» затвердевающим эксципиентом частиц лекарства (рис. 29). Размер микрокапсул зависит от размера частиц суспендированного препарата. Этот процесс является многообещающим для инкапсулирования белков (протеинов), поскольку может быть осуществлен в «мягких» условиях, не ведущих к денатурации и потере активности, однако это следует подтвердить на лекарственных препаратах белковой природы или других «хрупких» биомолекулах. Простота, возможность удешевления данного процесса и очень широкий диапазон возможных носителей (полимеры, липиды) открывают широкие перспективы к применению данного метода.



Лекарство, инкапсулированное
в полиэтиленгликоле



Лактаза, инкапсулированная в
липиде

**Рисунок 29 – Сложные микрокапсулы, полученные распылением
суспензии, состоящей из препарата, эксципиента и флюида**

Импрегнирование (Impregnation). Насыщение эксципиентов активными соединениями легко достигается, если использовать сверхкритические флюиды в качестве растворителя, способствующему доставке импрегнруемых веществ (т.н. «вектора»), вследствие их высокой проникающей способности и легкой регулируемости их растворяющей способности. СКФ способны проникнуть как сквозь пористую матрицу, так и внутрь непористых полимерных матриц, «разбухаемых» флюидом, таких как фармацевтические накладки, губки и катетеры. Существует также возможность так называемого он-лайн-импрегнирования, то есть сразу после экстракции. На примере природных веществ, импрегнированных внутри порозного носителя, была показана возможность получения свободно «текущего» порошка [81].

Сверхкритическая флюидная стерилизация

Стерилизация сверхкритическим флюидным CO_2 явилась предметом исследований, представленных в работе [65]. В ней авторы, помимо трех методов, широко применяемых для стерилизации изделий медицинского назначения, а именно стерилизации этиленом, паровой стерилизацией и гамма-

облучением, предлагают применять сверхкритический флюидный диоксид углерода с целью полной инактивации микроорганизмов с обсемененных изделий, изготовленных из лабильных полимеров. В работе изучалось использование сверхкритического флюидного метода для инактивации ряда грамотрицательных и грамположительных бактерий в присутствии модельных полимеров – поли-(лактозо-гликолевой) кислоты (PLGA) и поли-(молочной) кислоты (PLA). 1-мм-вые микросферы PLGA и PLA были приготовлены из ацетонного раствора с применением сверхкритического флюидного CO₂ как антисольвента, 7- и 20-мм-вые твердые микросферы и 10-мм-вые пористые микросферы PLGA были приготовлены методом испарения растворителя из однофазной эмульсии. В качестве модельных культур использовались штаммы *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria innocua*, *Salmonella salford*, *Proteus vulgaris*, *Legionella dunnifii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*. Первые три в этом списке грамположительные, последние пять – грамотрицательные. Эти виды были выбраны с учетом их распространения в медицинской контаминации и/или их резистентности к инаktivации.

Процедура СКФ-стерилизации

Стерилизационный аппарат, использованный в этих экспериментах (рис. 30), изготовлен на заказ из нержавеющей стали и разработан так, чтобы непрерывные циклы прессинга/депрессинга (подача/сброс давления) могли проводиться без потери флюида и без контаминации системы подачи давления обратной диффузией. Для каждого эксперимента устройство заполнялось свежевыращенными бактериями. Полимерные микросферы в основных (релевантных) экспериментах инкубировались с бактериями за сутки до стерилизации, чтобы гарантировать высокую степень их заражения.

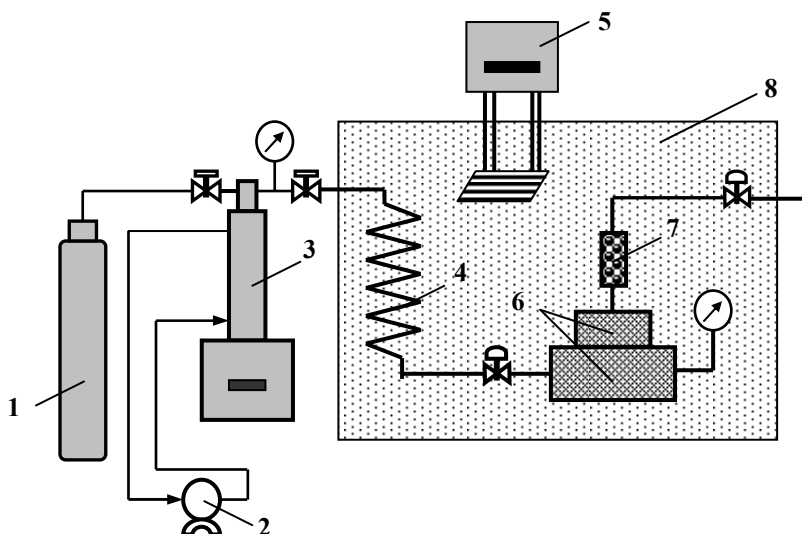


Рисунок 30 – Аппаратурная схема СКФ-стерилизатора. Условные обозначения: 1 – Баллон с CO_2 ; 2 – Поршневой насос; 3 – Система нагрева/охлаждения головной части насоса; 4 – Теплообменник предварительного нагрева флюида; 5 – Нагреватель; 6 – Рабочая камера (реактор); 7 – Фильтр; 8 – Водяная баня

Они помещались в стерилизатор непосредственно перед проведением экспериментов, предназначенных для оценки влияния условий стерилизации на физико-химические свойства полимера. Реактор запечатывался и погружался в ванну с постоянной температурой. Сжатый диоксид углерода пропусклся сквозь термоэлемент (нагревательную катушку) для достижения необходимого давления и температуры. Стерилизатор подвергался частичному депрессингу/репрессингу (приблизительно 5 циклов в час), чтобы обеспечить транспорт массы. В течение эксперимента реактор подвергался механической тряске, а для усиления колебаний были добавлены 2-мм-вые стеклянные шарики. Перед выпускающим

клапаном размещался 0,5-мм-вый фильтр (нержавеющая сталь), чтобы гарантировать, что ни один образец не будет утерян в течение циклов давления. После каждого эксперимента образец удалялся непосредственно из нижнего цилиндра, ослаблением крана высокого давления и сливом содержимого реактора. Эффективность стерилизации оценивалась определением числа живых клеток (N) после обработки по отношению к добавленному в устройство исходному числу (N_0). Количество живых клеток определялось до и после эксперимента подсчетом числа колоний на поверхности агара. Для каждой точки усреднялись данных трех измерений. Сверхкритический флюидный CO_2 , в сочетании с подходящим устройством реактора, обеспечивает эффективную стерилизацию термически и гидролитически лабильных биомедицинских материалов. Во всех экспериментах реактор загружался микроорганизмами в концентрации 10^7 - 10^9 КОЕ/мл (за исключением легионеллы, концентрацию которой трудно было поднять выше 10^4 КОЕ/мл).

Полная стерилизация всех микроорганизмов происходила за 0,6-4,0 часа при давлении 205 бар и при температуре от 25 до 40°C, за исключением *B. cereus*, для стерилизации которого потребовалось 60°C. Стерилизация происходила при отсутствии органических растворителей, химических веществ и облучения. Хотя некоторые организмы потребовали до 4,0 ч до полной стерилизации, условия, способные увеличить проникновение флюида, должны позволить значительно уменьшить время обработки. Для проверки этого были определены оптимальные условия для инактивации одного из микроорганизмов – *E. coli*. Кинетика инактивации *E. coli* представлена на рис. 32.

Во всех экспериментах начальная концентрация клеток *E. coli* была между 10^8 и 10^9 КОЕ/мл, а конечная точка для каждого эксперимента – образец, в котором не формируются

колонии в течение 48 ч инкубации. Даже в субкритических условиях ($T=25^{\circ}\text{C}$) время, необходимое для полной инактивации *E. coli* было только 45 мин., а при 42°C полная инаktivация происходит менее, чем за 20 мин. Время, необходимое для полной СКФ-стерилизации, значительно меньше, чем для методов обработки этилена оксидом или облучением (от нескольких часов до суток) и совпадает с автоклавированием паром (при 120°C и выше). Далее исследователи выполнили два эксперимента для того, чтобы в условиях эффективной стерилизации изучить физико-химические свойства CO_2 и установить близость флюида к критической точке. Сначала для проверки стерилизующего эффекта околокритических свойств флюида на *E. coli*, эксперименты были проведены в аналогичных условиях с использованием азота вместо CO_2 . В условиях эксперимента азот находился в значительном удалении от своей критической точки (критические свойства азота – $t_c=147^{\circ}\text{C}$ и $P_c=33,9$ бар.) и, следовательно, не имел подобную газам проникающую способность и подобную жидкостям плотность, которые определяют экстракционные свойства флюидов. Во всех экспериментах с азотом никакого стерилизующего эффекта не наблюдалось, то есть, концентрация КОЕ в образцах как до, так и после стерилизации, в которой использовался азот, была больше 10^8 .

Для того, чтобы изучить влияние на стерилизующие свойства химической природы и размера молекул флюида, была предпринята попытка стерилизации сверхкритическим тетрафторэтаном (ТФЭ), который имеет схожие с CO_2 критические точки ($t_c=55^{\circ}\text{C}$, $P_c=40,6$ бар), но другие параметры (размер молекул, химические свойства) существенно различаются. При температуре и давлении, соответствующим минимальным параметрам в успешных экспериментах с CO_2 ($t=38^{\circ}\text{C}$, $P=110$ бар), тетрафторэтан не показал уменьшение числа жизнеспособных клеток кишечной палочки даже через

45 мин. воздействия (приблизительно $4,3 \times 10^8$ КОЕ/мл до и после стерилизации). Полная инактивация (отсутствие колоний-образующих клеток через 48 часов инкубации) была достигнута, когда в этих условиях использовался сверхкритичекий CO_2 .

Для успешной инактивации микроорганизмов одинаково важны как широкие масс-транспортные возможности сверхкритических флюидов, так и специфические физико-химические свойства CO_2 . Чтобы протестировать стерилизующие свойства флюида в присутствии биоматериалов к системе были добавлены образцы PLGA или PLA. Это биоразрушаемые полимеры, которые широко используются в лекарствах, включающих транспорт веществ – носителей фармакологической активности. PLGA – наиболее широко используемый биоразрушаемый полимер, применяется в составе повязок, аппликаций, в хирургических швах, в составе трансдермальных систем, применяемых для доставки антагонистов наркотиков, местных анестетиков, стероидных гормонов и др. Для изучения процесса стерилизации в присутствии полимерных частиц различного размера и морфологии были проведены эксперименты с 1-, 7- и 20-миллиметровыми твердыми микросферами и 10-мм-выми пористыми микросферами PLGA и PLA, контаминированных *E. coli* (10^9 КОЕ/мл). В результате было установлено, что присутствие полимера не затронуло кинетики инактивации. Стерилизация полимера была достигнута в течение 30 мин. при давлении 205 бар и температуре 34°C и в течение 45 мин. при 205 бар и 25°C. На рис. 31(а) показаны 1-мм-вые сферические PLGA до и после процесса стерилизации, видно, что после воздействия сверхкритического флюида в них не наблюдаются морфологические изменения. Это согласуется с данными других исследований, в которых очистка сверхкритическим CO_2 протезов длиной 7 мм, изготовленных из полиэфира, за-

вершилась минимальными изменениями в физических свойствах материала (2%-ная усадка в продольном направлении) [75].

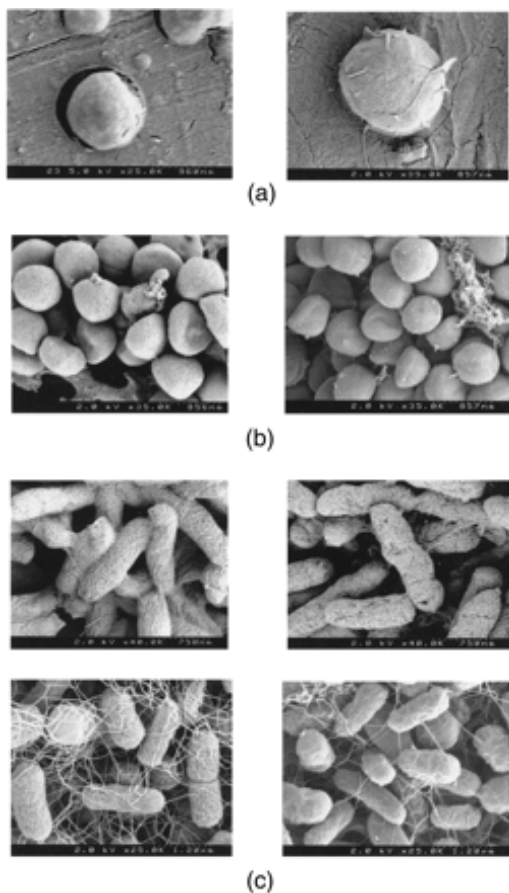


Рисунок 31 – Морфология стерилизуемых объектов и микроорганизмов до и после СКФ-стерилизации:

(а) PLGA-микросферы до (слева) и после (справа) стерилизации при 25°C и 205 бар в течение 1 ч; (b сверху) – *S. aureus* до (слева) и после (справа) СКФ-стерилизации; (b снизу) – *P. aeruginosa* до (слева) и после (справа) СКФ-стерилизации; (c) – *E. coli* до (слева) и после (справа) СКФ-стерилизации

Были даже изучены возможные химические изменения в составе использованных полимеров. Ни ИК-Фурье-спектроскопия, ни газовая хроматография, ни дифференциальная сканирующая калориметрия не выявили никаких изменений в составе испытуемых образцов по сравнению с интактными. В добавок был проведен анализ процесса разложения PLGA, чтобы убедиться, что сверхкритический флюид не вызывает необычного поведения при разложении обработанных полимеров. Результаты показывают устойчивое снижение общей массы и молекулярного веса при разложении и иллюстрируют, что обработанные сверхкритическим флюидом полимеры разрушаются таким же путем, что и PLGA-микросферы, обработанные иными, нежели СКФ, методами. К тому же, СКФ-обработка не изменяет исходную массу или молекулярный вес изученных полимеров.

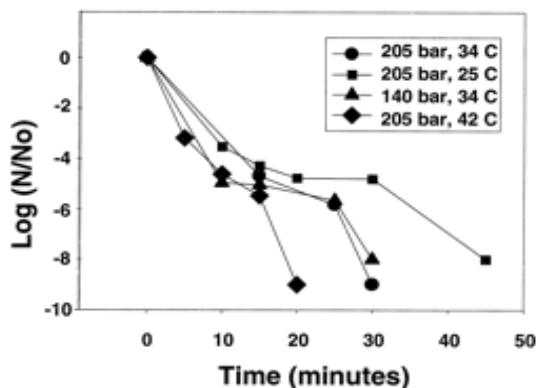
Описанные эксперименты иллюстрируют, что процесс СКФ-стерилизации успешен в отношении широкого ряда микроорганизмов в присутствии биоматериалов и что этот процесс не приводит к физическому или химическому ущербу для материалов. Тем не менее, чтобы оптимизировать эту процедуру для возможного крупномасштабного использования, мы должны сначала понять фундаментальные механизмы СКФ CO_2 -инактивации.

На рис. 31(b) изображены снятые электронным микроскопом фотографии клеток *S. aureus* и *P. aeruginosa* (грамположительного и грамотрицательного, соответственно), которые иллюстрируют, что клеточные стенки остаются, в основном, неизменными до и после процесса стерилизации.

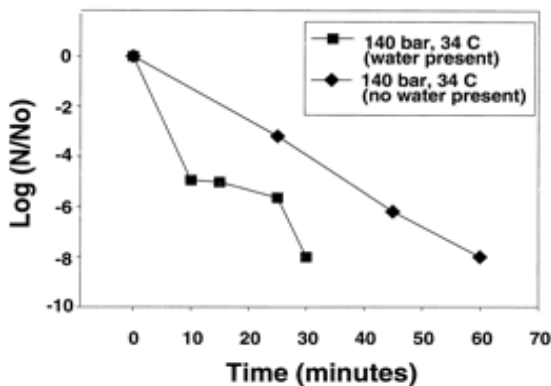
Эти фотографии репрезентативны для всех протестированных микроорганизмов. Несмотря на то, что после стерилизации в клетках грамотрицательных микроорганизмов обнаружено больше дефектов в клеточной стенке (включая разрыв некоторых клеток), пока все же нет подтверждения,

что повреждение клеточной стенки грамотрицательной бактерии (*E. coli*) происходит именно в процессе СКФ-стерилизации (рис. 31(с)). Предполагается, что грамотрицательные бактерии разрушаются легче, чем грамположительные, поскольку их клеточная стенка значительно тоньше. Поскольку большинство клеток сохранили целостность клеточных стенок, можно считать, что механизмом стерилизации не является ни разрыв из-за повышенного внутреннего давления в клетке ни извлечение липидов из клеточной стенки. Предполагается, что механизм стерилизации включает способность СКФ-СО₂ легко диффундировать внутрь клетки и изменять внутриклеточную pH. Этот механизм был предложен другими исследователями, которые добивались частичной инактивации микроорганизмов использованием сжиженного диоксида углерода.

Диоксид углерода в присутствии воды образует карбоновую кислоту, которая снижает pH в клетке. Предполагаемый механизм согласуется с экспериментальными данными, по которым наблюдается минимальная деструкция клеточных стенок, а также соответствует результатам экспериментов, показывающим, что небольшие количества воды существенно повышают стерилизующий эффект СКФ-СО₂. Вода также может увеличивать проницаемость клеточной стенки так, что диоксид углерода легче проникает через липопротеиновые барьеры (механизм увеличения эффективности кинетики). Чтобы оценить роль воды, образцы культуры *E. coli* были высушены и подвергнуты стерилизации СКФ-СО₂ (исходная концентрация микроорганизма – $6,45 \times 10^8$ КОЕ/мл) при 34°C и 140 бар в течение 2,5 часов; ко второму образцу (подготовленному идентично первому) был добавлен 1 мл воды. Для всех образцов была достигнута стопроцентная стерилизация, однако кинетика стерилизации образцов без воды подверглась сильному искажению (рис. 32).



(a)



(b)

Рисунок 32 – (а) Кинетика стерилизации *E. coli* в сверхкритическом CO_2 в присутствии воды. (b) Сравнение кинетик стерилизации *E. coli* в присутствии и отсутствии воды при 34°C и 140 бар (сплошные линии указывают только направление)

Из проведенных экспериментов стало ясно, что время и условия, необходимые для полной стерилизации с помощью сверхкритического флюидного CO_2 , зависят, по крайней мере, от трех факторов:

1. Природы клеточной стенки микроорганизмов, включая как химические особенности, так и форму клетки (например, объемно-поверхностный коэффициент);

2. Полноты (эффективности) контакта между жидкой фазой (суб- и сверхкритическим CO_2) и твердой «клеточной» фазой;

3. Влияние воды.

С развитием, эта техника может стать полезным методом для стерилизации многих типов материалов и фармацевтических разработок благодаря сравнительно мягкому действию, безреактивным и бескислородным условиям и способности СКФ- CO_2 инактивировать широкий спектр микроорганизмов.

Использование СКФ-технологий в фармацевтической промышленности является относительно новым направлением, но одним из наиболее интересных там, где особо востребованы экологически чистые процессы. В технологии фито-препаратов, на сегодняшний день, сверхкритические флюидные экстракты находят применение в основном как биологически активные субстанции природного происхождения.

Раздел 3. Характеристика биологически активных веществ, полученных сжиженногазовыми экстрагентами

Как уже было отмечено выше, большинство исследований процессов экстракции сжиженными газами посвящено обработке эфирномасличного и пряно-ароматического сырья. Сверхкритические флюидные, фреоновые и CO_2 -экстракты из эфирномасличного сырья отличаются по составу и свойствам от эфирных масел, полученных традиционным путем. При экстракции сжиженными газами извлекаются не только летучие компоненты, способные перегоняться с водяным паром, но и ценные нелетучие БАВ, которые обычно остаются не извлеченными традиционными методами в отходах эфирно-масличного производства. Сжиженные газы хорошо извлекают терпеноиды, жирные масла, свободные жирные кислоты, жирорастворимые витамины и провитамины (каротиноиды, токоферолы, группу витамина F), растительные смолы, воски, парафины, фитогормоны, валтраты, горькие вещества, некоторые алкалоиды, хуже извлекаются гликозиды, флавоноиды, производные антрацена, фенолоспирты, фенолокислоты и другие водорастворимые вещества [8,9,10,17,20,25,26,29,33,59].

Не меньше отличий у сжиженногазовых извлечений по сравнению с традиционными растительными экстрактами. Большинство извлечений, полученных с помощью сжиженных газов, отличаются от экстрактов, приготовленных классическими методами, повышенным содержанием жирорастворимых веществ, что отражается на их физических показателях. Так, растворимость CO_2 -экстрактов хмеля, зверобоя, ромашки падает с уменьшением содержания спирта, экстрактов календулы, тысячелистника – возрастает, а экстракт ва-

лерианы значительно отличается от обычного экстракта. Это маслянистая подвижная жидкость, тёмно-зелёного цвета,пряно-жгучего вкуса. СО₂-экстракт валерианы не растворим в воде, хорошо растворим в спирте и эфире [49,50].

Процесс извлечения различных веществ из лекарственного сырья с использованием сжиженных газов ведётся на относительно низком температурном уровне. Это исключает окислительные процессы во время извлечения биологически активных веществ. Поэтому полученный экстракт может быть использован как исходное сырьё для конструирования новых оригинальных лекарственных препаратов, содержащих определённую группу действующих веществ переработанного растения и как составная часть уже известных лекарственных композиций. Тем не менее, полученные экстракты за редким исключением все же не могут заменить уже существующие экстракты (густые или жидкие), широко используемые в практике химико-фармацевтического и аптечного производства для изготовления стандартных лекарственных форм. В извлечениях, полученных сжиженным газом, отсутствуют отдельные экстрактивные вещества и компоненты, придающие определённые вкусовые, органолептические, фармакологические свойства – качества, отличающие один лекарственный препарат от другого. Будучи разведёнными спиртом или водно-спиртовыми растворами, такие экстракты нередко приобретают специфический запах и вкус. Это объясняется тем, что каждый из сжиженных газов в отдельности обладает характерной особенностью. Один экстрагент, например, пропан, извлекает одну группу веществ, другой (например, жидкая двуокись углерода) может проявлять в отношении этой группы отсутствие селективности.

Характеризуя экстракты, полученные с помощью СО₂, можно отметить следующее: они, как правило, имеют окраску тёмных тонов с тенденцией к коричневому, меньший по-

казатель преломления, довольно высокое значение кислотных чисел. В жиросодержащих фракциях экстрактов, полученных CO₂-экстракцией, преобладают сложные эфиры и эфиры неглицеридного характера, поэтому для них отмечаются высокие значения эфирных чисел [33].

***Исследования состава и свойств экстрактов, масел и
липофильных комплексов, полученных
сжиженными газами***

В литературе имеется немало работ, посвященных исследованиям, связанным с анализом химического состава, физико-химических, технологических, биологических и фармакологических свойств экстрактов, полученных с использованием различных сжиженногазовых экстрагентов. Однако лишь сравнительно небольшая часть публикаций посвящена лекарственным растениям и отражает направление по более широкому внедрению сверхкритических флюидных технологий и сжиженногазовых экстрагентов в фармацевтическую практику. Из растительных объектов наибольший интерес исследователей вызывают те, которые уже сейчас широко применяются как источники суммарных липофильных комплексов. Это, прежде всего, эфирномасличные культуры (шалфей, полынь эстрагон, укроп, кориандр, пихта, розмарин и др.), некоторые пряные культуры («гвоздика», лавр, базилик и др.), масличные объекты (семена винограда, плоды облепихи) [1,8,26,27,33,40,42-44,52].

Исследование CO₂-экстракта пихты сибирской

Углекислотный экстракт пихты сибирской был объектом диссертационных исследований С.А. Чемезова (г. Екатеринбург, 2001 г.) [55]. Экспериментальные данные, полученные на кафедре фармакологии Уральской государственной медицинской академии, показали, что CO₂-экстракт пихты

(СО₂-ЭП) является высокоактивным в фармакологическом отношении, обладает антимикробным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и эпителизирующим действием, поэтому целью работы явилось оценить в условиях эксперимента на животных фармакологическую активность углекислотного ЭП и обосновать целесообразность внедрения его в лечебную практику. Испытания на токсичность показали, что СО₂-ЭП можно отнести к IV классу (практически нетоксичный), а его 50% масляный раствор – к V классу (относительно безвредный).

СО₂-ЭП, использованный в исследованиях, был получен на опытно-промышленной установке «Каскад-3М» в НПФ «Абицея» (г. Екатеринбург). Сырье (пихтовую лапку) заготавливали на лесосеках при валке деревьев преимущественно в зимний период с учетом периода наибольшего содержания БАВ, в частности, борнеола. Заготовленную лапку сушили несколько суток в специально подобранном режиме – потоком теплого воздуха, после чего она измельчалась на дробилке. Экстракция осуществлялась сжиженным СО₂ при давлении 60 атм. при комнатной температуре. С целью интенсификации массообмена через каждые 5 часов мацерации осуществлялась т.н. «взрывная декомпрессия клеток» (краткосрочный сброс давления практически до атмосферного).

Анализ показал, что СО₂-ЭП представляет собой сложный комплекс БАВ. Основная доля в нем принадлежит эфирному маслу (до 48%), в составе которого обнаружены α- и β-пинен, L-камфора, β-фелландрен, изоборнеол, борнилацетат и др.; токоферолы (до 1,6%); фитостерины (до 0,2%); каротиноиды (до 70 мг%); аскорбиновая кислота (до 20 мг%); воски (до 0,8%); мальтол (5-6%); углеводороды (до 4,5%), азотсодержащие вещества (1,0-1,4%). Основу СО₂-ЭП составляют нейтральные соединения в количестве до 83,6%, среди которых на долю спиртов приходится 30-59%. Кислот-

ная часть экстракта представлена карбоновыми кислотами (до 80%), ненасыщенными и насыщенными жирными кислотами, фенольными соединениями.

