

PACS: 87.15.M, 62.50.-p, 07.05.Pj, 87.64.M-, 78.20.Ci

Г.В. Букин¹, В.Ф. Дроботько¹, В.В. Забродский², С.А. Соколов³,
Н.Н. Севаторов³, Я.Г. Букина³, И.П. Бухтиярова⁴, Т.П. Кохан⁴

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИДРОСТАТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ НА ЭКСТРАКЦИЮ КОМПОНЕНТОВ ИЗ СЕМЯН ЭНОТЕРЫ ДВУЛЕТНЕЙ (OENOTHÉRA BIÉNNIS L.)

¹Донецкий физико-технический институт им. А.А. Галкина

²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН

³Донецкий национальный университет экономики и торговли
им. М. Туган-Барановского

⁴Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Статья поступила в редакцию 20 июля 2017 года

Проведено экспериментальное исследование процесса извлечения спиртового экстракта агрегаты семян энотеры двулетней в зависимости от величины высокого гидростатического давления, приложенного к гидромодулям с различным массовым соотношением. Показано, что средний диаметр проецируемой площади частиц агрегаты $\bar{d}_{eq} = 0.2 \pm 0.03$ мкм. Методом абсорбционной спектроскопии в оптическом диапазоне длин волн получены зависимости интегрального поглощения экстрактов из гидромодулей от давления и предложено подгоночное уравнение для их обработки. Найдены предварительные значения оптимальных давлений 153, 172 и 169 МПа для обработки гидромодулей 1:10, 1:15 и 1:20 соответственно, при которых для заданной величины \bar{d}_{eq} извлекается наибольшее количество компонентов в процессе экстрагирования при комнатной температуре.

Ключевые слова: энотера, высокое гидростатическое давление, экстракция, цифровая микроскопия, абсорбционная спектроскопия

Введение

Лекарственное растение энотера двулетняя, или ослинник двулетний (*Oenothéra biénnis* L.), является двулетним растением, принадлежащим к семейству кипрейных и широко распространенным в Центральной и Южной Америке, Европе, европейской части России, а также в Предкавказье и на Дальнем Востоке [1]. В семенах этого растения содержится целый ряд биологически активных веществ, оказывающих положительное влияние на человеческий организм [2–4].

В масле семян энотеры двулетней содержится большое количество полиненасыщенных жирных кислот, в частности 68.71% линолевой и 7.33%

чрезвычайно ценной γ -линоленовой [5], природных источников которой очень мало. Основными химическими компонентами масла энотеры двулетней являются также жирные кислоты, такие как олеиновая (14.99%), пальмитиновая (6.18), стеариновая (1.55), цис-вакценовая (0.83), арахидиновая (0.25) и гадолеиновая (0.16) [6]. Вместе с тем около 10% массы семян приходится на фенольные смолы, и их с успехом используют как источник антиоксидантов [7,8].

Энотера двулетняя синтезирует биологически активные вещества – полисахариды, танины, флавонолы, фитостеролы. Эти соединения показывают различную физиологическую активность, включая диуретическое, эстрогенное, капилляроукрепляющее и антисклеротическое действие, а также служат заменителем крахмала и сахара при сахарном диабете [9]. Натуральные экстракты энотеры двулетней могут использоваться в качестве медикаментов, заменяя синтетические химикаты, а также как добавки в косметике.

Существует много традиционных методов экстракции, например прессование (горячее и холодное), водно-паровая экстракция, экстракция различными растворителями [10]. В этих методах процессы экстрагирования зависят от многих факторов, влияющих на степень получения экстракта: выбора экстрагента, размера измельченных частиц, разности концентраций веществ, вязкости, температуры, гидродинамических условий и т.п. [11]. Для экстракции указанные методы требуют длительного времени (до 7 дней и более) и в основном нуждаются в более высокой (85°C) температуре, что может привести к потере биологической активности термолабильных компонентов. Среди современных методов можно отметить ультразвуковую, микроволновую, экстракцию сжиженным газом CO₂ под высоким давлением и т.п. Идеальный процесс экстракции должен быть благоприятным для окружающей среды, экономичным, неразрушающим и быстропротекающим.

