
УДК 664.8.022

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЦЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ ИЗ СЕМЯН ОСЛИННИКА ДВУЛЕТНЕГО (*OENOTHERA BIENNIS L.*) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ЭКСТРАКЦИИ

¹Д. Ю. Залепугин, ²В. А. Быков, ²Г. И. Климахин, ¹Н. А. Тилькунова,
¹В. С. Мишин, ¹И. В. Чернышова, ¹Ю. С. Яшин, ²М. С. Демин

¹Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии
(ГосНИИОХТ), Москва, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических
растений (ВИЛАР) РАСХН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 15.08.2008 г.

Впервые разработан метод извлечения масла из жмыха семян ослинника двулетнего экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода. Изучена зависимость показателей данного процесса от температуры и давления. Определен качественный и количественный состав полученного жирного масла. Предложенный метод позволяет с высоким выходом получать качественное масло, не содержащее примесей органических растворителей и готовое к практическому использованию без дополнительной переработки. Кроме того, исследован способ утилизации оставшегося шрота с выделением полярной полифенольной фракции с использованием ускоренной жидкостной экстракции изопропанолом.

Ключевые слова: сверхкритическая флюидная экстракция, ускоренная жидкостная экстракция, ослинник двулетний (примула вечерняя), газовая хроматография, газовая хроматография-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Ослинник двулетний (примула вечерняя) — крупное растение семейства кипрейных с желтыми цветами. В его семенах накапливается 17÷23 % масла, которое содержит полиненасыщенные жирные кислоты, в частности, линолевую (~70÷75 %) и чрезвычайно ценную γ -линоленовую (8÷10 %) [1]. Известно не так много растительных источников γ -линоленовой кислоты: она содержится в масле семян огуречной травы [2], черной смородины [2] и в маслах некоторых разновидностей грибов [3].

Спектр биологической активности веществ, входящих в состав ослинника, чрезвычайно широк. Это выраженное противоопухолевое действие в отношении клеточных линий саркомы [4], рака молочной железы [5, 6], а также противовирусное действие, предотвращающее развитие папиллом [7]. Возможно, механизм противоопухолевого действия связан со способностью полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав масла, регулировать уровень цитокинов (интерферона- γ , фактора некроза опухолей — ФНО- α и др.) [8]. В масле содержатся вещества, способствующие лечению остеопороза [9], гиперактивности у детей [10], защищающие слизистую желудка, особенно при применении нестероидных противовоспалительных препаратов [11]. Полиненасыщенные кислоты являются активными

Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего (Oenothera biennis L.) с использованием современных методов экстракции

антиоксидантами, что, видимо, является причиной антиатерогенного [12], кардиотропного [13], а также противовоспалительного [14] действия. Масло ослинника может эффективно использоваться в офтальмологии для устранения сухости слизистой глаз при использовании контактных линз [15], в терапии таких трудноизлечимых заболеваний, как склеродерма [16] и красная волчанка [17], а также в гинекологии [18].

Следует отметить, что шрот, остающийся после выделения масла из семян ослинника, содержит большое количество антиоксидантов и также является ценным сырьем для дальнейшего использования в медицине [19]. Большинство биологически активных веществ, входящих в состав шрота, можно выделить экстракцией полярными растворителями. Показано, что экстракт шрота обладает выраженным противоопухолевым действием в отношении опухолевой линии асцита Эрлиха [20—23] и карциномы CaCo(2) [24]. Также имеются данные о том, что экстракт шрота способен существенно понижать уровень холестерина [25].

Ослинник двулетний — достаточно распространенное и довольно неприхотливое растение. Имеются сведения, что он произрастает даже на сильно засоленных почвах [26]. Исследователи, занимающиеся изучением состава данной растительной матрицы, отмечают, что соотношение основных компонентов состава в значительной степени определяется условиями произрастания [27]. Так, содержание основных полиненасыщенных кислот существенно зависит от климатических условий [28], содержания азота в почве [29, 30], а также времени и метода сбора.

В России до недавнего времени данное лекарственное растение не культивировалось. После многолетних исследований в 2005 г. во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) была успешно завершена интродукция ослинника двулетнего. На опытно-производственной плантации в Московской области при полной механизации основных работ получено с каждого гектара более одной тонны семян новой лекарственной культуры.

Препараты на основе ослинника двулетнего до сих пор относятся к редким и дорогим. Это связано с тем, что полиненасыщенные кислоты, входящие в состав его масла, термически нестабильны и при извлечении их, а также в процессе хранения при положительных температурах быстро теряют свою активность [31]. Для сохранения в неизменном виде биологически активных компонентов масла в настоящее время достаточно широко используется метод холодного прессования. Однако при этом до 50 % жирного масла остается в жмыхе, так как семена ослинника мелкие (масса 1000 шт. — 0,4 г) и покрыты твердой оболочкой [32].

В последнее время для извлечения масла из натуральных матриц широко используется экстракция растворителями в сверхкритическом состоянии [33—36]. Данный метод был успешно использован для извлечения масла из семян мушмулы германской и черного тмина [37], рапса, оливок, шиповника [38], амаранта [39], фенхеля [40], виноградных косточек [41], подсолнечника [42], кориандра [43], огуречной травы [44], петрушек [45], рисовых отрубей [46] и аниса [47].

Наряду с маслом, из растительного сырья методом сверхкритической флюидной экстракции (СФЭ) можно извлекать также другие ценные вещества. Так, например, из кардамона вместе с маслом, используя сверхкритический диоксид углерода (СК-CO₂), извлекают ценные антиоксиданты [48], а из соевого шрота, наряду с остатками масла, экстрагируют изофлавоны [49]. По данным ряда исследователей, применение СК-CO₂ в процессе экстракции позволяет сохранять тер-

молабильные и химически неустойчивые вещества. Так, при экстракции масла из семян чертополоха происходит ингибиование реакции липолиза, происходящего при других видах экстракции и значительно ухудшающего качество получаемого продукта [50]. В ряде работ показана высокая эффективность процессов, совмещающих СФЭ с другими процессами, например, с механическим прессованием в процессе получения масла льна и конопли [51] или ультразвуковой обработкой при получении масла из семян *Coix lacrimal-jobi L.* [52]. На примере экстракции из семян крушины показано, что СФЭ диоксидом углерода позволяет достичь более высокого выхода стеролов в масле по сравнению с холодным прессованием и экстракцией гексаном в экстракторе Сокслета [53]. При извлечении масла из семян шиповника, сравнивая различные методы экстракции (микроволновую, ультразвуковую и в экстракторе Сокслета с использованием органических растворителей) с экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода, особо отмечается, что лишь в результате СФЭ образуется продукт, который можно использовать в медицине и пищевой промышленности без дополнительной очистки [54]. Следует отметить, что масло, извлекаемое из семян подсолнечника с помощью СК-СО₂ в определенных условиях (при давлении 250 атм и температуре 60 °C), по своим характеристикам практически полностью соответствует рафинированному [55]. Имеются сведения об успешном использовании в процессе экстракции (помимо СК-СО₂) сверхкритического пропана [56]. В последнее время на основании многочисленных данных по экстракции масел из семян разработаны математические модели, с различной степенью точности описывающие данный процесс [57–60].

Использование сверхкритических растворителей позволяет проводить эффективную экстракцию при пониженных температурах, что дает возможность сохранить термически лабильные компоненты [61], в частности, полиненасыщенные кислоты.

С высокой эффективностью СК-СО₂ был впервые применен для извлечения масла из семян ослинника двулетнего в России (ГосНИИОХТ) в 2003 г. [62].

