

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-49-55  
УДК 615.451.16



Оригинальная статья/Research article

## Сравнительный анализ перспективных методов экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сенного

С. С. Белокуров<sup>1\*\*</sup>, Е. В. Флисюк<sup>1</sup>, И. А. Наркевич<sup>1</sup>, В. Г. Лужанин<sup>1\*</sup>, С. В. Шилов<sup>2</sup>, К. О. Новикова<sup>1</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, лит. А  
2 – ООО «Технологии без границ» РФ Россия, 659315, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, д. 98

\*Контактное лицо: Лужанин Владимир Геннадьевич. E-mail: vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

\*\*Контактное лицо: Белокуров Сергей Сергеевич. E-mail: sergei.belokurov@pharminnotech.com

Статья получена: 18.07.2019. Статья принята к печати: 20.08.2019

### Резюме

**Введение.** К перспективным технологиям, с помощью которых можно получать экстракты с высоким содержанием БАВ относятся ультразвуковая, виброкавитационная и сверхкритическая флюидная CO<sub>2</sub> экстракции. Растительные экстракты с высоким содержанием биологически активных веществ не оказывают вредного воздействия на организм человека, легко включаются в обменные процессы и практически не имеют побочных эффектов, кроме этого они безопасны для окружающей среды, поэтому представляют особый интерес для фармацевтической и пищевой промышленности. Данные технологии сегодня широко применяют при производстве галеновых препаратов, для получения различных экстрактов и масел в косметологии, а также в производстве природных красителей и отдушек и т.д.

**Цель.** выбор оптимального метода экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ из семян пажитника сенного.

**Материалы и методы.** Получение виброкавитационного экстракта проводили на экспериментальной виброкавитационной установке, изготовленной на кафедре процессов и аппаратов Санкт-Петербургского государственного Технологического института. Экстракты получали при температуре 60±2 °С. Частота оборотов гомогенизатора варьировалась от 1000 до 5000 об/мин.

Ультразвуковую экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки И100-6/4. Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводили с интенсивностью 22 кВт в течение 60 мин. Время экстрагирования в виброкавитационном экстракторе-гомогенизаторе изучали для подбора оптимальных значений. Сверхкритическую флюидную CO<sub>2</sub> экстракцию проводили в двух вариантах с использованием сорагента (96% этанола в соотношении диоксид углерода: этанол 9:1) и без него. Экстрагирование проводили на сверхкритической флюидной экстракционной системе с сосудом 1 л SFE1000-2-BASE с комплектом для модернизации системы SFE1000-2-BASE до системы SFE1000M1-2-FMC50 (Waters, USA). Скорость потока сорагента составляла 60 г/мин. Экстракцию проводили в течение одного часа и давлении 200, 300 и 400 бар. Экстракцию проводили трижды. В полученных извлечениях определяли сумму экстрактивных веществ согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Количественное определение сапонинового комплекса семян пажитника сенного проводили на хроматографе Agilent QTOF-6530 с двумя источниками ионизации ESI и APCI согласно методике Гравель и др. [9]

**Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования позволили определить количество экстрактивных веществ в семенах пажитника сенного и выбрать наиболее перспективный метод экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ.

**Заключение.** В результате наших исследований было установлено, что наиболее перспективным методом экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сенного является виброкавитационная экстракция при частоте оборотов гомогенизатора 5000 об/мин и времени экстрагирования 60 мин.

**Ключевые слова:** экстрагирование, экстракты, виброкавитационная экстракция, ультразвуковая экстракция, сверхкритическая флюидная CO<sub>2</sub> экстракция, пажитник сенной, ВЭЖХ-МС.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** Авторы С. С. Белокуров, Е. В. Флисюк, И. А. Наркевич, В. Г. Лужанин и С. В. Шилов придумали и разработали эксперимент. С. С. Белокуров и К. О. Новикова провели эксперименты по экстрагированию и определению суммы экстрактивных веществ. С. С. Белокуров провел количественное определение сапонинов. Авторы С. С. Белокуров и Е. В. Флисюк и К. О. Новикова участвовали в обработке данных. Авторы С. С. Белокуров, Е. В. Флисюк, И. А. Наркевич, В. Г. Лужанин и С. В. Шилов участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Наркевич И. А., Лужанин В. Г., Шилов С. В., Новикова К. О. Сравнительный анализ перспективных методов экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019; 8(3): 49–55.