СО₂-экстракт пихты представляет собой жидкость от зеленого с желтым оттенком до оранжево-красного цвета, с характерным для хвои запахом. Препарат очень легко растворим в ацетоне, хлороформе, диэтиловом эфире, растительном масле (1:1), легко растворим в гексане (1:5). Плотность – от 0,920 до 0,990; показатель преломления 1% раствора препарата в хлороформе от 1,470 до 1,510. Автором впервые установлена зависимость цвета СО₂-ЭП от содержания каротиноидов (табл. 16).

Таблица 16 – Зависимость цвета СО₂-экстракта от уровня содержания каротиноидов

Цвет	Содержание каротиноидов, мг%
зеленый с желтым оттенком	9,28-10,20
желтый	17,62
оранжевый с желтым оттенком	27,65
оранжевый с красным оттенком	48,73

С учетом химического состава предложены показатели подлинности и нормированы количественные показатели СО₂-ЭП. Подлинность экстракта предлагается оценивать газохроматографическим методом по наличию пиков камфоры, борнилацетата и изоборнеола. Автором разработана методика количественного анализа методов ГЖХ, подобраны условия регистрации отдельных компонентов экстракта пихты. В табл. 17 представлены результаты анализа пяти образцов экстракта пихты по предложенной методике.

Таблица 17 – Количественное содержание основных компонентов CO₂-экстракта пихты

№ образца	Содержание, %		
	камфора	борнилацетат	изоборнеол
1	2,18	43,79	5,52
2	0,31	37,20	26,77
3	0,44	47,75	0,56
4	0,43	13,36	2,52
5	0,37	33,60	12,55

Токсикологическая характеристика CO₂-экстракта пихты. Острая токсичность

Острая токсичность изучена на белых беспородных мышах (массой 18-20 г) и белых крысах (массой 180-200 г) обоего пола. Каждая группа состояла из шести животных, которым ЭП в нативном виде вводился в желудок через зонд и внутрибрюшинно. Мышам в желудок вводился экстракт в дозах 5; 10; 15 и 20 мл/кг; внутрибрюшинно – 2; 5; 10 и 15 мл/кг. Крысам в желудок – 7; 10 и 20 мл/кг внутрибрюшинно – 1,0; 2,0; 2,5 и 5,0 мл/кг массы животных. В данных условиях эксперимента были определены токсические дозы нативного CO₂ ЭП и приготовлено из него 50% масляного раствора (на подсолнечном масле 1:1).

Наблюдение за поведением животных осуществлялось каждый час в первые сутки, а в последующие, ежедневно в течение 14 суток. В зависимости от дозы и путей введения, животные погибали преимущественно первые 2-4 часа, минимум животных погибло в течение первых 4-х суток. Оставшиеся животные по общему поведению и внешнему виду не отличались от животных контрольных групп. Они активно потребляли корм в течение всего срока наблюдения, поведенческие реакции их также оставались достаточно выраженными. Не наблюдалось каких-либо отличий в чувствительности разнополых животных к действию CO₂-экстракта.

При исследовании токсичности была проведена сравнительная оценка биологической активности CO_2 -ЭП и эфирных масел (ЭМ), полученных из различных видов пихты. Полученные результаты свидетельствуют о чрезвычайно низкой токсичности препаратов CO_2 -ЭП в сравнении с ЭМ различных видов пихты, что важно для применения их в медицинской практике с широким диапазоном лечебных доз.

На основании полученных экспериментальных данных, с учетом LD50, CO_2 -ЭП можно отнести к IV классу – практически нетоксичных, а 50% масляный раствор CO_2 -ЭП к V классу – относительно безвредных соединений.

Хроническая токсичность CO_2 -экстракта пихты

Изучение данной токсичности проводилось на белых крысах массой тела 160-180 г, кроликах (2,4-2,8 кг) и морских свинках (720-890 г) обоего пола. ЭП в нативном виде и в виде 50% масляного раствора, приготовленного на растительном масле, использовали при различных способах введения: наносили на слизистую глаз, ротовой полости, мочеполовых органов и анального отверстия, на кожу, вводили в желудок через зонд в течение 28-180 суток. Местно-раздражающее действие исследовано на кроликах путем нанесения CO_2 -экстракта пихты различных концентраций (нативный, 10 и 50%) и растительного масла контрольной группы – за веко глаза и на слизистую ротовой полости. При этом какого-либо выраженного раздражающего действия выявлено не было. Однако следует отметить, что при ежедневном внесении чистого CO_2 -экстракта пихты на веко глаза, к 15-м суткам появляется слабо выраженная гиперемия слизистой глаза, чего не зарегистрировано после закапывания 50% масляного раствора и масла, на котором приготовлен препарат. Изучение сенсibilизирующих свойств проводили в течение 28 суток на 2-х группах кроликов (по 5 животных в каждой) с накожным нанесением нативного ЭП и растительного масла

в контроле. За период указанной экспозиции сенсibiliзирующих свойств испытуемых веществ выявлено не было. Кроме того, было решено воспроизвести анафилактический шок. Для этого по истечении указанного последнего срока животным (кроликам внутривенно, а морским свинкам внутрисердечно) вводили разрешающую дозу нормальной лошадиной сыворотки в объеме 1 мл. После введения разрешающей дозы поведение экспериментальных животных и контрольной группы практически не отличалось.

Функцию внешнего дыхания изучали на кроликах. При регистрации частоты и глубины дыхательных движений, также не было выявлено отклонений от контрольных кимограмм. В среднем частота дыхательных движений соответствовала $80,2 \pm 8,7$ в минуту. Однако следует отметить незначительную тенденцию к повышению частоты дыхательных движений в сравнении с контрольной группой животных, что можно объяснить рефлекторным тонизированием дыхания.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что испытуемый раствор не оказывает отрицательного действия на функциональную способность сердечно-сосудистой системы и системы внешнего дыхания, как при однократном, так и при длительном (180-дневном) приеме раствора экстракта. Функциональное состояние ЦНС животных в эксперименте позволило сделать заключение о том, что испытуемый 50% масляный раствор CO_2 -экстракта пихты не оказывает отрицательного влияния на функциональную способность ЦНС лабораторных животных, как после однократного, так и после 180-дневного введения. Морфологию крови исследовали на белых крысах при внутрибрюшинном и внутривентриальном введении ЭП. Обращают на себя внимание показатели лимфоцитов (тенденция к снижению), гемоглобина (статистически достоверное повышение). Однако в целом следует сделать заключение о безвредном действии на организм экспе-

риментальных животных как нативного СО₂-экстракта пихты, так и его 50% масляного раствора. Биохимическое состояние печени, которое оценивалось по колебаниям активности ГТТП и АЛТ у обеих групп животных, укладывается в физиологические пределы нормы.

Эмбриотропное и тератогенное действие СО₂-экстракта пихты

В процессе исследований было показано, что введение экстракта пихты в течение всего периода беременности не оказало отрицательного влияния на развитие крысят. При оценке тератогенного действия СО₂-экстракта пихты на развитие органов головы, грудной, брюшной и тазовой полости в исследованных микросрезках плодов опытной и контрольной групп, патологических изменений органов обнаружено не было. У кроликов, получавших ЭП с пищей в течение шести месяцев, также родилось нормальное потомство, не отличающееся от крольчат контрольной группы.

Противоязвенная активность СО₂-экстракта пихты

Для исследования противоязвенной активности использовалась модель язвы желудка, вызванной применением ацетилсалициловой кислоты (АСК). Для эксперимента было определено 6 групп белых крыс линии *Vistar*. Каждая группа состояла из 20 животных (10 самок и 10 самцов).

В процессе исследования были получены показатели, свидетельствующие о том, что у животных, получавших АСК в чистом виде, прирост массы тела значительно ниже в сравнении с приростом массы крыс, получавших дополнительно как СО₂-экстракт пихты, так и его масляный раствор. Кроме того, поведенческие реакции крыс, получавших АСК, были значительно угнетены, однако агрессивность их была значительно выше.

Для оценки состояния экспериментальных животных использовали также биохемилюминисцентный анализ поли-

морноядерных лейкоцитов и мононуклеарных клеток. При острых воспалительных процессах уровень спонтанной хе-молюминесценции полиморфноядерных и мононуклеарных лейкоцитов значительно повышен по сравнению с нормой. С затяжными воспалительными процессами или в термальном состоянии уровень спонтанного свечения заметно снижен. Результаты свидетельствуют, что в организме подопытных животных значительно активизировались защитные реакции и отсутствует тенденция к хронизации течения воспалительного процесса.

При гистологическом исследовании стенки желудка у крыс контрольных групп морфологических изменений обнаружено не было. Значительные изменения в стенке желудка были обнаружены у животных, получавших в чистом виде АСК в течение 14 суток. При гистологическом исследовании в стенке желудка обнаружено очаговое истончение, удлинение желудочковых ямок, утолщение подслизистой оболочки за счет разрастания соединительных волокон базальных отделов слизистой. Так же проявилась довольно выраженная десквамация покровного эпителия. Обнаружена выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с наличием эозинофильных лейкоцитов в инфильтрате в базальных отделах слизистой и подслизистой оболочек. В некоторых случаях обнаружены кистозные полости, выстланные кубическим эпителием, замещающим эпителий желез. В мышечной оболочке отмечается зернистая и вакуольная дистрофия мышечных клеток. Сосуды микроциркуляторного русла стенки желудка полнокровны.

У крыс, получавших комбинацию АСК+СО₂-экстракт пихты, обнаружены незначительный отек подслизистой оболочки, расширение просвета кровеносных и лимфатических капилляров и их полнокровие. В слизистой оболочке проявилась слабо выраженная очаговая десквамация клеток полно-

кровного эпителия и миграция митотически делящихся клеток из области шеек желез и дна желудочных ямок в верхние отделы слизистой. В базальных отделах слизистой оболочки отмечается диффузная цитоплазмocитарная инфильтрация.

У группы крыс, получавшей комбинацию АСК+50% масляный раствор СО₂-экстракта пихты, также обнаружена незначительная очаговая десквамация покровного эпителия, вакуольная дистрофия цитоплазмы эпителиоцитов в поверхностных отделах слизистой.

При гистологическом исследовании стенки желудка крыс с экспериментальной язвой желудка после 10-дневного лечения СО₂-экстрактом пихты обнаружено восстановление покровного эпителия с исчезновением микрокистозных полосей в поверхностных отделах слизистой. В подслизистой оболочке еще сохранилась умеренно выраженная лимфо-плазмocитарная инфильтрация.

После 10-дневного лечения 50%-ным масляным раствором СО₂-экстракта пихты отмечается умеренно выраженная десквамация покровного эпителия, незначительная лимфо-плазмocитарная инфильтрация подслизистой и базальных отделов слизистой.

На основе полученных ДНК-гистограмм, характеризующих пролиферативные процессы в тканях зарегистрировано достоверное увеличение, по сравнению с контролем, пролиферативного пула клеток в эпителии желудка животных испытываемых групп.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что комбинированное введение в желудок через зонд вместе с АСК препаратов СО₂-экстракта пихты предупреждает отрицательное влияние на слизистую желудка ulcerогенного агента (ацетилсалициловой кислоты).

Клиническое применение СО₂-экстракта пихты в дерматологии

При проведении клинической апробации на базе УрНИИДВИ, по предложению дерматологов экстракт пихты был использован в виде экстемпоральной или ультразвуковой (производства НПФ «Абицея») 0,5% эмульсии. Эмульсия экстракта пихты была использована как наружное средство для лечения пиогенных осложнений у больных atopическим дерматитом и нейродермитом. Первоначально в УрНИИДВИ были проведены лабораторные бактериологические испытания (в качестве тест-культуры испытывался музейный штамм *S. aureus* № 209), показавшие, что эмульсия ЭП обладает выраженным бактериостатическим эффектом в отношении *S. aureus*. Далее нами были проведены клинические испытания препарата. Для лечения больных atopическим дерматитом, нейродермитом, экземой, осложненных вторичной пиодермией, предложено несколько способов применения СО₂-ЭП в виде 0,5% эмульсии: под повязку 3 раза в день по 15-30 минут, в виде протираний 3 раза в день и в виде примочек в течение 1-2 часов. Побочных эффектов и осложнений от применения эмульсии СО₂-экстракта пихты сибирской у данного контингента больных не выявлено.

Влияние углекислотного экстракта пихты на некоторые факторы иммунитета

В основную группу (43 человека) вошли пациенты УНПЦ РМ, принимавшие ЭП внутрь, при обработке данных которой нами получены следующие результаты: в 1-й подгруппе при наличии до начала лечения выраженной лейкопении прием препарата устранил ее у 100% больных, нормализовались концентрации IgA и IgM. У пациентов с исходно значительно сниженным относительным количеством Т-лимфоцитов после лечения у 60% уровень нормализовался.

Во 2-й подгруппе величина показателей общего количества лейкоцитов (в 75% случаев), абсолютного количества

нейтрофилов (81%) и абсолютного и относительного количества лимфоцитов (94,2%) осталась без изменений.

В 3-й подгруппе (гиперергия) число пациентов было очень мало, что не дало возможность сделать статистически достоверные выводы, приводимые данные представляют интерес в плане предварительной оценки СО₂-экстракта пихты как иммуномодулятора. Так при резком исходном лейкоцитозе в половине наблюдений показатель нормализовался, нормализовано так же абсолютное и относительное содержание моноцитов, абсолютное и относительное количество лимфоцитов, концентрация IgG, показатель относительного и абсолютного содержания Т-киллерно/супрессорной фракции лимфоцитов.

Таким образом, проведенный анализ влияния приема СО₂-экстракта пихты на величину факторов иммунитета в группах лиц с исходно различным их уровнем, подтвердил разнонаправленность его воздействия, т.е. СО₂-экстракт пихты проявил свойства иммуномодулятора природного происхождения.

Согласно полученным результатам представляется целесообразным дальнейшее изучение влияния СО₂-экстракта пихты на иммунный статус.

Клиническое применение СО₂-экстракта пихты в артрологии

В исследовании участвовало 80 больных деформирующим остеоартрозом. Пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили 36 человек, получавших лечение пихтовым маслом, вторую – 44 пациента, в терапии которых использовался экстракт пихты для наружного применения, путем втирания в области пораженного сустава.

У большинства больных 1-й группы (29 или 80,6%) после проведенного лечения отмечено улучшение, состоявшее в уменьшении боли в суставах, снижении их отечности и расширении объема двигательной активности. У большинства

больных 2-й группы (34 или 77,2%) после проведенного лечения отмечено аналогичное улучшение со стороны суставов. В результате было установлено, что клиническая эффективность пихтового масла и экстракта пихты практически одинакова, но при применении ЭП отсутствовали аллергические осложнения от лечения. Динамика величин лабораторных показателей у больных 1 и 2-й групп до и после лечения свидетельствует об отсутствии усиления вторичного воспалительного синовита или возникновения цитолитического лекарственного поражения печени.

Таким образом, проведенные клинико-лабораторные исследования по сравнительной оценке клинической эффективности масла пихты и СО₂-экстракта пихты позволили сделать выводы, что СО₂-экстракт пихты хорошо переносится больными и, в отличие от пихтового масла, не вызывает аллергических реакций; он не вызывает изменений со стороны анализов крови, печеночных проб, не влияет на липидный спектр крови. СО₂-экстракт пихты обладает достаточной клинической эффективностью (77,2%) и достоверно отличается от эффективности плацебо, то есть может эффективно использоваться в артрологии для лечения больных с деформирующим остеоартрозом.

В соответствии с установленной фармакологической активностью и низкой токсичностью СО₂-экстракта пихты автор считает целесообразным его внедрение в фармацевтическую промышленность для создания новых лекарственных средств. Для этого предложены проекты ВФС на СО₂-экстракт пихты и 50% масляный раствор на его основе.

Исследование СО₂-экстрактов полыни эстрагон

Исследованию СО₂-экстрактов, полученных из надземной части полыни эстрагон методом сверхкритической флюидной экстракции, посвящены работы Агларовой А.М. (Горный ботанический сад ДНЦ РАН (ГорБС), Дагестан) и Зил-

фикарова И.Н. (Пятигорская государственная фармацевтическая академия) [18]. Целью исследования явилось определение состава и сравнительная оценка CO_2 -экстрактов двух основных сортов полыни эстрагона («Французский» и «Грибовский»), культивируемых на территории России, и эфирного масла полыни эстрагона, сорта «Грибовский», значительно шире применяемого в народной медицине, в пищевой отрасли и быту.

Растительное сырье было заготовлено на опытных участках зональной станции ВИР (Дербентский район) и высушено в тени при 25-30°C. Экстракция липофильной фракции из листьев, измельченных до размера частиц 0,5-1,0 мм, осуществлялась сжиженным оксидом углерода (IV) в сверхкритическом флюидном (СКФ) состоянии на опытной лабораторной установке, собранной в ГорБС, при рабочем давлении 10 атм. и температуре 20°C. Эфирное масло было получено методом паровой перегонки на собранной для этого лабораторной установке. Экстракты после регенерации экстрагента и эфирное масло сразу извлекались из приемников и герметично упаковывались. Анализ полученных образцов проводился методом газовой хроматографии с масс-спектральной и УФ детекцией на приборе Saturn-2000 (Varian) на колонке Stabilvaх длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 0,5 микрон. Идентификация соединений, представленных в табл. 18, осуществлялась по базе данных специализированной компьютерной программы; содержание каждого вещества приведено в процентах к сумме обнаруженных соединений.

Таблица 18 – Химический состав CO₂-экстрактов и эфирного масла из травы полыни эстрагон

Соединение	CO ₂ -экстракт полыни эстрагона сорта «Французский»	CO ₂ -экстракт полыни эстрагона сорта «Грибовский»	Эфирное масло полыни эстрагона сорта «Грибовский»
β-фелландрен	1,773	—	12,485
β-пинен	0,106	—	0,392
α-фелландрен	—	—	0,076
терпинолен	0,148	—	0,603
лимонен	0,514	0,983	0,555
бициклогепт-2-ен	0,093	—	1,447
γ-терпинен	0,584	—	1,154
оцимен	—	—	1,398
цимол	0,111	—	0,310
терпинолен	0,048	—	0,401
линалоол	—	—	0,110
метил-2-циклогексеноат	—	—	0,160
борнилацетат	—	—	0,017
4-терпинеол	0,380	—	3,218
бициклогептан	0,601	0,133	1,023
эстрагол (метилхавикол)	0,280	28,309	1,023
α-терпинеол	—	—	0,179
γ-элемен	0,159	—	0,147
нерилацетат	0,162	—	0,491
гексановая кислота	0,269	0,788	0,113
метилтетрадеканоат	0,222	0,616	0,160
метилэвгенол	13,774	4,841	46,550
метил-пентадеканоат	0,120	0,416	0,090
спатуленол	0,441	1,164	—
метилизоэвгенол	1,747	1,699	2,029
метил-гексадеканоат	0,812	2,092	0,527
изоэлемецин	6,478	2,052	1,919
метил-9-гексадеканоат	0,194	0,865	0,171
этил-гексадеканоат	0,193	—	—
элемецин	0,125	0,029	0,077
3,4-диметилбензальдегид	0,102	—	—
азарон	21,693	6,981	4,949

Соединение	СО ₂ -экстракт полыни эстрагона сорта «Французский»	СО ₂ -экстракт полыни эстрагона сорта «Грибовский»	Эфирное масло полыни эстрагона сорта «Грибовский»
метил-октадеканоат	0,210	0,515	0,159
этилолеат	0,111	–	–
3,4,5-триметилбензальдегид	0,885	0,466	–
9,12,15-октадекатриеновая к-та	0,171	–	–
3-метоксициннамальдегид	–	0,788	–
фитол	–	1,416	–
тетрадекановая кислота	2,121	2,843	–
пентадекановая кислота	0,754	–	–
н-гексадекановая кислота	9,512	7,743	1,070
7-метоксикумарин	0,637	12,388	–
гексадеценная кислота	2,894	–	–
скален	8,604	4,653	1,976
9-октадеценная кислота	2,134	–	–
3,4,7-триметоксикумарин	3,887	7,318	–
6,7-диметоксикумарин	12,067	5,664	–
насыщенные углеводороды	4,884	3,238	15,021

Из данных, представленных в таблице, видно, что состав исследуемых объектов имеет как сходства, так и различия. Во всех образцах в процентном отношении доминируют ароматические соединения, что хорошо согласуется с литературными данными [54]. Однако в одном случае преобладает метилэвгенол (эфирное масло), в другом – эстрагол (СО₂-экстракт полыни сорта «Грибовский» (далее тархун)), в третьем – сумма азарона и метилэвгенола (СО₂-экстракт полыни сорта «Французский» (далее эстрагон)).

Между составами СО₂-экстрактов проявляются основные сортовые различия: состав условно «легкой» фракции (соединения 1-22) у эстрагона разнообразнее, но ее суммарная доля составляет 19,22 %, в то время как у тархуна ей принадлежит 35,67%, а содержание эстрагола (1-метокси-4-(2-

пропенил)-фенола или метилхавикола), характерного для данного вида, у тархуна оказалось в 100 раз больше, чем у эстрагона. Значительно богаче и разнообразнее CO_2 -экстракт эстрагона по составу «тяжелой» фракции, определяющей основные различия между эфирными маслами и CO_2 -экстрактами. Сумма кумариновых производных в CO_2 -экстракте эстрагона составляет 16,59%, в CO_2 -экстракте тархуна – 25,37%, в эфирном масле тархуна кумарины не обнаружены.

В эфирном масле, как и предполагалось, значительная доля (72,01%) принадлежит «легкой» фракции, почти половине в нем занимает одно вещество – метилэвгенол (46,55%). Доля насыщенных углеводородов в эфирном масле, по сравнению с экстрактами, выше в 4-5 раз, что, по-видимому, является следствием воздействия острого пара, способного вызывать деструкцию крупных молекул с образованием алканов. Различие в технологиях довольно ярко проявляется между CO_2 -экстрактом и эфирным маслом тархуна. Перегонка с водяным паром, помимо воздействия острого пара, связана с присутствием воды в конце процесса; конденсат после полного охлаждения имеет нескольких фаз: твердую, состоящую из «смолистых» веществ; водную фазу, которая растворяет ряд полярных соединений; и эфирномасличную фазу, состоящую из малополярных веществ – терпеноидов, ароматических соединений, сложных эфиров и др.

Экстракция сжиженным CO_2 позволяет во многом сохранить разнообразие веществ, составляющих липофильную фракцию перерабатываемого сырья, так как ведется при комнатной температуре, инертным экстрагентом, защищающим продукт от воздействия кислорода (это видно, к примеру, по наличию в CO_2 -экстрактах альдегидных соединений). Большинство CO_2 -экстрактов характеризуется повышенными показателями кислотных чисел, что связано, по-видимому, с

карбоксипроизводными углеводородами. Так в составе CO_2 -экстракта эстрагона карбоновые кислоты (насыщенные и непредельные) занимают 17,86%, в CO_2 -экстракте тархуна их 11,37%, в то время как в эфирном масле – всего 1,18%. Одним из механизмов их образования может являться гидролиз высокомолекулярных эфиров (восков), входящих в состав кутикулы и липидов мембран растительных клеток с участием угольной кислоты, которая образуется из CO_2 и остаточной воды из сырья, а под высоким давлением становится реагентом.

Проведенный анализ показал, что CO_2 -экстракт заметно отличается от эфирного масла, полученного из того же сырья паровой перегонкой. Учитывая, что в пищевой отрасли или косметологии CO_2 -экстракты активно используются в качестве заменителей эфирных масел и пряностей, вопросы их фармакологической активности являются особенно актуальными. К примеру, если эфирное масло тархуна можно считать практически нетоксичным, то присутствие кумаринов в CO_2 -экстракте тархуна создает необходимость более глубокой оценки возможных побочных действий. Большое разнообразие липофильных биологически активных веществ, входящих в состав CO_2 -экстрактов полыни эстрагон, вызывает большой интерес и служит основанием для их дальнейших фармакологических и фармако-технологических исследований.

Исследование сверхкритического флюидного CO_2 -экстракта розмарина

В настоящее время растет интерес к натуральной пище, к которой предъявляются требования по содержанию натуральных антиоксидантов, то есть продуктов несинтетического происхождения, потому что беспокойство по поводу безопасности синтетических антиоксидантов совпадает с предпочтением потребителя, отдаваемым в пользу натуральных продуктов. Представители сем. яснотковых, особенно розма-

рин и шалфей, хорошо известны наличием антиоксидантных свойств, связанных с содержанием дитерпенов фенольного характера. Основные антиоксиданты, идентифицированные в розмарине и шалфее – розмариновая, карнозоловая кислота и их производные.

Розмарин (*Rosemarinus officinalis* L. сем. *Lamiaceae*) – растение, широко культивируемое во Франции, Италии, Испании, Греции, Алжире и Турции. Экстракт розмарина используют для ароматизации пищи, в составе напитков, а также в косметике и народной медицине; он используется как спазмолитик при почечных коликах, как стимулятор роста волос, для лечения и профилактики язвы и рака пищеварительного тракта. Экстракт розмарина обладает противоопухолевой активностью, имеет антиоксидантные и др. свойства.

Целью данной работы была оценка антиоксидантных свойств экстракта розмарина, полученного СКФ-СО₂-экстракцией и определение эффективной концентрации экстракта в сравнении с другими хорошо известными антиоксидантами (бутилат-гидроксианизоля (БГА) и бутилат-гидрокситолуена (БГТ)) в подсолнечном масле [64].

СКФ-СО₂-экстракция высушенных и измельченных листьев розмарина была осуществлена на лабораторной установке при 35°C и 110 атм. течение 2 ч. СКФ-СО₂-экстракт розмарина был собран в виде раствора в стеклянный приемник, погруженный в водяную баню. Далее экстракт розмарина был добавлен в образцы подсолнечного масла в различных концентрациях: 0,02% (Ros 1), 0,05% (Ros 2), 0,1% (Ros 3), 0,2% (Ros 4), 0,3% (Ros 5). Кроме того, были приготовлены 0,02% масляные растворы БГА и БГТ. Концентрация экстракта розмарина в работу была взята заведомо большая, поскольку, в отличие от синтетических консервантов, экстракт розмарина является сложной смесью веществ, ос-

новых и сопутствующих. В качестве контрольного использовали образец масла без консервантов. Далее образцы хранились при комнатной температуре в течение 9 мес. Устойчивость масел к окислению оценивали ежемесячно по периоду индукции, величинам перекисных чисел и по УФ спектральной характеристике.

