

ТЕРМОДИНАМИКА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ЭКСТРАКЦИЕЙ**В.Ф. Урьяш, Н.Ю. Кокурина, А.Е. Груздева*, В.Н. Ларина,
Л.А. Фаминская, И.Н. Калашников, В.И. Фаерман***Научно-исследовательский институт химии Нижегородского госуниверситета
им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия
*ООО «Грандэ», Нижний Новгород, Россия***Введение**

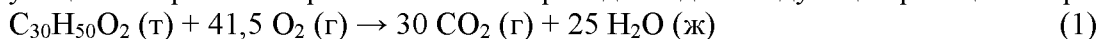
В качестве экологически чистого метода получения ценных биологически активных веществ (БАВ) из растительных продуктов в последнее время с успехом используется экстракция газами, находящимися в сверхкритическом состоянии [1–4]. Этот метод с полным правом можно отнести к «зеленой химии» [5]. Для стандартизации БАВ, полученных методом сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода, необходимы надежные данные об их физико-химических свойствах [6]. Поэтому нами методом дифференциального термического анализа в области 80–550 К были изучены фазовые и физические переходы (плавление, кристаллизация, испарение, стеклование) в образцах CO₂-экстрактов из побегов сосны, коры березы (*Betula pendula*) и купажа семян расторопши, зародышей пшеницы и плодов облепихи с целью возможного использования температур указанных переходов в качестве реперных при сопоставлении различных партий полученных продуктов. Кроме того, хроматографическими и спектральными методами был исследован качественный и количественный состав CO₂-экстрактов. Изучили также радиопротекторные, антиатерогенные и антиоксидантные свойства CO₂-экстрактов из побегов сосны. Из CO₂-экстракта коры березы был выделен и очищен бетулин (C₃₀H₅₀O₂) – природное БАВ, представляющее собой пентациклический тритерпеновый спирт ряда лупана. Он оказывает антисептическое, противовирусное, желчегонное, гастро- и гепатопротекторное действие. Определили термохимические характеристики и температуры фазовых переходов бетулина.

Методы исследования

Дифференциальный термический анализ (ДТА) в области 80–650 К проводили в атмосфере гелия на приборе, конструкция которого разработана в лаборатории термохимии НИИ химии Нижегородского университета [7]. Эталонном служил кварц. Масса образца и эталона составляла 0,25–0,35 г. Температуру образца и разницу температур между образцом и эталоном измеряли хромель-копелевой термопарой с погрешностью 0,5 К. Термопару калибровали по эталонному платиновому термометру сопротивления и реперным веществам во всей области температуры. Скорость нагрева в опытах была 5 К/мин. Отклонение от линейности не превышало 1%. Для проверки работы установки ДТА были определены температура плавления эталонного н-гептана и температура стеклования очищенного глицерина. Полученные нами результаты совпали с соответствующими надежными литературными данными для н-гептана [8] с погрешностью 0,2 К, для глицерина [9] – 1 К.

Энтальпию сгорания бетулина определяли в усовершенствованном калориметре В–08МА со статической калориметрической бомбой [10]. Калибровку калориметрической системы проводили по эталонной бензойной кислоте марки К–2 ($\Delta U_c = -26460,0$ Дж/г при взвешивании в воздухе). Энергетический эквивалент системы $W = 14847 \pm 3$ Дж/К с удвоенным квадратичным отклонением от среднего результата 0,02%. Образцы бетулина сжигали в виде таблеток вместе с таблетками бензойной кислоты при давлении кислорода $3 \cdot 10^6$ Па. По данным хроматографического анализа используемый кислород содержал примеси, мол.%: N₂ – 0,8; CO и CO₂ – 0,002; углеводородов – 0,001. Вещество в кварцевом тигле поджигали путем разряда конденсатора на платиновую проволоку, соединенную с веществом

посредством хлопчатобумажной нити. Для измерения подъема температуры использовали два платиновых термометра сопротивления и цифровой вольтметр Ш1516, включенные в мостовую схему. Массу образца исследуемого соединения определяли по количеству CO_2 , образующегося при его сгорании. Расчеты проведены для следующей реакции сгорания:



В условиях калориметрической бомбы определяли энергию сгорания исследуемого вещества $\Delta_c U$. Исходя из среднего значения $\Delta_c U$, молярной массы (M), с учетом поправки Уошберна и поправки, обусловленной изменением числа молей газов, рассчитали стандартные величины $\Delta_c U^\circ$ и $\Delta_c H^\circ$ для реакции сгорания бетулина. По полученным $\Delta_c H^\circ$ рассчитаны энтальпии образования $\Delta_f H^\circ$ бетулина в твердом состоянии при 298,15 К с использованием $\Delta_f H^\circ(\text{H}_2\text{O}, \text{ж}) = -285,830 \pm 0,042$ Дж/моль и $\Delta_f H^\circ(\text{CO}_2, \text{г}) = -393,51 \pm 0,13$ Дж/моль [11].

Хромато-масспектрометрический анализ проводили на хромато-масс-спектрометре Trace GC Ultra/DSQII. Использовали капиллярную колонку TR 5 MS длиной 60 м и диаметром 0,25 мм. Пробу объемом 1 мкл вводили шприцем в инжектор хроматографа, нагретый до 583 К. Скорость потока газа-носителя (гелий марки М 60) составляла 1 мл/мин. Температура колонки изменялась от 473 до 583 К. Масс-хроматограммы регистрировали в диапазоне массовых чисел 35–600. Запись хроматограммы начинали через 4 мин (для отсечения пика растворителя). Идентификацию компонентов смесей осуществляли с использованием электронной библиотеки масс-спектров «NIST 2005».

Исследование радиозащитных свойств углекислотного экстракта побегов сосны проводили на модели экспериментальной костномозговой формы лучевой болезни. Использовали белых нелинейных мышей массой 20 г. Сформировано четыре группы животных по 20 особей в каждой: 1 группа – животные, получающие только растительное масло; 2 группа – животные, получающие только препарат CO_2 – экстракта побегов сосны; 3 группа – облученные животные; 4 группа – облученные животные на фоне действия препарата CO_2 – экстракта побегов сосны. Животным внутривенно в течение семи суток с периодичностью 1 раз в сутки вводили масляный препарат CO_2 – экстракта в дозе 1500 мг/кг. Контрольным животным вводили растительное масло. Через три часа после последнего введения препарата животные подвергались γ -облучению (Co^{60}) на терапевтической установке «Агат С» в дозе 3 Гр, что вызывало развитие костномозговой формы лучевой болезни. Костный мозг и кровь для анализа брали через одни и семь суток после облучения. Костный мозг забирали из бедренной кости, а кровь из всей тушки после декапитации. В костном мозге определяли количество кроветворных клеток (мегамиелоцитов), митотический индекс и число хроматических аберраций. В крови – содержание гемоглобина, число лейкоцитов, а также концентрацию одного из вторичных продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида.

Нами были также проведены доклинические испытания CO_2 -экстракта из побегов сосны по параметрам антиатерогенного и антиоксидантного действия. В экспериментах использовали половозрелых крыс-самцов линии Wistar массой 280–300 г. Статистические группы в опытах состояли из 10 животных. Углекислотный экстракт побегов сосны в виде 0,15% масляного раствора вводили внутривенно крысам-самцам ежедневно в течение 3 недель на фоне экспериментальной гиперлипидемии. В качестве контрольного вещества во всех сериях экспериментов использовано рафинированное растительное масло в соответствующих количествах. Эквитерапевтическая суточная доза препарата для животных составила 10 мг/кг. Экспериментальный атеросклероз (гиперлипидемию) у животных вызывали в течение 1 месяца с помощью атерогенной диеты: 3% холестерина, 0,25% холевой кислоты, 0,3% метилурацила и эргокальциферола в дозе 35000 ЕД/кг. Данные вещества вносились в стандартный рацион вивария. Через месяц двум опытным группам животных на фоне атерогенной диеты добавляли в пищу 2 мл масляного препарата экстракта побегов сосны. Через 10 и 30 дней после приема экстракта животные были забиты с взятием у них крови и ткани головного мозга на биохимические исследования (опытные группы по 10

крыс). Контролем служили животные, не принимавшие в качестве добавки к пище экстракт побегов сосны (10 крыс).