В последнее время был развит новый метод, названный экстракцией высоким давлением (high pressure extraction (HPE)) [12]. Этот метод холодного сверхвысокого гидравлического давления, которое колеблется от 100 до 1000 МПа, рассматривают как привлекательный инновационный нетепловой процесс, который может эффективно инактивировать микроорганизмы и сохранять существенные компоненты лекарственных трав. В некоторых работах сообщается, что он может изменять морфологию клетки и структуру, приводить к деформации клетки и повреждать клеточную мембрану [13]. Согласно теории перемещения массы [14,15] скорость перемещения пропорциональна отношению давления к сопротивлению перемещения. Из теории фазового поведения следует, что растворимость увеличивается с ростом давления [16]. В процессе HPE перепад давления между внутренней частью клетки и внешней клеточной мембраной настолько большой, что экстрагент почти мгновенно проходит сквозь сломанные мембраны в клетках, и скорость перемещения массы раствора, или скорость растворения, очень высо-

ка. Это обстоятельство приводит к очень быстротечной экстракции по сравнению с нормальными и сверхкритическими технологиями [17–19].

Цель данной работы состоит в том, чтобы методом абсорбционной спектроскопии в оптическом диапазоне длин волн изучить, как обработка высоким гидростатическим давлением при комнатной температуре влияет на спиртовую экстракцию компонентов из агрегаты семян энотеры двулетней.

Эксперимент

Образцы для измерений подготавливали в соответствии с методикой, описанной ниже.

1. Очищенные от примесей *in vivo* семена энотеры двулетней измельчали до получения однородной массы слипшихся частиц (агрегаты) – «твердая фаза».

2. Из полученной агрегаты и 70% этилового спирта («жидкая фаза») готовили гидромодули (массовое соотношение твердой и жидкой фаз) 1:10, 1:15 и 1:20, которые затем помещали в одноразовые полиамидные герметичные контейнеры.

3. Контейнер с исследуемым гидромодулем загружали в камеру высокого давления и в течение 20 min обрабатывали заданным гидростатическим давлением при комнатной температуре 290 К.

4. Обработанный давлением гидромодуль извлекали из контейнера и пропускали через фильтр для отделения экстракта семян энотеры двулетней (далее – экстракт) от шрота.

5. Полученный таким образом спиртовой экстракт загружали в кварцевую ювету толщиной 10 mm и проводили спектральные измерения.

Концентрация извлекаемых компонентов в исследуемом экстракте определяется процессами физико-химического взаимодействия полученной агрегаты с 70%-м раствором этилового спирта (экстрагентом), протекающими на поверхности границы раздела фаз. Очевидно, что межфазная поверхность твердое тело–жидкость определяется в первую очередь профилем поверхности частиц твердого тела. В этой связи представляет интерес проведение анализа дисперсного состава агрегаты семян энотеры двулетней.

Дисперсный состав агрегаты исследовали по микрофотографиям 5 различных полей зрения, полученных при помощи поляризационного микроскопа «ПОЛАМ Р-312» и многоканального фотоприемника цифрового фотоаппарата «Canon EOS 700D» с устройством механического и оптического сопряжения. При подготовке текущего поля зрения к микрофотографированию на предметное стекло микроскопа наносили тонкий слой агрегаты, частицы которой распределяли так, чтобы они находились близко, но не перекрывались. Слой частиц на поверхности стекла представляет собой полидисперсную систему двух фаз (частица–воздух), микроизображение которой является двумерным распределением цветового сигнала и отображает фазовый состав и структуру пигментированных микрообъектов в исследуемом поле зрения. В этом случае измеряемой величиной является цвет.

При анализе микроизображений решаются задачи обнаружения и отделения пигментированных частиц друг от друга, а также определения их процентного содержания в пределах кадра изображения размером 12 мегапикселей. На первом этапе анализа для цвета частиц определяли величину диапазона трех основных цветов в цветовой модели RGB (R – красного, G – зеленого и B – синего). Далее пикселям, у которых значения основных цветов находятся вне диапазона соответствующих основных цветов частиц, присваивали белый цвет, а цвет пикселей частиц оставляли без изменения. Полученное изображение переводили в оттенки серого и проводили выравнивание значений цветовых составляющих в соответствии с подходом, описанным в [20], однако при этом цветовые составляющие приравнивали к наибольшему из значений цветовой схемы. В результате такой модификации метода выравнивания значений цветовых составляющих изображения в оттенках серого обладают большей контрастностью, которая играет важную роль для последующей обработки микрофотографий.

Затем проводили бинаризацию полученного изображения, которое совпадает с изображением проекций частиц в пределах одного поля зрения. На последнем этапе, используя разработанную нами автоматизированную систему анализа растровых микроскопических изображений (используемый функционал которой аналогичен соответствующему функционалу программы ImageJ), для каждой частицы определяли ее видимую площадь (путем подсчета количества черных пикселей), в соответствии с масштабом рассчитывали значение диаметра проецируемой площади $d_{\text{eq}} = \sqrt{\frac{4S_p}{\pi}}$ (S_p – площадь проекции) и подсчитывали общее количество частиц n в пределах кадра изображения.