Целью данной работы является разработка процесса сверхкритической СО₂ экстракции масла из жмыха семян ослинника после вскрытия их оболочки на прессе для холодного прессования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперименты по экстракции жмыха семян ослинника двулетнего диоксидом углерода в сверхкритическом состоянии проводились на экстракционной установке фирмы «SITEC», Швейцария. Общий вид установки представлен на рис. 1. Принципиальная схема экстракционного контура представлена на рис. 2.

Работа экстракционной установки фирмы «SITEC» осуществляется следующим образом: после загрузки сырья в экстрактор *B1* включаются системы подогрева экстрактора, сепараторов и устанавливаются заданные температуры, затем включаются система охлаждения насоса высокого давления *TC4* и система охлаждения для конденсации СО₂ *TC*. Затем открываются вентили *V1* и *V2* для подачи СО₂ из баллона в насос *P*, при достижении заданных температур экстрактора и сепараторов включается насос высокого давления, СО₂ поступает в экстрактор и, пройдя через слой сырья, в сепараторы *B2* и *B3* через систему запорных вентилей (*V3*, *V4*, *V6*, *V7*, *V9*) и электрических пневмоклапанов *C1*–*C3*. Установка и поддержание температур экстрактора и сепараторов осуществляется с помощью элект-

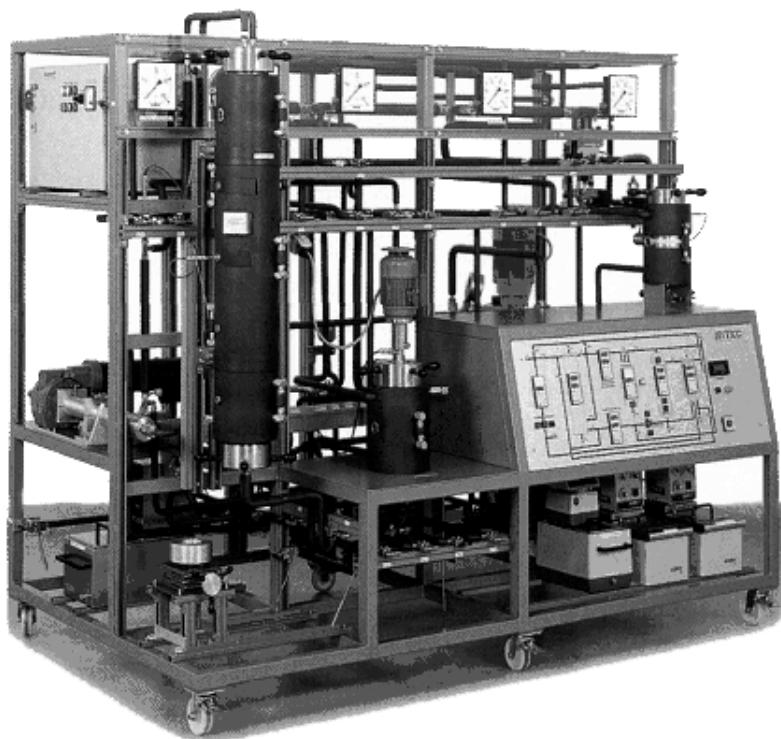


Рис. 1. Экстракционная установка фирмы «SITEC», Швейцария

ронных задатчиков температур, управляющих электрическими пневмоклапанами, включенными в систему циркуляции жидкости терmostатов $TC1$ — $TC3$. Установка и поддержание заданных давлений в экстракторе и сепараторах также осуществляется с помощью электропневмоклапанов, установленных в контуре циркуляции CO_2 .

После отделения извлеченных компонентов в сепараторах газообразный CO_2 при открывании вентилей $V11$ и $V12$ поступает в систему конденсации $K1$, подводящие линии которой охлаждаются с помощью холодильника TC и теплообменников $W1$ и $W2$, а затем — на вход насоса высокого давления. Расход CO_2 , проходящего через сепаратор, регулируется с помощью насоса высокого давления в широких пределах (от 1 до 30 кг/ч). Температура экстракции ($TK1$) регулируется в пределах от 20 до 200 °С в зависимости от вида сырья. Температура сепаратора высокого давления ($TK2$) устанавливается в интервале 20÷200 °С, температура сепаратора низкого давления ($TK3$) — в интервале 20÷100 °С. Давление экстракции устанавливается в пределах от 70 до 300 атм, давление в сепараторе высокого давления — в интервале 70÷300 атм, а давление в сепараторе низкого давления — до 70 атм. Имеющаяся байпасная линия позволяет осуществлять перезагрузку экстрактора без отключения подачи CO_2 (открывается вентиль $V5$ и перекрываются вентили $V3$ и $V4$). Выгрузка экстракта осуществляется из сепараторов без отключения подачи CO_2 по мере накопления (открываются вентили $V8$ и $V10$). По окончании работы большая часть диоксида углерода возвращается в баллон из системы конденсации, чем достигается высокая экономичность проведения процесса экстракции на данной установке.

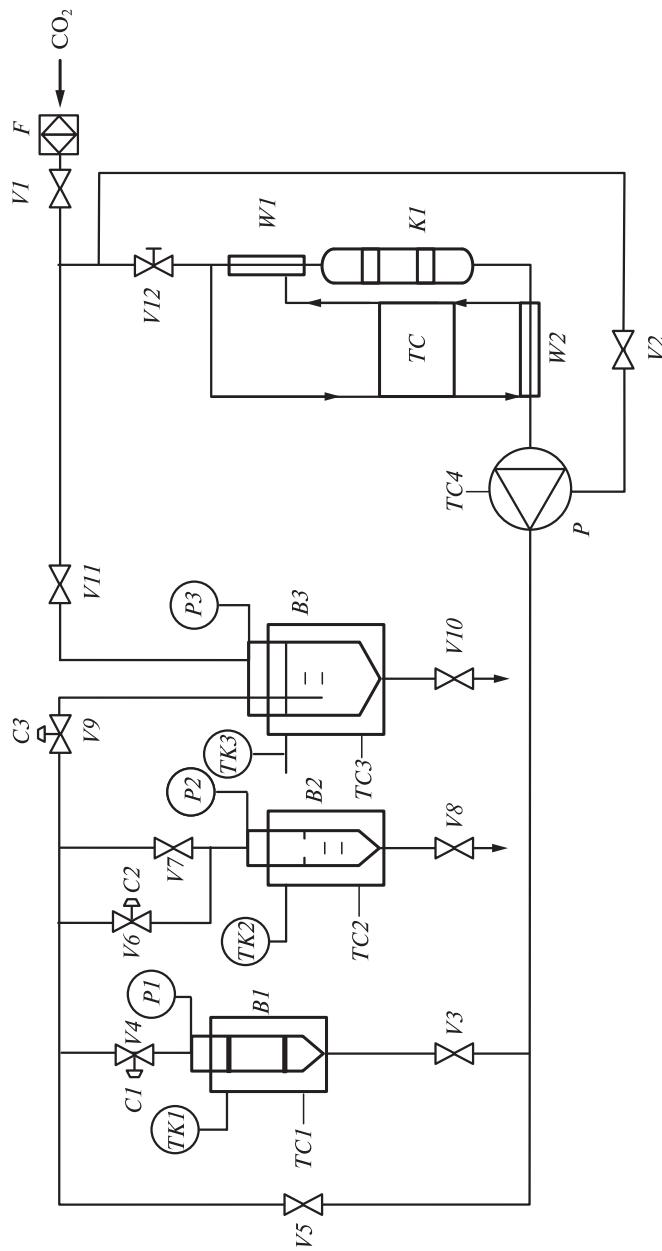


Рис. 2. Схема экстракционного контура:

B1 — экстрактор; *B2* — сепаратор высокого давления; *B3* — сепаратор низкого давления; *K1* — конденсатор CO_2 ; *P* — насос высокого давления; *TC* — термостат охлаждения системы конденсации CO_2 ; *TC1* — термостат подогрева сепаратора низкого давления и подводящих трубопроводов; *TC2* — термостат подогрева сепаратора высокого давления и подводящих трубопроводов; *TC3* — термостат охлаждения головки насоса высокого давления; *C1* — управляющий электропневматический клапан подачи CO_2 в экстрактор; *C2* — управляющий электропневматический клапан подачи CO_2 в сепаратор низкого давления; *C3* — управляющий электропневматический клапан подачи CO_2 в сепаратор высокого давления; *TK1*—*TK3* — измерители температуры; *P1*—*P3* — манометры; *V1*—*V3* — регулирующие вентили высокого давления; *V11*—*V12* — регулирующие вентили низкого давления; *F* — фильтр от механических примесей

Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего (Oenothera biennis L.) с использованием современных методов экстракции

Жмых семян ослинника двулетнего подмосковной популяции после их холодного прессования, при котором была в значительной мере нарушена целостность наружной оболочки, был предоставлен Всероссийским НИИ лекарственных и ароматических растений. Для эффективной СФЭ семян масличных культур диоксидом углерода процедура нарушения оболочки является обязательной [63, 64].

Эксперименты по экстракции жмыха семян ослинника осуществляли следующим образом. В экстрактор объемом 0,7 л помещали приблизительно 250 г жмыха семян (2/3 объема реактора), давление в экстракторе поддерживали на уровне 100÷280 атм, температуру — в пределах 40÷80 °C; расход CO₂ во всех опытах составлял 10 кг/ч. Во время эксперимента использовали только сепаратор низкого давления, из которого через каждые 15 минут осуществляли отбор экстракта. Количество экстракта определяли взвешиванием на весах Sartorius BP 3015 (дискретность отсчета 0,1 мг). Влажность исходного жмыха и отработанного жмыха определяли методом высушивания в термостате при 60 °C до постоянного веса. Для отделения масла от воды и нерастворимого осадка экстракты центрифугировали при 8000 об/мин.

Остаточное количество масла в отработанном жмыхе определяли методом ускоренной жидкостной экстракции (УЖЭ) гексаном при повышенных температурах и давлениях с использованием экстрактора ASE 200 (Accelerated Solvent Extraction, DIONEX, США). Этот прибор, внешний вид которого изображен на фотографии на рис. 3, а принципиальная схема представлена на рис. 4, предназначен для экстракции компонентов из твердых и вязких образцов с использованием традиционных растворителей при повышенных температуре и давлении, что позволяет существенно повысить эффективность экстракции. Использование повышенной температуры позволяет ускорить процесс экстракции, в то время как повышенное давление позволяет сохранять растворитель в жидком состоянии.

Краткие технические характеристики экстрактора ASE 200: экстракционные ячейки объемом 11, 22 и 33 мл; термостат с контролем температуры до 200 °C; насос высокого давления (67÷200 атм); верхняя «карусель» для экстракционных ячеек на 24 гнезда и 4 промывных патрубков; сборники экстрактов (флаконы) емкостью 40 и 60 мл; нижняя «карусель» для флаконов — сборников растворителя на 26 гнезд для флаконов и 4 для промывки.

Анализ полиненасыщенных кислот масла осуществляли, предварительно метилируя их по методике [65] с дополнительной обработкой реакционных смесей ультразвуком. Навеску масла и внутреннего стандарта (каприловая кислота) массой 20÷30 мг помещали в пробирку объемом 15 мл и добавляли 2 мл 0,5 N раствора NaOH в сухом метаноле. Раствор обрабатывали ультразвуком частотой 35 кГц и общей мощностью 450 Вт при 70 °C в течение 30 минут (использовали ультразвуковую ванну УЗВ-4 производства НПФ «Сапфир»). Затем добавляли 1,5 мл 5 % раствора H₂SO₄ в сухом метаноле и снова обрабатывали ультразвуком при 70 °C 30 минут. Пос-

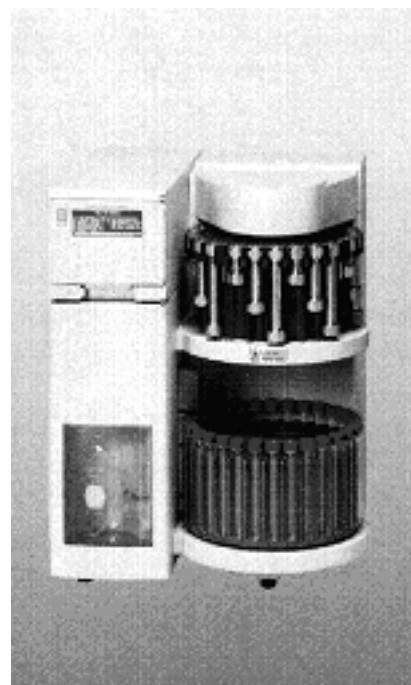


Рис. 3. Экстрактор ASE 200

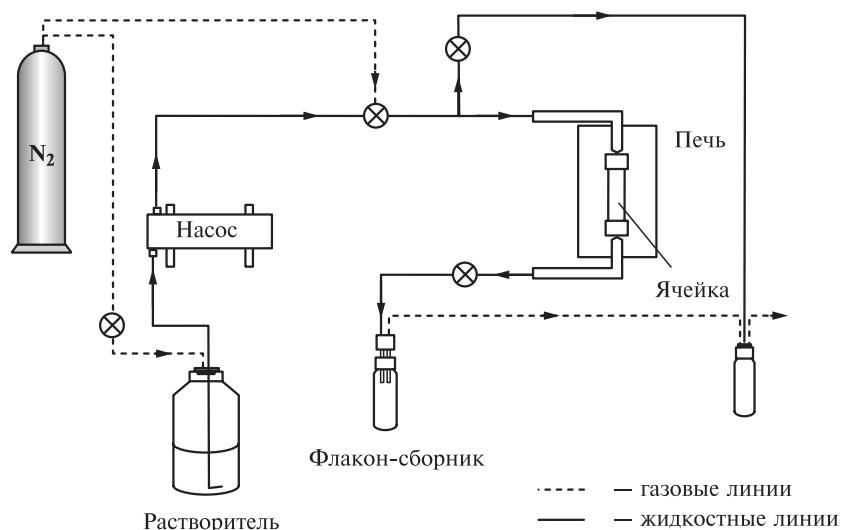


Рис. 4. Схема основных узлов, газовых и жидкостных линий прибора ASE 200

ле охлаждения добавляли 2,5 мл насыщенного раствора NaCl и 4 мл гексана, встряхивали 2 минуты и часть гексанового экстракта отбирали для газохроматографического анализа. Количественный анализ всех полученных образцов масла проводился методом газовой хроматографии (ГХ), а качественный — методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). ГХ-анализ экстрактов проводили на газовом хроматографе фирмы «Varian» модели 3700 с кварцевой капиллярной колонкой Stabilwax фирмы «Restek» (длина 30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина неподвижной жидкой фазы 0,25 мкм). Температура испарителя — 270 °C, температура пламенно-ионизационного детектора — 250 °C. Поток воздуха — 300 мл/мин, водорода — 35 мл/мин. Режим программирования — от 65 °C до 250 °C со скоростью 10 град/мин. Пробу объемом 1 мкл вводили в режиме «с делением потока» 1 : 20. Идентификацию регистрируемых метиловых эфиров проводили с использованием хромато-масс-спектрометра TRIO1000 с ионизацией электронным ударом с энергией электронов 70 эВ при температуре источника ионов 200 °C в том же хроматографическом режиме.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе исследовались партии жмыха семян ослинника двулетнего урожая 2006 и 2007 гг. после их холодного прессования. Жмых семян урожая 2006 г. экстрагировали сверхкритическим диоксидом углерода при давлениях 100, 120, 150, 200, 250 и 280 атм и температуре экстрактора 40 °C. Зависимость количества полученного экстракта от времени при различных давлениях представлена на рис. 5.