Индукционный период (ИП, ч) испытуемых образцов, характеризующий устойчивость к прогорканию, определялся по специальной методике пропусканием воздуха через масляный раствор при 100°C со скоростью 20 л/ч (чем выше продолжительность ИП, чем больше устойчивость образца к окислению). Величины ИП у масел с экстрактом розмарина оказались значительно выше, чем у образцов с БГА и БГТ (табл. 19). Обнаружено также, что синтетические консерванты проявляют летучесть и менее стабильны при нагревании. Величины индукционного периода испытуемых образцов напрямую зависели от концентрации CO₂-экстракта розмарина.

Таблица 19 – Индукционные периоды образцов масел с консервантами природного и синтетического происхождения

№ п/п	Образец	Индукционный период, ч
1	контроль	13,4
2	БГТ	13,9
3	БГА	13,7
4	Ros 1	14,8
5	Ros 2	14,7
6	Ros 3	16,2
7	Ros 4	20,0
8	Ros 5	21,7

Перекисное число. Изменения в перекисных числах в процессе хранения образцов представлены на рис. 33. Присутствие в масле консерванта БГА не замедлило процесса

окисления масла, которое имело максимальные из всех образцов перекисные числа, сопоставимые с контролем.

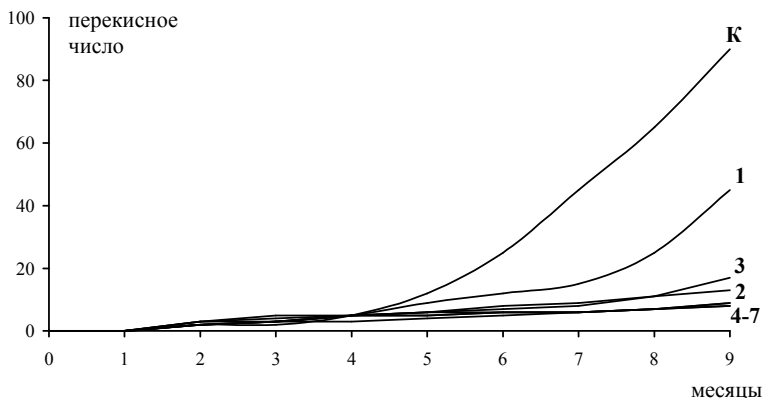


Рисунок 33 – Изменение величин перекисных чисел испытуемых образцов в течение 9 месяцев хранения при комнатной температуре. Условные обозначения: К – контрольный образец; 1 – образец с БГА; 2 – образец с БГТ; 3 – образец с 0,02% СО₂-экстракта розмарина (Ros 1); 4-7 – образцы Ros 2 – Ros 5

Образцы, содержащие по 0,02% экстракта розмарина (Ros 1) и консерванта БГТ, в течение 8 месяцев показывали схожие уровни окисленности, однако в последний месяц образец с БГТ показал чуть большую стабильность, чем Ros 1. Наиболее стабильными были образцы Ros 3, Ros 4 и Ros 5. Они показали схожие результаты, и их антиоксидантная активность была в 5-6 раз выше, чем в контроле и образце с БГА.

Исследование процессов экстракции жирных масел и липидных комплексов сжиженными газами

В клетках семян масличных культур липиды локализованы в виде сферосом различной величины, окруженных бел-

ково-липидными мембранами. Для извлечения жирного масла необходимо разрушить клеточную стенку, дезинтегрировать скопления запасных веществ и мембранную систему. Наиболее сложной задачей является преодоление взаимодействий, возникающих между белками и липидами. В процессе получения жирного масла прессованием или экстракцией для разрушения клеточных структур используется механическая и влаготепловая обработка, при которой снижается физиологическая ценность масла. Современные исследования отечественных и зарубежных исследователей в области технологии жирных масел и липофильных фитокомплексов из жирно-масличного сырья направлены на совершенствование традиционных методов – прессования и экстракции. Основными задачами при этом являются увеличение выхода и повышение качества целевого продукта. Одним из весьма перспективных направлений является экстракция жирных масел сжиженными газами. При этом предпочтение отдается обработке сырья сжиженными газами, в том числе оксидом углерода (IV) в сверхкритическом состоянии [51,52,57,60].

Промышленное производство жирных масел сжиженными газами пока еще не достаточно развито, поэтому в настоящее время активно исследуется возможность замены традиционных способов их получения и применяемых при этом растворителей на более дешевые и безопасные экстрагенты. В литературе имеется немало сведений о составе и некоторых свойствах тех или иных жирных масел, полученных или обрабатываемых с участием сжиженных газов и сверхкритических флюидов [2,47,73,79].

Как было отмечено выше, жидкий диоксид углерода в условиях, применяемых для экстракции, имеет довольно низкие показатели диэлектрической постоянной ($\epsilon=2,68$ при 10°C), характерные для многих неполярных растворителей. Это указывает на возможность использования сжиженного

диоксида углерода как в субкритическом, так и сверхкритическом флюидном состояниях, для целевого извлечения жирного масла и сопутствующих липофильных веществ – стеринов, каротиноидов, ксантофиллов, токоферолов и др. В литературе есть немало сведений по результатам исследований процессов экстракции, сепарации, рафинирования, фракционирования, очистки и т.д. масел и масличных культур с применением современных флюидных технологий.

**Исследования жирного масла и липофильной фракции
из плодов облепихи, полученных экстракцией
сжиженными газами**

Облепиховое масло, его лекарственные формы и способы его получения, включая экстракцию сжиженными газами, вызывают большой научный и практический интерес, связанный, прежде всего, с его широким и до конца еще не раскрытым потенциалом фармакологических свойств. Исследованиям сжижено-газовой технологии облепихового масла посвящены работы Прокопенко А.П., Ветрова П.П., Пехова А.В., Шафтан Э.А., Кошелева Ю.А., Муравьева И.А., Северцевой О.В. и др. [31,46,56].

Источник облепихового масла (*Oleum Hippophaes*) – семена и мякоть плодов облепихи (*Hippophae rhamnoides L.*). Свежие плоды облепихи содержат около 8% масла, семена – 12,5%. В промышленных условиях облепиховое масло получают путем экстракции или прессования. При экстракционном методе на прессе из плодов отжимают сок с мякотью с некоторым количеством масла. Его называют прессовым и собирают после разделения фаз отдельно. Существует два экстракционных метода получения облепихового масла – экстракция сухого жома подсолнечным маслом и экстракция мякоти плодов или отдельно семян органическими растворителями. При первом методе оставшийся после прессования

жом высушивают в вакуум-вальцовой сушилке до влажности 5-7%, в виде «лепестков» загружают в батарею диффузоров, снабженных паровыми рубашками. По маслопроводам под давлением методом противотока прокачивается нагретое до 80°C подсолнечное масло. В рубашку подают горячую воду. В процессе экстракции получают «диффузионное» масло, количество которого должно быть равно массе сырья, загруженного в экстракторы. Масляные вытяжки из всех диффузоров объединяют, добавляют пресловое масло, и смесь нормализуют до установления контрольных показателей. Разбавление масла осуществляют купажированием с «концевыми маслами», после чего масло фильтруют.

При втором экстракционном методе в качестве сырья используют мякоть плодов без семян или отдельно семена. Сухой жом подают в дробилку, из которой измельченный материал поступает в сепаратор, где путем продувки воздухом семена отделяются от мякоти и перерабатываются отдельно. Обработку мякоти и семян осуществляют с применением циркуляционного экстрагирования в аппарате «Сокслет». Экстракцию ведут 4-5 кратным количеством хлористого метилена при температуре 40°C. Остатки растворителя из экстрактора удаляют в вакуум-аппарате в присутствии небольшого количества воды, способствующей удалению экстрагента при более низкой температуре, так как отгоняется смесь взаимно нерастворимых жидкостей (хлористый метилен и вода). Для предотвращения процесса окисления упаривание ведут в вакуум-выпарном аппарате в присутствии углекислого газа. В качестве экстрагента применяют также н-гексан.

Масло облепихи можно получить экстрагированием сжиженными хладоном-11 и хладоном-12, причем их экстрактивная способность по отношению к триацилглицеридам и токоферолам практически одинакова. Сырьем служит су-

хой жом с влажностью не выше 7%, измельченный до лепестка толщиной 0,25 мм, или семена. При использовании хладона-12 выход каротиноидов и стерина в 2,5 и 2 раза выше, соответственно, чем при использовании хладона-11. Есть данные о получении облепихового масла путем экстракции сжиженным CO₂.

По составу масло мякоти плодов и масло семян значительно различаются. В масле из мякоти плодов более 60% составляют пальмитиновая и пальмитолеиновая кислоты, а в масле из семян этих кислот значительно меньше. Так, содержание пальмитолеиновой кислоты в масле из мякоти доходит почти до 53%, тогда как в масле из семян оно не превышает 5,9%. В масле из семян примерно 60% всех жирных кислот – это смесь линолевой и линоленовой кислот в соотношении 1,5:1,0. Масло из мякоти плодов облепихи оранжево-красное, так как в нем большое количество каротиноидов. По содержанию полиненасыщенных жирных кислот масло облепихи превосходит другие масла, а по содержанию линолевой соответствует оливковому. В масле облепихи наиболее активной является неомыляемая фракция, в которой обнаружены токоферолы, каротиноиды (зеаксантин, α -, β - и γ -каротины, ликопин), воски. Кроме того, в неомыляемой части велика роль стерина, представленных преимущественно β -ситостерином. По данным различных источников, в масле облепихи обнаружено от 0,1 до 2,6% стерина. Кроме β -ситостерина, найдены также стигмаста-7,24-диен-3 β -ол, стигмастанол, кампестерол, стигмаста-7,24-диен-3 β -ол, 24-метиленициклоартанол, 24-этил-холест-7-ен-3 β -ол, 4-метил-стигмаста-7,24-диен-3 β -ол, циклоартенол, эритродиол и др. Содержание филлохинона (витамин К) в 100 г масла доходит до 200 мг. В облепиховом масле содержится 1% фосфолипидов (кефалин и лецитин), т.е. не меньше, чем в кукурузном, и больше, чем в подсолнечном.

Зависимость состава и качества облепихового масла
от способа экстракции

Плоды облепихи, как лекарственное сырье, известны давно и широко используются в народной медицине, в которой, кроме облепихового масла, находят применение настои и сок ягод облепихи, отвар семян, листьев, коры. В плодах и листьях облепихи крушиновидной содержатся более сотни биологически активных веществ различной химической природы. Количественный и качественный состав их зависит от сорта облепихи, места произрастания, погодных условий и др. Очевидно, что большое значение имеет также способ и технология извлечения из растительного сырья этого сложного комплекса БАВ.

Авторское свидетельство на способ извлечения облепихового масла растительными маслами из сухого измельченного жмыха плодов облепихи было получено В.О. Казанцевым и А.В. Охиным еще в 1957 г. В соответствии А.с. облепиховое масло со всеми растворенными в нем витаминами и другими биологически активными веществами извлекают посредством диффузии при температуре 50-55°C в масляной среде в течение 24 ч, применяя для указанной цели любые растительные масла. Для осуществления способа предлагалось использовать диффузионную батарею с числом диффузоров не менее 12. В дальнейшем было предложено усовершенствование этого способа – экстракцию сухого жмыха облепихи растительным маслом при температуре 40-45°C и циклическом ведении процесса. Жмых измельчают в среде экстрагента, обогащенного облепиховым маслом, до концентрации каротиноидов 140-170 мг%, далее полученную смесь фильтруют под давлением, отделяя целевой продукт, а оставшийся на фильтре жмых промывают порциями экстрагента с последовательным уменьшением содержания облепихового масла в каждой порции до концентрации каротиноидов соответственно 70-100, 40-70, 15-40, 7-15мг%, а затем све-

жим экстрагентом. За счет измельчения сырья и активного перемешивания его с экстрагентом обеспечивается сокращение длительности рабочего цикла получения целевого продукта от 24 до 4 ч, потери каротиноидов снизились от 20 до 2%, а выход целевого продукта повысился по сравнению с предыдущим способом на 9% и составил 57,5%.

В 1982 г И.А. Муравьев и соавт. предложили способ получения биологически активных веществ из плодов облепихи, отличающийся тем, что с целью повышения выхода облепихового масла и одновременного получения комплекса биофлавоноидов и суммы органических кислот, в качестве экстрагента используют ацетон, содержащий 3-4% воды. Настаивают в диффузоре сырье, залитое экстрагентом, 24 ч перколируют со скоростью 1/48 часов полезного объема, сгущают отгонкой ацетона, добавляют дистиллированную воду 60%, оставляют на 24 ч. Всплывшее масло отделяют и очищают от ацетона путем отмывки 3-4-кратным объемом дистиллированной воды 60°C. Выход масла – 96,8% от исходного содержания. Качество масла отвечает фармакопейным требованиям.

Существовавшая до последнего времени технология комплексной переработки облепихи включает следующие стадии: дефростацию замороженных плодов, отделение первого сока прессованием, многократную промывку жома водой, декантацию отстоявшегося от сока облепихового масла, сепарацию масла, очистку сока, выпаривание сока для получения сгущенного экстракта, сушку жома, диффузионного и спрессованного масла, розлив в тару, извлечение из продуктов отхода отработанного растворителя с целью повторного использования в цикле диффузии.

Попытки выделить облепиховое масло без экстракции каким-либо растворителем (выделение на суперцентрифуге из пюре, полученного на протирачной машине, прессование

на специальном пресс-экстракторе и т.п.) к успеху не привели из-за низкого выхода масла и большого количества отходов.

В целом ряде работ описываются способы извлечения облепихового масла экстракцией органическими растворителями с последующей их отгонкой. Показана перспективность этих методов. В частности, при извлечении облепихового масла н-гексаном, петролейным эфиром и метиленхлоридом содержание суммы каротиноидов было значительно выше, чем при экстракции растительными маслами (320-470 мг%), токсичность не обнаружена.

При экстракции фреонами (хладонами) выход и качество облепихового масла были значительно выше, чем в других случаях. Более того, сравнительное изучение облепихового масла, полученного разными методами, показало, что масло, полученное при экстракции фреоном (хладоном-12), обладает большей противоязвенной и репаративной активностью, чем полученное по принятой технологии (экстракция подсолнечным маслом). В связи с этим в качестве экстрагента в исследованиях по технологии облепихового масла был выбран хладон-12 (дифтордихлорметан).

Хладон-12 не обладает выраженной токсичностью (6-я группа); его предельно допустимая концентрация в воздухе рабочей зоны 3000 мг/м³. Применение хладона-12 было разрешено в качестве пропеллента в медицинских аэрозолях. Он не горюч, химически инертен. При нормальных условиях это газ, поэтому его можно сравнительно легко удалить из готового продукта и отработанного сырья. Процесс экстракции осуществляется при комнатной температуре, что способствует лучшей сохранности биологически активных веществ. Полнота удаления хладона из масла оценивается простым, но достаточно чувствительным методом. Характерной особенностью использования хладона-12 как сжиженного газа явля-

ется то, что процесс проводится при небольшом избыточном давлении – 5-7 кг/см². Экстрагирование масла осуществляется при циркуляции хладона-12 в замкнутом контуре установки с непрерывным изменением агрегатного состояния из жидкого (в экстракторе) в газообразное (в испарителе) с последующим сжижением за счет компрессования и охлаждения паров либо за счет глубокого охлаждения. Низкие значения вязкости и поверхностного натяжения хладона-12, а также предварительное вакуумирование сырья в экстракторе перед заполнением его хладоном способствуют быстрому проникновению растворителя в клетки сырья и интенсификации процесса.

Исследования процесса экстракции облепихового жома в промышленной установке, показали, что характер кривых, отражающих кинетические закономерности процесса извлечения масла и каротиноидов, является типичным для процесса экстрагирования биологически активных веществ из растительного сырья: наличие двух периодов экстракции – быстрый (смыв БАВ с поверхности) и медленный (диффузия БАВ из неразрушенных клеток). Отсюда вполне оправдана необходимость хорошей подготовки для экстрагирования. Прокопенко А.П., Ветровым П.П. (1983) было показано, что наибольшую степень разрушенности растительной ткани обеспечивает комбинированный способ – измельчение жома облепихи на молотковой или дисковой дробилках с последующим вальцеванием.

С учетом довольно высокой маслячности жома алтайской облепихи, осложняющей измельчение, и во избежание повышенных технологических потерь и трудозатрат, был принят способ однократного измельчения на специально подобранном и конструктивно доработанном оборудовании. При оптимальных условиях проведения процесса экстракции в обработанном шроте масло практически отсутствует (менее

0,6%), а каротиноиды содержатся в незначительных количествах – 2-4 мг%.

Известно, что для разных партий жома продолжительность экстракции может существенно различаться. По-видимому, это обусловлено биохимическими особенностями сырья. Использование хладона взамен подсолнечного масла позволяет визуальнo контролировать окончание процесса по цвету мисцеллы и таким образом оперативно регулировать продолжительность экстракции разных партий сырья, избегая излишних, неоправданных затрат. Отсутствие масла в отработанном шроте повышает стабильность этого продукта при хранении и позволяет продлить сроки его последующего использования.

Еще одним достоинством хладона-12, как и других органических растворителей, является возможность получения из низкокаротинного сырья фармакопейного облепихового масла с содержанием каротиноидов не менее 180 мг%.

Разработанные в Таджикском госуниверситете способ и установка для получения облепихового масла экстракцией хладоном-12 были защищены а.с. 1367472 (Андронов В.А., Зегельман А.Б., Кошелев Ю.А., Агеева Л.Д., Елфимов А.А., 1987) и внедрены на производстве.

В работе группы исследователей из НПО «Витамины» и Таджикского университета изучено влияние способа извлечения облепихового масла на состав и стабильность готового препарата. В качестве сырья для получения облепихового масла использовали сухие измельченные плоды облепихи или измельченный жом, полученный после отжатия сока из свежих плодов облепихи и высушивания остатка. Концентраты получали экстракцией из сухих измельченных плодов облепихи или жома жидким хладоном-12 (дифтордихлорметан) и гексаном с последующим удалением растворителей. Концентраты облепихового масла с содержанием каротиноид-

дов 2,9-6,0 мг/г разбавляли растительными маслами или изо-пропиловыми эфирами синтетических жирных кислот C₁₀-C₁₈ (эссенциальные жирные кислоты) для получения растворов, соответствующих по содержанию каротиноидов фармакопейному препарату облепихового масла. Фармакопейный препарат был получен экстракцией из жома облепихи подсолнечным маслом при температуре 60°C.

В табл. 20 приводятся результаты определения содержания каротиноидов и природных антиоксидантов (токоферолы и др.) в полученных образцах.

Таблица 20 – Содержание каротиноидов и веществ-антиоксидантов в извлечениях, полученных из плодов облепихи различными экстрагентами

Наименование образца	Содержание каротиноидов, мг/г	Содержание природных антиоксидантов, моль/л $\times 10^{-3}$	
		«сильных»	«слабых»
фармакопейный препарат (экстрагент – подсолнечное масло)	1,96	3,2 $\pm$ 0,3	9,0 $\pm$ 1,0
гексановый концентрат из ягод	3,6	3,3 $\pm$ 0,3	9,0 $\pm$ 1,0
хладоновый (хл.-11) конц-т из ягод	3,39	2,8 $\pm$ 0,2	7,0 $\pm$ 1,0
хладоновый (хл.-12) конц-т из ягод	3,51	4,6 $\pm$ 0,3	10,0 $\pm$ 1,0
хладоновый (хл.-12) конц-т из жома	2,96	5,2 $\pm$ 0,4	12,0 $\pm$ 1,0

Из данных таблицы видно, что гексановые (ГК) и фреоновые концентраты (ФК) содержат в 1,5-2 раза больше каротиноидов, чем фармакопейный препарат (ФП), а по содержанию антиоксидантов не уступают ему. В концентратах из жома каротиноидов в несколько раз меньше, чем в концентратах из ягод, а антиоксидантов больше.

Различие в составе жирных кислот полученных образцов представлено в табл. 21.

Таблица 21 – Состав жирных кислот в образцах облепихового масла, полученных различными экстрагентами

Жирная кислота	Содержание в образцах, полученных, %		
	гексаном	фреоном	подсол- нечным маслом
миристиновая	0,3	0,4	0,1
пальмитиновая	24,9	25,5	31,2
пальмитолеиновая	42,5	44,5	47,4
стеариновая	1,0	0,8	2,6
олеиновая	15,0	15,4	9,7
линолевая	10,2	8,8	8,9
линоленовая	6,1	4,6	0,1
сумма ненасыщенных ЖК, %	73,8	73,3	66,1

Результаты исследований показали, что стабильность к окислению кислородом воздуха концентратов, полученных экстракцией фреоном выше, чем стандартного препарата, полученного подсолнечным маслом, несмотря на то, что содержание легкоокисляющихся непредельных соединений – каротиноидов, линоленовой и олеиновой кислот в концентратах выше. Объясняется это тем, что получение облепихового масла экстракцией фреоном проходит в более мягких условиях (комнатная температура, инертная атмосфера) [46].

Установлено также, что по мере расходования антиоксидантов происходит уменьшение содержания каротиноидов, а время полной потери антиоксидантной активности совпадает с исчезновением каротиноидов. Это дает основание полагать, что экстракцию облепихового масла растительными маслами следует заменить на экстракцию хладоном, так как это упрощает технологическую схему производства, повышает выход и качество продукта, снижает его себестоимость и, нако-

нец, позволяет получить не раствор облепихового масла в подсолнечном, а чистое облепиховое масло, т.е. весь комплекс биологически активных веществ плодов и семян облепихи.

В связи с этим возникла необходимость исследовать состав экстрактов из плодов и семян облепихи, полученных при экстракции хладоном-11 и хладоном-12, а также разработать методы количественного анализа облепихового масла, которые могли бы лечь в основу новой фармакопейной статьи и методов контроля производства. Несмотря на большое число работ по анализу состава облепихового масла, систематического количественного исследования всех компонентов хладоновых экстрактов из плодов облепихи опубликовано не было. Проблема стандартизации облепихового масла также не решена в том виде, как это требует современное состояние фармацевтической науки.

Исследование состава облепихового масла, полученного экстракцией хладами

Комплексные исследования технологии, состава и свойств липидных и липофильных экстрактов облепихи, полученных сжиженными хладами (фреонами), в сравнении с зарегистрированным облепиховым маслом, были проведены в объеме диссертационных исследований Северцевой О.В. Изучение химического состава проводилось на базе Межрегионального центра «Адаптоген» под руководством проф. Макарова В.Г. [46].

Исследовались образцы натурального масла, полученные фреоновой экстракцией плодов и семян облепихи сорта «Оранжевая», прорастающей в Горном Алтае в районе г. Бийска. В качестве экстрагентов были использованы хладоны 11 и 12 (фтортрихлорметан и дифтордихлорметан, соответственно). Исследуемые образцы отличались высоким содержанием каротиноидов (свыше 450 мг%) и высокой про-

тивовоспалительной и репаративной активностью. В качестве объекта для сравнения использовали образец масла облепихи («Оранжевая») этой же партии, полученный по стандартному методу – экстракцией плодов и семян подсолнечным маслом.

Выбор способов анализа был продиктован сложностью объекта исследования. Для исследования состава облепихового масла были использованы методы ГЖХ с масс-спектральным детектированием, ВЭЖХ, ТСХ, ПМР, ИК и УФ спектрофотометрия и др.

Для аналитических исследований масел была применена современная техника газо-жидкостной хроматографии на капиллярных колонках длиной 40-50 м с масс-спектрометрическим детектированием (прибор фирмы “Hewlett Packard”). Использование такой техники имеет существенные преимущества как за счет более высокого качества хроматографического разделения, так и за счет возможности идентифицировать соединения по масс-спектрам. Метод ГЖХ без предварительной обработки непригоден для анализа, поскольку нативное вещество практически не содержит летучих компонентов (содержание летучей фракции не превышает 0,6%). Важно отметить, что не только жирные кислоты нативного масла находятся в связанной форме (триглицериды). Многие другие потенциально хроматографируемые вещества (токоферолы, стерины и др.) не удастся анализировать при прямом введении пробы необработанного облепихового масла. По-видимому, это связано с тем, что они также присутствуют в нативном масле главным образом в виде сложных эфиров (в основном в виде пальмитатов). До настоящего времени этот вопрос в литературе обходился стороной и требует самостоятельного изучения.

По литературным сведениям, состав облепихового масла соответствует следующему: омыляемые липиды: триглице-

риды – до 90%, моно- и диацилглицериды – 3-5%, свободные жирные кислоты – 1-3%; неомыляемые липиды – углеводороды (насыщенные, ненасыщенные, в т.ч. каротиноиды) – до 1%, спирты (стеролы, тритерпеноиды и др.) – 1-2%, ароматические соединения (токоферолы, филлохинон) – <0,5%.

Наиболее изученной частью облепихового масла считается фракция омыляемых липидов, то есть группа соединений, которые при щелочном гидролизе превращаются в жирные кислоты (а точнее в мыла) и глицерин. Исследование жирных кислот, входящих в состав триацилглицеролов масла облепихи, с помощью хромато-масс-спектрометрического анализа, позволило существенно дополнить литературные данные об их строении и относительном содержании.

Для проведения газожидкостной хроматографии облепиховое масло омыляли спиртовым раствором КОН, полученную смесь растворяли в воде, нейтральные соединения отделяли экстракцией гексаном, после чего фракцию кислот осаждали в виде твердого осадка прибавлением уксусной кислоты и отделяли фильтрованием через стеклянный фильтр. Кислоты в мягких условиях с помощью метилирования диазومتаном при 0°C переводили в метиловые эфиры и в таком виде подвергали ГЖХ-анализу. Возможен также вариант ГЖХ-анализа без их метилирования, однако первый вариант предпочтителен из-за большей устойчивости метиловых эфиров по сравнению с незамещенными кислотами и лучшего разделения. Последовательность выхода пиков на хроматограмме: 1 – эфир метиловый кислоты миристиновой; 2 – эфир метиловый кислоты пальмитиновой; 3 – эфир метиловый кислоты пальмитолеиновой; 4 – эфир метиловый кислоты стеариновой; 5 – эфир метиловый кислоты олеиновой; 6 – эфир метиловый кислоты линолевой; 7 – эфир метиловый кислоты линоленовой.