Биологически активные вещества из побегов сосны, коры березы (*Betula pendula*) и купажа семян расторопши, зародышей пшеницы и плодов облепихи получены нами методом сверхкритической флюидной экстракции по запатентованной технологии [12] при 313 К и 15,0 мПа на установке марки УЭН, разработанной научно-производственной компанией ЗАО «Биофит» (г. Нижний Новгород). По органолептическим показателям углекислотные экстракты из побегов сосны являются густой мазеобразной массой при комнатной температуре с характерным хвойным запахом и цветом от желтого до темно-зеленого. Плотность углекислотных экстрактов составляет 1,00–1,03 г/см³. Кинематическая вязкость, определенная на капиллярном вискозиметре при 323 К, равна 900–1400 мм²/с.

СО₂-экстракт коры березы представляет собой белый или слегка желтоватый порошок, содержащий до 43 мас.% ценного вещества бетулина, который был очищен перекристаллизацией из раствора в хлороформе до содержания основного вещества 99,5 мас.%. Предварительно нами определена растворимость бетулина при 296,35 К в хлороформе (1,678 г С₃₀Н₅₀О₂ на 100 г растворителя). Элементный анализ его показал, что содержание, мас. %: С–81,67; Н–11,45; О–6,88 (теория – 81,39; 11,38; 7,23 соответственно).

Купаж был получен из семян расторопши (50%), зародышей пшеницы (30%) и шрота плодов облепихи (20%). В экстракте содержится лецитин (2,4%) и каротиноиды (39,3 мг%).

Результаты и их обсуждение

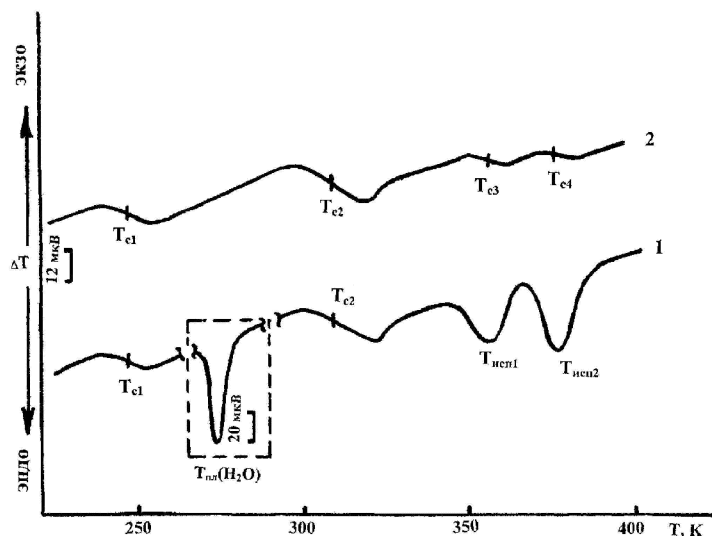
Исследования СО₂-экстрактов из побегов сосны методом ИК–спектроскопии показали, что спектр фракции углеводов содержит полосы поглощения 2920, 2960, 2850, 1380, 1460 см⁻¹, характерные для С–Н колебаний. ИК–спектр карбонильных соединений содержит полосы поглощения 1730, 1250 см⁻¹, характерные для С=О групп. Спектр спиртов содержит полосы поглощения 1730, 1250, 1040 см⁻¹, относящиеся к колебаниям С=О и О–Н групп спиртов и эфирспиртов. В ИК–спектре полифункциональных соединений целый набор полос, характерных для разных типов колебаний. Для определения наличия связанных кислот (в виде эфиров) анализируемую пробу предварительно омыляли. Компонентный состав полученных кислот после омыления определяли газожидкостной хроматографией (ГЖХ), а нейтральные вещества разделяли на колонке с оксидом алюминия. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты количественного разделения углекислотного экстракта побегов сосны

Выделенная фракция	Массовая доля, %	
	До омыления	После омыления
Нейтральные вещества	31,0	24,5
<i>В том числе</i>		
Углеводороды	1,21	1,22
Карбонилсодержащие соединения (альдегиды, кетоны, сложные эфиры)	7,00	2,82
Спирты	14,32	16,12
Полифункциональные соединения	3,41	2,21
Свободные кислоты	61,7	65,6
<i>В том числе</i>		
Высшие жирные	6,74	10,74
Смоляные	51,86	46,06
Окисленные	3,10	8,80

Методом ГЖХ идентифицировали 9 высших жирных и 10 смоляных кислот в углекислотных экстрактах побегов сосны. Максимальное количество витамина F составляет 3,22 %, а витамина E – 10–50 мг/100 г. Также было определено содержание монотерпеновых углеводородов и нейтральных соединений в экстрактах побегов сосны. Экстракты из побегов сосны имеют большие значения кислотного числа (74–119 мг КОН/г) и маленькие значения эфирного числа (15–60 мг КОН/г).