Полученные результаты согласуются с литературными данными для экстрактов из масличных растений, у которых кривая выхода экстракта, как правило, имеет три характерных участка: линейный, короткий переходный и участок медленного насыщения, причем на первой стадии извлекается 75÷80 % экстракта [66]. Эти же закономерности можно наблюдать и в наших экспериментах, например, на рис. 5. Следует подчеркнуть, что при давлениях 100 и 120 атм экстракция осуществляется крайне медленно и неэффективно, в данных условиях практичес-

**Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего
(*Oenothera biennis L.*) с использованием современных методов экстракции**

ски отсутствует стадия «быстрой» экстракции, которая появляется лишь при давлениях 150 атм и выше.

На рис. 6 представлены данные по экстракции жмыха семян ослинника (урожай 2006 г.) при давлении 200 атм и различных температурах (40, 60 и 80 °C).

Из приведенных на рис. 5 данных следует, что с увеличением температуры при одном и том же давлении количество экстракта уменьшается. Это особенно выражено при температуре экстрактора 80 °C. Логично было бы предположить, что данное явление связано с химическими превращениями термически лабильных полиненасыщенных кислот. Однако при анализе образцов масла, полученных при различных температурах, никаких различий в составе масла не обнаружено. Следует отметить, что сложная зависимость выхода масла от температуры и давления отмечается также в работах многих исследователей на примерах экстракции масла жожоба [66], японского ореха [67] и др. Возможно, это связано с тем, что растворимость компонентов масла при увеличении температуры в определенных интервалах давления сначала растет, а затем падает, как в случае экстракции соевого масла (рис. 7) [68]. Так, в области давлений около 250 атм изотермы растворимости соевого масла пересекаются. В области давлений ниже этой точки инверсии результатом повышения температуры является понижение растворимости, выше ее — повышение растворимости. По-видимому, аналогичный эффект наблюдается и в случае экстракции масла из жмыха семян ослинника двулетнего.

Эта же закономерность отмечается также в экспериментах по экстракции жмыха семян ослинника урожая 2007 г. (рис. 8).

Зависимость количества экстракта из жмыха семян ослинника урожая 2007 г. от времени при различных давлениях представлена на рис. 9.

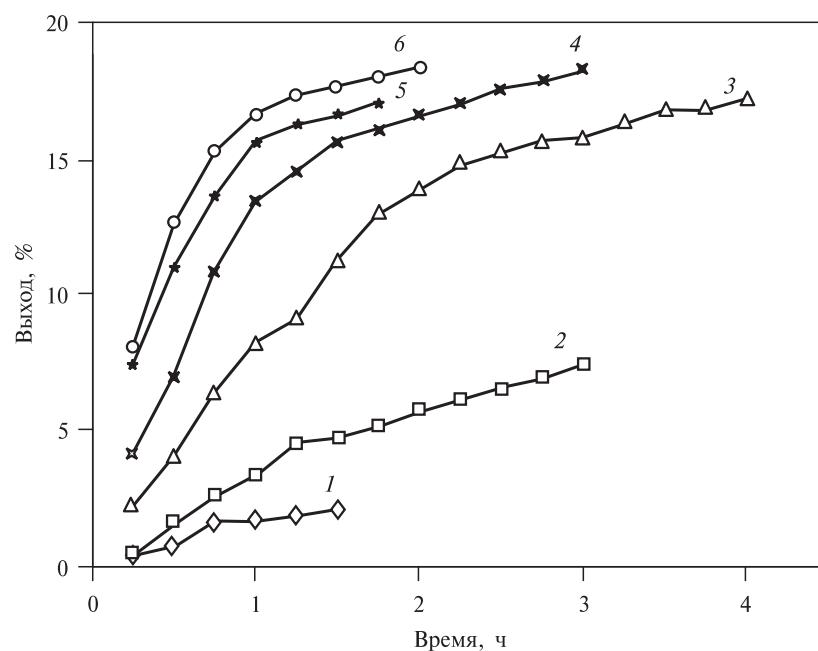


Рис. 5. Кривые зависимости количества полученного экстракта жмыха семян ослинника (урожай 2006 г.) от времени в интервале давлений 100+280 атм при температуре экстрактора 40 °C:

1 — 100 атм; 2 — 120 атм; 3 — 150 атм; 4 — 200 атм; 5 — 250 атм; 6 — 280 атм

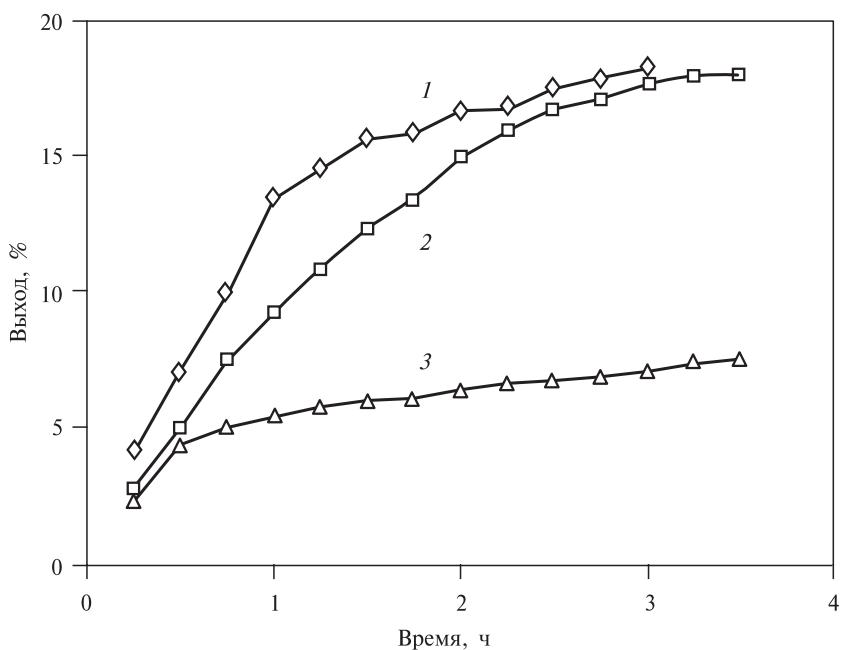


Рис. 6. Кривые зависимости количества полученного экстракта жмыха семян ослинника (урожай 2006 г.) от времени при давлении 200 атм и температуре экстрактора 40 °C (1), 60 °C (2) и 80 °C (3)

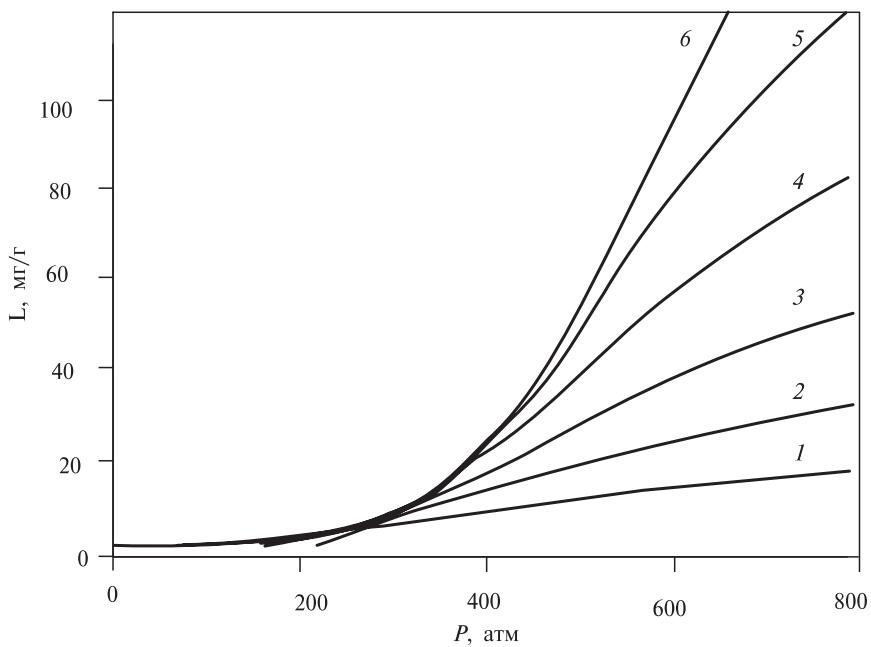


Рис. 7. Кривые растворимости соевого масла в CO_2 в зависимости от давления при различной температуре [68]:

1 – 20 °C; 2 – 40 °C; 3 – 60 °C; 4 – 80 °C; 5 – 100 °C; 6 – 120 °C

**Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего
(*Oenothera biennis L.*) с использованием современных методов экстракции**

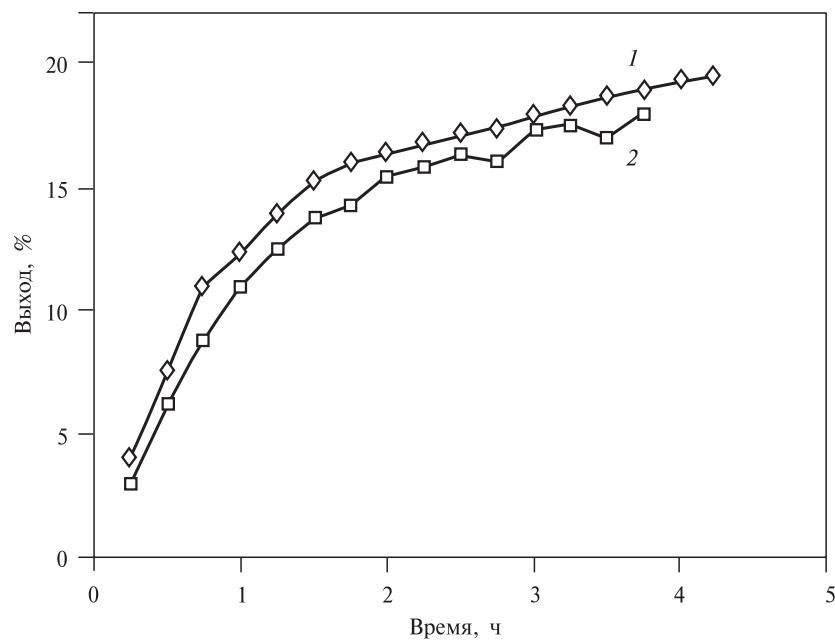


Рис. 8. Кривые зависимости количества полученного экстракта жмыха семян ослинника (урожай 2007 г.) от времени при давлении 200 атм и температуре экстрактора 40 °C (1) и 60 °C (2)

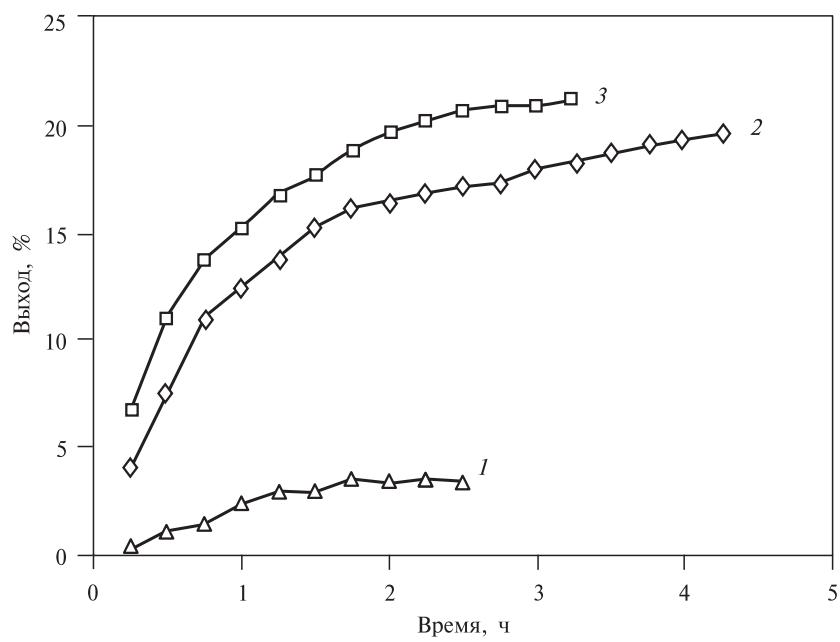


Рис. 9. Кривые зависимости количества полученного экстракта жмыха семян ослинника (урожай 2007 г.) от времени при давлениях 100 атм (1), 200 атм (2), 280 атм (3) при температуре экстрактора 40 °C

Как и для ослинника урожая 2006 г., процесс СФЭ диоксидом углерода жмы́ха семян урожая 2007 г. при давлении 100 атм и температуре 40 °С практически не идет. При давлении 200 атм и температуре 40 °С процесс экстракции занимает около 4 часов (кривая выходит на плато), а при давлении 280 атм и температуре 40 °С — около 2,5 часов.

Содержание воды в исходном сырье и остаточное содержание воды в полученным после экстракции шроте представлено в таблице 1.

Все полученные экстракти центрифугировались и затем разделялись на 3 фракции: вода, масло и нерастворимый остаток. Содержание воды, масла и нерастворимого остатка в экстрактих после центрифугирования (в экспериментах с использованием СК-СО₂) представлены в таблице 2.

Как следует из данных, приведенных в таблице 2, при давлениях от 150 до 280 атм и температуре 40 °С СО₂-экстракти жмы́ха семян ослинника урожая 2006 г. содержат значительное количество масла (от 82,1 до 87,0 %), а урожая 2007 г. — от 65,8 до 76,1 %. В условиях, когда экстракция идет очень плохо (120 атм и 40 °С и 200 атм и 80 °С), количество масла в СО₂-экстрактих, извлеченных из семян урожая 2007 г., падает, соответственно, до 67 и 23 %, а количество воды возрастает, соответственно, до 25,7 и 58,0 %.

Таблица 1

Влажность исходного сырья и шрота

№ п/п	Образец	Содержание влаги (вес. %)
1	Исходное сырье (жмы́ха семян ослинника, урожай 2006 г.)	8,5
2	Шрот после экстракции СО ₂ , давление 200 атм, температура 40 °С (урожай 2006 г.)	0,1
3	Исходное сырье (жмы́ха семян ослинника, урожай 2007 г.)	7,3
4	Шрот после экстракции СО ₂ , давление 200 атм, температура 40 °С (урожай 2007 г.)	2,8

Таблица 2

Содержание воды, масла и нерастворимого остатка (в весовых %) в СО₂-экстрактих жмы́ха семян ослинника

№ п/п	Условия эксперимента	Урожай 2006 г.			Урожай 2007 г.		
		Масло	Вода	Нераствор. остаток	Масло	Вода	Нераствор. остаток
1	280 атм, 40 °С	87,0	8,4	4,6	76,1	14,0	9,9
2	200 атм, 40 °С	83,8	10,4	6,8	65,8	14,9	19,3
3	150 атм, 40 °С	82,1	13,7	4,2	—	—	—
4	120 атм, 40 °С	67,0	25,7	7,3	—	—	—
5	200 атм, 60 °С	70,8	21,7	7,5	56,8	26,4	16,8
6	200 атм, 80 °С	23,0	58,0	19,0	—	—	—

***Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего
(Oenothera biennis L.) с использованием современных методов экстракции***

Остаточное содержание масла в шроте после CO₂ экстракции представлено в таблице 3.