В действительности состав этой смеси значительно более сложен. Помимо перечисленных выше, в составе жирных кислот авторам удалось идентифицировать весьма редкую для растительного сырья маргариновую кислоту и еще ряд кислот с большими молекулярными массами: эйкозановую (арахиновую), эйкозодиеновую, бегеновую, лигноцериновую, гексакозановую и октакозановую (табл. 22), которые ранее в облепиховом масле не были найдены. Доля впервые обнаруженных кислот в облепиховом масле составила 10-15% от общего содержания жирных кислот.

Таблица 22 – Жирно-кислотный состав облепихового масла, определенный методом ГЖХ

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$	– маргариновая (гептадекановая) кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	– арахидовая (эйкозановая) кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	– эйкозодиеновая кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	– бегеновая (докозановая) кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	– лигноцериновая (тетракозановая) кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$	– церотиновая (гексакозановая) кислота
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{COOH}$	– октакозановая кислота

Исследователи отмечают, что пик, соответствующий основному компоненту смеси (метилпальмитату) явно неоднороден, то есть помимо стандартной пальмитиновой кислоты в смеси содержатся 3-5 кислот такой же брутто-формулой, но иным строением. Кроме того, хроматографические данные позволяют предположить, что среди C_{16} - и C_{18} -ненасыщенных жирных кислот присутствуют изомерные производные с другим расположением непредельных звеньев.

Для оценки количественного соотношения общего числа непредельных звеньев для смеси жирных кислот облепихового масла был использован метод ПМР-спектроскопии. Образцы исследуемых смесей и модельных соединений растворялись в CDCl_3 . По соотношениям интенсивностей сигналов

протонов в области 0,9-2,3 м.д. (метильные и метиленовые) и 5,2-5,4 м.д. (олефиновые протоны) было вычислено, что доля ненасыщенных кислот в общей их смеси составляет (в пересчете на пальмитолеиновую кислоту) 20-21%, что значительно ниже, чем можно полагать из данных ГЖХ и литературной информации.

Метод ГЖХ дает систематическое завышение суммарного процентного состава ненасыщенных жирных кислот в 2,2-2,5 раза. Предполагается, что это может быть связано с наложением пиков-сигналов изомеров насыщенных кислот на пики ненасыщенных, в особенности завышается при этом процентный состав пальмитолеиновой и олеиновой кислот. Содержание жирных кислот в концентрате, полученном с помощью хладона-11 и концентрате, полученном хладоном-12, оказалось весьма близким (табл. 23).

Высокое содержание насыщенных жирных кислот также относится к числу особенностей нативного облепихового масла, отличающих его от обычных растительных масел. В частности, насыщенных кислот в исследованных образцах масла облепихи примерно в 4-8 раз больше, чем в оливковом, соевом маслах и др. Этим объясняется, например, достаточно высокая температура плавления нативного облепихового масла (0 – +5°C). Кроме обычных жирных кислот, в состав облепихового масла входит большое число гидроксикислот, а также эпоксикислоты. Ранее в маслах различных сортов облепихи удалось обнаружить в общей сложности 26 гидроксикислот и 15 эпоксикислот с числом углеродных атомов от 14 до 18. Соединения этого ряда входят в число биологически активных компонентов препарата. По-видимому, наряду с другими веществами, они обуславливают его положительное воздействие на кожные покровы и слизистые оболочки, а также участвуют в формировании гипополидемического эффекта [46].

**Таблица 23 – Качественный и количественный состав
ЖК хладоновых экстрактов облепихи, определенный методом ПМР-
спектроскопии**

Число углерод- ных ато- мов	Число не- предельных звеньев	М.м.	Название кислоты	Относи- тельное содержа- ние, %
14	0	228	миристиновая	4,1
16	1	254	пальмитолеиновая	11,7
16	0	256	пальмитиновая	48,2
17	0	270	маргариновая	0,8
18	3	278	линоленовая	4,5
18	2	280	линолевая	3,3
18	1	282	олеиновая	7,8
18	0	284	стеариновая	4,9
20	2	308	эйкозациеновая	0,3
20	1	310	эйкозаеновая	0,2
20	0	312	эйкозановая	3,4
22	0	340	бегеновая	2,1
24	0	368	лигноцириновая	1,0
26	0	396	гексакозановая	0,7
28	0	424	октакозановая	0,4
—	—	—	гидроксикислоты (сумма)	3,6
—	—	—	эпоксикислоты (сумма)	3,0

Низкая летучесть этих соединений не позволяет анализировать их методом ГЖХ без предварительной специальной обработки, например, триметилсилилирования, однако, авторам удалось оценить суммарное содержание моно- и дигидроксикислот в омыленной фракции кислот облепихи с помощью спектроскопии ПМР. По интенсивности сигналов в области 3,6-3,7 м.д. (СН-протоны изолированных гидроксиметильных групп) и 4-4,2 м.д. (протоны аналогичных групп в 1,2-гликолях, образующихся в результате щелочного раскрытия

оксиранового цикла эпоксикислот) было вычислено, что содержание моногидроксикислот в исследуемой фракции составляет 3,6%, а дигидроксикислот (т.е. гидролизованных эпоксикислот) – 3%.

Фракция неомыляемых липидов облепихового масла

Неомыляемая фракция (НФ) представляет собой сумму веществ, которые в процессе омыления масла не образуют со щелочами водорастворимых соединений. Получение неомыляемой фракции масла облепихи основано на гидролизе препарата нагреванием со спиртовым раствором КОН с последующим растворением смеси в воде и экстракцией нейтральных компонентов эфиром. По мнению многих исследователей именно НФ облепихового масла определяет его биологическую ценность, поэтому результаты исследования этой фракции представляют особый интерес. Исследованию этой фракции, содержание которой варьирует от 3,0 до 3,5% от общей массы масла, посвящено большое количество работ, поскольку в ней сконцентрированы многие важнейшие биологически активные компоненты препарата – каротиноиды (6-8%), токоферолы (4-6%), стерины (30-35%), тритерпеновые спирты и альдегиды (10-15%) и др. Установлено, что количественный и качественный состав неомыляемых липидов облепихи показывает высокую степень изменчивости, который, по-видимому, зависит от сорта облепихи, ареала ее произрастания, времени сбора и других факторов. Данное обстоятельство крайне осложняет воспроизведение результатов проведенных ранее исследований и снижает достоверность идентификации индивидуальных компонентов.

С практической точки зрения важным является вопрос о возможной корреляции между содержанием НФ и суммой каротиноидов в облепиховом масле, поскольку содержание каротиноидов является основным и в то же время легко определяемым показателем стандартизации масла как лекарст-

венного препарата. Содержание НФ в маслах из мякоти, семян и жома дикорастущей облепихи различных регионов бывшего СССР составляет соответственно: 1,1-3,7%; 1,4-2,5% и 2,2-3,3%. Варьирование данного показателя может быть обусловлено не только генетическими и экологическими особенностями, но и отличиями методов его количественного определения, а также способами выделения масла. В промышленных партиях масла-концентрата (экстракция хладоном-12) и фармакопейного препарата из алтайского жома содержание НФ, соответственно, 3,3-5,3% и 2,3-3,7%. Мионовым В.А. и соавт. (1989, 1991) определено содержание НФ в маслах, выделенных экстракцией отдельно из собственно мякоти, плодовой оболочки и семян облепихи Армении – 0,3%; 11% и 0,7%, соответственно. На основании этих данных авторами был сделан вывод о том, что вещества, ответственные за биологическую активность облепихового масла, сосредоточены, главным образом в оболочке плода.

В работе Глазуновой Е.М. и соавт. (1991) представлен состав НФ масел из облепихи Западного Памира; исследованы образцы нативного масла мякоти, выделенного прессованием сырых плодов с последующим центрифугированием, а также масел, полученных экстракцией гексаном и хладоном из сухого жома (табл. 24) [31].

Из данных таблицы следует, что основными компонентами стериновой фракции являются β -ситостерин и 24-метилениклоантранол, а масла, экстрагированные гексаном и хладоном, довольно близки по составу НФ. Существенно отличающиеся от всех предыдущих сведения о составе НФ облепихового масла приведены в работе [46]. Масло облепихи экстрагировано хладоном-12 из жома плодов алтайского сорта Оранжевая.

Таблица 24 – Состав неомыляемой фракции масел из плодов различных форм облепихи Западного Памира (в % от массы НФ)

Компоненты	Масло мя- коти	Масло из жома, полученное	
		гексаном	хлагоном
углеводороды	11,0-17,7	18,7	20,6
жирные спирты	2,0-6,4	16,1	16,7
β-амирин	0,47-0,88	0,47	2,40
α-амирин	0,60-1,25	2,52	2,75
24-метиленциклоантранол	21,2-24,7	14,7	9,5
олеаноловый альдегид*	0,07-2,04	не обнаружен	
урсоловый альдегид*	4,7-5,0	не обнаружен	
смесь альдегидов*	2,1-2,7	не обнаружен	
обтузифолиол	0,28-0,80	0,50	0,50
β – ситостерин	17,7-25,7	24,2	28,0
цитростандиенол	1,7-6,0	2,0	1,8
неидентифицированные	3,3-8,6	7,0	2,6

**Примечание: олеаноловый и урсоловый альдегиды обнаружены в облепихе из четырех и двух (соответственно) регионов произрастания из шести обследованных регионов; смесь альдегидов определена в образцах масел из облепихи из двух регионов.*

Данные получены с использованием методов хромато-масс-спектрометрии и ПМР (табл. 25). В исследованном образце удалось идентифицировать большое число соединений (табл. 25, рис. 34), ряд из которых обнаружен впервые: α- и β-иононы, ирон и другие производные 1,1,5-триметилциклогексена, являющиеся, по мнению авторов, биохимическими предшественниками каротиноидов.

Несколько неожиданными явились данные по наиболее труднолетучей группы соединений, к которым относятся стерины и тритерпеноиды. Известно, что преобладающим в этой группе является β-ситостерин, на долю которого обычно приходится 20-30% от общего веса фракции неомыляемых липидов.

Таблица 25 – Состав неомыляемой фракции образцов облепихового масла, полученных экстракцией хладонами

М.м.	Название соединения	Экстрагент (содержание, %)	
		хладон-11	хладон-12
180	1,1,3-триметил-2-гидроксипропенил-2-циклогексен	<0,06	<0,1
192	α -ионон и β -ионон	<0,05	<0,1
206	ирон	<0,05	<0,1
236	гексадекатриенол	0,25	0,5
296	фитол	0,05	0,1
324	спирты ряда 1,1,3-триметил-2-циклогексена	2,0	4,0
352	спирты ряда 1,1,3-триметил-2-циклогексана	3,75	6,0
418	γ -токоферол	1,0	1,1
418	β -токоферол	5,0	5,3
432	α -токоферол	7,0	7,0
396	эргостерин	0,7	1,4
412	α -ситостерин	0,5	1,1
414	β -ситостерин	4,1	4,1
426	α -, β -амирин	21,5	29,0
426	цитростадиенол	2,25	4,5
440	24-метилениклоартанол	8,25	16,5
440	олеаноловый альдегид	1,0	1,8
—	каротиноиды (сумма)	4,8	12,0
—	неидентифицированные соединения	6,0	6,8

Однако, в случае исследованных авторами образцов основным компонентом оказался амирин (α - и β -изомеры) – его содержание превышает 20% от веса всей неомыляемой фракции (табл. 24). Доля β -ситостерина необычно мала (4%); присутствует также α -ситостерин (около 1%).

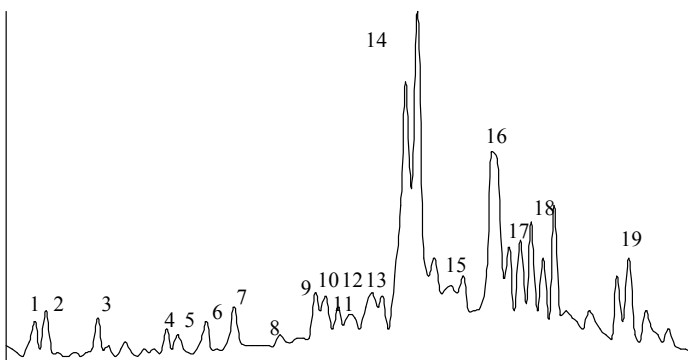


Рисунок 34 – Газо-жидкостная хроматограмма неомыляемой фракции облепихового масла, полученного экстракцией хладон-12 (хроматс-анализ, детектирование с помощью ДИП). (Номера соединений даны в соответствии с табл. 24)

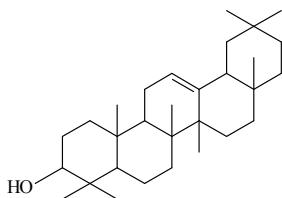
Также были обнаружены по масс-спектрам эргостерин, цитростадиенол и олеаноловый альдегид. На хроматограмме присутствуют еще несколько пиков, относящихся вероятно, к соединениям тритерпеновой и стероидной природы, определить структуру которых не удалось. В составе токоферолов авторам удалось обнаружить α -, β - и γ -токоферолы в соотношении 7:5:1.

Важную информацию о качественном и количественном составе фракции неомыляемых липидов облепихового масла удалось получить с помощью спектроскопии ПМР. Спектр ПМР всей фракции, снятый в CDCl_3 без предварительного ее разделения содержит много хорошо разрешенных сигналов, соответствующих индивидуальным соединениям. Так в областях высокого поля присутствуют сигналы протонов циклопропанового кольца (0,32 д.1Н и 0,56 д.1Н, м.д.): изопро-

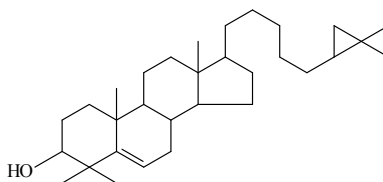
пильной группы (0,89 6Н, 2,26 1Н, м.д.); СН вторичной спиртовой группы (3,27 м.д.) и двух экзометиленовых протонов (4,62 и 4,68 м.д.). Это позволило с высокой точностью определить в неомыляемой фракции содержание 24-метиленциклоартанола (16,5%), который не удастся идентифицировать с помощью ГЖХ из-за его разложения. Легко видеть, что метод ПМР позволяет обнаружить 24-метиленциклоартанол в концентрации не менее 1% практически в любой природной смеси, поскольку в области 0-0,7 м.д. могут лежать только сигналы циклопропановых протонов, что встречается крайне редко. Можно утверждать, что если достаточно высокое содержание 24-метиленциклоартанола в неомыляемых фракциях облепихового масла будет характерным и для других сортов, то присутствие этого редкого биологически активного соединения окажется наиболее надежным из известных критериев подлинности препаратов облепихи.

Метод ПМР позволил оценить содержание суммы каротиноидов, которые не удастся количественно анализировать методом ГЖХ из-за низкой летучести и склонности к аутоокислению. По суммарной интенсивности сигналов в области 5,9-6,9 м.д. (протоны сопряженных олефиновых звеньев) было вычислено, что содержание каротиноидов в неомыляемой фракции исследуемых образцов составляет около 12%, что составляет в пересчете на исходных препарат 470 мг%. Это близко к показателям, полученным с помощью стандартного фармакопейного метода.

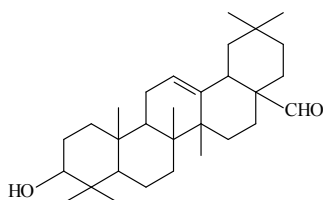
Суммарное содержание токоферолов в неомыляемой фракции, по данным ПМР, составляет 13% (наиболее характерным сигналом соединений этой группы является триплет в области 2,56-2,59 м.д., соответствующий протонам метиленовой группы тетрагидропиранового цикла, соседствующий с ароматическим кольцом).



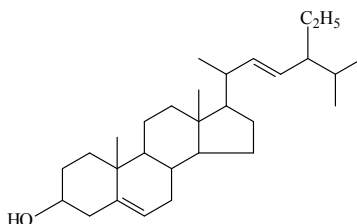
амирин



24-метиленциклоартанол



олеаноловый альдегид



β -ситостерин

Амирин, присутствующий в виде α - и β -изомеров примерно в равном соотношении (судя по симметричности сигнала олефинового протона в области 5,29-5,31 м.д.), содержится в неомыляемой фракции в количестве около 29%.

Таким образом, на основе современных методов анализа – хромато-масс-спектрометрического анализа и спектроскопии ПМР, удалось существенно расширить круг данных по качественному и количественному составу жирных кислот и неомыляемых липидов масла облепихи крушиновидной, произрастающей в Алтайской крае. К недостаткам этих методов, в случае ГЖХ с масс-спектрометрическим анализом, относится невозможность исследования нелетучих соединений и высокая погрешность при количественном определении компонентов сложных смесей; в случае спектроскопии

ПМР – недостаточная чувствительность и неселективность. При совместном использовании данные методы позволяют надежно и быстро определить основной состав исследуемых фракций облепихи, причем количественное содержание ряда соединений, анализируемых с помощью спектроскопии ПМР, может быть оценено с высокой точностью. Для уточнения полученных данных использовались методы ТСХ и ВЭЖХ. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Silufol. Растворяли 0,2 г облепихового масла в 1 мл хлороформа и наносили с помощью капилляра полученных 20%-ный раствор препарата на старт хроматографической пластинки длиной 7 см. Элюировали четыреххлористым углеродом. В видимой области наблюдается движение 5 пятен оранжево-красного цвета. Верхнее пятно имеет R_f 0,8-0,9 (β -каротин). Пластины вынимали из хроматографической камеры и оставляли на воздухе. В течение 1-2 часов окрашенные пятна тускнели и исчезали совсем (рис. 35). Методы ТСХ позволяют идентифицировать, при наличии стандартов, β -каротин, ликопин и еще ряд каротиноидов (на ТСХ присутствуют 4 индивидуальных пятна с характерным для каротиноидов окрашиванием).

Анализ методом ВЭЖХ проводился на хроматографе марки Beckman с УФ детектором в условиях градиентного элюирования при концентрации воды в смеси ацетонитрил – метанол (1:1) от 20% до 0 в течение 30 минут на колонке Hypersil C18 размером 4,6×150 мм с предколонкой длиной 30 мм, заполненной аналогичным сорбентом. Детектирование проводили при длине волны 254, 280 и 410 нм.

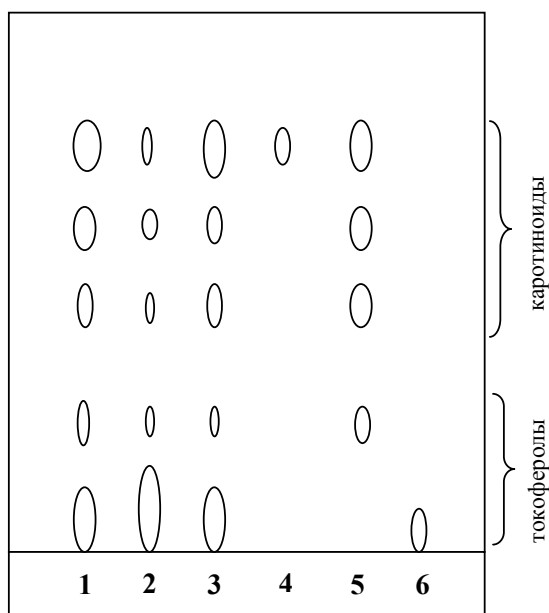


Рисунок 35 – Хроматограмма ТСХ хладоновых экстрактов и фармакопейного облепихового масла. Условные обозначения: 1 – концентрат облепихового масла, полученный экстракцией хладоном-11; 2 – облепиховое масло фармакопейное; 3 – концентрат облепихового масла, полученный экстракцией хладоном-12; 4 – β -каротин; 5 – препарат «Каротинил» (р/с 91/327/8); 6 – α -токоферола ацетат

В ходе ВЭЖХ исследования удалось подтвердить ранее полученные данные по соотношению каротиноидов (рис. 36 и 37), филлохинонов и токоферолов (рис. 38 и 39) в концентратах облепихового масла, полученных экстракцией хладоном-11 и хладоном-12. Они подтверждают практически одинаковую экстрагирующую способность этих растворителей в отношении токоферолов и филлохинонов.

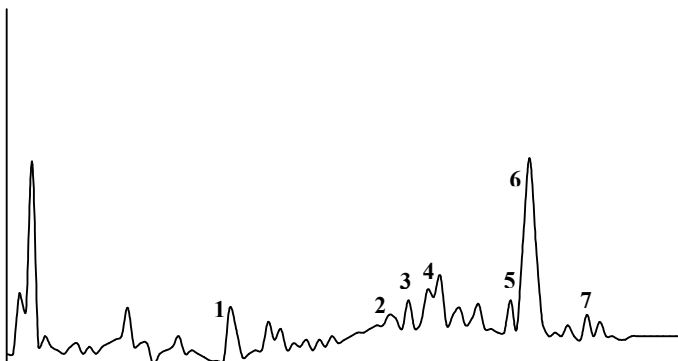


Рисунок 36 – Высокоэффективная жидкостная хроматография каротиноидов облепихового масла, полученного экстракцией хладоном-11 (УФ детектирование при 410 нм): 1 – криптоксантин; 2 – ауруксантин; 3 – зеаксантин; 4 – β -зеакаротин; 5 – ликопин; 6 – β -каротин; 7 – α -каротин

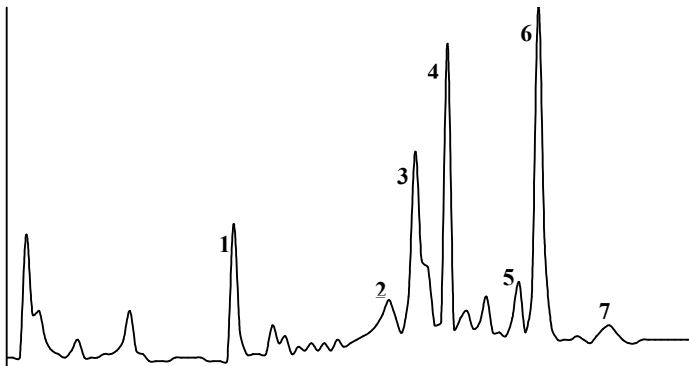


Рисунок 37 – Высокоэффективная жидкостная хроматография каротиноидов облепихового масла, полученного экстракцией хладоном-12 (УФ детектирование при 410 нм): 1 – криптоксантин; 2 – ауруксантин; 3 – зеаксантин; 4 – β -зеакаротин; 5 – ликопин; 6 – β -каротин; 7 – α -каротин

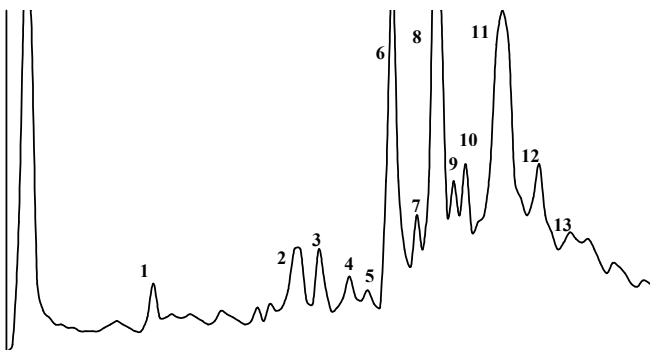


Рисунок 38 – Высокоэффективная жидкостная хроматография облепихового масла, полученного экстракцией хладоном-11 (УФ детектирование при 280 нм):
 1 – токоферилхинин; 2, 3, 4, 5, 6 – пальмитиновые и ацетатные эфиры α -, β - и γ -токоферола; 8 – филлохинон;
 9, 10, 11, 12, 13 – каротиноиды

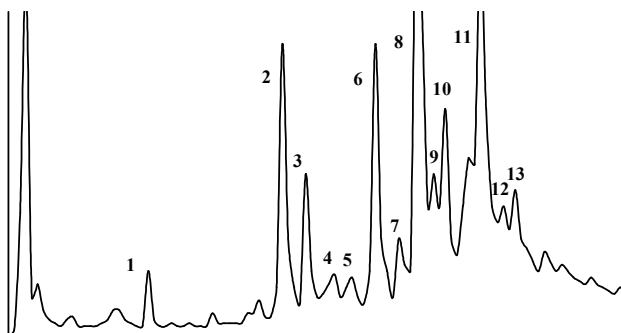


Рисунок 39 – Высокоэффективная жидкостная хроматография облепихового масла, полученного экстракцией хладоном-12 (УФ детектирование при 280 нм): 1 – токоферилхинин; 2, 3, 4, 5, 6 – пальмитиновые и ацетатные эфиры α -, β - и γ -токоферола;
 8 – филлохинон; 9, 10, 11, 12, 13 – каротиноиды

Влияние экстрагента на стабильность облепихового масла

В процессе длительного хранения фармакопейного масла наиболее заметные изменения среди нормативных показателей качества отмечены в содержании каротиноидов. Достаточно очевидно при этом влияние температурных режимов хранения. Потери каротиноидов в образцах фармакопейного масла при 12-15°C в течение 2 лет варьировали от 5 до 10-12%. При хранении масла в прохладном месте (12-15°C – предусмотрено фармакопейной статьей) концентрация каротиноидов снижается примерно в два раза медленнее, чем при комнатной температуре. Заметное влияние на стабильность препарата оказывает и способ его получения, в частности, выбор экстрагента. Более стабильными по составу каротиноидов являются образцы, приготовленные разведением концентрата, экстрагированного хладоном-12, по сравнению с маслом, экстрагированным подсолнечным маслом. Это, прежде всего, связано с более благоприятными условиями процесса извлечения масла хладоном: инертная атмосфера и сравнительно низкая температура.

Таким образом, на основе использования современных методов анализа, авторам удалось существенно расширить круг данных по качественному и количественному составу жирных кислот и неомыляемых липидов масла облепихи крушиновидной, произрастающей в Алтайском крае. При совместном использовании эти методы позволяют надежно определить основной состав исследуемых фракций облепихи, причем количественное содержание ряда соединений, анализируемых с помощью спектроскопии ПМР, может быть оценено с высокой точностью. Спектры стандартного (соответствующего ФС) облепихового масла и хладоновых экстрактов в УФ и видимой областях (рис. 40) позволяют утверждать, что хладон-12 обладает значительно большей экстра-

гирующей способностью по отношению к каротиноидам (область 450-470 нм).