Нами был проведен ДТА в области 80–400 К нескольких образцов CO₂-экстрактов. Все образцы первоначально охлаждались со скоростью ~20 К/мин от комнатной температуры до 80 К. Затем при нагревании регистрировали ДТА-кривые. На термограммах всех образцов проявлялись одинаковые релаксационные и фазовые переходы. В качестве примера на рисунке 1 приведены термограммы одного из изученных образцов CO₂-экстракта из побегов сосны.



1 – первый прогрев;

2 – повторный прогрев после испарения воды

Рисунок 1 – Термограммы CO₂-экстрактов из побегов сосны [13]

При первоначальном прогреве у данного образца, как и у других, проявляется физический переход (T_{c1}) эндотермического характера в интервале 240–255 К (рисунок 1, кривая 1). Затем при 273 К проявляется эндотермический пик плавления фазы воды ($T_{пл}(H_2O)$) и еще один физический переход (T_{c2}) в интервале 300–320 К, после чего два эндотермических пика с экстремумами при $T_{исп1}=355$ К и $T_{исп2}=380$ К. При этом наблюдалась потеря массы образца от 6 до 20 мас.%. Это указывает на то, что последние два пика относятся к испарению воды и некоторых летучих органических соединений. Причем эта вода не растворяется в компонентах экстракта. По-видимому, и составные части экстракта не растворяются в воде, т.к. ее температура плавления не понижается.

После испарения летучих компонентов мы вновь охладили образцы и сняли вторую термограмму при нагревании (рисунок 1, кривая 2). При повторном прогреве на термограммах отсутствовали пики плавления и испарения воды. Физические переходы в интервалах 240–255 К и 300–320 К воспроизвелись и появились еще два перехода (T_{c3} и T_{c4}) со средними температурами 353 и 378 К в области пиков испарения. Зарегистрированные физические переходы следует отнести к расстеклованию компонентов, входящих в состав экстрактов.

В изученных образцах экстрактов из побегов сосны наблюдаются физические переходы ($T_{c1}=247$ К и $T_{c2}=309$ К), которые воспроизводятся и, на температуры которых не влияет присутствующая в образцах вода. Их можно использовать при стандартизации указанных образцов CO₂-экстрактов.

Исследованиями радиозащитных свойств препарата CO₂-экстракта побегов сосны установлено, что облучение мышей в дозе 3 Гр приводило через сутки к значительному снижению лейкоцитов (лейкопении) как у контрольных, так и у опытных животных относительно нормы. Спустя 7 суток количество лейкоцитов в опытной группе достигло значений необлученных животных. В контрольной группе количество лейкоцитов осталось практически на прежнем уровне (таблица 2).

Действие радиации сопровождалось значительными поражениями системы кроветворения – красного костного мозга, однако количество клеток костного мозга у животных опытной группы было достоверно выше, чем в контроле.

Таблица 2 – Общее содержание лейкоцитов (тыс./1 мкл) в крови животных после воздействия препарата экстракт побегов сосны¹⁾

Группы животных	Сутки после введения препарата	
	1	7
Контроль (масло)	6150±589	7833±133
Контроль (препарат)	4400±195	4400±241
Контроль D=3 Гр	4050±781	3250±430*#
Опыт D=3 Гр+препарат	3617±298*\$	7025±419*\$

¹⁾ Достоверные различия по сравнению с контролем: * – масло; # – препарат; \$ – облучение.

Репаративные процессы в этой группе происходили очень интенсивно и спустя 7 суток количество кроветворных клеток достигло значений интактных животных (нормы). У контрольных животных восстановительные процессы в костном мозге протекали гораздо медленнее, чем в опытной группе. Спустя 7 суток после облучения клеток костного мозга было в 2 раза меньше, чем у животных, получавших экстракт побегов сосны.