## Comparative Analysis of Perspective Extragation Methods for Receiving Extractions from Fenugreek Seeds

Sergey S. Belokurov<sup>1\*\*</sup>, Elena V. Flisyuk<sup>1</sup>, Igor A. Narkevich<sup>1</sup>, Vladimir G. Luzhanin<sup>1\*</sup>, Sergey V. Shilov<sup>2</sup>, Kseniya O. Novikova<sup>1</sup>

1 – St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia  
2 – LLC «Technologies without Borders», 98, Socialisticheskaya str., Biysk, Altai Territory, 659315, Russia

\*Corresponding author: Vladimir G. Luzhanin. E-mail: vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

\*\*Corresponding author: Sergei S. Belokurov. E-mail: sergei.belokurov@pharminnotech.com

Received: 18.07.2019. Accepted: 20.08.2019

### Abstract

**Introduction.** Today, innovative technologies are widely used in pharmacology (in particular, in the production of herbal preparations), in cosmetology (obtaining various extracts and oils, complex preparations), as well as in the food industry (as natural dyes, etc.). Plant extracts with a high level of risk do not have a harmful effect on the human body, except that they provide environmental safety, which creates a special interest for the pharmaceutical industry. vibrocavitation and supercritical fluid CO<sub>2</sub> extraction.

**Aim.** The choice of the optimal level of extraction to obtain a high level of fenugreek seeds.

© Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Наркевич И. А., Лужанин В. Г., Шилов С. В., Новикова К. О., 2019

© Belokurov S. S., Flisyuk E. V., Narkevich I. A., Luzhanin V. G., Shilov S. V., Novikova K. O., 2019

**Materials and methods.** Obtaining a vibrocavitation extract with an experimental vibration-explosive installation made at the Department of Processes and Apparatus of the St. Petersburg State Technology Institute. Extracts at a temperature of  $60 \pm 2$  °C. The frequency of revolutions of the homogenizer ranged from 1000 to 5000 rpm. Ultrasonic impact using ultrasound unit I100-6/4 Ultrasonic effect on solid plant material with an intensity of 22 kHz for 60 minutes. The time of extraction in a vibro-cavitation extractor-homogenizer was studied for optimal values.

Supercritical fluid CO<sub>2</sub>-extraction is obtained in two versions with the use of extractant (96% ethanol in the presence of carbon dioxide: ethanol 9: 1) and without it. Extraction of the sound of a supercritical fluid extraction system with a 1-liter vessel. SFE1000-2-BASE with a kit for upgrading the SFE1000-2-BASE system to an SFE1000M1-2-FMC50 system (Waters, USA). The flow rate of the extractant was 60 g/min. Emergency listening for one hour and pressure 200, 300 and 400 bar. Extraction is observed three times. The obtained extracts indicate the amount of extractive substances according to article of Russian state pharmacopoeia 1.5.3.0006.15 «Determination of the content of extractive substances in plant raw materials and medicinal plant preparations». Quantitative determination of the saponin complex of parasitic seed seeds on an Agilent QTOF-6530 chromatograph with two ESI and APCI ionization sources according to Gravel et al.

**Results and discussion.** Studies have allowed to determine the amount of extractives in the seeds and choose the most promising method.

**Conclusion.** As a result of our research, it was found that the most promising extraction method for extracting seeds is a parasitic with vibration extraction at frequent revolutions of the homogenizer of 5000 rpm and an extraction time of 60 minutes.

**Keywords:** extraction, extract, vibration extraction, ultrasonic extraction, supercritical fluid extraction of CO<sub>2</sub>, fenugreek hay, HPLC-MS.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Sergey S. Belokurov, Elena V. Flisyuk, Igor A. Narkevich, Vladimir G. Lujanin and Sergey V. Shilov invented and developed the experiment. Sergey S. Belokurov and Ksenia O. Novikova conducted experiments on extraction and determination of the amount of extractive substances. Sergey S. Belokurov quantified saponins. Authors Sergey S. Belokurov and Elena V. Flisyuk and Ksenia O. Novikova participated in data processing. Authors Sergey S. Belokurov, Elena V. Flisyuk Igor A. Narkevich, Vladimir G. Lujanin and Sergey V. Shilov participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

**For citation:** Belokurov S. S., Flisyuk E. V., Narkevich I. A., Luzhanin V. G., Shilov S. V., Novikova K. O. Comparative analysis of perspective extragation methods for receiving extractions from fenugreek seeds. *Drug development & registration*. 2019; 8(3): 49–55.

## ВВЕДЕНИЕ

К перспективным технологиям, с помощью которых можно получать экстракты с высоким содержанием БАВ относятся ультразвуковая, виброкавитационная и сверхкритическая флюидная CO<sub>2</sub> экстракции. Растительные экстракты с высоким содержанием биологически активных веществ не оказывают вредного воздействия на организм человека, легко включаются в обменные процессы и практически не имеют побочных эффектов, кроме этого они безопасны для окружающей среды, поэтому представляют особый интерес для фармацевтической и пищевой промышленности [1] Данные технологии сегодня широко применяют при производстве галеновых препаратов, для получения различных экстрактов и масел в косметологии, а также в производстве природных красителей и отдушек и т.д.