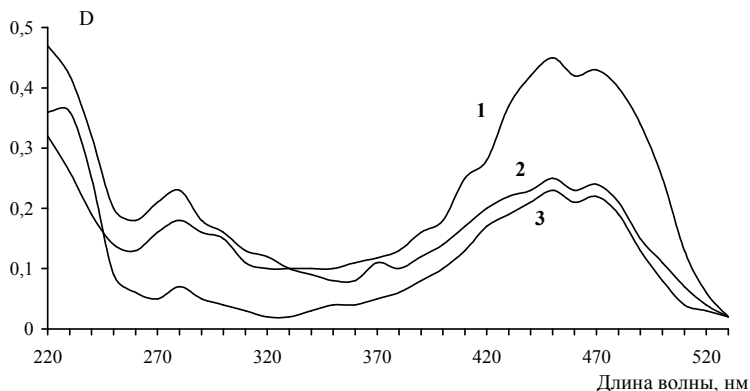


Рисунок 40 – Спектры поглощения образцов масел облепихи, полученных различными экстрагентами. Условные обозначения: 1 – масло, полученное экстракцией хладоном-12; 2 – масло, полученное экстракцией хладоном-11; 3 – фармакопейное облепиховое масло, полученное экстракцией подсолнечным маслом

Сравнительное изучение и CO_2 - и хладонового экстрактов из плодов облепихи кавказского и сибирского происхождения

Разработанные в Таджикском госуниверситете способ и установка для получения облепихового масла экстракцией хладоном-12 были защищены а.с. 1367472 (Андронов В.А., Зегельман А.Б., Кошелев Ю.А., Агеева Л.Д., Елфимов А.А., 1987) и внедрены на производстве. При всех преимуществах хладоном-12 в последние годы возникла проблема запрещения его использования в связи с озоноразрушающим воздействием на атмосферу Земли. В этом плане экологически безопасным экстрагентом с присущими газам достоинствами является углекислота (CO_2). Первые предварительные исследования этого экстрагента для получения облепихового масла были проведены на образцах жомы алтайской и кавказской облепихи в 1985 году в Краснодарском НИИ пищевой про-

мышленности; для сравнения был использован хладон-11 (Шафтан Э.А. и соавт. (1986)). В работе [56] приводятся результаты сравнительного исследования экстрактов, полученных из жом плодов облепихи сжиженными газами – хладон-11 и диоксидом углерода. Для исследования был взят жом плодов, собранных на Кавказе (получен с винзавода в Северной Осетии), и жом плодов, собранных в Сибири (получен с Бийского витаминного завода). Технический состав жом плодов кавказского образца облепихи при влажности 9,0% был следующим: плодовая мякоть и кожица составляли 39,9%, семена – 55,9%, веточки и другие органические примеси – 4,2%. Жом плодов сибирского образца при массовой доле влаги 7,0% содержал плодовой мякоти и кожицы 43,5%, семян – 50,0%, веточек и других органических примесей – 6,5%. Сырье (воздушно-сухой жом плодов) перед экстракцией измельчали в крупку диаметром 0,3-0,4 мм с последующим плющением на гладких вальцах в лепесток толщиной 0,12-0,20 мм.

Экстракцию объектов исследования диоксидом углерода проводили до полного истощения в лабораторных условиях в субкритическом режиме при комнатной температуре. Оптимальная продолжительность проточной экстракции жидкой двуокисью углерода была определена по результатам истощающей экстракции измельченного жома при 20°C. Экстракцию хладон-11 проводили при температуре 20°C до полного истощения испытуемого образца. Анализ исчерпывающей проточной экстракции жома плодов хладон-11 показал, что процесс массообмена проходит с переменной скоростью. Чем больше разность концентраций экстрактивных веществ в сырье и мисцелле, тем выше скорость экстракции. Благодаря этому, в отличие от экстракции жидкой двуокисью углерода, основная масса экстрактивных веществ извлекается первыми же порциями хладона-11 в течение 10-

15 мин., а исчерпывающая экстракция растягивается во времени до 60-80 мин. Суммарных выход хладонового экстракта из жома плодов кавказского образца составил 16,1%, а из сибирского – 31,6%. Оптимальная продолжительность проточной экстракции жома хладоном-11 – 30 мин. при соотношении сырья и растворителя 1:10. По сравнению с жидкой двуокисью углерода хладон-11 извлекает больше жирорастворимых веществ, и этим, очевидно, объясняется разница в величинах выхода экстрактов из одного вида сырья. ГЖХ анализ CO_2 - и хладонового экстрактов облепихи показал, что они очень близки по составу. Жирные кислоты в свободной и связанном виде представлены лауриновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислотами. Содержание суммы полиненасыщенных кислот (линолевой и линоленовой) в CO_2 -экстрактах из плодов кавказского и сибирского образцов составляет 13,0 и 15,1%, соответственно, а в хладоновых экстрактах – 10,6 и 13,5% (от суммы свободных и связанных кислот).

При исследовании CO_2 - и хладонового экстрактов методом ТСХ были обнаружены фосфолипиды, моно- и триглицериды, стеролы, токоферолы, каротиноиды, воски и углеводороды. Характерно, что на хроматограммах хладоновых экстрактов пятна, значения R_f которых позволяют отнести их к фосфолипидам, окрашены заметно интенсивнее и имеют больший размер, чем таковые CO_2 -экстрактов.

Сравнительный анализ состава CO_2 -экстрактов из жома плодов кавказского и сибирского образцов (табл. 26) показал, что они содержат практически одни и те же классы соединений, но существенно отличаются по количественному их содержанию. Так, в CO_2 -экстракте кавказского образца преобладают свободные кислоты, в то время как в CO_2 -экстракте сибирского образца в основном содержатся кислоты в связанном состоянии.

Таблица 26 – Характеристика СО₂-экстрактов облепихи, произрастающей на Кавказе и в Сибири*

Показатель качества	Место произрастания облепихи	
	Кавказ	Сибирь (Алтайский край)
Внешний вид	мазеподобная масса светло-желтого цвета	непрозрачная подвижная жидкость оранжевого цвета
Запах	характерный для облепихи с нотой жирного масла	
Показатель преломления при 20°C	1,4830	1,4710
Плотность при 20°C, г/см ³	0,9069	0,9073
Кислотное число, мг КОН	118,50	34,75
Растворимость в парфюм. масле	полная	
Растворимость в 96% спирте	частичная	
Колич. содержание: восков, %	32,10	следы
Неомыляемых веществ, %	37,00	13,30
Свободных кислот, %	20,30	4,70
Связанных кислот, %	8,20	78,60
Витамина С, %	21,0×10 ⁻³	19,0×10 ⁻³
Провитамина А (каротиноидов), %	2,1×10 ⁻³	59,2×10 ⁻³
Витамина Е (токоферолов), %	0,455	0,519
Витамина F (линолевой и линоленовой кислоты), % от суммы кислот	13,0	15,1

**Примечание: стерины в обоих экстрактах определены только качественно.*

В СО₂-экстракте облепихи кавказского происхождения обнаружено много воска (32,1%), в то же время СО₂-экстракты сибирского образца восков почти не содержат. СО₂-экстракт кавказского образца содержит почти в 30 раз меньше каротиноидов, чем таковой сибирского образца, по содержанию токоферолов он также немного уступает. Ка-

чественный состав хладоновых экстрактов из жома плодов кавказского и сибирского образцов также очень близок (табл. 27).

Таблица 27 – Характеристика хладоновых экстрактов облепихи, произрастающей на Кавказе и в Сибири

Показатель качества	Место произрастания облепихи	
	Кавказ	Сибирь (Алтайский край)
Внешний вид	мазеобразная масса желтого цвета	густая жидкость оранжевого цвета
Запах	характерный для облепихи с нотой жирного масла	
Показатель преломления при 20°C	1,4905	1,4903
Плотность при 20°C, г/см ³	0,9160	0,9278
Кислотное число, мг КОН	122,00	11,70
Растворимость в парфюм. масле	полная	
Растворимость в 96% спирте	частичная	
Колич. содержание: восков, %	24,24	следы
Неомыляемых веществ, %	17,14	9,70
Свободных кислот, %	34,50	2,12
Связанных кислот, %	8,50	80,22
Витамина С, %	13,7×10 ⁻³	10,2×10 ⁻³
Каротиноидов, %	153,0×10 ⁻³	406,2×10 ⁻³
Токоферолов, %	0,815	1,3
Полиненасыщенных кислот, % от суммы кислот	10,6	13,5
Стеринов, %	106,0×10 ⁻³	128,0×10 ⁻³

Что касается количественного содержания отдельных групп соединений, то наибольшая разница наблюдается в содержании восков и каротиноидов. Воски в ощутимых количествах обнаружены только в экстракте из жома плодов кавказского образца. Содержание каротиноидов в хладоновых

экстрактах значительно больше, чем в соответствующих CO_2 -экстрактах, а между собой хладоновые экстракты кавказского и сибирского образцов облепихи различаются гораздо меньше, чем CO_2 -экстракты. Очевидно, это связано с лучшей растворимостью всех форм каротиноидов в хладо-нах, чем в жидкой двуокиси углерода. Аскорбиновая кислота в CO_2 - и хладоновом экстрактах обнаружена в очень малых количествах, так как она непосредственно этими растворителями не извлекается, а попадает в экстракт с другими соединениями. Проведенные ранее исследования CO_2 -экстрактов других растений показали, что этот процесс не зависит от количественного содержания аскорбиновой кислоты в исходном сырье и в любом случае не превышает $20 \times 10^{-3}\%$. Для хладоновых экстрактов этот порог «соизвлечения» еще ниже – $13 \times 10^{-3}\%$.

Содержание других ценных групп соединений в хладоновых экстрактах обоих образцов значительно выше, чем в CO_2 -экстрактах этих образцов. Это, как уже отмечалось выше, связано с лучшим растворением жирорастворимых веществ в хладо-нах по сравнению с жидкой двуокисью углерода.

Таким образом, было установлено, что сжиженный диоксид углерода при давлении 5,6 МПа и температуре 20°C характеризуется низкой извлекающей способностью по отношению к маслу и основным биологически активным веществам облепихи.

Вместе с тем в 1997 году были запатентованы способ и линия переработки ягод облепихи (пат. 2099971, 2099987, Комяков О.К. и соавт.), предусматривающие, в частности, извлечение масла из сухого жома облепихи жидкой CO_2 в газожидкостном экстракторе с генератором УЗ-колебаний.

Об использовании CO_2 для получения облепихового масла есть информация в зарубежных публикациях (Китай,

Финляндия), но при этом предусмотрена экстракция в сверхкритических условиях, например, при 50°C и давлении 30 МПа (Heikki Kallio и соавт., 1995). В этой работе показано, что полученное таким образом масло было микробиологически чистым, несмотря на значительную обсемененность исходного сырья бактериями, дрожжами и в меньшей степени – плесенями.

О применении сверхкритической углекислотной экстракции для выделения облепихового масла из семян и плодовой кожицы облепихи сообщается в публикации Wang Boeing и соавт. (1993), но технологические параметры процесса не приведены. В работе китайских исследователей (Xin Yaonian и соавт., 1995) по предварительным данным отмечено, что в масле, полученном методом углекислотной сверхкритической экстракции (параметры не указаны), содержание фосфолипидов и неомыляемых субстанций ниже, чем в масле гексановой экстракции [31,46].

***Сравнительный анализ липидных комплексов,
липофильных фракций и сжиженногазовых экстрактов
из масличных растительных объектов***

Методы получения липофильных фракций из лекарственного растительного сырья базируются на применении экстракции органическими растворителями. Качественный и количественный состав экстрактов в данном случае существенно зависит от экстрагента. Так, например, известно, что из эфирно-масличного сырья при использовании в качестве экстрагентов дихлорэтана, четыреххлористого углерода, гексана не извлекаются углеводороды, а экстракция этанолом и ацетоном сопровождается значительным выходом балластных веществ, в частности пигментов. В настоящее время для получения липофильных фракций с биологической активно-

стью особое место уделяется использованию сжиженных газов в качестве экстрагентов [51,87].

В работе [51] проведена сравнительная оценка состава и физико-химических показателей липидных комплексов, полученных смесью органических растворителей, и СО₂-экстрактов из одних и тех же объектов. В качестве объектов исследования были использованы отходы промышленной переработки плодов укропа и кориандра, образовавшиеся после паровой перегонки эфирного масла, которое издавна применяется в медицинских целях и пищевой отрасли. Кроме эфирного масла, укроп и кориандр содержат значительное количество жирного масла, т.е. могут рассматриваться и как масличное сырье. Состав жирных кислот, определенный методом ГЖХ, представлен в табл. 28, а их основные числовые и физико-химические показатели, определенные фармакопейными методиками, представлены в табл. 29.

Таблица 28 – Жирнокислотный состав липидных комплексов и СО₂-экстрактов из плодов укропа и кориандра

Жирная кислота	Содержание, %			
	Липидный комплекс		СО ₂ -экстракт	
	укропа	кориандра	укропа	кориандра
Пальмитолеиновая	4,40±0,39	0,40±0,04	5,30±0,44	5,20±0,43
Пальмитиновая	6,60±0,58	7,90±0,70	5,60±0,47	1,50±0,14
Линолевая	16,40±0,80	15,90±0,82	25,00±1,09	19,50±0,82
Олеиновая	45,80±2,89	25,00±3,53	33,70±2,04	19,50±0,12
Стеариновая	1,40±0,13	1,20±0,11	5,20±0,47	1,30±0,12
Петрозелиновая	25,30±1,33	50,00±2,99	25,30±1,01	53,00±2,52

Для представителей сем. *Ariaceae* характерно наличие петрозелиновой кислоты, что позволяет использовать анализ состава триацилглицеролов для разработки показателей подлинности и доброкачественности масла и СО₂-экстракта.

Таблица 29 – Числовые и физико-химические показатели липидных комплексов и CO₂-экстрактов из плодов укропа и кориандра

Показатель	Липидный комплекс		CO ₂ -экстракт	
	укропа	кориандра	укропа	кориандра
Кислотное число	6,18±0,28	4,84±0,26	5,60±0,32	3,71±0,14
Число омыления	139,25±6,28	133,90±4,19	139,20±6,20	139,90±4,19
Эфирное число	191,14±0,85	177,39±0,97	133,65±3,30	130,19±2,19
Иодное число	82,20±4,98	72,81±4,69	97,45±6,08	80,50±3,51
Неомыляемая фракция, %	1,98±0,17	1,83±0,75	2,16±0,12	1,68±0,07
Коэффициент преломления	1,473±0,006	1,466±0,004	1,474±0,006	1,470±0,004
Температура замерзания, °C	-2,40±0,20	-2,21±0,19	-1,32±0,11	-1,26±0,10
Плотность, г/см ³	0,911±0,002	0,903±0,001	0,916±0,002	0,915±0,002

Кроме петрозелиновой кислоты, в составе исследуемых объектов преобладают линолевая и олеиновая кислоты, что позволяет их отнести к маслам невысыхающего типа. В липидных комплексах и CO₂-экстрактах исследованных объектов установлено наличие каротиноидов и фосфолипидов (табл. 30).

Таблица 30 – Суммарное содержание каротиноидов и фосфолипидов в липидном комплексе и CO₂-экстракте укропа и кориандра

Вещества	Содержание			
	в липидном комплексе		в CO ₂ -экстракте	
	укропа	кориандра	укропа	кориандра
Каротиноиды, мг%	46,88±1,37	5,25±0,32	9,61±0,48	5,73±0,26
Фосфолипиды, %	0,86±0,04	0,98±0,05	0,44±0,09	0,40±0,08

Работа [52] также посвящена сравнительному анализу показателей качества липофильных фракций лекарственного растительного сырья, полученных экстракцией органическими растворителями и жидким диоксидом углерода. Целью исследований является сопоставительный анализ показате-

лей качества липофильных фракций, полученных экстракцией органическими растворителями и жидким CO₂. Объектом исследования были семена винограда (*Vitis vinifera* L.) различных винодельческих сортов, являющиеся перспективным сырьем для получения жирного масла и полифенольного комплекса. Сумма липофильных веществ семян винограда (масло семян винограда) довольно широко используется в производстве косметических средств, в последнее время внедряется и в медицинскую практику.

В качестве органических растворителей были выбраны два широко применяемых в масложировой и фармацевтической промышленности экстрагента – бензин высокой степени очистки и н-гексан. В лабораторных условиях масла получали методом циркуляционного экстрагирования в аппарате Сокслета в течение 5,5 ч. Растворитель удаляли на ротаторно-вакуумном испарителе (разрежение 0,8 атм., температура 62°C).

CO₂-экстракт виноградных семян был получен на экспериментально-промышленном оборудовании. Стадия подготовки растительного сырья включала измельчение семян винограда до размера частиц 1-2 мм и лепесткование на валках. Толщина лепестка составляла 0,2 мм. Режим экстракции: температура 20°C, давление – в интервале от 5,6 МПа до критического, время экстракции – 120 мин. Анализ показателей качества органических экстрактов и CO₂-экстракта проводился в соответствии с *Государственной фармакопеей СССР X изд., ст. «Olea pinqia»*, и в соответствии с методиками *Государственной фармакопеи СССР XI изд.*

CO₂-экстракт семян винограда представляет собой маслянистую прозрачную жидкость желтого цвета с приятным запахом и горьким вкусом; липофильный комплекс, полученный экстракцией бензином – маслянистая жидкость темно-зеленого цвета с зеленой флюоресценцией, приятного за-

паха и горького вкуса. Липофильная фракция, полученная гексаном – маслянистая жидкость зеленовато-бурого цвета с зеленой флюоресценцией, также имеющая приятный запах и горький вкус. Все они практически нерастворимы в воде, легко растворимы в диэтиловом и петролейном эфире, хлороформе, ацетоне, абсолютном этаноле.

Проведенный химический анализ показал, что в полученных липидных комплексах отсутствуют парафины, воски, альдегиды. Основные числовые показатели масел из семян винограда, полученных тремя различными экстрагентами, представлены в табл. 31.

Таблица 31 – Физико-химические показатели липидных комплексов из семян винограда, полученных различными экстрагентами

Показатель	СО ₂ -экстракт	Масло, полученное	
		бензином	гексаном
Плотность, г/см ²	0,915	0,921	0,919
Показатель преломления	1,4722	1,4750	1,4745
Кислотное число	30,3±0,6	7,7±0,3	6,0±0,1
Число омыления	198,2±5,6	160,0±5,1	154,5±4,9
Эфирное число	167,9±3,1	152,3±2,7	148,5±2,5
Йодное число	115,8±1,8	109,1±0,9	110,2±1,3
Сумма каротиноидов, мг%	1,42±0,02	28,50±0,20	27,22±0,24
Сумма токоферолов, мг%	146,64±0,38	248,10±1,74	256,12±0,35

Из данных, представленных в таблице, видно, что СО₂-экстракт характеризуется более высоким содержанием свободных жирных кислот и заметно более низким уровнем неомыляемой фракции, включающей каротиноиды и токоферолы. Сходство большинства остальных показателей свидетельствует о возможности использования сжиженного СО₂ в качестве альтернативного экстрагента при промышленном производстве виноградного масла.

Экстракция хлопкового и подсолнечного масел сжиженным пропаном

Сжиженные углеводороды (пропан, бутан и др.) для экстракции жирного масла из семян масличных культур подходят даже в большей степени, чем диоксид углерода, поскольку они имеют более низкую полярность и не взаимодействуют с остаточной влагой, то есть качество масла будет практически идентично полученному бензином, гексаном или петролейным эфиром. Главный недостаток углеводородов – пожаро- и взрывоопасность. В работе [68] изучена динамика извлечения масла из семян подсолнечника и хлопка сжиженным пропаном при различных температуре и давлении.

Экстракцию растительного масла из семян подсолнуха и хлопчатника пропаном проводили на лабораторной установке, основной частью которого являлся толстостенный сосуд объемом 1 л с наружным электрообогревом. Внутри сосуда имелся плавающий поршень с уплотнительными манжетами, разделяющий сосуд на две камеры: рабочую, куда помещается исследуемый продукт и газ, и вспомогательную, в которую нагнетается минеральное масло для перемещения поршня в сосуде. В рабочую камеру сосуда загружали 200 г семян (без лузги), измельченных в мясорубке. Семена засыпали в марлевый мешочек. Затем сосуд закрывали пробкой и перепускали из баллона 600 г пропана. Далее температуру в сосуде поднимали до 100°C. При перемещении поршня в сосуде с образцом создавалось необходимое давление (50, 60, 80, 100 атм. и т.д.), при котором масла экстрагировались из семян. Содержимое сосуда в течение одного часа перемешивали, вращая сосуд вокруг горизонтальной оси. Затем газовую фазу выпускали через штуцер в тарированный стеклянный сборник, в котором из газа выделялось растительное масло, а газ (пропан) проходил через газовые часы для замера его объема. Зная количество выпущенного газового растворителя (по показанию газовых часов) и вес выделившегося масла,

можно определить растворимость растительного масла в газе при данном давлении и рассчитать выход масла из семян в процессе его экстракции сжатым газом. В семенах подсолнечника, с которыми проводились опыты, содержалось 52,7% подсолнечного масла и 3,43% влаги; в семенах хлопка – 36,9% масла, влаги – 4,55%. Результаты опытов по газовой экстракции подсолнечного и хлопкового масел из семян сжатым пропаном в соотношении (по весу) газа к сырью, равном 3:1, и времени контакта газа и сырья, равном часу, представлены в табл. 32.

**Таблица 32 – Экстракция растительных масел пропаном
(при 100°C)**

Давление, атм.	Содержа- ние масла в газе, г/нм ³	Выход масла, % от потен- циала	Давление, атм.	Содержа- ние масла в газе, г/нм ³	Выход масла, % от потен- циала
Подсолнечное масло			Хлопковое масло		
60	270	74	100	220	80
80	350	90	110	250	86
90	380	94	120	290	91
100	470	100	130	380	100

Данные таблицы показывают, что при 100°C и 90 атм. газ экстрагирует 94% масла от потенциала, а при 100°C и 100 атм. масло извлекается полностью. В опытах с хлопковыми семенами стопроцентное извлечение масла пропаном достигалось при 100°C и 130 атм. Полученные растительные масла анализировались по существующим стандартам. Белок и слизистые вещества в образцах масла отсутствовали, так как эти вещества в условиях экстракции в газе не растворялись. Масла по некоторым свойствам оказались близкими к нерафинированному подсолнечному и хлопковому маслам, а по другим свойствам, например по кислотности, намного превосходили их.

Результаты исследований, посвященных деацидификации (снижению уровня свободных жирных кислот) масла чернушки посевной (*Nigella sativa* L. сем. *Ranunculaceae*), приведены в работе [79]. В ней авторы дают сравнительную оценку состава и основных показателей качества масел, полученных четырьмя различными способами: холодным прессованием, экстракцией гексаном с термическим воздействием (в аппарате Сокслета), экстракцией гексаном без термического воздействия (мацерацией при комнатной температуре) и СКФ-CO₂-экстракцией при температуре 40°C и давлении 250 бар. Авторами были подобраны условия деацидификации масла чернушки, которую предложено проводить обработкой измельченных семян сверхкритическим флюидным CO₂ при 60°C и 150 бар (селективная экстракция свободных жирных кислот). Масло (рафинат), оставшееся в семенах после обработки в этих условиях в течение 1 и 2 часов, было извлечено гексаном в аппарате Сокслета и проанализировано в сравнении с нерафинированными маслами.

Чернушка – культивируемое с давних пор травянистое растение, которое распространено в регионах Средиземноморья. Семена чернушки применяются как приправа в пищу, в особенности в Италии, Германии, Южной Франции и Индии, как источник жирного масла, а также в народной медицине. Семена чернушки содержат 30-40% жирного масла, 0,5-1,5% эфирного масла. Масло чернушки, в отличие от большинства других обычных растительных масел, показывает большой разброс в содержании свободных жирных кислот (СЖК). Это связано с тем, что они содержат значительное количество липолитических ферментов – липаз (на их основе разработан препарат нигедаза). В высушенных семенах липазы в основном инактивированы, но когда их измельчают для получения масла, липазы и масла вступают в пря-

мой контакт, немедленно начинается реакция ферментативного гидролиза.

Таким образом, при измельчении семян было обнаружено увеличение СЖК в составе масла до 50% и выше, зависящее в основном от времени, пройденного между измельчением и экстракцией, температуры хранения измельченных семян, содержания влаги в семенах и относительной влажности в условиях хранения. Следовательно, типичной характеристикой масла семян чернушки является относительно высокое содержание СЖК. Это нежелательное явление наблюдается у ограниченного числа масличного сырья, которое содержит активные липазы, такие как олива, пальма, рисовые отруби [66].

В табл. 33 и 34 представлены данные о выходе (%), физико-химических показателях и составе жирных кислот для масел, полученных различными способами из семян чернушки (исходное содержание масла – 37,9%, остаточная влажность – 9,3%, степень измельчения – 0,3-0,5 мм).

Показатели кислотности масел, представленных в табл. 33, не сравнивались, так как их величины меняются в зависимости, главным образом от времени, прошедшем между измельчением и экстракцией, и было невозможно начать эксперименты по экстракции сразу после измельчения. Как показано в табл. 33, визуальное различие между маслами было в цвете масел.

Масло, полученное СКФ-СО₂-экстракцией, было значительно светлее. Между числами омыления и йодными числами у масел не было ощутимого различия, так как, как показано в табл. 34, составы ЖК масел, полученных разными методами, были очень схожи. Значимые различия в химических характеристиках этих масел были найдены для их гидроксильных чисел, пероксидных чисел и содержания неомыляемых веществ по сравнению с другими маслами.

Таблица 33 – Характеристика масел чернушки, полученных различными способами экстракции*

Показатель	Масло, полученное в аппарате Сокслета	Масло, полученное мацерацией гексаном без нагревания	Масло, полученное прессованием	Масло, полученное экстракцией СКФ-СО ₂
Выход продукта, %	100	н.о.	39,6	91,5
Цвет	коричневый	коричневый	коричневый	желтый
Кислотное число	37,5	11,8	11,5	20,4
Число омыления	201,8	192,1	188,6	187,1
Гидроксильное число	16,1	н.о.	19,3	87,2
Перекисное число	147,8	231,4	225,9	100,2
Йодное число	112,5	н.о.	116,4	н.о.
Неомыляемая фракция, %	1,52	н.о.	1,03	4,5
Эфирное масло, %	н.о.	н.о.	1,48	н.о.