Исследования свидетельствует, что экстракт побегов сосны обладает радиозащитными свойствами, о чем свидетельствует более высокое содержание клеток костного мозга и лейкоцитов, а также быстрые восстановительные процессы в системе крови и кроветворения у облученных животных, предварительно получавших экстракт побегов сосны, относительно контрольных животных. Таким образом, он может выполнять роль перспективного радиопротектора.

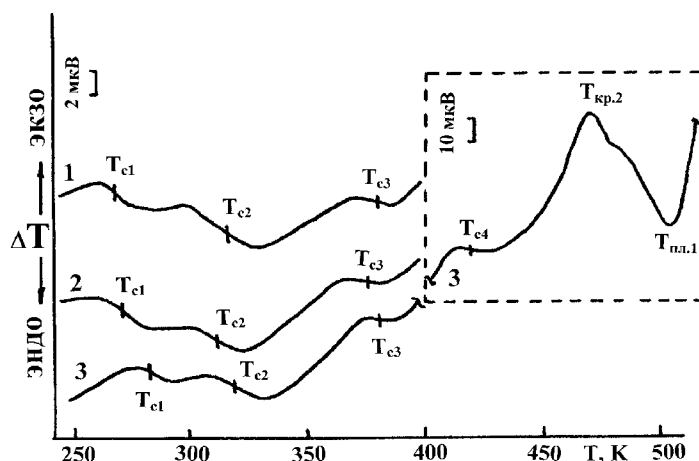
Добавление крысам в пищу масляного раствора с экстрактом побегов сосны вызывало уже в течение первой недели значительное снижение содержания в плазме общего холестерина, повышение уровня антиатерогенных липопротеидов высокой плотности, достоверное снижение индекса атерогенности (таблица 3). Выявленные изменения изучаемых параметров предполагают наличие у углекислотных экстрактов побегов сосны антиатерогенных свойств.

Таблица 3 – Влияние экстрактов побегов сосны на содержание общего холестерина и фракции липопротеидов высокой плотности в плазме крыс

Показатель	Интактные животные	Гиперлипидемия (контроль)	Через 10 дней после приема экстракта	Через 30 дней после приема экстракта
Общий холестерин, ммоль/л	2,57±0,13*	7,92±0,58	5,56±0,3*	2,75±0,15*
ЛПВП**, ммоль/л	1,38±0,09*	0,86±0,12	1,33±0,08*	1,29±0,075*
Коэффициент атерогенности	0,56±0,02	6,49±0,17	1,08±0,18*	0,47±0,015*

* Достоверные различия по сравнению с контролем, $p < 0,05$; ** ЛПВП – липопротеиды высокой плотности.

Результаты ДТА CO_2 -экстракта коры березы представлены на рисунок 2. Для установления воспроизводимости физических и фазовых переходов в образце эксперимент был проведен три раза. Образец первоначально охлаждался со скоростью ~ 20 К/мин от комнатной температуры до 80 К. Затем при нагревании со скоростью 5 К/мин регистрировали ДТА-кривые. В экспериментах 1 и 2 (рисунок 2, кривые 1, 2) нагрев закончили при 400 К. На термограммах 1 и 2 проявились последовательно три физических перехода (T_{c1} ; T_{c2} ; T_{c3}) эндотермического характера в интервале 260–390 К со средними температурами соответственно $T_{c1}=268, 269$ К; $T_{c2}=319, 318$ К; $T_{c3}=376, 373$ К.



1 – первый прогрев; 2 – второй прогрев; 3 – третий прогрев

Рисунок 2 – Термограммы CO_2 -экстрактов коры березы (*Betula pendula*)