Одним из наиболее распространенных методов, который используется для извлечения биологически активных веществ из растительного сырья является ультразвуковая экстракция. Известно, что на коэффициент внутренней диффузии большое влияние оказывает ультразвук. Возможность варьировать мощность ультразвукового поля при экстрагировании растительного сырья позволяет регулировать скорость диффузии веществ из клеток, что имеет большое значение для фармацевтической практики.

Виброкавитационный метод экстракции схож с ультразвуковым методом экстрагирования, но для его проведения необходима специальная жидкая среда. Кроме того, для этого метода требуется пробоподготовка (обязательное измельчение лекарственного растительного сырья). В виброкавитационном мето-

де перед обработкой ультразвуком делают эмульсию в виброкавитационном гомогенизаторе (что, в принципе, и есть виброкавитационная мельница, которая измельчает сырье до размера <1 мкм). Преимущества данного метода: сокращает время экстрагирования до 15–30 мин и обладает высокой эффективностью извлечения.[5]

Экстракция при особых условиях, выше критических параметров температуры и давления, когда вещество имеет агрегатное состояние по свойствам схожее одновременно и с жидкостью и с газом, является прекрасной альтернативой обычным методам жидкостной экстракции и успешно применяется в настоящее время. В науке такое состояние называют «сверхкритическим флюидом». Значения температуры и давления в критической точке индивидуальны для каждого компонента. При достижении таких условий граница раздела фаз пропадает и возникает единая плотная, безобъемная среда. В таком состоянии вещество растворяет твердые компоненты как жидкость и подобно газу легко диффундирует и проникает глубоко в материал. Кроме этого, вещества в состоянии выше критического имеют низкую вязкость, плотность, которую можно легко варьировать, просто изменяя давление и температуру. [6]. Так как отсутствует какое-либо взаимодействие на границе раздела фаз, такие веществам могут проникать глубоко в клетки и поры, что способствует более быстрому проникновению флюида в матрицу сырья и ускоряет процесс извлечения. Не маловажным является то, что можно управлять растворяющей способностью флюида. Это позволяет контролировать избирательность экстрагирования, не меняя сам растворитель. Поэ-

тому такие вещества нашли широкое применение в промышленных и лабораторных процессах, заменяя классические растворители.

Объектом нашего исследования были выбраны извлечения из семян пажитника сенного (лат. *Trigonella foenum-graecum* сем. Fabaceae), полученные различными методами экстракции. Семена пажитника сенного часто использовались в лечебных целях еще с давних времен. Так в древней индийской традиционной системе народной медицины – Аюрведа, семена пажитника были предложены как средство для лечения различных заболеваний пищеварительной системы. По данным литературы [2], семена пажитника традиционно использовались как ветрогонное, слабительное, отхаркивающее средство, и применялись для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. Отвары из семян пажитника применяли при повышении температуры тела, боли в горле, при ранах и язвах, опухание желез, раздражение кожи, бронхите и диабете. В XX веке (в начале-конце 1960-х годов) из-за широкого распространения и использования полезных свойств пажитника были предприняты многие исследования по изучению его потенциального применения в медицине, в результате которых были выявлены различные положительные эффекты экстрактов семян пажитника на экспериментальных животных [3].

Целью настоящего исследования явился выбор оптимального метода экстрагирования для получения извлечений с высоким содержанием БАВ из семян пажитника сенного.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Товароведческий анализ семян пажитника сенного, экотип Марокко, приобретенных в фирме Фитокаса г. Касабланка (Марокко), которые мы использовали для исследования, показал соответствие сырья требованиям ГФ XIV издания [7].

Получение вибро-кавитационного экстракта проводили на экспериментальной вибро-кавитационной установке (рисунок 1) [8]. Экстракты получали при тем-



Рисунок 1. Виброкавитационный экстрактор

Figure 1. Vibro-cavitation extractor

пературе  $60 \pm 2$  °С. Частота оборотов гомогенизатора варьировалась от 1000 до 5000 об/мин.

Ультразвуковую экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки И100-6/4 («Ультразвуковая техника Инлаб», г. Санкт-Петербург, Россия). (рисунок 2) Ультразвуковое воздействие на твердое растительное сырье проводили с интенсивностью 22 кГц в течение 30–60 мин. Время экстрагирования в виброкавитационном экстракторе-гомогенизаторе изучали для подбора оптимальных значений.