Кривую счетного распределения частиц по диаметру проецируемой площади d_{eq} рассчитывали для суммарного количества частиц в 5 полях зрения, равного $N = \sum_{i=1}^5 n_i = 6570$, и одинакового интервала диаметров $\Delta d_{\text{eq}} = 0.025$ mm. Счетное содержание частиц вычисляли по формуле

$$\Delta Q_i = \frac{k_i}{N} 100, \quad (1)$$

где k_i – доля частиц соответствующего диаметра.

На рис. 1 приведены пример бинарного изображения микрофотографии одного поля зрения и рассчитанное распределение частиц семян энотеры двулетней в зависимости от диаметра проецируемой площади d_{eq} . Как видно на рисунке, средний диаметр проецируемой площади частиц семян энотеры двулетней $\bar{d}_{\text{eq}} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N n_i (d_{\text{eq}})_i = 0.2 \pm 0.03$ mm.

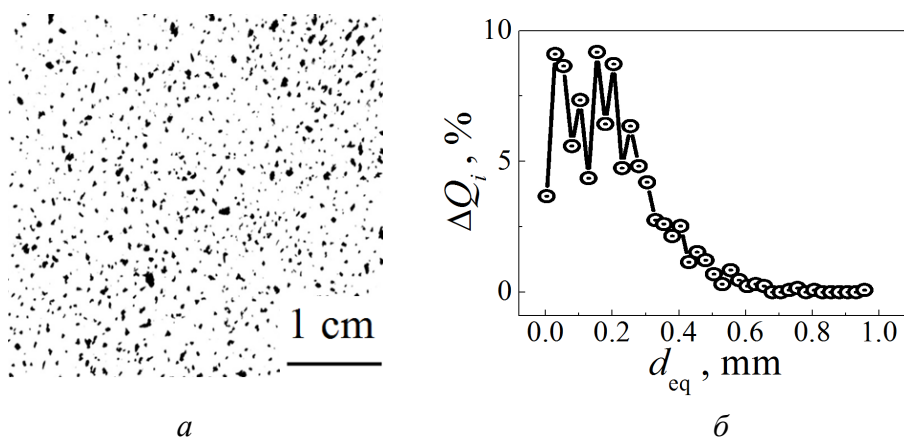


Рис. 1. Пример бинарного изображения микрофотографии одного поля зрения (а) и результат расчета распределения частиц семян энотеры двулетней в зависимости от диаметра проецируемой площади d_{eq} (б)

Исследование спектральных свойств экстракта, полученного из гидромодуля, обработанного внешним гидростатическим давлением при комнатной температуре, проводили методом абсорбционной спектрофотометрии в диапазоне длин волн от 300 до 1026 nm на модернизированном однолучевом спектрографе PGS-2 (Carl Zeiss) с фотоприемным устройством на основе спектрофотометрического детектора СФД-1 с фотодиодом ФДУК-100УТ [21]. В качестве источника непрерывного естественно-поляризованного электромагнитного излучения использовали вольфрамовую лампу накаливания мощностью 170 W с цветовой температурой 1630 K. Документирование измеряемых данных и их анализ проводили при помощи программы компьютерной системы управления. Для градуировки измеренных спектров по длинам волн в качестве репера использовали полосу излучения зеленого лазерного светодиода с максимумом при ~ 531.95 nm, которую направляли на входную щель спектрографа при помощи специального зеркала.

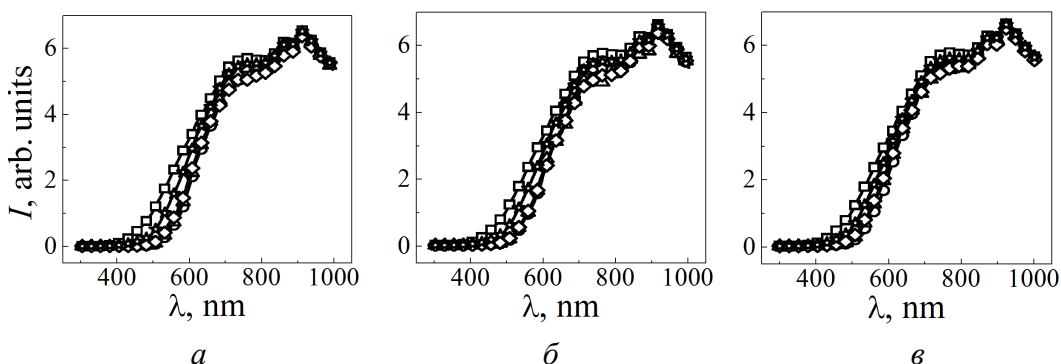


Рис. 2. Кривые спектрального пропускания излучения источника света, прошедшего через кварцевые кюветы с экстрагентом (□) и с экстрактом из гидромодулей 1:10 (а), 1:15 (б) и 1:20 (в) при атмосферном давлении 0.1 (☆) и после обработки их давлением 200 (○), 300 (△) и 400 (◇) МПа в течение 20 min при комнатной температуре