В эксперименте 3 (рисунок 2, кривая 3) нагрев закончили при 510 К. На термограмме 3 также проявились три физических перехода в интервале 275–390 К (рисунок 2, кривая 3). Однако температуры их были выше на 3–10 К по сравнению с двумя первыми опытами. Следует отметить, что после первых двух проходов образец потерял $\sim 2\%$ от исходной массы. Это могла быть как адсорбционная вода, так и летучие низкомолекулярные компоненты. Как известно [14, 15], низкомолекулярные вещества (НМВ) оказывают пластифицирующее действие на полимеры, понижая температуры их физических переходов. По-видимому, испарением НМВ из CO_2 -экстракта коры березы можно объяснить повышение температур T_{c1} , T_{c2} и T_{c3} в третьем опыте. Кроме того, на термограмме №3 проявился четвертый физический переход (T_{c4}) в интервале 410–430 К (рисунок 2, кривая 3). Его амплитуда была существенно больше, чем первых трех. После чего проявился большой экзотермический пик ($T_{кр}=467$ К), который можно отнести к процессу кристаллизации и эндотермический пик ($T_{пл}=501$ К), относящийся, по-видимому, к плавлению (рисунок 2, кривая 3). Потеря массы образца после третьего прогрева составила $\sim 0,5$ мас.%. Это указывает на отсутствие деструктивных процессов в образце. Как отмечалось выше, в экстракте содержится ~ 43 мас.% бетулина. По-видимому, некоторые из наблюдавшихся переходов относятся именно к этому БАВ.

Т.о. можно рекомендовать для стандартизации CO_2 -экстракта из коры березы температуры первых четырех физических переходов ($T_{c1}=272$ К, $T_{c2}=319,5$ К, $T_{c3}=378$ К и $T_{c4}=418$ К), которые хорошо воспроизводятся при прогреве образца не выше 430 К.

Методом хромато-масспектрометрического анализа определили, что содержание примесей в бетулине, очищенном трехкратной перекристаллизацией из раствора в хлороформе, не превышает 0,5 мас.%. На масс-хроматограмме присутствует только пик, соответствующий бетулину.

Методом ДТА определили температуры его релаксационных и фазовых переходов (рисунок 3). На термограмме бетулина в интервале 220–260 К проявился переход

эндотермического характера – сравнительно резкое отклонение базовой линии от нулевого хода, связанное с увеличением теплоемкости образца. По классификации Веструма-Мак-Каллафа [16] такие переходы в кристаллических веществах относят к стеклоподобным (G-типа). Средняя температура интервала $T_G=246$ К. Затем на термограмме наблюдался экзотермический пик ($T_{кр}=433$ К), соответствующий переходу в кристаллы, стабильные в данной области температур, и эндотермический пик их плавления при $T_{пл}=524$ К.

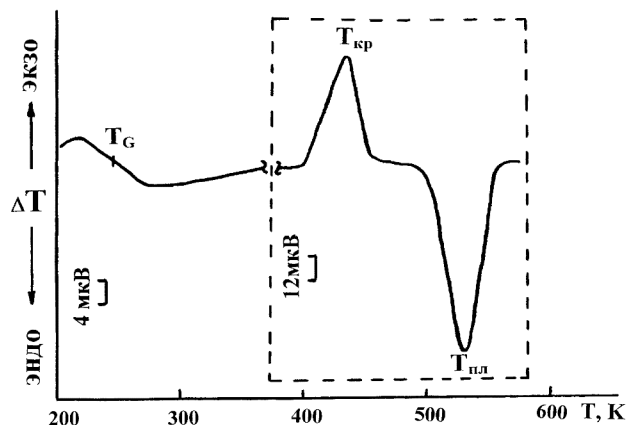
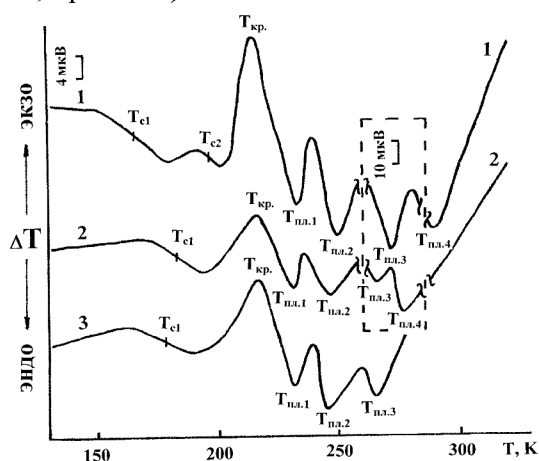


Рисунок 3 – Термограмма бетулина

Определенная нами стандартная энтальпия сгорания бетулина равна $-3163,3 \pm 4,2$ кДж/моль, а рассчитанная по ней стандартная энтальпия образования равна $-769,8 \pm 4,2$ кДж/моль.