Рисунок 2. Ультразвуковая установка И100-6/4

Figure 2. Ultrasonic device I100-6/4

В качестве экстрагентов (в обоих случаях) использовали воду очищенную и растворы этанола в различной концентрации от 40 до 90%. Соотношение сырье : экстрагент составляло 1:20 (по массе). [9]

Сверхкритическую флюидную  $\text{CO}_2$  экстракцию проводили в двух вариантах с использованием со-экстрагента (96% этанола в соотношении диоксид углерода : этанол 9:1) и без него. Экстрагирование проводили на сверхкритической флюидной экстракционной системе с сосудом 1 л SFE1000-2-BASE с комплектом для модернизации системы SFE1000-2-BASE до системы SFE1000M1-2-FMC50 (Waters, USA). Скорость потока экстрагента составляла 60 г/мин. Экстракцию проводили в течение одного часа и давлении 200, 300 и 400 бар. Экстракцию проводили трижды.

Для повышения выхода экстрагируемых веществ оптимизировали параметры для ультразвуковой кавитации: частоту колебаний, температуру и продолжительность экстракции; для виброкавитационной экстракции: скорость вращения гомогенизатора; для сверхкритической флюидной  $\text{CO}_2$  экстракции: наличие со-экстрагента, давление и продолжительность экстракции.

Затем в полученных извлечениях определяли сумму экстрактивных веществ согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Извлечения тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150–200 см<sup>3</sup>, 25 см<sup>3</sup>. Фильтрат пипеткой пе-



**Рисунок 3.** Сверхкритическая флюидная экстракционная система

**Figure 3.** Supercritical fluid extraction system

реносили в предварительно высушенную при температуре 100–105 °С до постоянной массы, и точно взвешенную фарфоровую чашку диаметром 7–9 см, и выпаривали на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушили при температуре 100–105 °С до постоянной массы, затем охлаждали в течение 30 мин в эксикаторе, на дне которого находился кальция хлорид безводный, и немедленно взвешивали [7].

Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле 1:

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1(100 - W)}, \quad (1)$$

**Таблица 1.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени ультразвуковой экстракции

**Table 1.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of ultrasonic extraction

	вода	40% этанол	50% этанол	60% этанол	70% этанол	80% этанол	90% этанол
10 мин	0	0,39±0,04	0,51±0,06	0,63±0,05	0,71±0,03	0,65±0,02	0,57±0,06
20 мин	0	0,58±0,03	0,79±0,09	0,91±0,1	0,98±0,07	0,77±0,06	0,71±0,04
30 мин	0	0,86±0,06	1,08±0,13	1,17±0,07	1,32±0,12	1,06±0,11	0,99±0,12
40 мин	0	1,10±0,12	1,21±0,1	1,33±0,12	1,57±0,14	1,23±0,08	1,19±0,11
50 мин	0,001	1,22±0,09	1,38±0,09	1,62±0,15	1,73±0,20	1,67±0,13	1,49±0,12
60 мин	0	1,01±0,02	1,17±0,11	1,49±0,12	1,41±0,09	1,33±0,10	1,29±0,05

**Таблица 2.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени виброкавитационной экстракции при скорости вращения гомогенизатора 1000 об/мин

**Table 2.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of vibro-cavitation extraction at the speed of rotation of the homogenizer 1000 rpm

	вода	40% этанол	50% этанол	60% этанол	70% этанол	80% этанол	90% этанол
10 мин	0	0,06±0,001	0,13±0,001	0,29±0,03	0,43±0,05	0,38±0,04	0,34±0,02
20 мин	0	0,11±0,002	0,26±0,005	0,37±0,02	0,51±0,04	0,47±0,05	0,43±0,04
30 мин	0	0,16±0,001	0,31±0,008	0,54±0,06	0,65±0,08	0,54±0,04	0,51±0,03
40 мин	0	0,23±0,01	0,39±0,03	0,78±0,09	0,83±0,01	0,67±0,05	0,59±0,05
50 мин	0	0,28±0,02	0,48±0,02	0,86±0,10	0,91±0,08	0,75±0,07	0,68±0,07
60 мин	0,001	0,34±0,03	0,56±0,04	0,97±0,09	1,1±0,2	0,83±0,09	0,72±0,04

где  $m$  – масса сухого остатка, в граммах;  $m_1$  – масса сырья, в граммах;  $W$  – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Потерю в массе при высушивании сырья ( $W$ ) в процентах определяли по формуле 2:

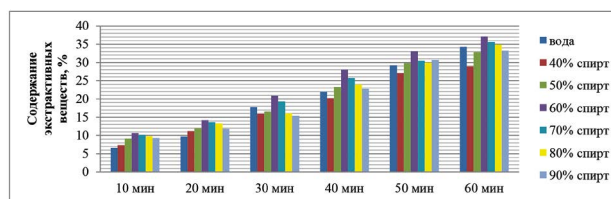
$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m}, \quad (2)$$

где  $m$  – масса сырья до высушивания, в граммах;  $m_1$  – масса сырья после высушивания, в граммах.