На рис. 2 показаны спектральные зависимости интенсивности излучения источника света, прошедшего через кварцевые кюветы с экстрагентом (I_0) и с экстрактом из гидромодулей 1:10, 1:15 и 1:20 (I) в исходном состоянии (контрольный образец экстракта, полученный традиционным методом при атмосферном давлении 0.1 МПа) и после обработки их давлением 200, 300 и 400 МПа в течение 20 min при комнатной температуре. Из рисунка следует, что обработка гидромодулей давлением приводит к снижению интенсивности прошедшего света, что связано с ростом концентрации светопоглощающих молекул в экстрактах.

Для большей наглядности измеренных спектров интенсивности по данным на рис. 2 рассчитывали спектральные зависимости натурального поглощения (натуральной оптической плотности) $D(\lambda) = \ln(I_0 / I)$. Результаты расчета $D(\lambda)$ показаны на рис. 3. Как видно на рисунке, в спектрах поглощения образцов экстракта при атмосферном давлении наблюдается широкополосное поглощение в диапазоне длин волн от 300 до 700 nm с максимумом, величина которого растет с повышением концентрации светопоглощающих молекул в экстракте. Обработка всех трех гидромодулей давлением приводит к значительному росту максимальных значений поглощения, которые, например, для давления 200 МПа возрастают соответственно в ~ 3.5 , ~ 3.0 и ~ 3.1 раза.

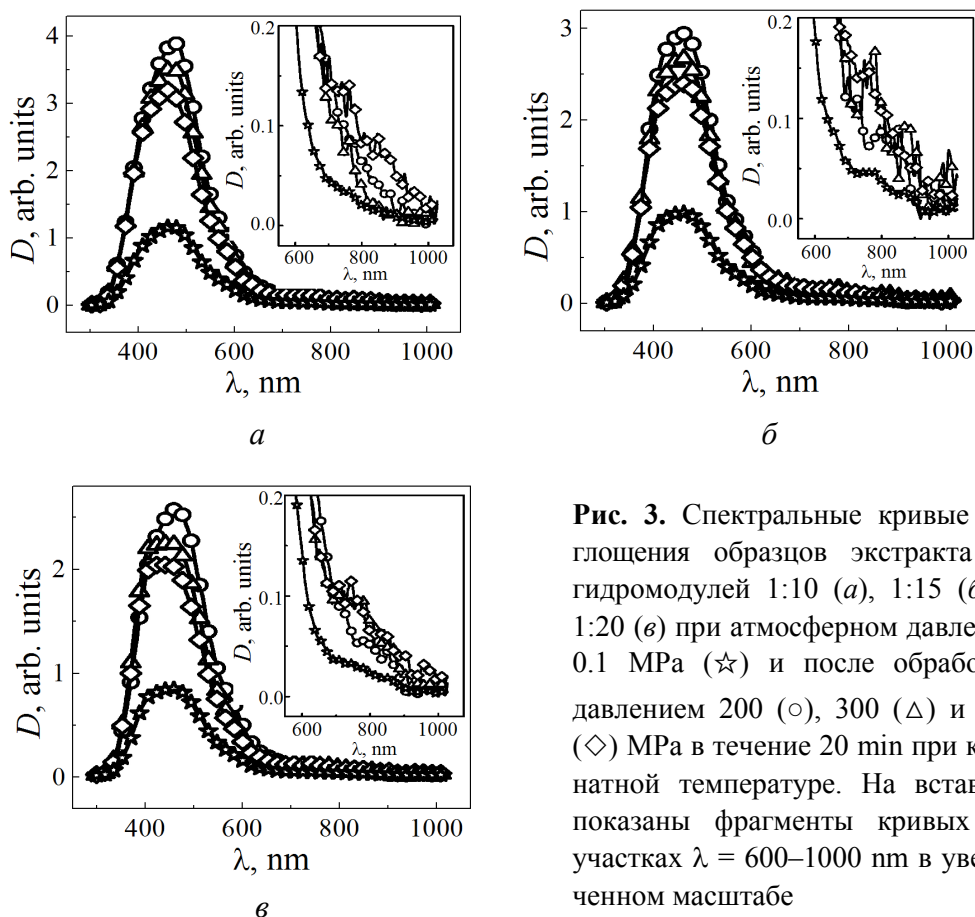


Рис. 3. Спектральные кривые поглощения образцов экстракта из гидромодулей 1:10 (а), 1:15 (б) и 1:20 (в) при атмосферном давлении 0.1 МПа (\star) и после обработки давлением 200 (\circ), 300 (\triangle) и 400 (\diamond) МПа в течение 20 min при комнатной температуре. На вставках показаны фрагменты кривых на участках $\lambda = 600\text{--}1000$ nm в увеличенном масштабе