Как следует из данных таблицы 3, остаточное содержание масла в шроте после экстракции жмыха сверхкритическим диоксидом углерода в экспериментах при 40 °C и давлениях 150÷280 атм находится в пределах от 0,8 до 1,6 %. Таким образом, экспериментально доказана высокая эффективность извлечения (до 94 %) жирного масла из жмыха семян ослинника двулетнего путем экстракции сверхкритическим диоксидом углерода при давлениях 150÷200 атм и температуре 40 °C.

Полученный после двухступенчатой экстракции сверхкритическим диоксидом углерода (СФЭ) и гексаном (УЖЭ) шрот далее подвергался экстракции изопропиловым спиртом (УЖЭ) для извлечения полярных компонентов — биологически активных антиоксидантов полифенольной структуры [19—23]. Данные по экстракции представлены в таблице 4.

Из данных таблицы 4 следует, что после экстракции жмыха семян ослинника сверхкритическим диоксидом углерода из оставшегося шрота изопропанолом можно извлекать до 2 % полярных компонентов — биологически активных антиоксидантов полифенольной структуры, которые могут в дальнейшем использоваться как потенциальные фармакологические препараты.

Качественный состав масла, полученного методом СФЭ из семян урожая 2007 г., определялся методом ГХ-МС (см. хроматограмму на рис. 10). В результате анализа масс-спектров с использованием программного обеспечения MassLab и библиотеки масс-спектров NIST идентифицированы метиловые эфиры кислот, указан-

Таблица 3

Количество масла, оставшееся в шроте после экстракции жмыха семян ослинника сверхкритическим диоксидом углерода, определенное методом УЖЭ на приборе ASE 200 (гексан)

№ п/п	Условия эксперимента	Урожай 2006 г. (вес. % к исходной загрузке перед CO ₂ экстракцией)	Урожай 2007 г. (вес. % к исходной загрузке перед CO ₂ экстракцией)
1	280 атм, 40 °C	1,2	0,8
2	200 атм, 40 °C	1,3	1,1
3	150 атм, 40 °C	1,6	—
4	200 атм, 60 °C	1,7	1,9

Таблица 4

Количество экстракта, извлеченного изопропанолом (УЖЭ) из шрота после экстракции жмыха семян ослинника сверхкритическим диоксидом углерода (СФЭ) и гексаном (УЖЭ)

№ п/п	Условия эксперимента	Урожай 2006 г. (вес. % к исходной загрузке перед CO ₂ экстракцией)	Урожай 2007 г. (вес. % к исходной загрузке перед CO ₂ экстракцией)
1	280 атм, 40 °C	1,4	—
2	200 атм, 40 °C	1,5	1,6
3	150 атм, 40 °C	1,9	2,0
4	200 атм, 60 °C	1,4	—

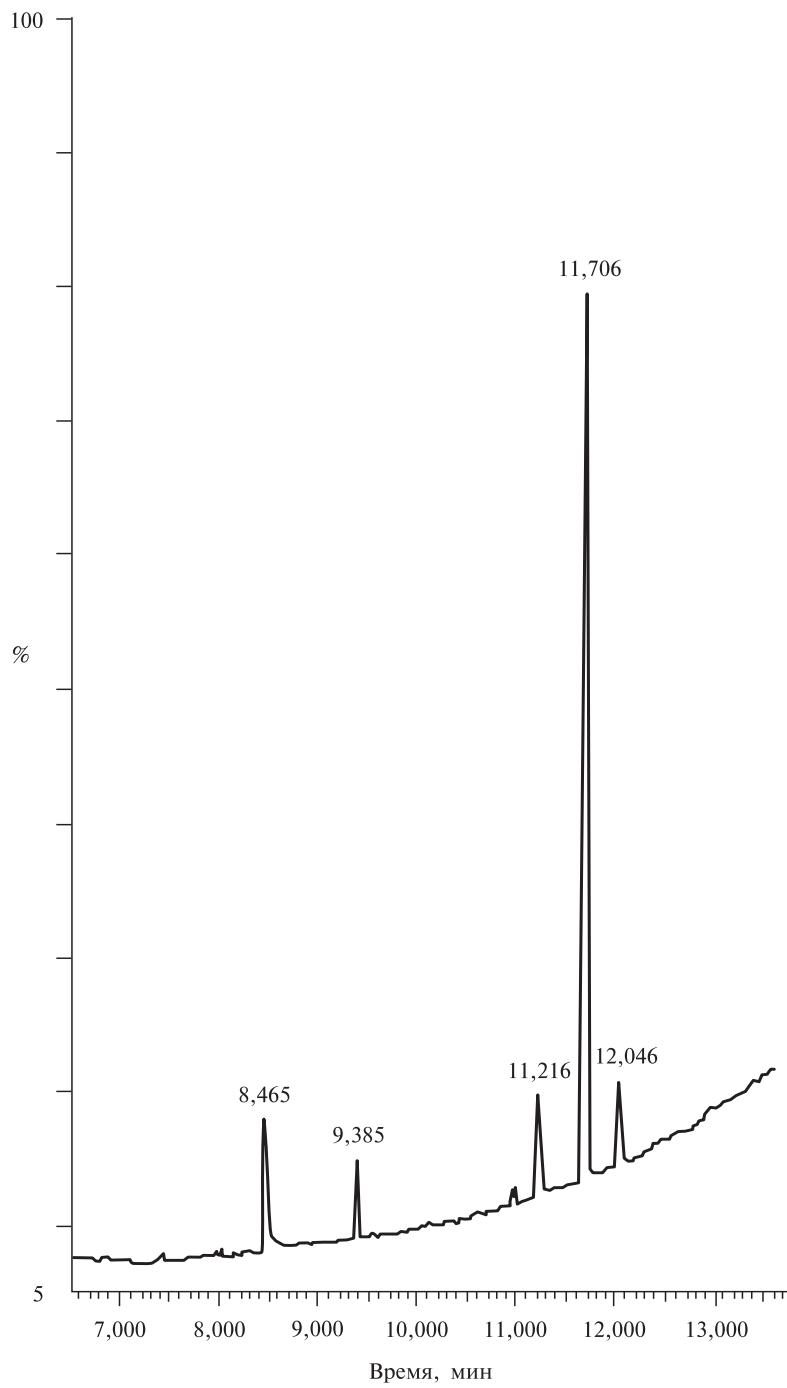


Рис. 10. Хроматограмма ГХ-МС образца масла ослинника двулетнего, полученного экстракцией жмыха семян сверхкритическим CO_2 при давлении 200 атм и температуре 40 °C

**Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего
(*Oenothera biennis L.*) с использованием современных методов экстракции**

ные в таблице 5. В той же таблице представлены данные об относительном содержании в нем индивидуальных метиловых эфиров (X).

Представленное в таблице 5 относительное содержание метиловых эфиров соответствует содержанию полиненасыщенных кислот в масле: содержание γ -линоленовой кислоты — 8,99 %, а линолевой — 71,60 %. Аналогично были исследованы все образцы масла из жмыха семян ослинника двулетнего урожая 2006 и 2007 гг., выделенные экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода в интервале давлений от 100 до 280 атм при температурах от 40 до 80 °C. Интересно отметить, что относительное содержание полиненасыщенных кислот в масле практически во всех экспериментах постоянно: доля γ -линоленовой кислоты варьируется в интервале от 8,5 до 10,2 %, а линолевой — от 70,7 до 74,6 %.