Количественное определение сапонинового комплекса семян пажитника сеного проводили на хроматографе Agilent QTOF-6530 с двумя источниками ионизации ESI и APCI (Agilent США).

**Параметры хроматографа:** Предколонка «Security Guard C18» (4 × 3 мм; «Phenomenex», США), температура колонки 25 °С, скорость подвижной фазы 1 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл, подвижная фаза: ацетонитрил : вода в различных соотношениях; время хроматографирования 42 мин

**Параметры детектора:** Режим сканирования ионов – положительные ионы, диапазон масс сканируемых ионов от 400 до 1500  $m/z$ ; давление небулайзера



**Рисунок 4.** Зависимость концентрации экстрагируемых веществ от времени ультразвукового воздействия

**Figure 4.** The dependence of the concentration of the extracted substances on the time of ultrasound exposure

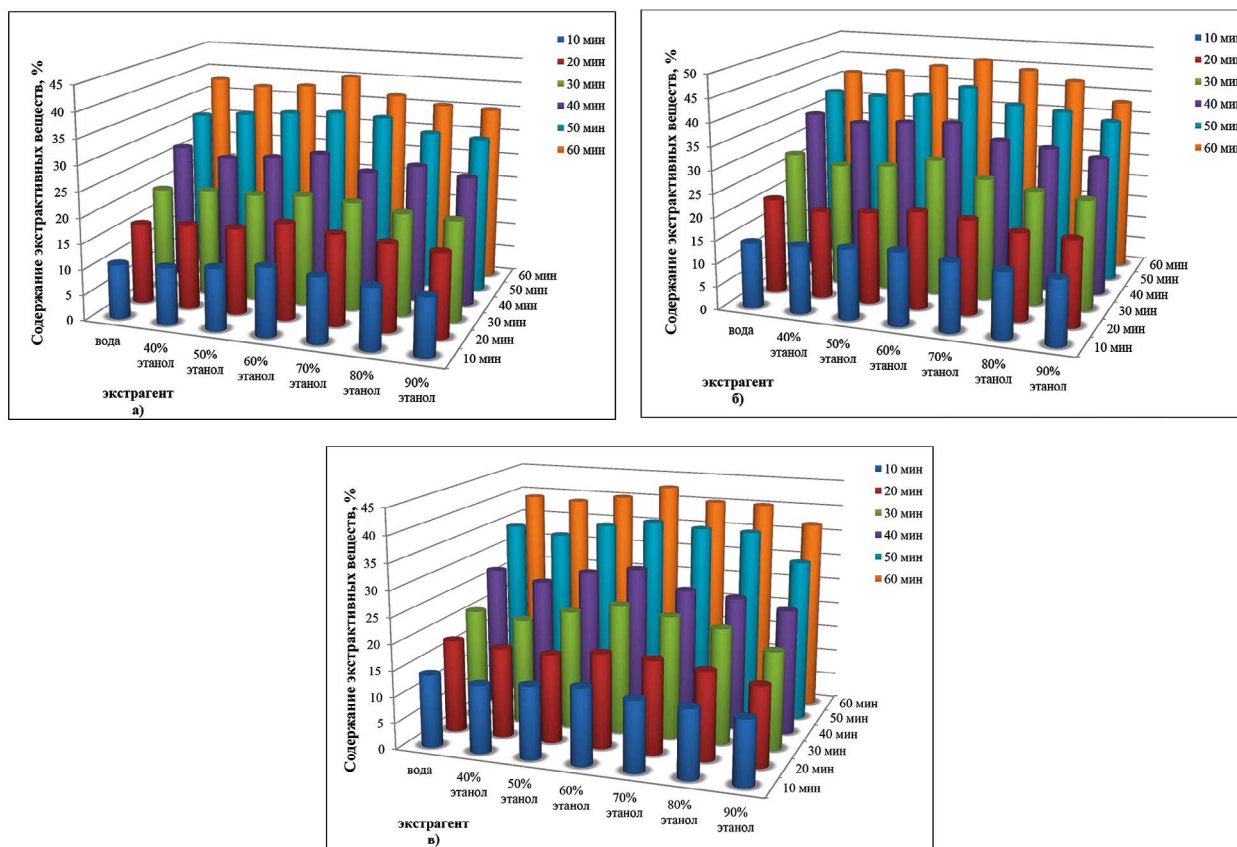
70 psi; скорость и температура газа-осушителя состав-ляли соответственно 12 л/мин и 350 °С.

Разделение компонентов смеси проводили на ко-лонке ZORBAX Eclipse Plus-C18 Rapid Resolution HD 2.1 × 50 mm (Agilent США).