Следует отметить, что экстракт представляет собой многокомпонентный окрашенный раствор, разделение которого на отдельные светопоглощающие компоненты в данной работе не представляется возможным. Широкая составная полоса поглощения является суперпозицией полос поглощения всех светопоглощающих компонентов экстракта, поэтому экспериментально измеряется интегральное поглощение (оптическая плотность $D_{\Sigma}(\lambda)$), которая равна площади под кривой $D(\lambda)$ на рис. 3. Результат численного интегрирования спектральных кривых поглощения $D(\lambda)$ образцов экстракта из гидромодулей 1:10, 1:15 и 1:20 при атмосферном давлении и после обработки давлением 200, 300 и 400 МПа в течение 20 min при комнатной температуре показан на рис. 4.

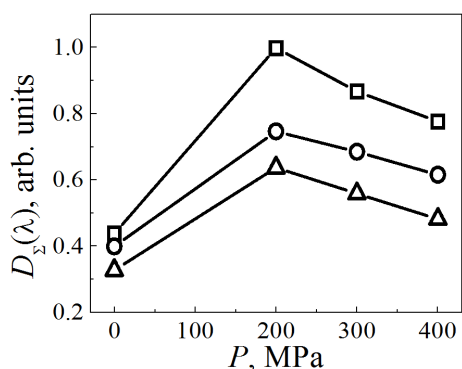


Рис. 4. Интегральная оптическая плотность $D_{\Sigma}(\lambda)$ образцов экстракта из гидромодулей 1:10 (□), 1:15 (○) и 1:20 (△) после обработки давлением 200, 300 и 400 МПа в течение 20 min при комнатной температуре

Как видно на рис. 4, интегральное поглощение $D_{\Sigma}(\lambda)$ образцов экстракта, полученных из гидромодулей, обработанных различными высокими давлениями, значительно больше, чем для образцов, полученных при атмосферном давлении. С увеличением давления от 200 до 400 МПа оптическая плотность уменьшается. По внешнему виду экспериментальные кривые на рис. 4 имеют максимальные значения, которые должны определять оптимальную обработку высоким давлением гидромодулей, позволяющую извлекать из семян энотеры двулетней наибольшее количество компонентов биологически активных веществ (БАВ). При выборе величины давления 200 МПа для обработки гидромодулей мы ориентировались на результаты работы [18], где при экстрагировании высоким давлением клубничной мякоти наибольшая концентрация БАВ кемпферолда извлекалась при 400 МПа.

Обсуждение результатов

Гидромодуль, как было отмечено выше, представляет собой систему твердое тело–жидкость, в которой из твердых пористых частиц семян извлекаются компоненты путем избирательной их растворимости в растворителе (экстрагенте). Извлекаемые компоненты могут находиться в порах частиц в виде раствора или твердого растворимого вещества. В первом случае компонент попадает в экстрагент за счет диффузии, а во втором – за счет растворения. На рис. 5 схематично показана частица семян энотеры двулетней, находящаяся в экстрагенте при экстрагировании. Как следует из схемы, мо-

лекулы исследуемого вещества C_1 вначале сорбируются мембранной стенкой растительной клетки на внутренней поверхности C_2 , диффундируют сквозь мембрану и десорбируются на ее внешней стороне C_3 , а затем накапливаются в пограничном диффузионном слое x , создавая концентрированный раствор вещества у границы раздела твердой и жидкой фаз [22].

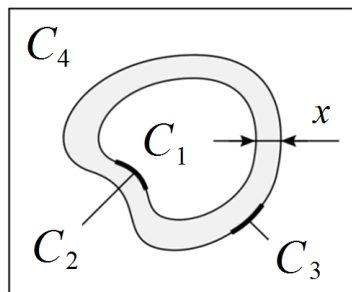


Рис. 5. Схема частицы семян энотеры дву-летней в экстрагенте при экстрагировании: C_1 – средняя концентрация извлекаемого компонента внутри частицы, C_2 – на поверхности частицы, C_3 – на наружной поверхности диффузионного слоя, C_4 – в объеме экстрагента, x – толщина диффузионного пограничного слоя