**Примечание: н.о. – показатель не определялся.*

Таблица 34 – Состав жирных кислот масел чернушки, полученных различными способами экстракции

Жирная кислота	Масло, полученное			
	гексаном в аппарате Сокслета	гексаном мацерацией без нагревания	прессованием	экстракцией СКФ-СО ₂
Миристиновая	0,19	0,19	0,18	0,17
Пальмитиновая	12,07	11,88	11,72	11,82
Пальмитолеиновая	0,23	0,22	0,22	0,21
Стеариновая	3,01	2,94	2,90	2,98
Олеиновая	20,54	20,42	21,33	20,46
Линолевая	60,25	60,65	60,08	60,89
Эйкозодиеновая	3,71	3,70	3,57	3,47

Гидроксидное число характеризует содержание веществ, имеющих свободные гидроксигруппы, таких как жирные

спирты, стеролы, моно- и диглицериды. Стеролы, жирные спирты, углеводороды и пигменты были главными компонентами неомыляемой фракции масел.

Моно- и диглицериды могут рассматриваться как продукты неполного биосинтеза триацилглицеролов (незрелых семян) или результат частичного гидролиза, вызванного гидролитическими ферментами в прогорклых (частично окисленных) жирных продуктах. Очевидно, что высокие гидроксильные числа масел чернушки связаны, главным образом, с ферментативным гидролизом триглицеридов. Масло, экстрагированное СКФ-СО₂, имеет наибольшее гидроксильное число и неомыляемую фракцию, так как вещества, которые формируют эти показатели, имеют более низкую молекулярную массу и их летучесть немного выше.

Интересным результатом, представленным в табл. 33, является перекисное число всех масел чернушки. По сравнению с обычными растительными маслами, масло чернушки имеет очень высокое перекисное число. Перекисное число – величина, характеризующая содержание реактивного кислорода в масле, и это показатель степени окисления ненасыщенных ЖК. Но в маслах чернушки он может быть высоким вследствие присутствия кислородсодержащих производных эфирного масла. Это лучше видно в разнице между маслами, полученными гексаном при нагревании и при комнатной температуре. После удаления растворителя, масло, полученное в аппарате Сокслета, имело более низкое перекисное число, так как большая часть летучего и кислородсодержащего эфирного масла была удалена на стадии дистилляции экстрагента. Тот факт, что масло, экстрагированное СКФ-СО₂, имело более низкое перекисное число может быть связан с потерей летучих веществ при сбросе давления.

Деацидификация высококислотных масел может быть выполнена рафинированием извлеченного масла или нейтра-

лизацией щелочью. Эти методы не могут с успехом применяться для масел содержащих более 8-10% СЖК. Другой метод деацидификации высококислотных масел заключается в жидкость/жидкостной экстракции, основанной на различной растворимости кислот и триглицеридов в различных органических растворителях, таких как этанол, метанол, ацетон.

Альтернативный процесс деацидификации заключается в экстракции масел или масличных семян, содержащих большое количество СЖК, сжиженным диоксидом углерода в качестве экстрагента. В работе [79] была проведена СКФ-СО₂-экстракция при двух различных температурах (40 и 60°C), давлениях (15 и 20 МПа) и полярностях экстрагента (чистый СО₂ и СО₂/10% МеОН). Деацидификация высококислотного масла (37,7% СЖК) до низкокислотного масла (7,8% СЖК) была достигнута с чистым СО₂ при относительно низком давлении (15 МПа) и относительно высокой температуре (60°C), СЖК были количественно (90%) извлечены из масла, при этом в семенах осталась большая часть (77%) ценного нейтрального масла, которое извлекается на следующей стадии экстракции при более высоком давлении. Снижение температуры и увеличение давления, или увеличение полярности СКФ-СО₂ добавлением метанола как модификатора, значительно снижало селективность экстракции, количество нейтрального масла, соэкстрагированного со СЖК увеличилось с 23 до 94%.

Эксперименты по СКФ-СО₂-экстракции выполнялись на пилотной заводской установке и состояли из нескольких стадий. Сначала была выполнена исчерпывающая экстракция семян чернушки при 40°C и 250 бар в течение 2 ч, после которой оценивалось методом Сокслета остаточное содержание масла в шроте, оставшемся в экстракционной камере (корзине). Затем были проведены эксперименты по селективной экстракции СЖК (так называемой пре-экстракции), в кото-

рой семена экстрагировались при 60°C и 150 бар 1 и 2 часа. После экстракции были получены: экстракты 1 и 2 (в сепараторе) и семена из экстракционной камеры. Масла, оставшиеся в семенах, были экстрагированы методом Сокслета гексаном и обозначены как рафинат 1 и рафинат 2, их выход, которых рассчитывался от массы семян, оставшихся после селективной экстракции, составил 36,2% и 33,7%, соответственно. Характеристики масел (рафинатов 1 и 2), оставшихся в семенах после селективной СКФ-СО₂-экстракции (пре-экстракции), представлены в табл. 35 и сравнимы с таковыми исходного масла, полученного в аппарате Сокслета.

Таблица 35 – Характеристика масел чернушки, полученных после селективной СКФ-СО₂-экстракции

Показатель	Масло, экстрагированное гексаном в аппарате Сокслета	Рафинат 1	Рафинат 2
Выход продукта, %	100	79,0	70,8
Кислотное число	—	31,6	12,7
Число омыления	201,8	197,9	201,3
Гидроксильное число	17,9	15,5	16,1
Перекисное число	147,8	16,1	20,7
Йодное число	112,5	123,4	121,6

Из табл. 35 видно, что после селективной СКФ-СО₂-экстракции число омыления и йодное число исходного и рафинированного масел не изменилось, неизменным остается и состав их жирных кислот. В табл. 36 представлен состав жирных кислот продукта, полученного пре-экстракцией в течение 2 часов (экстракт 2), и масла, оставшегося в семенах после неё (рафинат 2).

Таблица 36 – Состав жирных кислот экстракта 2 и рафината 2

Жирная кислота	Экстракт 2	Рафинат 2
Миристиновая	0,25	0,16
Пальмитиновая	12,85	11,59
Пальмитолеиновая	0,20	0,16
Стеариновая	2,46	3,17
Олеиновая	19,65	20,34
Линолевая	60,88	60,70
Эйкозодиеновая	3,71	3,88

Рассчитанные авторами гидроксильные числа рафинатов оказались значительно ниже по сравнению с исходным маслом, экстрагированным СКФ-СО₂, так как в этих условиях была экстрагирована большая часть глицеридов. Это хорошо видно на ТСХ-хроматограмме экстрактов и рафинатов (рис. 41).

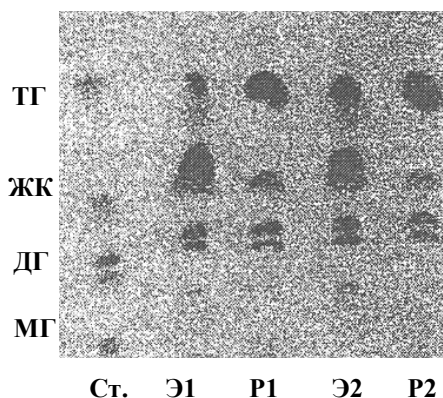


Рисунок 41 – Хроматограмма ТСХ продуктов пре-экстракции СКФ-СО₂ и рафинатов из семян чернушки. Условные обозначения: МГ – моноглицериды; ДГ – диглицериды; ЖК – жирные кислоты; ТГ – триглицериды; Ст. – смесь стандартных образцов; Э1, Р1 – экстракт, полученный презэкстракцией в течение 1 ч и соответствующий ему рафинат; Э2, Р2 – экстракт, полученный пре-экстракцией в течение 2 ч и соответствующий ему рафинат

Отсутствие качественных отличий в составе жирных кислот в рафинированном, нерафинированном маслах и экстракте, полученном пре-экстракцией, означает, что у СКФ-СО₂ не существует какой-либо селективности в отношении жирных кислот. Техника пре-экстракции позволяет, не меняя качественный состав, существенно снижать количество свободных жирных кислот, увеличивая тем самым биологическую ценность рафинированного масла чернушки. В соответствии с результатами, полученными в данном исследовании, было заключено, что пре-экстракцией семян СКФ-СО₂ при 60°C и 150 бар, кроме СЖК, извлекается большая часть эфирных масел, а также неомыляемые вещества, моно- и диглицериды.

Медицинские масла и масляные экстракты, получаемые традиционным путем и СО₂-экстракцией

Высыхающие масла

Масло льняное (*Oleum Lini*). Источник – семена льна обыкновенного (*Linum usitatissimum L.*). Получают путем горячего прессования из измельченных семян и экстракцией СО₂ в сверхкритическом режиме. Масло высыхающее, в его составе триглицериды линоленовой (40-45%), линолевой (25-35%), олеиновой (15-20%), пальмитиновой и стеариновой кислот; каротиноиды, токоферолы, стеролы. Наиболее важные компоненты льняного масла – α-линоленовая кислота (40-68%) и линолевая кислота (10-30%). Примерно 10% приходится на долю олеиновой кислоты и около 10% на насыщенные жирные кислоты.

Масло периллы (*Oleum Perillae*). Источник – семена периллы (*Perilla frutescens L.*). Предпочтительно получать его холодным прессованием или СО₂-экстракцией. Жирнокислотный состав масла представлен пальмитиновой (6,5%), стеариновой (1,4%), олеиновой (15,7%), линолевой (15,3%) и

α -линоленовой (60,9%) кислотами. Масло периллы наряду с льняным маслом и рыбьим жиром является одним из богатейших источников ω -3 и ω -6 полиненасыщенных жирных кислот – линоленовой и линолевой (4:1). Кроме того, масло содержит антиоксиданты – производные оксазолидинедиона и гидроксифениллактамида.

Масло энотеры (*Oleum Oenotherae*). Источник – семена энотеры двухлетней или вечерней примулы (*Oenothera biennis* L.). Получают путем прессования на спиральных прессах без нагрева. Семена очищают от примеси, оболочку размягчают паром. После фильтрации масло нейтрализуют щелочью, дезодорируют с помощью пара и фильтруют через активированный уголь. Масло энотеры экстрагируют также гексаном или сверхкритическим CO₂. В составе масла линолевая (55-80%), олеиновая (5-10%), γ -линоленовая (6-14%), пальмитиновая (4-7%) и стеариновая (1-3%) кислоты.

Полувывсыхающие масла

Масло виноградных семян (*Oleum Vitidis*). Источник – семена винограда (*Vitis vinifera* L.), которые содержат от 6% (в черных сортах) до 20% (в белых сортах) жирного масла. Семена винограда, являющиеся отходами винодельческого производства, отделяют, отмывают от углеводов и приставшей плодовой пульпы, сушат, сепарируют, перемалывают и прессуют или экстрагируют. Прессование осуществляют под давлением 50-100 кН при температуре 50-60°C. В качестве экстрагента используют CO₂. Основные жирные кислоты масла – линолевая (58-78%), олеиновая (12-28%) и пальмитиновая (5-10%), обнаружены также до 0,1% арахидиновой, 0,6% пальмитолеиновой и 0,4% линоленовой кислот.

Масло грецких орехов (*Oleum Juglans regia*). Источник – ядра грецкого ореха (*Juglans regia* L.). Получают прессованием и экстракцией органическими растворителями или CO₂.

Масло, получаемое CO_2 -экстракцией, может использоваться без дальнейшей очистки. Доминирующие жирные кислоты масла – линолевая (45-55%) и олеиновая (16-32%), обнаружены также 8-10% α -линоленовой кислоты, 5-7% γ -линоленовой кислоты и небольшое количество пальмитиновой, стеариновой и миристиновой кислот. Фракция фитостеринов представлена β -ситостерином (85%), δ -5-авенастеролом (7,3%), кампестеролом (4,6%), холестерином (1,1%). В масле грецких орехов обнаружено 2,3% сфинголипидов и 0,8% фосфолипидов. В составе сфинголипидов 64,7% приходится на керамиды 3-го и 4-го типов и 35,3% на галактозилкерамиды 1-го и 2-го типов. Основной фосфолипид – фосфатидилэтаноламин (48,5% фракции), обнаружены также фосфатидилхолин и фосфатидилинозитол.

Масло зародышей пшеницы (*Oleum Triticici*). Источник – хлопья зародышей пшеницы (*Triticum vulgare*). Масло получают холодным прессованием, CO_2 -экстракцией, экстракцией с использованием органических растворителей или их смесей. При использовании метода холодного прессования из 1000 кг зерна получают около 250 г масла. Зародыши подсушивают до влажности 6-8% в псевдосжиженном или виброслое при температуре не выше 80°C, затем сырье подается в веерную камеру. При достижении технологической температуры осуществляют пластификацию сырья, подавая в камеру масло из такого же сырья или масло, близкое по биохимическому составу. Такая обработка позволяет предотвращать нежелательные побочные процессы: образование новых белково-липидных комплексов и переход масла в связанное состояние; переход в липидную фракцию мембранных фосфолипидов, что снижает загрязнение масла белками и фосфолипидами; облегчает процесс выделения свободного масла с содержанием наиболее ценных компонентов – токоферолов

и ретиноидов – на уровне их содержания в липидной фракции исходного сырья.

Масло расторопши (*Oleum Silybi*). Источник – плоды расторопши пятнистой (*Silybum marianum*). Получают путем прессования и экстракцией хладонем. Масло характеризуется комплексом жирных полиненасыщенных кислот: линолевая (61-62%), олеиновая (21-22%), стеариновая (3,5-4%), арахидоновая (около 2%), пальмитиновая (около 9%), бегеновая (1-1,5%).

Масло шиповника (*Oleum Rosae*). Источник – сухие семена, отделенные от мякоти и являющиеся отходами промышленной переработки плодов шиповника (*Fructus rosae*). Получают экстракционными методами. Семена измельчают в дробилке и подают в экстрактор циркуляционного аппарата типа «Сокслет». Экстракцию проводят дихлорэтаном или хлористым метилом. В Харьковском НИХФИ предложено экстрагирование с помощью сжиженного газа (хладон-12). Для этого высушенные семена измельчают комбинированным способом: сначала на молотковой или дисковой, затем – на валковой дробилках до толщины лепестка 0,1-0,2 мм. Экстракцию ведут по традиционной схеме. При этом выход масла увеличивается на 10-15%. Жирное масло шиповника богато каротином и витамином Е, состоит из линолевой (57,8%), линоленовой (14,3%), олеиновой (19,1%), пальмитиновой (5,3%), арахидоновой (2,1%), миристиновой (1,15%), стеариновой (0,31%) кислот. Из отходов производства препарата «Холосас» с использованием РПА и растительного масла или хлористого метилена в качестве экстрагента получен каротиноидсодержащий комплекс. За счет интенсивного механического воздействия на частицы сырья, эффективной турбулизации и пульсаций потока достигается значительное ускорение процесса и увеличение выхода каротиноидов до 80-90%.

Масло лесного ореха (*Oleum Corili*). Источник – ядра плодов лещины (*Corilus avellana* L.). Цельные орехи лущат, отделяют ядра. Масло получают путем прессования или экстракции органическими растворителями или с использованием CO₂. В состав масла входят олеиновая (83-85%), линолевая (6-8%), пальмитиновая (5-6%) кислоты; стерины – β-ситостерин, кампестерин, стигмастерин, δ-5-авенастерин, ситостанин, δ-7-стигматерол; α-, β-, δ-токоферолы (380-460 мкг/г); фосфолипиды – фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол, фосфатидил этаноламин.

Масло персиковое (*Oleum persicorum*). Источник – семена персика (*Persica vulgaris* Mill.) и абрикоса (*Armeniaca vulgaris* Lam.). Масло получают методом холодного прессования. Исследования ряда авторов показали возможность получения персикового масла методом сверхкритической CO₂-экстракции. В составе масла обнаружены миристиновая, пальмитиновая, линоленовая, арахидовая кислоты, доминируют олеиновая (55-75%) и линолевая (15-35%) кислоты, а также токоферолы, фосфолипиды.

Масло черной смородины семян (*Oleum Ribes nigri*). Источник – семена плодов черной смородины (*Ribes nigrum* L.). Масло получают прессованием, экстракцией органическими растворителями в аппарате типа «Сокслет», CO₂-экстракцией. Жирнокислотный состав масла представлен в основном линоленовой (до 42%) и линолевой (до 25%) кислотами, обнаружены также олеиновая (до 14%), γ-линоленовая (15-20%), пальмитиновая (до 7%) и стеариновая (до 5%), стеариδοновая (3-6%) кислоты, каротиноиды (до 13 мг%), токоферолы.

Масляный экстракт плодов пальмы Сабаля. Плоды пальмы Сабаля (*Sabalisa serrulatae*, *Sereboa repens*, *Saw palmetto*) включены в Американскую (USP 25) и Европейскую фармакопеи (EP, Suppl. 4.3). Препараты, содержащие экстракт плодов пальмы Сабаля, используются для лечения доброкачественной гиперплазии предстательной железы, обладают выраженной противовоспалительной активностью, увеличивают потенцию. Отмечается также бактерицидная активность экстракта в отношении *Helicobacter pillory*. Масляный экстракт получают методом дробной мацерации этанолом или CO₂-экстракцией при сверхкритических условиях. Экстракт плодов сабаля представляет собой жидкость темного зеленовато-коричневого цвета с ароматным запахом. Основными компонентами экстракта (85-95%) является комплекс жирных кислот, включающий каприловую, пелларгоновую, каприновую, лауриновую, миристиновую, пальмитиновую, линоленовую, олеиновую и другие жирные кислоты и их эфиры.

Сжижено-газовые экстракты в промышленной технологии лекарств

Химический анализ суммарных комплексов и отдельных веществ, полученных с участием сжиженных газов указывают на то, что данная технология позволяет сохранять их физико-химические свойства, в связи с чем возникла задача ее применения в практике фармацевтических производств и включения хладоновых и CO₂-экстрактов в состав традиционных фитопрепаратов.

С целью сохранения основных фармакологических свойств, количественного и качественного состава лекарства, соответствующего стандартному, но приготовленного из экстрактов, полученных сжиженными газами, предложено несколько приёмов их обработки. Так, применение модифика-

торов (созэкстрагентов) в смеси со сжиженным газом позволяет получить экстракты более сложного состава, включающие терпены, антоцианы, катехины, другие биологически активные вещества, присутствующие в исходном экстрагируемом сырье.

Существует и иная схема получения экстрактов – аналогов галеновых препаратов. Как известно, после экстрагирования, например, углекислотой в шроте сохраняется значительная часть водорастворимых веществ. Такое обработанное сырьё дополнительно экстрагируют водой, водно-спиртовым раствором или другим соответствующим растворителем, а затем полученное извлечение для сохранения термолабильных соединений упаривают под вакуумом. Конечный продукт получают путём смешивания в рассчитанных пропорциях экстракта, полученного с помощью сжиженного газа, упаренной вытяжки и спирта требуемой концентрации.

В связи с тем, что большинство экстрактов, полученных с помощью сжиженных газов, ограниченно смешиваются с водой и водно-спиртовыми растворами, при необходимости приготовления эмульсий целесообразно применять поверхностно-активные вещества (дистеарата сахарозы), бентонит, или энергичное перемешивание, например ультразвуком. Добавление в эмульсию таких вспомогательных веществ, как альгинат-натрия, камеди, агар-агар, пектины и др., позволяет в 2–6 раз увеличить устойчивость эмульсии и длительность ее хранения. Если необходимо получить небольшие концентрации экстракта в водных растворах, то это целесообразно делать, используя технологические приёмы, аналогично получению ароматных вод из эфирных масел (экстракт предварительно растирают с тальком, бентонитом или сахаром).

При изготовлении твердых лекарственных форм, например, таблеток, необходимо проводить выбор вспомога-

ных веществ с учётом физико-химических свойств экстракта. Так, в связи с тем, что в экстракте валерианового корня, полученного с помощью сжиженного CO_2 , содержится большое количество изовалериановой кислоты (до 15,3%) и валтратов (до 20,0%), при изготовлении таблеток не рекомендуется использовать как наполнитель магния карбонат основной. Его щелочные свойства могут вызвать нейтрализацию изовалериановой кислоты и разрушение валтратов, очень чувствительных к воздействию щелочей и кислот. При использовании индифферентных веществ в качестве наполнителей получают таблетки, удовлетворяющие требованиям *Государственной фармакопеи X изд.* [33].

В настоящее время разработана технология получения таблеток экстракта валерианы, полученного с помощью сжиженного CO_2 , по следующей прописи: экстракта валерианы 0,022 г, сахара 0,46 г, крахмала 0,003 г, талька 0,015 г (из расчета на 1 таблетку). Сахар в виде пудры тщательно смешивают с экстрактом валерианы. Смесь увлажняют 5% крахмальным клейстером, гранулируют и сушат при температуре 30°C в течение 2 ч. Гранулят повторно протирают через сито, обсыпают тальком и прессуют. Доза экстракта валерианы в таблетке соответствует 1 г валерианового корня.

В практике химико-фармацевтических производств использование экстрактов, полученных с помощью сжиженных газов, возможно в различных технологических стадиях и процессах. Учитывая высокую концентрацию биологически активных веществ в экстракте, выгодно такие экстракты вводить в подготовленную массу сырья аэрозольным способом, например, нанося аэрозоль на гранулят. Преимущество внесения экстрактов таким образом заключается в том, что они равномерно распределяются по объему или поверхности продукта в нужной дозировке.

Одним из рациональных и современных способов использования экстрактов, полученных с помощью сжиженных газов, в составе лекарственных форм является изготовление микрокапсул (спансул), микродраже. Они представляют собой капельки жидкой фазы с одним или несколькими компонентами, покрытые эластичной пленкой полимеров желатина, модифицированного крахмала или целлюлозы (этил- и метилпроизводных), камедей, пектина, поливинилового спирта и т.д. Такие микрокапсулы имеют размер от 0,5 до 6000 мкм при толщине оболочки 0,5-200 мкм. В виде микродраже инкапсулируются в настоящее время различные лекарственные, витаминные, ферментные препараты, эфирные масла [33].

Существует несколько вариантов процесса изготовления микродраже. Процесс изготовления микродраже, как правило, состоит из нескольких стадий. Например, экстракт эмульгируют в водном растворе желатина при подобранных параметрах температуры и рН среды (с целью получения твердых капсул), переводя желатин в нерастворимую форму, благодаря чему он в виде мельчайших частичек фиксируется вокруг частички экстракта. Частицы желатина, содержащие внутри капли экстракта, всплывают, образуя основу микродраже в виде крепкой сферической пленки. После окончательного формирования слоя капсулы отделяют от раствора и высушивают. Полученные микродраже можно использовать в виде сыпучего легкодозированного порошка для производства таблеток, суспензии. Экстракты, полученные с помощью сжиженного CO_2 , длительное время сохраняют физико-химические свойства в составе любой лекарственной формы, при этом устраняется потеря легколетучих веществ.

Основная масса экстрактов из лекарственного сырья, полученных с помощью сжиженных газов, оказывает губительное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов. Найде-

но, что в концентрации 250-500 мкг/мл экстракты из корней аира болотного и листьев лавра благородного, полученные с помощью сжиженного CO_2 , угнетают рост стафилококков и спорообразующих бактерий, а смесь экстрактов лаврового листа и кориандра приводит к полной задержке роста кокковых, кишечного-тифозных микробов, спорообразующих бактерий. Экстрактом валерианы можно успешно лечить больных с кандидозами ротовой полости.

Выявленные антибактериальные свойства экстрактов, полученных экстракцией сжиженным CO_2 , открывают новые возможности использования их и как природных консервантов, особенно для жидких лекарственных форм, предназначенных для длительного хранения. Подбирая композиции экстрактов, можно на длительное время блокировать развитие микрофлоры в жидкостях. Получение экстрактов из лекарственного растительного сырья с помощью сжиженных газов выгодно экономически, так как этот способ экстракции дает возможность получать достаточно концентрированные препараты с относительно небольшой стоимостью.

Среди недостатков, присущих большинству CO_2 -экстрактов, исследователи отмечают их высокие кислотные числа. Одна из причин этого, вероятно, в том, что сжиженный диоксид углерода, испаряясь, удаляется из экстракта не полностью. Довольно значительная часть его, возможно, остается в растворенном состоянии в CO_2 -экстракте в виде карбоновой (или угольной) кислоты. Фитохимический анализ, проводимый традиционными методами, не позволяет ее обнаруживать, поэтому в литературе нет данных о примеси угольной кислоты в CO_2 -экстрактах.

С одной стороны, возможно, именно остаточное содержание углекислоты оказывает столь выраженный антисептический эффект, что, по отзывам специалистов, CO_2 -экстракты очень долго остаются стерильными и, соответственно, не

теряют основные «пищевые» свойства: вкус, запах, цвет. С другой стороны, низкие показатели pH и неизбежное присутствие воды в экстракте способствуют кислотному гидролизу. Скорость гидролитического распада зависит от строения извлеченных веществ, но можно с уверенностью сказать, что гидролиз сложных эфиров (в том числе триглицеридов, составляющих основу жирного масла) протекает очень быстро, возможно, уже в процессе экстракции. Химический анализ это подтверждает, практически все CO_2 -экстракты, полученные из жирномасличного сырья (в основном это семена), имеют высокое содержание свободных жирных кислот. Нельзя считать, что эти последствия CO_2 -экстракции негативны, поскольку жирные кислоты во многом остаются в нативном состоянии, но в отношении других биологически активных веществ влияние углекислоты может быть деструктивным и поэтому нуждается в дальнейшем изучении. Поскольку фитохимический анализ свежеприготовленных CO_2 -экстрактов показывает богатство и разнообразие содержания биологически активных веществ, присущих исходному сырью, остается изучить динамику тех изменений, которые происходят с ними в процессе хранения.

Явления, схожие с хемосорбцией, наблюдаются и в шроте, остающемся после CO_2 -экстракции. Изучение состава и основных параметров качества до и после хранения в течение года не выявило значимых различий в химическом составе и микробной обсемененности образцов, хранившихся в разных условиях. Результаты испытаний подтолкнули исследователей к идее добавления некоторого количества шрота после CO_2 -экстракции в сборы (чай), приготовленные из лекарственных растений, с целью повышения стабильности сборов в процессе хранения. Следует также учитывать тот факт, что оставшийся после экстракции шрот является полноценным источником многих биологически активных ве-

ществ. Это важно с точки зрения комплексного использования сырья и охраны природных растительных ресурсов, особенно с ограниченным ареалом распространения.