Результаты ДТА CO_2 -экстракта купажа представлены на рисунке 5. Образец первоначально охлаждался со скоростью ~ 20 К/мин от комнатной температуры до 80 К. Затем при нагревании со скоростью 5 К/мин регистрировали ДТА-кривые. На рисунке 4 (кривая 1) приведены термограммы CO_2 -экстракта купажа. У данного образца проявились два физических перехода ($T_{c1}=175$ К и $T_{c2}=200$ К), затем проявился большой экзотермический пик ($T_{кр}=212$ К), относящийся к кристаллизации, и четыре эндотермических пика ($T_{пл1}$, $T_{пл2}$, $T_{пл3}$ и $T_{пл4}$ соответственно при температурах 233, 250, 273 и 285 К). $T_{пл1}$, $T_{пл2}$ и $T_{пл4}$ относятся, по-видимому, к плавлению входящих в экстракт компонентов, а $T_{пл3}=273$ К следует отнести к плавлению воды, содержащейся в CO_2 -экстракте купажа (рисунке 4, кривая 1).



1 – весь экстракт, 2 – средний слой, 3 – верхний слой

Рисунок 4 – Термограммы CO_2 -экстракта купажа

После первого прогрева образец в тигле разделился на три слоя и потерял 2,6% от исходной массы. Верхний слой – оранжевый прозрачный, содержит по-видимому, каротиноиды; средний слой – оранжевый со взвешенными частицами – каротиноиды и

стерины, нижний слой – водный. Потеря массы связана, по-видимому, с испарением летучих компонентов. После следующих двух прогревов масса образца уменьшился еще на 7 мас.%, что указывает на дальнейшее испарение летучих компонентов или протекание деструктивных процессов. В верхнем и среднем слоях CO_2 -экстракта купажа проявились физические и фазовые переходы при температурах соответственно $T_{c1}=174, 179$ К; $T_{кр}=218$ К; $T_{пл1}=234,5, 234$ К; $T_{пл2}=247, 248$ К; $T_{пл3}=268, 269$ К (рисунок 4, кривые 2 и 3). Кроме того, в среднем слое проявился четвертый эндотермический пик ($T_{пл4}=276$ К). Данные переходы относятся к расстеклованию, кристаллизации и плавлению компонентов, входящих в состав CO_2 -экстракта купажа.

Т.о., можно рекомендовать для стандартизации CO_2 -экстракта купажа следующие физические и фазовые переходы: $T_{c1}=175$ К, $T_{кр}=212$ К, $T_{пл1}=234,5$ К, $T_{пл2}=249,5$ К и $T_{пл3}=268$ К, которые хорошо воспроизводятся у разных партий экстракта.

Выводы

Проведенные исследования физико-химических свойств БАВ, полученных из растительного сырья, методом CO_2 -экстракции показали, что у них наблюдается целый спектр релаксационных и фазовых переходов. Однако среди них можно выделить несколько, которые хорошо воспроизводятся от партии к партии. Эти переходы можно рекомендовать в качестве реперных при стандартизации БАВ.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ.

По гранту № 08-03-97052р_поволжье_а.