В качестве стандартного образца использовали диосцин (≥95% HPLC Sigma-Aldrich) [10].

Количественное содержание диосцина проводили методом калибровочной прямой.

Статистическую обработку результатов про-водили, используя коэффициент Стьюдента. До-верительный интервал 0,95. Полученные дан-ные представлены на рисунках 4–6 и в таблицах 1–6.

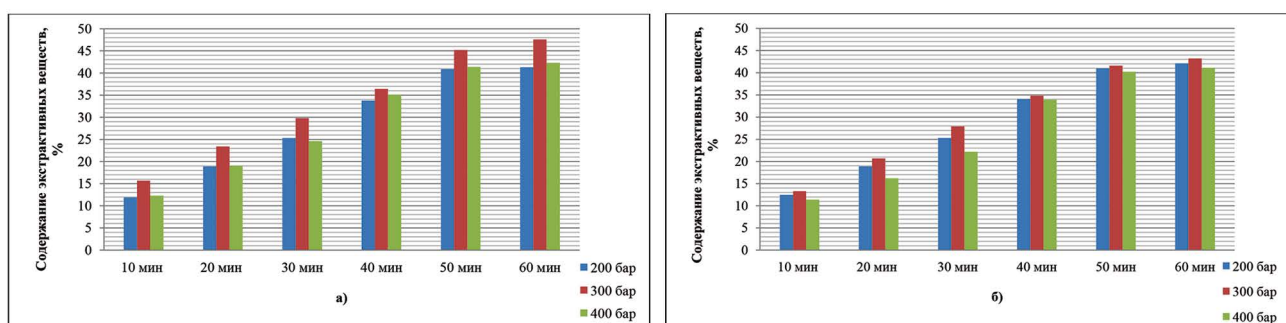


**Рисунок 5.** Зависимость концентрации экстрагируемых веществ от скорости оборотов гомогенизатора

а – скорость вращения гомогенизатора 1000 об/мин; б – скорость вращения гомогенизатора 3000 об/мин; в – скорость вращения гомогенизатора 5000 об/мин

**Figure 5.** The dependence of the concentration of extractives on the speed of rotation of the homogenizer

а – the speed of rotation of the homogenizer 1000 rpm; б – the speed of rotation of the homogenizer 3000 rpm; в – the speed of rotation of the homogenizer 5000 rpm



**Рисунок 6.** Зависимость концентрации экстрагируемых веществ от времени экстрагирования сверхкритическим CO<sub>2</sub>

а – сверхкритический флюидный CO<sub>2</sub>: 96% этанол 9:1; б – сверхкритический флюидный CO<sub>2</sub> – 100%

**Paint 6.** The dependence of the concentration of extractives on the time of extraction of supercritical CO<sub>2</sub>

а – supercritical fluid CO<sub>2</sub>: 96% ethanol 9:1; б – supercritical fluid CO<sub>2</sub> – 100%

**Таблица 3.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени виброкавитационной экстракции при скорости вращения гомогенизатора 3000 об/мин

**Table 3.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of vibro-cavitation extraction at the speed of rotation of the homogenizer 3000 rpm

	вода	40% этанол	50% этанол	60% этанол	70% этанол	80% этанол	90% этанол
10 мин	0	0,37±0,02	0,48±0,01	0,57±0,07	0,67±0,04	0,60±0,03	0,56±0,06
20 мин	0	0,46±0,02	0,65±0,03	0,78±0,05	0,89±0,09	0,75±0,06	0,69±0,05
30 мин	0	0,69±0,06	0,89±0,09	0,99±0,11	1,12±0,10	0,94±0,14	0,87±0,08
40 мин	0	0,98±0,07	1,03±0,07	1,28±0,12	1,43±0,13	1,17±0,11	1,02±0,11
50 мин	0	1,11±0,09	1,19±0,10	1,44±0,20	1,64±0,15	1,37±0,15	1,28±0,09
60 мин	0,001	1,25±0,14	1,36±0,11	1,64±0,11	1,87±0,17	1,52±0,13	1,44±0,11

**Таблица 4.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени виброкавитационной экстракции при скорости вращения гомогенизатора 5000 об/мин

**Table 4.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of vibro-cavitation extraction at the speed of rotation of the homogenizer 5000 rpm

	Вода	40% этанол	50% этанол	60% этанол	70% этанол	80% этанол	90% этанол
10 мин	0	0,57±0,03	0,67±0,02	0,74±0,09	0,83±0,07	0,79±0,08	0,75±0,05
20 мин	0	0,67±0,05	0,78±0,09	0,93±0,07	1,26±0,13	0,99±0,06	1,03±0,08
30 мин	0	0,83±0,09	0,97±0,07	1,22±0,09	1,49±0,17	1,24±0,09	1,29±0,14
40 мин	0,001	1,01±0,12	1,11±0,	1,49±0,16	1,67±0,15	1,43±0,14	1,45±0,11
50 мин	0,003	1,19±0,10	1,34±0,14	1,60±0,15	1,89±0,14	1,67±0,13	1,59±0,12
60 мин	0,003	1,31±0,09	1,49±0,13	1,83±0,17	2,03±0,19	1,94±0,21	1,87±0,13