Применение хладонов в переработке лекарственного растительного сырья и производстве суммарных фитопрепаратов

В Государственном научном центре лекарственных средств (ГНЦЛС, г. Харьков) проводились исследования по использованию хлорфторпроизводных углеводородов (хладонов) ряда метана, этана, пропана и бутана в качестве растворителей биологически активных веществ. На лабораторной установке было исследовано свыше 25 объектов лекарственного и пищевого растительного сырья. Анализ результатов показал, что исследуемые хладоны извлекают эфирные и жирные масла, производные кумаринов: атамантин, пеуцениндин, бергаптен, ксантотоксин, псорален, виснадин и др., фуранохромон келлин, каротиноиды, токоферолы, сесквитерпены, терпеноиды, стерины, некоторые иридоиды, хлорофиллы, алкалоиды и ряд других природных соединений. Качественный состав экстрактов, полученных с применением хладонов, исследовался с помощью газожидкостной хроматографии, хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента. Как видно из табл. 37, выход экстрагируемых веществ при обработке различными хладонами одного и того же вида сырья неодинаков. Наиболее селективным растворителем в отношении эфирных масел является хладон-С318, практически не извлекающий жирных масел. Экстракты, полученные с помощью хладонов ряда метана (хладон-11, хладон-12, хладон-22), содержат смесь эфирных и жирных масел, каротиноиды, терпеноиды и др. природные вещества.

Таблица 37 – Основные параметры процесса экстракции липофильных веществ из лекарственного растительного сырья

Сырье	Марка хладона	Время экстракции, мин.	Степень измельчения, мм	Давление при экстракции, кгс/см ²	Выход экстрактивных веществ, %
Ромашки аптечной цветки	12	60	0,50	4,5-5,0	3,80
	22	60	0,50	8,5-9,0	5,63
	114	60	0,50	1,4-1,5	2,72
	C318	60	0,50	2,3-2,5	0,25
Календулы лекарственной цветки	12	40	0,35	4,5-5,0	4,80
	22	40	0,35	8,5-9,0	7,17
	114	40	0,35	1,4-1,5	2,30
	C318	40	0,35	2,3-2,5	0,80
Горичника горного корни	11	60	0,40	0,7-0,8	17,55
	12	60	0,40	4,5-5,0	18,25
	22	60	0,40	8,5-9,0	17,50
	114	60	0,40	1,4-1,5	12,30
Горичника горного плоды	12	40	0,25	4,5-5,0	23,03
	22	40	0,25	8,5-9,0	21,50
	114	40	0,25	1,4-1,5	21,50
	C318	40	0,25	2,3-2,5	0,50
Пастернака посевного плоды	12	100	0,15	4,5-5,0	20,40
Вязеля посевного плоды					
	22	40	0,78	8,5-9,0	7,08
Бессмертника песчаного цветки	12	60	не измельченные	4,-5,0	1,38
	114	60		1,4-1,5	1,70
	C318	60		2,3-2,5	1,66
Шалфея лекарственного листья	12	60	0,50	4,5-5,0	3,50
Амми зубной соцветия	22	65	0,50	8,5-9,0	7,08
Зверобоя продырявленного трава	12	120	0,25	4,5-5,0	8,42
Хмеля обыкновенного	12	95	0,30	4,5-5,0	8,42

Сырье	Марка хладона	Время экстракции, мин.	Степень измельчения, мм	Давление при экстракции, кгс/см ²	Выход экстрактивных веществ, %
шишки					
Девясила вы-сокого корни	12	90	0,50	4,5-5,0	4,30
	22	90	0,50	8,5-9,0	4,20
Лаванды ко-лосовой цветки	12	95	0,25	4,5-5,0	5,20
Кориандра плоды	12	70	0,05	4,5-5,0	23,00
Раувольфии змеиной кора	22	60	0,50	8,5-9,0	0,50
Шиповника коричнеого семена	12	40	0,15	4,5-5,0	7,30
Шиповника коричнеого околоплод-ники	12	90	0,15	4,5-5,0	2,80
Облепихи крушиновид-ной плоды	12	90	0,25	4,5-5,0	16,50
Перца одно-летнего пло-ды	12	45	0,25	4,5-5,0	9,58
Рябины обыкновен-ной плоды	12	60	0,25	4,5-5,0	2,50
Аронии чер-ноплодной плоды	12	60	0,25	4,5-5,0	2,00
Подсолнеч-ника одно-летнего се-мян жмых	12	90	0,45	4,5-5,0	18,40
Сои щетини-стой плоды	12	60	0,17	4,5-5,0	22,30
Амаранта се-мена	12	60	0,17	4,5-5,0	7,00
Томата семе-на	12	60	0,17	4,5-5,0	28,00

Сырье	Марка хладона	Время экстракции, мин.	Степень измельчения, мм	Давление при экстракции, кгс/см²	Выход экстрактивных веществ, %
Тыквы семена	12	60	0,17	4,5-5,0	27,50
Мяты перечной листья	12	60	0,30	4,5-5,0	3,20
Эвкалипта прутовидного листья	12	60	0,30	4,5-5,0	4,00
Цветочная пыльца	12	60	0,15	4,5-5,0	4,00

Следует также отметить, что в извлечениях, полученных хладоном-С318 и хладоном-114, отсутствуют хлорофиллы, что отличает эти растворители от хладонов ряда метана. Отмечено также, что продолжительность процесса экстрагирования хладоном сокращается, и упрощается технология выделения индивидуальных веществ.

Исследования показали, что хладоны обладают избирательной способностью в отношении природных веществ. Следовательно, уже на стадии экстрагирования, подвергая лекарственное растительное сырье последовательной обработке различными хладоном, можно получить отдельные группы биологически активных веществ. Также установлено, что хладоны не извлекают водорастворимых веществ (полисахариды, белки, фенольные соединения и др.). Поэтому шрот после обработки хладоном целесообразно использовать для получения других соединений, извлекаемых полярными растворителями. Последовательная обработка сырья хладоном, затем более полярными растворителями (вода, водно-спиртовые смеси, спирты, ацетон и др.), позволит комплексно использовать ценное растительное сырье.

Обработка растительного сырья сжиженными газами в целях извлечения природных веществ в нативном состоянии

относится к высокоэффективным технологическим процессам, улучшающим качество продукции, способствующим более рациональному использованию сырьевых ресурсов и материалов, а также обеспечивающим снижение трудовых и энергетических затрат.

На основании проведенных исследований разработана технология производства липофильных комплексов из лекарственного растительного сырья и опытно-промышленная установка для экстрагирования сжиженными газами. На рис. 42 представлена технологическая схема производства препаратов с использованием дихлордифторметана (хладо-на-12).

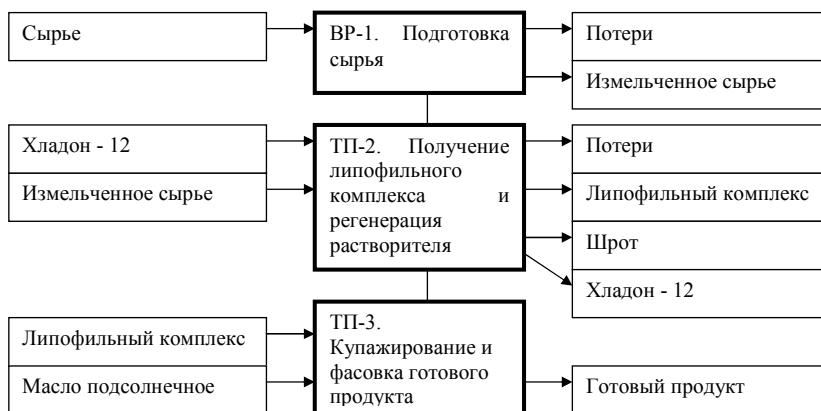


Рисунок 42 – Технологическая схема производства лекарственных препаратов с использованием хладагента-12

Технологический процесс заключается в следующем. Растительное сырье, измельченное комбинированным способом (сначала на молотковой или дисковой, затем на валковой дробилках) до толщины лепестка 0,1-0,2 мм, экстрагируют хладоном-12 в течение 3-х ч при температуре 18-25°C под давлением 4,5-5,5 кгс/см² и соотношении сырья к растворителю 1:5 в установке для экстрагирования сжиженным газом

с рециркуляцией последнего в замкнутом цикле. Полученный после экстрагирования продукт купажируют подсолнечным маслом в расчетных количествах до требований нормативно-технической документации и расфасовывают. При производстве масла шиповника и ликоперсикола купажирование не проводится.

По новой технологии осуществлен выпуск масла облепихового, масла шиповника, каротолина. Технология производства масла облепихового с использованием хладона-12 внедрена на ряде предприятий Минмедбиопроста и Госагропроста Украины. Разрешен к медицинскому применению новый лекарственный препарат аромелин, получаемый из отжатыа сухих плодов аронии черноплодной. Аромелин обладает противовоспалительным, ранозаживляющим, противоожоговым действием, превосходящим в 3-10 раз действие масла облепихового [12]. В настоящее время проводятся исследования новых препаратов, полученных с использованием хладона-12: сорбилина – из плодов рябины обыкновенной и ликоперсикола – из семян томатов.

Новая технология получения лекарственных средств с использованием сжиженных газов позволяет сократить продолжительность технологического процесса, уменьшить расходные нормы сырья и материалов, увеличить выпуск и улучшить качество выпускаемых препаратов.

Методологические подходы к технологии фитопрепаратов с участием сжиженногазовых экстрагентов

Существует несколько принципов классификации фитопрепаратов (по происхождению, химическому составу, фармакологическим свойствам, лекарственным формам и др.). Они позволяют разобраться в том, какое место занимает тот или иной уже разработанный и производимый препарат в ряду подобных ему лекарственных средств.

В том случае, когда стоит задача разработки нового фитопрепарата или, еще чаще, оптимизации технологии известной растительной субстанции, существует необходимость выбора технологических процессов на основе физико-химических свойств извлекаемых веществ. Одним из принципов новых методологических подходов к разработке и технологии фитопрепаратов может служить отношение того или иного природного вещества к полярности растворителя или экстрагента.

Экстрагенты и растворители, используемые в фитотехнологии, можно условно разделить на три группы – извлекающие преимущественно липофильные вещества (неполярные), извлекающие преимущественно гидрофильные вещества (полярные) и «универсальные», способные в зависимости от концентрации, pH, присутствия соэкстрагентов и др. факторов извлекать как полярные, так и малополярные соединения.

Как известно, промышленное производство фитопрепаратов включает в себя стадии экстракции, фракционирования, очистки целевых фракций от сопутствующих веществ, упаривания, сгущения, сушки, кристаллизации, осаждения и др. Часть операций, применяемых на стадиях экстракции, фракционирования и очистки суммарных фитопрепаратов, можно осуществлять с применением сжиженногазовых растворителей, которые, как было отмечено выше, преимущественно малополярны, но в определенных условиях (соразтворители, сверхкритическое флюидное состояние и др.) могут растворять и вещества гидрофильного характера.

На рис. 43-47 схематически представлены методологические подходы к получению растительных биологически активных субстанций, отдельных фракций, готовых фитопрепаратов, с применением сжиженногазовых экстрагентов.

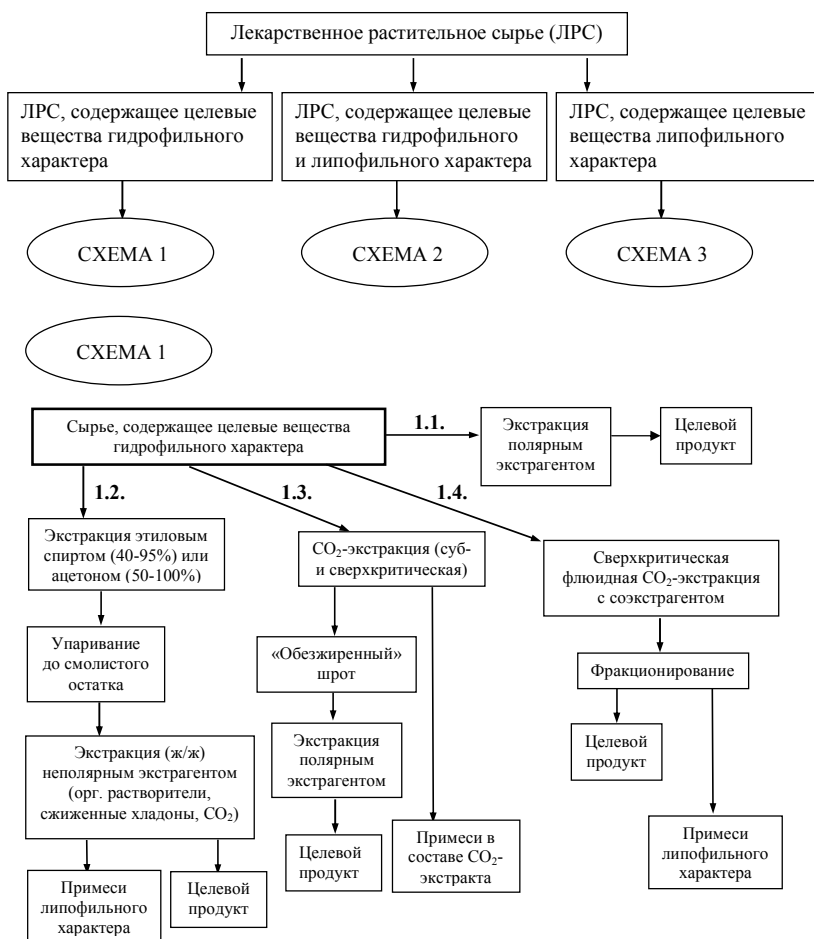


Рисунок 43 – Методологические подходы при производстве фитопрепаратов в зависимости от природы извлекаемых веществ и целевых продуктов. Схема 1 – целевые продукты гидрофильного характера

СХЕМА 2

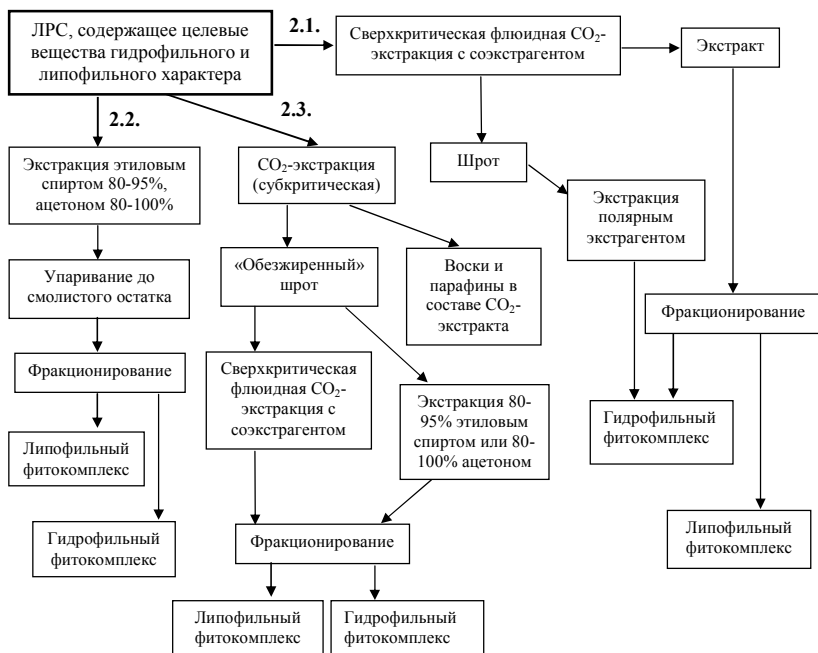


Рисунок 44 – Схема 2 – методологические подходы при производстве фитокомплексов гидрофильного и липофильного характера из одного сырья

СХЕМА 3

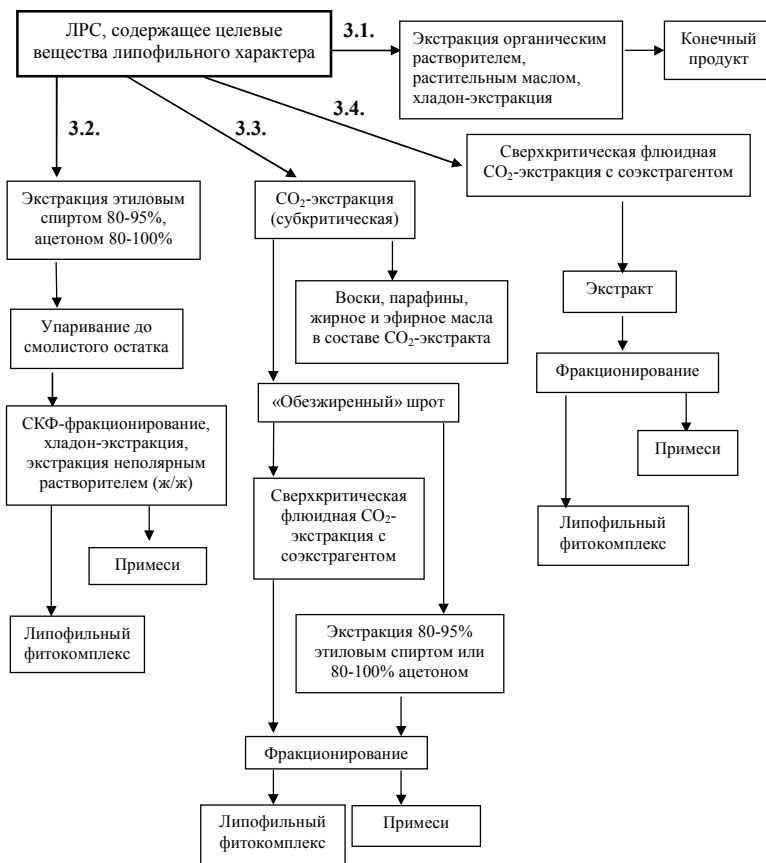


Рисунок 45 – Схема 3 – методологические подходы при производстве фитокомплексов липофильного характера

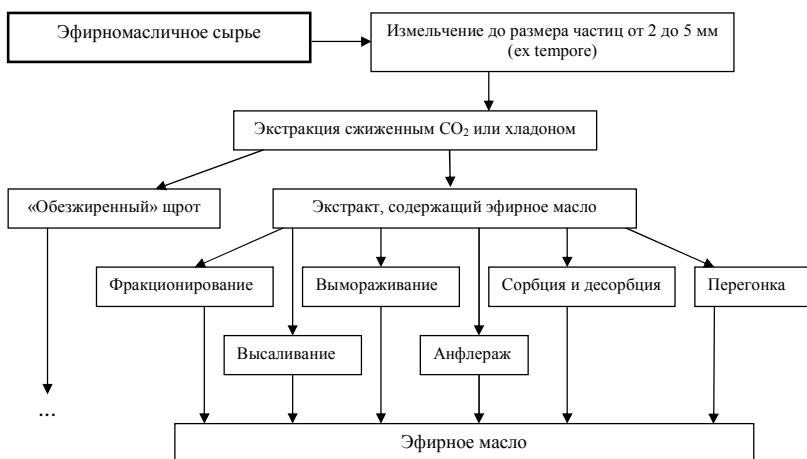


Рисунок 46 – Методологические подходы к получению эфирных масел с применением сжиженногазовых экстрагентов

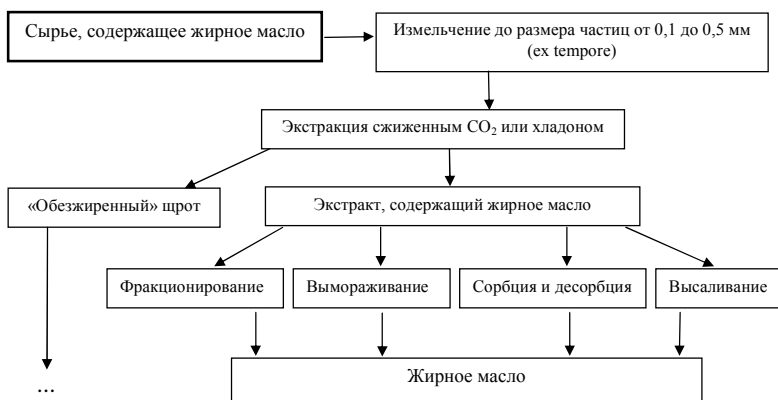


Рисунок 47 – Методологические подходы к получению жирных масел с применением сжиженногазовых экстрагентов

Схема 1.1 (рис. 43) предназначена для получения фито-препаратов из растительного сырья, содержащего преимущественно вещества гидрофильного характера, например, алтей лекарственный (сироп алтейный), семя льна цельное (слизь семян льна), листья подорожника (плантаглюцид), какао-вела (кавехол), плоды шиповника (сироп из плодов шиповника) и др. Использование каких-либо сжиженногазовых экстрагентов в данной схеме нецелесообразно, так как экстрагентом здесь преимущественно служит вода.

Схема 1.2 предназначена как для суммарных препаратов (экстрактов), так и индивидуальных веществ гидрофильного характера, в тех случаях, когда значительное содержание сопутствующих липофильных веществ требует проведения так называемого «обезжиривания». К примеру, сухие экстракты листьев сенны, плодов шиповника, цветков пижмы, листьев облепихи (гипорамин), субстанции фламин, коргликон, флакозид и др. производятся в две и более стадии, одна из которых исчерпывающее извлечение из сырья суммы экстрактивных веществ, другая – удаление нежелательных примесей липофильного характера. Применение на второй стадии сжиженногазовых экстрагентов значительно снизит вероятность токсических проявлений наиболее часто применяемых хлорсодержащих органических растворителей и позволит избежать необходимости удаления их следов, которое проводится при довольно высоких температурах. Однако практическая реализация в данном направлении будет возможна только после создания специального промышленного оборудования для жидкость-жидкостной экстракции с применением сжиженных газов.

Схемы 1.3 и 1.4 нашли отражение в ряде работ экспериментального характера и отражают зависимость селективных свойств сжиженного газа от условий экстракции (температуры, давления, наличия соэкстрагента и др.). Наиболее дос-

тупным для практической реализации является подход, отраженный в схеме 1.3, так как шрот, образующийся в существующих в настоящее время предприятиях по производству CO_2 -экстрактов, является по сути «обезжиренным» сырьем. Некоторым ограничением для данного подхода является то, что сырье при этом имеет высокую степень измельчения, поэтому нуждается в немедленной переработке либо (при транспортировании) в соответствующей упаковке, а также затрудняет экстракцию обычными экстрагентами.

Схема 2 (рис. 44) состоит из направлений комплексного подхода к промышленной переработке сырья в случаях, когда из одного растительного объекта производятся фитокомплексы как гидрофильного, так и липофильного характера. Яркими примерами, соответствующими этой схеме, являются разработки из плодов шиповника и облепихи, включающие липофильные (масла, концентраты каротиноидов и токоферолов) и гидрофильные препараты (концентраты биофлавоноидов). Схема 2.1 предусматривает воздействие на сырье сначала сверхкритического флюидного экстрагента с соизвлекателем, позволяющее произвести «глубокое» извлечение липофильного комплекса, затрагивающее и часть гидрофильных веществ. Их разделение можно осуществлять фракционированием полученного экстракта. Шрот, образующийся на данной стадии, подобно шроту по схеме 1.3, является полностью «обезжиренным», что позволяет сравнительно легко извлечь из него гидрофильный фитокомплекс.

Некоторое сходство со схемой 2.1 существует и в схеме 2.3. Отличие в том, что на начальной стадии производится частичная экстракция липофильных примесей, среди них кутикулярный воск, парафины и др., которые затрудняют проникновение в сырье экстрагента. Далее несколько возможных направлений позволяют получать качественные фито-

комплексы как липофильного, так и гидрофильного характера.

Схема 2.2 допускает применение сжиженногазового экстрагента на стадии фракционирования, которое, подобно схеме 1.2, может быть реализовано после соответствующего развития производственного оборудования. В существующих в настоящее время производствах на данной стадии используются органические растворители.

На рис. 45 представлена схема, позволяющая получать фитокомплексы, обладающие липофильными свойствами (жирные масла, масляные экстракты, концентраты каротиноидов, токоферолов, фитостеринов, препараты моно- и дитерпенов, сесквитерпеновых лактонов, жирных кислот и др.). Применение сжиженных газов (например, хладонов) в соответствии со схемой 3.1 позволяет получать продукты, во многом превосходящие по качеству аналогичные, получаемые по этой же схеме, но с применением органического растворителя и растительного масла. Примерами в данном случае могут служить препараты облепихи и шиповника (масла облепихи и шиповника, каротоллин и др.), жирные масла и масляные экстракты ряда масличных и лекарственных растений.

В существующих в настоящее время технологиях, реализованных в условиях промышленного производства, применяется подход, отраженный на схеме 3.2. Сырье, измельченное до размера частиц 3-5 мм, подвергается исчерпывающему экстрагированию ацетоном или этанолом (в некоторых случаях рекомендуется и метанол) высокой концентрации, позволяющей не избирательно извлекать как липофильную, так и гидрофильную фракции. Далее происходит фракционировании сначала по полярности, затем по ряду других свойств (растворимость, кислотно-основные свойства, химические свойства и др.) для выделения целевой фракции или

конечного продукта, обладающего липофильными свойствами. В качестве примеров можно упомянуть некоторые препараты эфирномасличных растений: эвкалипта (эвкалимин, хлорофиллипт), девясила (алантон), амми зубной (келлин), шалфея лекарственного (сальвин), шалфея мускатного (сальмус), облепихи (гипурсол), чабреца (терисерп) и др.

Процессы, принятые в производстве липофильных препаратов с успехом могут осуществляться и с применением сжиженногазовых растворителей в соответствии со схемами 3.3 и 3.4. Отличие между ними в параметрах экстракционного процесса или последовательности приложения сжиженного газа. Суб- (или около-) – критические условия экстракции позволяют удалять из растительного сырья преимущественно липофильные вещества, расположенные на поверхности частиц (кутикулярный воск, парафины, жирное масло), а также компоненты эфирного масла. Для этого предпочтительно применять однократное воздействие сжиженным газом, осуществляя тем самым «смыв» веществ с поверхности (стадия «быстрой» экстракции). В результате такой операции в сырье сохраняется значительная часть высокомолекулярных соединений липофильного характера (ди- и тритерпенов, витаминов, сложных эфиров, высших жирных кислот и др.), экстракция которых может осуществляться несколькими способами, включая применение сверхкритического флюидного экстрагента в сочетании с соизвлекателем.