Список литературы

1. Боголицын, К.Г. Современные тенденции в химии и химической технологии растительного сырья / К.Г. Боголицын // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2004. – Т.48, № 6. – С. 105–123.
2. Пичугин, А.А. Суперкритическая экстракция и перспективы создания новых бессточных процессов / А.А. Пичугин, В.В. Тарасов // Успехи химии. – 1991. – Т. 60, № 11. – С. 2412–2421.
3. Гумеров, Ф.М. Суб- и сверхкритические флюиды в процессах переработки полимеров / Ф.М. Гумеров, А.Н. Сабирзянов, Г.И. Гумерова – Казань: Изд-во «ФЭН», 2007. – 336 с.
4. Водяник, А.Р. Сверхкритическая флюидная экстракция природного сырья: мировой опыт и ситуация в России / А.Р. Водяник, А.Ю. Шадрин, М.Ю. Синев // Сверхкритические флюиды: Теория и Практика. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 58–69.
5. Кустов, Л.М. «Green Chemistry» – новое мышление / Л.М. Кустов, И.П. Белецкая // Российский химический журнал (Ж. Рос.хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2004. – Т. 48, № 6. – С. 3–12.
6. Роль термодинамики как основы развития фундаментальных исследований, стандартизации и технологий / Под ред. Ю.А. Лебедева. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2007. – 127 с.
7. Урьяш, В.Ф. Установка для дифференциального термического анализа / В.Ф. Урьяш, А.Н. Мочалов, В.А. Покровский // Термодинамика органич. соедин.: Межвуз. сб. – Горький: Изд-во Горьк. гос. ун-та, 1978. – Вып.7. – С. 88–92.
8. Calorimetric properties of normal heptane from 0 to 520 K / T.B. Douglas [et al.] // J. Res. Natl. Bur. Standards. – 1954. – Vol. 53. – P. 39–143.
9. McMillan, J.A. Kinetics of glass transformation by thermal analysis.I. Glycerol / J.A. McMillan // J. Chem. Phys. – 1965. – Vol. 42, № 10. – P. 3497–350.
10. Кирьянов, К.В. Использование калориметра В-08 для прецизионного измерения теплот сгорания / К.В. Кирьянов, В.И. Тельной // Тр. по химии и хим. технологии: Межвуз.сб. –Горький: Изд-во Горьк. гос. ун-та, 1975. – Вып. 4. – С. 109–110.
11. Термические константы веществ: Справочник / Под ред. В.П. Глушко. М.: ВИНТИ, 1965. – Вып. 1; 1966. – Вып. 2; 1970. – Вып. 4. – Ч. 1.

12. Патент 2264442 РФ. Способ получения CO₂ – экстрактов / А.Е. Груздева, Н.В. Гришатова, М.М. Демидик, И.Ш. Якубова, О.С. Левачев, Т.А. Чеснокова, Т.Н. Закаменных, Н.Е. Тюлина, К.Г. Соломаха. Оpubл. 20.11.2005.

13. Состав и физико-химические свойства экстрактов из побегов сосны, полученных сверхкритической флюидной экстракцией / В.Ф. Урьяш [и др.] // Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. – 2008. – Т. 3, № 4. – С. 35–44.

14. Calorimetric methods and determination results of compatibility of a number of plasticizers with polymers / I.V. Rabinovich [et al.] // Acta Polym. – 1983. – Bd. 34, H. 8. – S. 482–488.

15. Thermal and calorimetric analysis of cellulose, its derivatives and mixtures with plasticizers / V.F. Uryash [et al.] // Thermochim. Acta. – 1985. – Vol. 93. – P. 409–412.

16. Веструм, Э. Термодинамика кристаллов / Э. Веструм, Дж. Мак-Каллаф. В кн. Физика и химия твердого состояния органических соединений / Под ред. Д. Фокса, М.М. Лейбса, А. Вайсбергера. – М.: Мир. – 1967. – С. 9–160.

THERMODYNAMIC AND PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WHICH RECEIVED FROM VEGETATION RAW MATERIALS USING THE TECHNIQUE OF SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION

V.F. Uryash, N.Yu. Kokurina, A.E. Gruzdeva*, V.N. Larina, L.A. Faminskaya, I.N. Kalashnikov, V.I. Faerman

*Research Institute of Chemistry Nizhni Novgorod State University, Nizhni Novgorod, Russia
«Grande» Ltd. Nizhni Novgorod, Russia

By the method of differential thermal analysis within the range of 80–550 K, we investigated phase and physical transitions (melting, crystallization, evaporation, vitrification) in the samples of the CO₂–extracts of pine shoots, weeping birch (*Betula pendula*) bark, holy thistle seed blending, and corcule of wheat and sea-buckthorn berries. The investigation was aimed at considering a possibility to use the temperatures of the aforementioned transitions as the reference ones when compiling different lots of the obtained products. In addition, qualitative and quantitative compositions of the CO₂–extracts were studied using chromatographic and spectral methods. Radiation protecting, anti-atherogenic and anti-oxidative properties of CO₂–pine extracts were investigated as well. Thermodynamic characteristics and phase transition temperatures of betulin was extracted from the CO₂-weeping birch bark extract were determined.