**Таблица 5.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени сверхкритической флюидной CO<sub>2</sub> экстракции (этанол 96%: CO<sub>2</sub> 1:9)

**Table 5.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of supercritical fluid CO<sub>2</sub> extraction (ethanol 96%: CO<sub>2</sub> 1: 9)

	200 бар	300 бар	400 бар
10 мин	0,84±0,06	0,98±0,05	0,89±0,09
20 мин	0,99±0,05	1,14±0,07	1,02±0,03
30 мин	1,09±0,09	1,39±0,16	1,29±0,08
40 мин	1,21±0,11	1,61±0,11	1,47±0,13
50 мин	1,33±0,14	1,77±0,09	1,53±0,14
60 мин	1,46±0,12	1,89±0,17	1,61±0,12

**Таблица 6.** Зависимость концентрации (%) диосцина от времени сверхкритической флюидной CO<sub>2</sub> экстракции (100% CO<sub>2</sub>)

**Table 6.** Dependence of the concentration (%) of dioscin on the time of supercritical fluid CO<sub>2</sub> extraction (100% CO<sub>2</sub>)

	200 бар	300 бар	400 бар
10 мин	0,61±0,02	0,87±0,09	0,74±0,05
20 мин	0,89±0,05	1,10±0,07	0,97±0,08
30 мин	1,07±0,08	1,22±0,10	1,11±0,12
40 мин	1,19±0,10	1,46±0,13	1,28±0,11
50 мин	1,27±0,08	1,53±0,11	1,39±0,13
60 мин	1,39±0,13	1,60±0,17	1,47±0,15

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При ультразвуковой экстракции в системе «твердое тело-жидкость» основной механизм включает разрушение структуры поверхности, диффузию, капиллярные звуковые эффекты и акустические микро-вихри, прохождение через мембраны клеток и локальные тепловые эффекты [4]. В связи с этим возможно разрушение целевых биологически активных веществ,

каким и является диосцин. На рисунке 4 и 7, представленных в статье, отражено, снижение выхода диосцина после 50 минут экстракции. При этом выход экстрактивных веществ продолжает расти и к 60 минуте достигает максимума. Наибольший выход диосцина наблюдался при времени экстрагирования 50 минут и частоте ультразвука 22 кГц. Дальнейшее увеличение продолжительности и интенсивности обработки сырья ультразвуком (более 1 час и 22 кГц) не приводит к увеличению содержания БАВ в экстракте, а напротив вызывает их разрушение и инактивацию [4]. При использовании других методов экстрагирования разрушения действующих веществ не наблюдалось. В результате проведения сверхкритической флюидной CO<sub>2</sub> экстракции было установлено, что наибольший выход экстрактивных веществ и диосцина получен при использовании соэкстрагента, давлении 300 бар и времени экстракции 60 минут. Это может быть связано с тем, что сырье содержит большое количество липофильных и амфифильных соединений (липиды, белки, спонины и др.) для которых давление 200 бар является селективным. Так же в связи использованием этанола – полярного соэкстрагента, увеличивается диапазон выхода экстрактивных веществ. Виброкавитационная экстракция так же показала высокий выход экстрактивных веществ сопоставимый с выходом при использовании сверхкритической флюидной CO<sub>2</sub> экстракции (рисунок 6 и таблицы 5, 6). Однако, при использовании данного метода экстрагирования оказывается определенное ультразвуковое воздействие на сырье, так как основной механизм экстрагирования виброкавитационного гомогенизатора заключается в получении тонкодисперсной эмульсии при обработке сырья в течение короткого времени. В результате извлечения являются гетерогенными системами, в зонах