Как было отмечено выше, сжижено-газовые экстрагенты могут с успехом применяться при получении жирного и эфирного масел. На рис. 46 представлена схема переработки растительного сырья, при которой целевым продуктом является эфирное масло, хотя не исключается и последующее применение «обезжиренного» шрота. Важной особенностью данного подхода является то, что для получения экстрактивного эфирного масла, более высокого качества, чем масло,

полученное гидродистилляцией, можно избежать необходимости применения на стадии переработки исходного растительного сырья пожаро- и взрывоопасных растворителей, таких как петролейный эфир, бензин и др.

Экстракт, полученный сжиженным газом, и содержащий эфирное масло, может быть подвергнут переработке одним из нескольких возможных способов с целью получения стандартного конечного продукта. Комплексный подход к промышленной переработке, например, лекарственного эфирномасличного сырья, позволит производить по предложенной схеме несколько целевых продуктов.

В том случае, когда основным целевым продуктом промышленной переработки растительного сырья является жирное масло, также может быть рациональным применение сжиженногазового экстрагента по схеме, представленной на рис. 47. Преимущество данного подхода еще более очевидно, если учесть, насколько трудной задачей является полное удаление из жирного масла органического растворителя (некоторые исследования, например, посвящены попыткам удаления органического растворителя из масла с помощью сжиженного газа [82]).

Заключение

В мировой практике одним из первых примеров применения диоксида углерода для экстракции в промышленном масштабе было извлечение кофеина из цельных зерен кофе с помощью диоксида углерода, находящегося в надкритическом состоянии. Основные принципы этого процесса были разработаны в Германии (ФРГ). В настоящее время кофеин таким способом извлекается из примерно 10 тыс. т кофе в год. Зеленые кофейные бобы, смешанные с активированным углем, загружаются в экстрактор. В него под давлением 15 МПа и при 80°C подается диоксид углерода. Кофеин довольно высокой чистоты извлекается из бобов без видимого ухудшения их аромата и переносится на активированный уголь, который по окончании процесса отсеивается на сите. Уголь, после отделения от него кофеина, вновь используется в производстве. Расширенный диоксид углерода сжимается компрессором и повторно используется для экстракции.

Такой же принцип заложен в процесс снижения калорийности орехов, без их разрушения и деформации, предложенный в Канаде. Данная технология позволяет получать практически цельные низкокалорийные орехи в результате удаления из сырого материала от 27 до 32% масла в процессе сверхкритического экстрагирования диоксидом углерода. В результате удастся получить низкокалорийные орехи высокого качества, хорошего внешнего вида и вкуса, чего невозможно было достичь ни отжимом, ни экстракцией гексаном.

Наиболее ярко преимущества использования сжиженно-газовых технологий видны на примере промышленного производства лецитина. В работе [14] представлена экономическая оценка эффективности промышленного производства очищенного лецитина и растительного масла из так называе-

мого необработанного пластичного лецитина, содержащего 65% лецитина и 35% растительного масла. Оценка проведена для случая использования для этой цели сверхкритического диоксида углерода в процессе, реализованном в 100-литровом экстракторе при 70°C и 69,0 МПа с периодичностью действия 1 цикл/час. Лецитин имеет широкую сферу применения, он используется в пищевой промышленности, при обработке кожи, текстиля, в производстве красок, мыла, косметики, смазочных масел. Широкое распространение лецитин получил в качестве биологически активной добавки к пище, призванной оказывать гипохолестеринемическое, гепато- и ангиопротекторное действие. Лецитин коммерчески представлен примерно в 40 видах – от неочищенных масляных экстрактов до высокоочищенных продуктов. Различие видов определяется различными путями переработки и, что естественно, по-разному оценивается.

Традиционное промышленное производство использует в качестве источника лецитина семена, главным образом, сои. В меньшей степени для этого применяются семена хлопка, рапса, подсолнечника, кукурузы. Зерновое масло, полученное отжимом, представляет собой смесь растительного масла и лецитина. Для очистки этой смеси от белка, ее обрабатывают горячим гексаном и фильтруют. Удаление гексана осуществляется в процессе дистилляции. Полученный таким образом лецитин называется пластическим и содержит значительное количество жирных кислот и их эфиров с глицерином (жирного масла), для удаления которых используется обработка ацетоном. Последний этап является одним из самых важных в лецитиновой технологии.

Таким образом, традиционная технология лецитина многостадийна, протекает при повышенных температурах, связана со взрывоопасным ацетоном и имеет существенный недостаток – необходимость строгого контроля содержания ос-

таточных растворителей – гексана и ацетона, поскольку почти 60% от объема получаемого лецитина используется в пищевой отрасли.

Почти все перечисленные проблемы (включая рентабельность производства) успешно решаются в случае использования процесса экстракции сверхкритическим диоксидом углерода. В результате этого процесса из пластичного лецитина получается растительное масло и полностью обезжиренный лецитиновый порошок, имеющий примерно в 10 раз большую рыночную стоимость по сравнению с продуктом, полученным традиционным путем. Следует также отметить, что обезжиренный лецитин содержит до 20% ценного с фармацевтической точки зрения фосфатидилхолина, который применяется как вспомогательное вещество при производстве капсул, спансул и в составе некоторых лекарственных препаратов.

Практически всеми исследователями, отмечается тот факт, что качество липидов, получаемых методом сверхкритического экстрагирования, значительно выше, а потери тех же белков и степень их денатурации оказываются значительно меньшими, чем при воздействии традиционным органическим растворителем.

По мнению большинства исследователей, перспективы поступательного развития сверхкритических технологий, особенно в области переработки пищевых продуктов и производства лекарственных препаратов, однозначно положительны. Это мнение представляется еще более убедительным, если учесть, что в последние годы появляются законы, предписывающие запрет к использованию некоторых органических растворителей в экстракционных процессах пищевой и фармацевтической отраслей промышленности, таких как бензол, этилацетат, хлористый метилен и др. Все более строгими становятся нормы, касающиеся допустимого со-

держания остаточного растворителя в конечном продукте, и все чаще возникают ситуации, когда традиционные (классические) методы оказываются неспособными им удовлетворить. Поэтому безвредность диоксида углерода, используемого в большинстве случаев, является определяющим фактором даже в случаях, когда стоимость процесса сверхкритического флюидного экстрагирования значительно превышает ту, которая имеет место при использовании органического растворителя. Типичным примером является процесс декофеинизации кофе, стоимость которого в классическом варианте исполнения с использованием в качестве экстрагента хлористого метилена уступает издержкам внедренного в настоящее время всеми ведущими фирмами сверхкритического варианта экстрагирования. Возможности, которые кроются в области использования суб- и сверхкритических флюидов в различных сферах производства, до конца еще не выявлены. Речь идет о новом подходе в технологии, за которым в будущем может иметь место не один успех или результативное решение проблем выработки принципиально новых и особо чистых материалов, экологической безопасности и малоотходности технологических процессов, энерго- и ресурсосбережения. Вместе с тем несомненен и тот факт, что суб- и сверхкритические экстракционные процессы не являются решением для всех случаев. Их использование является целесообразным, прежде всего там, где традиционные подходы оказываются неспособными соответствовать всем неизменно возрастающим требованиям. Очевидным является и то, что суб- и сверхкритические экстракционные процессы не являются лишь модификацией традиционных подходов и поэтому требуют к себе особого отношения в равной степени, как на этапе лабораторного исследования, так и на последующих этапах проектирования оборудования, и, наконец, широкого внедрения в производственную практику.

Список использованной литературы

1. Абрашин, А.В. Изучение биологической активности липосомального геля с CO₂-экстрактом лавра благородного А.В. Абрашин, Л.М. Кузякова // Здоровье и болезнь как состояния человека: сб. статей. – Ставрополь, 2000.
2. Аветисова, О.С. Сравнительное изучение липидного комплекса и CO₂-экстракта абрикоса обыкновенного / О.С. Аветисова, О.В. Нестерова, И.А. Самылина // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 6 Междунар. съезда. – С.-Пб., 2002.
3. Адуkenов, С.М. Арглабин – противоопухолевое средство из полыни гладкой (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.) / С.М. Адуkenов // Росс. биотехнол. журн. – Т. 1, № 2. – 2002.
4. Алаев, Б.С. Добывание душистых веществ из растений: Экстракция и адсорбция / Б.С. Алаев. – М.: Гизлегпром, 1933.
5. Александров, Л.Г. Исследование процесса экстракции веществ из растительного сырья сжиженным углекислым газом: автореф. дис... канд. техн. наук / Александров Л.Г. – Краснодар. – 1973.
6. Алиев, А.М. Получение и сепарация биологически активных веществ сверхкритическими флюидами / А.М. Алиев // Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии: материалы Междунар. конф. – Луга, 2001.
7. Антибиотические свойства экстрактов, извлеченных сжиженной углекислотой из лекарственных растений / М.Л. Ханин [и др.] // Хим.-фармац. журн. – № 2. – 1968.

8. Артемьев, Б.В. Хроматомасс-спектрометрическое исследование состава эфирного масла листьев *Laurus nobilis* L. / Б.В. Артемьев // Раст. ресурсы. – Т. 16. – Вып. 2. – 1980.
9. Беликов, В.Г. Газо-хроматографическая оценка качества CO₂-экстракта почек березы / В.Г. Беликов, Ю.В. Березовская, С.В. Клочков // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (55;2000;Пятигорск): материалы... – Пятигорск, 2000.
10. Биологически активные вещества CO₂-экстрактов / Т.В. Пилипенко [и др.] // Изв. вузов. пищ. технол. – № 4. – 1999.
11. Будько, И.С. Жидкая углекислота как растворитель эфирных масел / И.С. Будько // Труды КНИИПП. – Вып. 4. – 1948.
12. Ветров, П.П. Экстрагирование природных веществ из растительного сырья сжиженными газами / П.П. Ветров // Технология и стандартизация лекарств: сб. науч. трудов ГНЦЛС. – Харьков: Рирег, 1996.
13. Влияние компонентов сверхкритических экстрактов чеснока на различные виды адаптивного поведения. / Г.Г. Баригян [и др.] // Химия и технология растительных веществ: материалы 2-й Всеросс. конф. – Казань, 2002.
14. Гумеров, Ф.М. Суб- и сверхкритические флюиды в процессах переработки полимеров / Ф.М. Гумеров, А.Н. Сабирзянов, Г.И. Гумерова. – Казань: Изд-во «Фэн», 2000. – 328 с.
15. Жузе, Т.П. Сжатые газы как растворители / Т.П. Жузе. – М.: Наука, 1974.

16. Задерякина, З.Г. О возможности измельчения растительного сырья путем разрыва в среде уголекислоты / З.Г. Задерякина // материалы 3-го Всероссийск. съезда фармацевтов. – Свердловск, 1975.
17. Зилфикаров, И.Н. Возможности использования CO₂-экстрактов пряно-ароматического сырья в фармации и медицине / Зилфикаров И.Н. // Химия в технологии и медицине: матер. Всеросс. науч.-практ. конф. – Махачкала, 2001.
18. Зилфикаров, И.Н. Сравнительный анализ эфирного масла и CO₂-экстрактов полыни эстрагон / И.Н. Зилфикаров, А.М. Агларова // Фармация. – № 3. – 2006.
19. Зилфикаров И.Н. Перспективы сверхкритических флюидных технологий в фармацевтической практике / И.Н. Зилфикаров [и др.] // Регион. конф. по фармации, фармакологии и подготовке кадров (60;2005;Пятигорск): материалы... – Пятигорск, 2005.
20. Изучение гепатопротекторной активности растительного сырья, полученного экстракцией сверхкритического уголекислотного флюида. / Н.Ж. Басченко[и др.] // Сверхкритические флюидные технологии: инновац. потенциал России: материалы I Междунар. науч.-практ. конф. – Ростов-на-Дону, 2004.
21. Касьянов, Г.И. Технологические основы CO₂ обработки растительного сырья / Г.И. Касьянов. – М.: Пищ. пром., 1994.
22. Касьянов, Г.И. Жидкая двуокись углерода как экстрагент душистых и биологически активных веществ растительного сырья / Г.И. Касьянов, А.В. Пехов, В.И. Бессарабов. – Краснодар, 1980.

23. Касьянов, Г.И. Натуральные пищевые ароматизаторы – CO₂-экстракты / Г.И. Касьянов, А.В. Пехов, А.А. Таран. – М.: Пищ. пром, 1978.
24. Касьянов, Г.И. Исследование CO₂-экстрактов из корней и корневищ *Potentilla erecta* L. и *Archangelica officinalis* Moench. / Г.И. Касьянов, Э.А. Шафтан, Е.С. Климова // Химия природ. соед. – № 1. – 1977.
25. Катюжанская, А.Н. Получение CO₂-экстракта *Cinnamomus Sieboldi* Meissn и *Cureuma domestica* Val., интродуцированных в субтропиках СССР / А.Н. Катюжанская, Н.Ф. Дюбанькова, А.В. Пехов // Раст. ресурсы. – Т. 12. – Вып. 2. – 1976.
26. Кечатова, Н.А. Сжиженный углекислый газ как экстрагент сесквитерпеноидов полыни таврической / Н.А. Кечатова // Актуальные вопросы фармации. – Ставрополь, 1974. – Вып. 2.
27. Кечатова, Н.А. Получение нативного экстракта крапивы двудомной с помощью сжиженного углекислого газа / Н.А. Кечатова, А.В. Пехов, Н.Ф. Дюбанькова // материалы 3-го Всеросс. съезда фармацевтов. – Свердловск, 1975.
28. Кинетика экстрагирования двуокисью углерода / Е.П. Кошевой [и др.] // Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Технич. науки. – № 4. – 2000.
29. Киселев, В.Э. Производство восстановленного табака и использованием CO₂-экстракции при комплексной утилизации табачных отходов: автореф. дисс. ... канд. техн. наук / Киселев В.Э. – Краснодар: КубГТУ, 2000.
30. Кричевский, И.Р. Термодинамика критически бесконечно разбавленных растворов / И.Р. Кричевский. – М.: Химия, 1975.
31. Кошелев, Ю.А. Облепиха / Ю.А. Кошелев, Л.А. Агеева. – Бийск, 2004.

32. Меджидов, М.Н. Применение геля с СО₂-экстрактом гвоздики и эвкалипта в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / М.Н. Меджидов, И.Н. Зилфикаров, Е.А. Беловолова // материалы Всеросс. науч.-практ. конф. «Химия в технологии и медицине. – Махачкала, 2002.
33. Молчанов, Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья / Г.И. Молчанов. – М.: Медицина, 1981.
34. Мухамеджанова, Д.М. Исследование комплекса биологически активных веществ различных видов шиповника и создание лекарственных препаратов на основе безотходной технологии: дис. ... д-ра фармац. наук / Мухамеджанова Д.М. – М.: НИИФ, 1995.
35. Нилов, В.И. Способ извлечения пиретринов из далматской ромашки / В.И. Нилов // Авт. св. СССР № 62747. – 1943.
36. Новый гипополипидемический препарат «Атеролид» / Р.М. Аксартов [и др.] // Фундаментальные проблемы фармакологии: материалы 2-го съезда фармакологов. – Ч. 1. – Москва, 2003.
37. Пехов, А.В. Исследование экстракции растительного сырья сжиженными газами и использование продуктов в промышленности: автореф. дис. ... канд. техн. наук / А.В. Пехов. – Харьков, 1968.
38. Пехов, А.В. СО₂-экстракция / А.В. Пехов, Г.И. Касьянов, А.Н. Катюжанская. – М.: Пищ. пром, 1992.
39. Пехов, А.В. Экстракция сжиженными газами / А.В. Пехов, С.А. Попова, Г.К. Гончаренко // Совершенствование теории и техники экстрагирования из твердых материалов с целью создания высокоэффективных автоматизированных экстракторов. – Киев, 1974.

40. Пехов А.В. Эффективность использования жидкой двуокиси углерода при экстрактивном способе переработки растительного сырья / А.В. Пехов [и др.]. – М.: Пищ. пром, 1984.
41. Пономарев, В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В.Д. Пономарев. – М.: Медицина, 1976.
42. Прокопчук, А.Ф. Производство CO₂-экстрактов из эфирно-масличного и лекарственного ароматического сырья / А.Ф. Прокопчук, И.К. Гетманский, А.М. Прокопенко // Масло-жировая пром. – № 5. – 1974.
43. Пути интенсификации процесса экстрагирования растительного сырья и совершенствование способов его расчета. / И.А. Муравьев [и др.] // материалы 2-го Всесоюзн. съезда фармацевтов. – Рига, 1974.
44. Разработка методов стандартизации липидного комплекса и CO₂-экстракта жмыха плодов укропа и кориандра. / Е.А. Королева [и др.] // Фармация на совр. этапе – проблемы и достижения: сб. науч. трудов. – Т. 39. – Ч. 2. – Москва, 2000.
45. Саид-Галиев, Э.Е. Достоинства и недостатки жидкого и сверхкритического диоксида углерода как растворителя / Э.Е. Саид-Галиев, Л.Н. Никитин, А.Р. Хохлов // Сверхкритические флюидные технологии: инновационный потенциал России: материалы I Междунар. науч.-практ. конф. – Ростов-на-Дону, 2004.
46. Северцева, О.В. Исследование состава облепихового масла и разработка новой лекарственной формы облепихового масла и его заменителя – препарата Аекол: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Северцева О.В. – С.-Пб., 1997.

47. Сенчило, О.П. О возможностях применения сверхкритических технологий в пищевой промышленности / О.П. Сенчило, И.Ю. Попова // Сверхкритические флюидные технологии: инновационный потенциал России: материалы I Междунар. науч.-практ. конф. – Ростов-на-Дону, 2004.
48. Сверхкритическая флюидная хроматография / под ред. Р. Смита. – М.: Мир, 1991.
49. Сметанин, Ю.И. Об использовании сжиженного углекислого газа в качестве экстрагента при производстве препаратов валерианы: автореф. дис. ... канд. фармац. наук / Сметанин Ю.И. – Харьков, 1970.
50. Сметанин, Ю.И. Получение галенового препарата валерианы с помощью сжиженного углекислого газа / Ю.И. Сметанин, И.А. Муравьев, Е.А. Кечатов // Хим.-фармац. журн. – № 1. – 1970.
51. Фетисова, А.Н. Сравнительный анализ показателей качества липофильных фракций лекарственного растительного сырья, полученных экстракцией органическими растворителями и жидким диоксидом углерода / А.Н. Фетисова, А.В. Еремина, О.В. Нестерова // Фитофарм 2001: материалы 5-го Междунар. съезда. – С.-Пб., 2001.
52. Фетисова, А.Н. Особенности современных способов получения жирного масла из лекарственного растительного сырья и перспективные технологии / А.Н. Фетисова, В.А. Попков, А.Н. Пихоцкий // Фитофарм 2003: материалы 7 Междунар. съезда. – С.-Пб., 2003.
53. Фракционирование и анализ сверхкритического флюидного СО₂-экстракта шалфея лекарственного / И.Н. Зилфикаров [и др.] // Фитофарм 2005: материалы 9 Междунар. съезда. – С.-Пб., 2005.

54. Ханина, М.А. Полыни Сибири и Дальнего Востока (фармакогностические исследования и перспективы использования в медицине): автореф. дис. ... д-ра фармац. наук / Ханина М.А. – Пермь: СибГМУ, 1999.
55. Чемезов, С.А. Оценка биологической и фармакологической активности углекислотного (CO₂) экстракта пихты: дис. ... канд. мед. наук / Чемезов С.А. – Екатеринбург, 2001.
56. Шафтан, Э.А. Сравнительное изучение хладонового и углекислотного экстрактов из воздушно-сухого жома плодов *Hippophae rhamnoides* L. кавказского и сибирского происхождения / Э.А. Шафтан [и др.] // Раст. ресурсы. – Вып. 1. – 1986.
57. Шиков, А.Н. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства / А.Н. Шиков, В.Г. Макаров, В.Е. Рыженков. – М.: Русский врач, 2004.
58. Шишков, Г.З. Технология получения CO₂-экстракта при комплексной переработке сырья шалфея настоящего: автореф. дис. ... канд. техн. наук / Шишков Г.З. – Ленинград, 1985.
59. Экстракция кумариносодержащего сырья жидкой двуокисью углерода / А.В. Пехов [и др.] // Обзор. инф. – Вып. 2. – М.: Парф.-косметич. и эфиромаслич. пром., 1976.
60. Экстракция липидов из растительного сырья сжиженными и сжатыми газами / В.Э. Банашек [и др.] // Обзор. инф. – Вып. 3. – М.: Парф.-косметич. и эфиромаслич. пром. – 1987.

61. Юркин, В.Г. Теоретические основы использования особенностей околкритического состояния веществ для целей извлечения, разделения и концентрирования. Пути околкритической сверхэкстракции / В.Г. Юркин // Успехи химии. – Т. 64, № 3. – 1995.
62. Aliev, A.M. A determination of optimum parameters of the SC CO₂ extraction and separation of biologically valuable substances from raw materials of herbal and animal origin / A.M. Aliev // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
63. Aliev, A.M. The Visual investigation of solubility of biological active substances / A.M. Aliev, G.V. Stepanov // 9-th Meeting on Supercritical Fluids. – Trieste, Italy. – 2004.
64. Aksu, P. Investigation of antioxidant activity of Rosemary extract obtained by supercritical-CO₂ extraction in sunflower oil / P. Aksu, Y. Hisil // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
65. Bacterial inactivation by using near- and supercritical carbon dioxide / Angela K. Dillow [et al.] // Medical Sciences. – Vol. 96. – 1999.
66. Catchpole, O.J. Extraction of Polyunsaturated Fatty Acids and Fatty Acid Ethyl Esters from Urea Solutions Using Supercritical CO₂ / O.J. Catchpole [et al.] // Proc. Meeting of Supercritical Fluids. – Venice, Italy. – 2002.
67. Crabas, N. Extraction, separation and isolation of volatiles and dyes from Calendula officinalis L. and Lemon verbena by supercritical CO₂ / N. Crabas // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.

68. Daood, H.G. Chemical alteration on photosynthetic pigments as a function of supercritical carbon dioxide and subcritical propane extraction of plant leaves / H.G. Daood, V. Ilies, S. Hamdan // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
69. DeSimone, J.M. The carbon dioxide technology platform: from surfactants to microelectronics / J.M. DeSimone, J.D. Polley // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 1. – University Bordeaux 1. – 2002.
70. Fetisova, A.N. Vegetable CO₂-extracts qualitative and quantitative characteristics / A.N. Fetisova // Proceeding of 8th International Congress “Phytopharm 2004”. – Mikkeli, Finland. – 2004.
71. Fostter, N.R. Coprecipitation of Pharmaceuticals Using GAS Antisolvent Technique / N.R. Fostter, R. Mamucari, F. Dehdhani // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
72. Gamiz-Garcia, L. Continuous subcritical water extraction of medical plant essential oil: comparison with conventional techniques / L. Gamiz-Garcia, M.D. Luque de Castro // Talah-
ta. – Vol. 51, № 6. – 2000.
73. Gomes, A.M. Modelling of supercritical CO₂ extraction of wheat Germ oil / A.M. Gomes // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
74. Kajimoto, O. Solvation and its effects on chemical reactions in supercritical fluids / O. Kajimoto // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 1. – University Bordeaux 1. – 2002.

75. Removal of residual monomer from polymer-products using supercritical carbon dioxide / M. Kemmere [et al.] // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
76. Recovery of volatile essential oils from citron (*Citrus junos*) peel with supercritical carbon dioxide / S.J. Lee [et al.] // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
77. Lipid System Micronization for Pharmaceutical applications by PGSS Techniques / N. Elvassore [et al.] // Proc. 6th International Symposium on Supercritical Fluids. – Versailles, France. – 2003.
78. Nevruzov, I.A. A mathematical model of the supercritical extraction of oil from plant seed / I.A. Nevruzov, A.M. Aliev // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
79. Ozmen, S. Characterization and refining of Black Cumin oil by supercritical carbon dioxide extraction / S. Ozmen // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
80. Paulaytis, M.E. Supercritical Fluid Science and Technology / M.E. Paulaytis // ACS. Symp. – Ser. 400. – Washington, 1989.
81. Perrut, M. Pharmaceutical application of supercritical fluids / M. Perrut // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 1. – University Bordeaux 1. – 2002.
82. Hexane elimination from soybean oil by continuous packed tower processing with supercritical CO₂ / E. Reverchon [et al.] // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – Vol. 77, № 1. – 2000.

83. Scrugli, S. A preliminary study on the application of supercritical antisolvent technique to the fractionation of Tobacco extracts / S. Scrugli // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
84. Scuires, N.G. Supercritical Fluid: Chemical Engineering principles and application / N.G. Scuires, M.E. Paulaytis // ACS. Symp. – Ser. 329. – Washington, 1987.
85. Silva, M.V. The solubility of aromatic components of wine in supercritical carbon dioxide / M.V. Silva, D. Barbosa // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
86. Sokolova, M. Extraction of polyphenols from plants with modified supercritical carbone dioxide / M. Sokolova, M. Vaher, M. Koel // Proceeding of the 8th Meeting on supercritical fluids. – T. 2. – University Bordeaux 1. – 2002.
87. Taylor, Scott L. Optimizaton of the extraction and fractionation of corn brian oil using analytical supercritical fluid instrumentation / Scott L. Taylor, Jerry W. King // J. Chromatogr. Sci. – Vol. 38, № 3. – 2000.

Научное издание

И.Н. Зилфикаров, В.А. Челомбитько, А.М. Алиев

**Обработка лекарственного
растительного сырья сжиженными
газами и сверхкритическими
флюидами**

Монография

Подготовка оригинал-макета выполнена научно-информационным отделом Пятигорской государственной фармацевтической академии в составе:

***М.В. Гаврилин,
Т.М. Браташова,
Л.М. Трофимчук,
Е.А. Максимова***

Корректор *Т.Н. Щиrowsкая*

Компьютерная вёрстка *А.В. Смирнов*

Тираж 1000 экз.