Процесс экстрагирования молекул извлекаемого компонента можно разделить на три этапа: молекулярную диффузию из объема частиц к наружной поверхности, молекулярную диффузию через диффузионный пограничный слой и конвективную диффузию от пограничного слоя в экстрагент. Однако известно, что структура пористого твердого тела оказывает большое влияние на скорость транспорта извлекаемого компонента при экстрагировании. Пористая структура семян энотеры дополнительно к потенциальному полю стенок, создающему пограничный диффузионный слой, удлиняет путь диффузионного потока ввиду извилистости капилляров, и элементы структуры твердотельных частиц уменьшают свободное сечение потока. Известно, что пропитка экстрагентом природных пористых тел сопровождается «защемлением» более 50% воздуха, содержащегося в тупиковых порах [23,24]. Воздействие высокого давления уменьшает объем «защемленного» воздуха и в результате восстанавливает нарушенную при этом площадь контакта внутренней поверхности тупиковых пор частиц с экстрагентом. Время пропитки при этом существенно уменьшается.

Ускорение процесса экстрагирования под воздействием высокого давления также связано с увеличением проницаемости растительной клетки. Клеточная оболочка содержит цитоплазматическую мембрану, которая является полупроницаемой и имеет существенное значение в процессе экстракции БАВ. Высокое давление уменьшает объем клетки и оказывает раздражающее действие на плазмолемму, которая стремится сократить свою поверхность, при этом находящиеся на ее поверхности коллоидные частицы слипаются и создают предпосылки для коагуляции белковых веществ. Коагуляция белков повышает клеточную проницаемость, и давление в клетке снижается. Это явление обратимое, если величина раздражения не достигает критического уровня [25]. При повышении клеточной проницаемости большее количество экстрагента может войти в клетки и больше соединений БАВ может раствориться в экстрагенте. Равновесная растворяющая концен-

трация между внутренними и внешними частями клеток может установиться во время экспозиции давления.

В настоящее время для описания экспериментальных результатов процесса экстрагирования БАВ из растительных клеток многие исследователи используют упрощенные кинетические уравнения экспоненциального вида. В недавней работе [26] было предложено модифицированное кинетическое уравнение межфазовых процессов экстракции в виде

$$(C_{\tau} - C_p) / (C_0 - C_p) = B_m \exp(-k_c^* \tau^{\gamma}), \quad (2)$$

где C_{τ} , C_0 , C_p – концентрация экстрагента соответственно в момент времени τ , начальное и равновесное (конечное) значения; k_c^* – константа скорости реального процесса экстракции; B_m – константа, удовлетворяющая начальным и граничным условиям процесса и зависящая от формы (пористости) частиц твердой фазы; γ – фактор неидеальности системы.

Если экстракция БАВ происходит в присутствии внешнего высокого гидростатического давления, стимулирующего скорость процесса, то константы k_c^* , B_m и γ в определенной степени должны корректироваться давлением. Например, основываясь на эмпирическом законе Дарси, согласно которому скорость фильтрации прямо пропорциональна разности давлений и обратно пропорциональна общему сопротивлению фильтрующей перегородки [14], можно предположить, что скорость реального процесса экстракции будет функцией давления. Поскольку из литературы нам не известны работы, в которых был бы описан процесс массопереноса в системе твердое тело–жидкость в присутствии высокого гидростатического давления при комнатной температуре, для обработки наших экспериментальных результатов мы воспользовались экспоненциальной подгонкой данных интегрального поглощения в зависимости от величины приложенного давления в виде уравнения

$$D_{\Sigma}(\lambda)_P = D_{\Sigma}(\lambda)_{P_0} + a_1(1 - e^{-k_1 P}) - a_2(1 - e^{-k_2 P}), \quad (3)$$

где $D_{\Sigma}(\lambda)_{P_0}$ – интегральное поглощение образца при атмосферном давлении; P – давление обработки; a_1 , a_2 , k_1 , k_2 – подгоночные коэффициенты к экспериментальной кривой. Числовые значения этих коэффициентов рассчитывали методом наименьших квадратов. Результаты расчета для гидромодулей 1:10, 1:15 и 1:20 при атмосферном давлении 0.1 МПа и после обработки их давлением 200, 300 и 400 МПа в течение 20 min при комнатной температуре и полученные величины достоверности подгонки R_f^2 сведены в таблице, кривые подгонки показаны на рис. 6.