Анализируя полученные данные, можно рассчитать количество масла, содержащегося в исходном жмыхе семян ослинника двулетнего урожая 2006 и 2007 гг., по формуле:

$$X = kA + B,$$

где X — относительное количество масла по отношению к исходному сырью (в весовых %); A — максимальное количество экстракта, полученное СФЭ диоксидом углерода, — для представленных экспериментов при давлении 280 атм и температуре 40 °C (см., например, рис. 5 и рис. 9); k — коэффициент, характеризующий относительное количество масла в экстракте при давлении 280 атм и температуре 40 °C (данные таблицы 2); B — остаточное количество масла в шроте после СФЭ при давлении 280 атм и температуре 40 °C, определенное методом УЖЭ, гексан (данные таблицы 3).

Данные по количеству масла в исходном жмыхе семян ослинника двулетнего урожая 2006 и 2007 гг. представлены в таблице 6.

Таблица 5

Метиловые эфиры жирных кислот, входящих в состав исследуемого масла жмыха семян ослинника двулетнего, и их содержание (урожай 2007 г.)

№ пика	Метиловый эфир кислоты	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
1	пальмитиновой	8,465	7,00
2	стеариновой	9,385	1,70
3	элаидиновой	—	0,62
4	олеиновой	11,216	10,09
5	линолевой	11,706	71,60
6	γ -линоленовой	12,046	8,99

Таблица 6

**Содержание масла в жмыхе семян ослинника двулетнего
(весовые % к исходному сырью)**

№ п/п	Наименование образца	k	A	B	X
1	Урожай 2006 г.	0,870	19	1,2	17,73
2	Урожай 2007 г.	0,761	23	0,8	18,30

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые разработан комплексный метод извлечения ценных компонентов из жмыха семян ослинника двулетнего с использованием современных методов экстракции. Неполярные компоненты эффективно извлекаются сверхкритическим диоксидом углерода (СФЭ), а затем для экстракции полярных веществ целесообразно использовать метод УЖЭ (изопропанол).

Процесс СФЭ был изучен в широком интервале температур ($40 \div 80^\circ\text{C}$) и давлений ($100 \div 280$ атм). Показано, что при температуре 40°C процесс экстракции эффективно осуществляется в интервале давлений $150 \div 280$ атм, а при $100 \div 120$ атм экстракция практически не идет. Следует отметить, что при увеличении температуры от 40 до 80°C эффективность экстракции падает, видимо, за счет уменьшения растворимости жирных кислот в сверхкритическом диоксиде углерода. При повышенных температурах экстракции (60 и 80°C) не обнаружено никаких признаков разложения входящих в состав масла жирных кислот, в том числе и полиненасыщенных. Полученный экстракт всегда содержит определенное количество воды и нерастворимого остатка, которые легко отделяются центрифугированием.

Независимым методом УЖЭ определено остаточное количество масла в образцах семян ослинника двулетнего после сверхкритической экстракции и показано, что эффективность экстракции сверхкритическим диоксидом углерода составляет $\sim 93 \div 94\%$. Установлено, что концентрация полиненасыщенных кислот в извлеченном масле ослинника двулетнего практически во всех экспериментах идентична: содержание γ -линоленовой кислоты — в интервале от $8,5$ до $10,2\%$, а линолевой — от $70,7$ до $74,6\%$.

Установлено, что после сверхкритической экстракции диоксидом углерода шрот семян ослинника двулетнего может быть источником полярных биологически активных антиоксидантов, которые эффективно (с выходом до 2% от веса сырья) извлекаются методом УЖЭ с использованием изопропанола.

Таким образом, из жмыха семян ослинника двулетнего, который трудно поддается переработке обычными методами, с помощью сверхкритической флюидной экстракции удается с высоким выходом получить качественное масло, не содержащее примесей органических растворителей и готовое к практическому применению в медицине, косметологии и пищевой промышленности. Кроме того, разработан метод извлечения из оставшегося после СФЭ шрота ценных полярных компонентов с использованием УЖЭ (изопропанол).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gibson R.A., Lines D.R., Newmann M.A. Lipids. 1992. Vol. 27. P. 82.
2. Lowson L.D., Hughes B.G. Lipids. 1988. Vol. 23. P. 313.
3. Satoru S., Masuo N. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2003. Vol. 67. No. 1. P. 60.
4. Booyens J., Engelbrecht P., Le Rous S., Louwrens C.C., van der Merwe C.F., Katzev I.E. Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine. 1984. Vol. 15. No. 1. P. 15.
5. Munoz S.E., Lopez C.B., Valettich M.A., Eynard A.R. Cancer Letters. 1998. Vol. 126. No. 2. P. 149.
6. Munoz S.E., Piegari M., Gusman C.A., Eynard A.R. Nutrition. 1999. Vol. 15. No. 3. P. 208.
7. Ramesh G., Das U.N. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 1998. Vol. 59. No. 3. P. 155.
8. Dirks J., van Aswegen C.H., du Plessis D.J. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 1998. Vol. 59. No. 4. P. 273.
9. Van Papendorp D.H., Coetzer H., Kruger M.C. Nutrition Research. 1995. Vol. 15. No. 3. P. 325.

**Извлечение ценных компонентов из семян ослинника двулетнего
(*Oenothera biennis L.*) с использованием современных методов экстракции**