сжатия и разрежения возникает давление. Избыточное давление, накладываясь на постоянное гидравлическое давление, суммарно может составлять несколько атмосфер. В фазу разрежения во всем объеме жидкости, особенно у границ раздела фаз, в местах, где имеются пузырьки газа или мельчайшие твердые частицы, образуются полости, кавитационные пузырьки. При повторном сжатии эти пузырьки захлопываются, развивая давление до сотен атмосфер. Образуется ударная волна высокой интенсивности, которая приводит к механическому разрушению твердых частиц и вырывает с поверхности раздела фаз небольшие объемы жидкости, распадающиеся на мелкие капельки и снова входящие в неё. При этом мощность затрачиваемая на перемешивание и образование эмульсии при постоянной частоте вращения с течением времени уменьшается до 50%, а с увеличением концентрации влаги в сырье растёт до 30% [5]. Так же, следует отметить, что виброкавитационные гомогенизаторы достаточно дешёвые в сравнении с сверхкритическими флюидными экстракционными системами, что является несомненным преимуществом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате наших исследований было выявлено, что наиболее перспективным методом экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного является виброкавитационная экстракция при частоте оборотов гомогенизатора 5000 об/мин и времени экстрагирования 60 мин.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Белокуров С. С., Флисюк Е. В. Сравнительный анализ различных методик для получения экстрактов с высоким содержанием биологически активных веществ. VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2018 г. – СПб.: Изд-во СПбХФУ. 2018: 383–384.
2. Abdo M. S., Al-Kafawi A. A. Experimental studies on the effect of *Trigonella foenum-graecum*. *Planta Med.* 1969; 17: 14–18.
3. Grover J. K. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology.* 2002; 81(1): 81–100.
4. Хмелев В. Н., Сливин А. Н., Барсуков Р. В., Цыганок С. Н., Шалуннов А. В. Применение ультразвука высокой интенсивности в промышленности. Изд-во: *Алт. гос. техн. ун-та.* 2010: 203.
5. Белокуров С. С., Наркевич И. А., Флисюк Е. В., Каухова И. Е., Ароян М. В. Современные методы экстрагирования лекарственного растительного сырья (обзор). *Химико-фармацевтический журнал.* 2019; 56(6): 45–50.
6. Kar L. N., Chin P. T., Roselina K., Oi M. L., Kamariah L., Mana Y. C. Extraction of tocopherol-enriched oils from Kalahari melon and roselle seeds by supercritical fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>). *Food Chemistry.* 2010; 119: 1278–1283.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2 / МЗРФ. М., 2018: 7019 с.
8. Пименов Ю. А. Виброкавитационный смеситель-гомогенизатор: пат. – 2131761 Рос. Федерация; рег. № 98105553/25; заявл. 25.03.1998; опубл. 20.06.1999.
9. Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Смахова И. Е. Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного с высоким содержанием биологически активных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2019; 8(3): 21–25.
10. Гравель И. В., Скибина А. А., Кузьменко А. Н., Демина Н. Б. Изучение химического состава корней спаржи кистевидной. *Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия.* 2017; 58(4): 199–203.

## REFERENCES

1. Belokurov S. S., Flisyuk E. V. Comparative analysis of various methods for obtaining extracts with a high content of biologically active substances. VIII All-Russian Scientific Conference of Students and Postgraduates with International Participation «Young Pharmacy – Potential of the Future», St. Petersburg, April 23–24, 2018 – St. Petersburg: *SPCPU Publishing House.* 2018: 383–384 (in Russ.).
2. Abdo M. S., Al-Kafawi A. A. Experimental studies on the effect of *Trigonella foenum-graecum*. *Planta Med.* 1969; 17: 14–18.
3. Grover J. K. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology.* 2002; 81(1): 81–100.
4. Khmelev V. N., Slivin A. N., Barsukov R. V., Tsyganok S. N., Shalunov A. V. The use of high-intensity ultrasound in industry. *Publishing house Alt. state tech. University.* 2010: 203 (in Russ.).
5. Belokurov S. S., Narkevich I. A., Flisyuk E. V., Kauhova I. E., Aroyan M. V. Modern methods of extraction of medicinal plant materials (review). *Chemical Pharmaceutical Journal.* 2019; 56(6): 45–50 (in Russ.).
6. Kar L. N., Chin P. T., Roselina K., Oi M. L., Kamariah L., Mana Y. C. Extraction of tocopherol-enriched oils from Kalahari melon and roselle seeds by supercritical fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>). *Food Chemistry.* 2010; 119: 1278–1283.
7. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. XIV izd. T. 2 / MZ RF. M., 2018: 7019 p. (in Russ.).
8. Pimenov Yu. A. Vibro-cavitation mixer-homogenizer: Pat. – 2131761 Rus. Federation; reg. № 98105553.25; declared 03.25.1998; publ. 06.20.1999 (in Russ.).
9. Belokurov S. S., Flisyuk E. V., Smekhova I. E. The choice of the method of extraction to obtain extracts from the seeds of fenugreek hay with a high content of biologically active substances. *Drug development & registration.* 2019; 8(3): 21–25 (in Russ.).
10. Gravel I. V., Skibina A. A., Kuzmenko A. N., Demina N. B. Study of the chemical composition of asparagus racemes. *Vestn. Mosk. Un-ta. Ser. 2. Chemistry.* 2017; 58(4): 199–203 (in Russ.).