Результаты, представленные на рис. 6, и полученные значения достоверности подгонки R_f^2 экспериментальных данных демонстрируют правильность выбора экспоненциального вида подгоночного уравнения. Под-

Числовые значения коэффициентов уравнения (3) и величины достоверности подгонки R_f^2

Гидромодули	a_1	a_2	k_1	k_2	R_f^2
1:10	15.8703	15.7296	0.0075	0.0068	0.9925
1:15	15.7868	15.7695	0.0061	0.0057	0.9969
1:20	15.72613	15.9387	0.0051	0.0047	0.9912

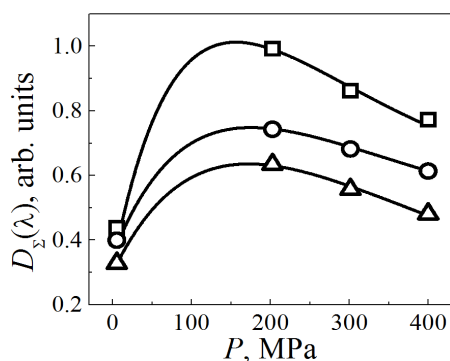


Рис. 6. Результат подгонки уравнением (3) экспериментальных зависимостей $D_{\Sigma}(\lambda) = f(P)$ для образцов экстракта из гидромодулей 1:10 (\square), 1:15 (\circ) и 1:20 (\triangle) при атмосферном давлении 0.1 МПа и после обработки их давлением 200, 300 и 400 МПа в течение 20 min при комнатной температуре. Сплошные линии – подгоночные кривые

гоночные кривые для гидромодулей 1:10, 1:15 и 1:20 достигают своих максимальных значений при давлениях 153, 172 и 169 МПа соответственно. Эти значения давлений можно считать оптимальными для обработки гидромодулей семян энотеры двулетней с целью получения наибольшего количества БАВ в процессе экстракции. Однако для уточнения величин оптимальных давлений требуются дополнительные экспериментальные исследования в диапазоне давлений от атмосферного до 200 МПа.

Заключение

Проведены предварительные лабораторные исследования применимости метода абсорбционной спектроскопии для определения оптимальных значений гидростатического давления, при которых извлекается наибольшее количество компонентов БАВ в процессе экстрагирования агрегаты семян энотеры двулетней под давлением при комнатной температуре.

Разработана методика подготовки образцов для спектральных измерений. Методом цифровой микроскопии проведен анализ дисперсного состава частиц семян энотеры двулетней. Рассчитана кривая счетного распределения частиц семян энотеры двулетней по диаметру проецируемой площади. Установлено, что средний диаметр проецируемой площади частиц $\bar{d}_{eq} = 0.2 \pm 0.03$ mm.

Показано, что для соотношений агрегаты и экстрагента 1:10, 1:15 и 1:20 кривые подгонки экспериментальных данных интегрального поглощения в зависимости от давления уравнением экспоненциального вида имеют максимумы, положение которых при 153, 172 и 169 МПа можно связать с опти-

мальными значениями гидростатического давления обработки при комнатной температуре гидромодулей семян энотеры двулетней.

1. И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров, Иллюстрированный определитель растений Средней России. Том 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные), Т-во научных изданий КМК, Москва (2003).
2. M. Budincevic, Z. Vrbaski, J. Turkulov, E. Dimic, *Fatt Wiss. Technol.* **97**, 277 (1995).
3. F. Shahidi, R. Amarowicz, Y. He, M. Wettasinghe, *J. Food Lipids* **4**, 75 (1997).
4. M. Wettasinghe, F. Shahidi, *Food Chem.* **70**, 17 (2000).
5. R.A. Gibson, D.R. Lines, M.A. Neumann, *Lipids* **27**, 82 (1992).
6. Д.И. Пусарев, Е.Т. Желякова, Н.Н. Непребенко, В.К. Тохтарь, О.О. Новиков, В.Н. Сорокопудов, *Химия растительного сырья* № 1, 195 (2010).
7. B. Balasińska, *Food Chem.* **63**, 453 (1998).
8. S. Schmidt, I. Niklova, J. Pokorny, P. Farkas, S. Sekretar, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **105**, 427 (2003).
9. Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер, Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3-х томах, Наука, Москва (2001, 2002).
10. N.K. Prasad, B. Yang, M. Zhao, B.S. Wang, F. Chen, Y. Jiang, *Int. J. Food Sci. Technol.* **44**, 960 (2009).
11. И.А. Муравьев, *Технология лекарств*, Т. 1, Медицина, Москва (1980).
12. Z. Shouqin, Z. Junjie, W. Changzheng, *Int. J. Pharm.* **278**, 471 (2004).
13. US Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies – high pressure processing, *J. Food Sci.* **65**, 8 (2000).
14. П.Г. Романков, *Гидромеханические процессы химической технологии*, Химия, Ленинград (1982).
15. E.M. Altuner, C. Islek, T. Ceter, H. Alpas, *African J. Biotechnol.* **11**, 930 (2012).
16. R.J. Sadus, *High Pressure Phase Behaviour of Multicomponent Fluid Mixtures*, Elsevier, Amsterdam (1992).
17. Z. Shouqin, X. Jun, W. Changzheng, *Food Sci. Technol. Int.* **11**, 213 (2005).
18. E.M. Altuner, O. Tokuşoğlu, *Rev. Int. J. Food Sci. Technol.* **48**, 1991 (2013).
19. M.B. Kim, J.E. Park, S.W. Woo, S.B. Lim, J.K. Hwang, *Food Sci. Biotechnol.* **23**, 731 (2014).
20. В.Н. Пореев, *Компьютерная графика*, БХВ-Петербург, СПб. (2002).
21. В. Суханов, В. Забродский, П. Аруев, Е. Шерстнев, П. Втулкин, С. Марченко, *Фотоника* № 1, 74 (2014).
22. М.В. Леонова, Ю.Н. Климочкин, *Экстракционные методы изготовления лекарственных средств из растительного сырья: учебно-методическое пособие*, Самар. гос. техн. ун-т, Самара (2012).
23. Г.А. Аксельруд, В.М. Лысянский, *Экстрагирование (система твердое тело–жидкость)*, Химия, Москва (1974).
24. П.Г. Романков, Н.Б. Рашиковская, В. Ф. Фролов, *Массообменные процессы химической технологии*, Химия, Ленинград (1975).
25. В.М. Лысянский, С.М. Гребенюк, *Экстрагирование в пищевой промышленности*, Агропромиздат, Москва (1987).