10. Kenyon J.N. Complementary Therapies in Medicine. 1993. Vol. 1. No. 2. P. 78.
11. Al-Shabanah O.A. Food and Chemical Toxicology. 1997. Vol. 35. No. 8. P. 769.
12. De La Cruz J.P., Quintero L., Galvez J., Villalobos M.A., Sanchez de la Cuesta F. Life Sciences. 1999. Vol. 65. No. 5. P. 543.
13. Charnock J.S. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 2000. Vol. 62. No. 2. P. 129.
14. De La Puerta Vazquez R., Martinez-Dominguez E., Sanchez Perona J., Ruiz-Gutierrez V. Metabolism. 2004. Vol. 53. No. 1. P. 59.
15. Kokke K.H., Morris J.A., Lawrenson J.G. Contact Lens and Anterior Eye. 2008. Vol. 31. No. 3. P. 141.
16. Stainforth J.M., Layton A.M., Goodfield M.J. Acta Derm. Venereol. 1996. Vol. 76. P. 144.
17. Brown A.C. Journal of Renal Nutrition. 2000. Vol. 10. No. 4. P. 170.
18. Dickerson L.M., Mazyck P.J., Hunter M.H. Am. Fam. Physician. 2003. Vol. 67. No. 8. P. 1743.
19. Wettasinghe M., Shahidi F. Food Chemistry. 2000. Vol. 70. No. 1. P. 17.
20. Arimura T., Kojima-Yuasa A., Tatsumi Y., Kennedy D.O., Matsui-Yasa I. Amino Acids. 2005. Vol. 28. No. 1. P. 21.
21. Arimura T., Kojima-Yuasa A., Watanabe S., Suzuki M., Kennedy D.O., Matsui-Yasa I. Chemico-Biological Interactions. 2003. Vol. 145. No. 3. P. 337.
22. Arimura T., Kojima-Yuasa A., Kennedy D.O., Matsui-Yasa I. Cancer Letters. 2004. Vol. 207. No. 1. P. 19.
23. Arimura T., Kojima-Yuasa A., Suzuki M., Kennedy D.O., Matsui-Yasa I. Cancer Letters. 2003. Vol. 201. No. 1. P. 9.
24. Pellegrina C.D., Padovani G., Mainente F., Zoccatelli G., Bissoli G., Mosconi S., Veneri G., Peruffo A., Andriguetto G., Rizzi C., Chignola R. Cancer Letters. 2005. Vol. 226. No. 1. P. 17.
25. Balasinska B. Food Chemistry. 1998. Vol. 63. No. 4. P. 453.
26. Heuer B., Yaniv Z., Ravina I. Industrial Crops and Products. 2002. Vol. 15. No. 2. P. 163.
27. Peiretti P.G., Palmegiano G.B., Masoero G. Animal Feed Science and Technology. 2004. Vol. 116. No. 3–4. P. 293.
28. Fieldsend A.F., Morison J.I.L. Industrial Crops and Products. 2000. Vol. 12. No. 2. P. 137.
29. Ghasemnezhad A., Honermeier B. Industrial Crops and Products. 2008. Vol. 28. No. 1. P. 17.
30. Ghasemnezhad A., Honermeier B. Industrial Crops and Products. 2007. Vol. 25. No. 3. P. 274.
31. Hanyz I., Pienkowska H., Dudkowiak A., Frackowiak D. Dyes and Pigments. 2006. Vol. 70. No. 3. P. 177.
32. Puri B. Medical Hypotheses. 2004. Vol. 62. No. 1. P. 116.
33. Wang H., Suo Y., Wang X., Zhao X. Separation and Purification Technology. 2007. Vol. 56. No. 3. P. 371.
34. Reverchon E., De Marco J.I. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 38. No. 2. P. 146.
35. Yamini Y., Knajeh M., Ghasemi E., Mirza M., Javidnia K. Food Chemistry. 2008. Vol. 108. No. 1. P. 341.
36. Fiori L., Calcagno D., Costa P. J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 41. No. 1. P. 31.
37. Pourmortazavi S.M., Ghadiri M., Somayyeh H. J. Food Composition and Analysis. 2005. Vol. 18. No. 5. P. 439.
38. Del Valle J.M., Germain J.C., Uquiche E., Zetzl C., Brunner J. J. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 37. No. 2. P. 178.
39. Westerman D., Santos R.C.D., Bosley J.A., Bosley J.S., Al-Duri B. J. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 37. No. 1. P. 38.
40. Damjanovich B., Lepoevic Z., Zivkovic V., Tolic A. Food Chemistry. 2005. Vol. 92. No. 1. P. 143.
41. Cao X., Ito Y. J. Chromatography A. 2003. Vol. 1021. No. 1–2. P. 117.
42. Bravi M., Bubbico R., Manna F., Verdone M. Chem. Eng. Science. 2002. Vol. 57. No. 14. P. 2753.
43. Yepez B., Espinosa M., Lopez S., Bolanos G. Fluid Phase Equilibria. 2002. Vol. 194–197. P. 879.
44. Gomez A.M., Martinez de la Ossa E. Chem. Eng. J. 2002. Vol. 88. No. 1–3. P. 103.
45. Louli V., Folas G., Voutsas E., Magoulas K. J. Supercrit. Fluids. 2004. Vol. 30. No. 2. P. 163.
46. Balachandran C., Mayamol P.N., Thomas S., Sukumar D., Sungaresan A., Arumghan C. Bioresource Technology. 2008. Vol. 99. No. 8. P. 2905.
47. Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Saharkhiz M.J., Salamifar E. Nat. Prod. Res. 2008. Vol. 22. No. 3. P. 212–8.
48. Hamdan S., Daood H.G., Toth-Markus M., Illes V. J. Supercrit. Fluids. 2008. Vol. 44. No. 1. P. 25.

49. Kao T.-H., Chien J.T., Chen B.-H. Food Chem. 2008. Vol. 107. No. 4. P. 728.
 50. King J.W., Mohamed A., Taylor S.L., Mebrahtu T., Paul C. Industrial Crops and Products. 2001. Vol. 14. No. 3. P. 241.
 51. Venter M.J., Willems P., Kuipers N.J.M., de Haan A.B. J. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 37. No. 3. P. 250.
 52. Hu A., Zhao S., Liang H., Qui T., Chen J. Ultrasonic Sonochemistry. 2007. Vol. 14. No. 2. P. 219.
 53. Li T.S.C., Beveridge T.H.J., Drover J.C.G. Food Chem. 2007. Vol. 101. No. 4. P. 1633.
 54. Szentmihalyi K., Vinkler P., Lakatos B., Illes V., Then M. Bioresource Technology. 2002. Vol. 82. No. 2. P. 195.
 55. Kiriamiti H.K., Rascol E., Marty A., Condoret J.S. Chem. Engineering and Processing. 2002. Vol. 41. No. 8. P. 711.
 56. Hadolin M., Skerget M., Knez Z., Bauman D. Food Chem. 2001. Vol. 74. No. 3. P. 355.
 57. Sovova H., Stateva R.P., Galushko A.A. J. Supercrit. Fluids. 2001. Vol. 20. No. 2. P. 113.
 58. Reverchon E., Marrone C. J. Supercrit. Fluids. 2001. Vol. 21. No. 2. P. 161.
 59. Machmudah S., Salaswatty A., Sasaki M., Goto M., Hirosi T. J. Supercrit. Fluids. 2006. Vol. 38. No. 2. P. 146.
 60. Максудов Р.Н., Егоров А.Г., Мазо А.Б., Аляев В.А., Абдулин И.Ш. СКФ-ТП. 2008. Т. 3. № 2. С. 20.
 61. Bravi M., Spinoglio F., Verdone N., Adami M., Aliboni A., Andrea D., De Santis A., Ferri D. J. Food Engineering. 2007. Vol. 78. No. 2. P. 488.
 62. Залепугин Д.Ю., Тилькунова Н.А., Быков В.А., Климахин Г.И., Королев В.Л., Мишин В.С., Поляков В.С., Чернышова И.В. Сборник научных трудов ВИЛАР. Химия, технология, медицина. 2006. Т. 18. С. 79.
 63. Machmudah S., Kawahito Y., Sasaki M., Goto M. J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 41. No. 2. P. 421.
 64. Del Valle J.M., Rivera O., Mattea M., Ruetsch L., Daghero J., Flores A. J. Supercrit. Fluids. 2004. Vol. 31. No. 2. P. 159.
 65. Yin J.-Z., Wang A.-Q., Wei W., Liu Y., Shi W.-H. Separation and Purification Technology. 2005. Vol. 43. No. 2. P. 163.
 66. Salgin U. J. Supercrit. Fluids. 2007. Vol. 39. No. 3. P. 330.
 67. Machmudah S., Kondo M., Sasaki M., Goto M., Munemasa J., Yamagata M. J. Supercrit. Fluids. 2008. Vol. 44. No. 3. P. 301.
 68. Eggers R., Sievers U., Stein W. JAACS. 1985. Vol. 62. P. 1222.
-

DEVELOPMENT OF METHOD FOR COMPONENTS ISOLATION FROM EVENING PRIMROSE (*OENOTHERA BIENNIS L.*) SEEDS USING MODERN EXTRACTION PROCEDURES

**¹D. Yu. Zalepuhin, ²V. A. Bykov, ²G. I. Klimakhin, ¹N. A. Tilkunova,
¹V. S. Mishin, ¹I. V. Chernyshova, ¹Yu. S. Yashin, ²M. S. Demin**

¹*State Research Institute of Organic Chemistry and Technology (GosNIIOKhT), Moscow, Russia*
²*All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, Russia*

For the first time the procedure for isolation of oil from Evening Primrose seeds using carbon dioxide Supercritical Fluid Extraction has been proposed. The process parameters as a function of pressure and temperature were studied. Qualitative and quantitative analysis of oil has been performed. The proposed method permits to produce oil of high quality without any traces of organic solvents which is ready for practical use excluding additional processing. In addition, the method of Accelerated Solvent Extraction (isopropanol) was used to utilize residual grist, which allows to isolate polar polyphenolic fraction.

Key words: Supercritical Fluid Extraction, Accelerated Solvent Extraction, *Oenothera biennis L.*, Evening Primrose, Gas Chromatography, Gas Cromatography-Mass-Spectrometry.