26. *Н.А. Макаревич, Н.И. Богданович, С.И. Третьяков, Е.Н. Коптелова*, Химия растительного сырья № 4, 251 (2014).

G.V. Bukin, V.F. Drobotko, V.V. Zabrodskiy, S.A. Sokolov, N.N. Sevatorov, Y.G. Bukina, I.P. Bukhtiyarova, T.P. Kokhan

STUDY OF THE EFFECT OF HYDROSTATIC PRESSURE ON EXTRACTION OF THE COMPONENTS FROM THE SEEDS OF EVENING PRIMROSE (*OENOTHÉRA BIÉNNIS* L.)

High hydrostatic pressure extraction of alcoholic aggregate of the seeds of evening primrose is experimentally investigated with respect to high hydrostatic pressure applied to hydromoduli characterized by the varied mass ratio. It has been found that the average diameter of the projected area of agglomerated particles is equal $\bar{d}_{eq} = 0.2 \pm 0.03$ mm.

The pressure dependences of experimental integrated absorption of extracts from hydromodules are measured by the method of optical absorption spectroscopy and the empirical equation for their fitting is offered. Preliminary values of optimum pressure have been found, that are 153, 172 and 169 MPa for processing of hydromodules 1:10, 1:15 and 1:20, respectively. The optimum pressures is considered as high extraction yield at room temperature for the set size \bar{d}_{eq} .

Keywords: evening primrose, high hydrostatic pressure, extraction, digital microscopy, absorption spectroscopy.

Fig. 1. An example of a bitmap of the microphoto of one field of vision (*a*) and the result of calculation of distribution of the particles of evening primrose seeds versus the average projected area diameter d_{eq} (*b*)

Fig. 2. Spectral transmittance curves of the light source which has passed through quartz cuvette with extragent (\square), and with an extract from hydromodules 1:10 (*a*), 1:15 (*b*) and 1:20 (*c*) after processing by pressure 0.1 (\star), 200 (\circ), 300 (Δ) and 400 (\diamond) MPa during 20 min at room temperature

Fig. 3. Spectral absorption distribution curves of extract samples from hydromodules 1:10 (*a*), 1:15 (*b*) and 1:20 (*c*) after processing by pressure of 0.1 (\star), 200 (\circ), 300 (Δ) and 400 (\diamond) MPa during 20 min at room temperature. On the insets, magnified fragments of the curves in the range of $\lambda = 600\text{--}1000$ nm are shown

Fig. 4. Integrated optical density $D_{\Sigma}(\lambda)$ of the extract samples from hydromodules 1:10 (\square), 1:15 (\circ) and 1:20 (Δ) at ambient pressure and after processing by pressure of 200, 300 and 400 MPa during 20 min at room temperature

Fig. 5. Scheme of a particle of evening primrose seeds in extragent at extraction process: C_1 – average concentration of a fractional yield inside a particle, C_2 – average concentration of fractional yield on a particle surface, C_3 – average concentration of fractional yield on the external surface of the diffusive layer, C_4 – average concentration of fractional yield in the extragent volume, x – thickness of the diffusive interface

Fig. 6. Result of fitting of experimental dependences $D_{\Sigma}(\lambda) = f(P)$ by equation (3) for the samples of an extract from hydromodules 1:10 (\square), 1:15 (\circ) and 1:20 (Δ) after processing by pressure of 0.1, 200, 300 and 400 MPa during 20 min at room temperature. Solid lines mark the fitting curves